



Beatriz Alexandra Lamas
Licenciada em Gastronomia

Utilização de antocianinas em revestimentos poliméricos coloridos para aplicação em con- feitaria

MESTRADO EM TECNOLOGIA E SEGURANÇA ALIMENTAR
Universidade NOVA de Lisboa
Março, 2024

Utilização de antocianinas em revestimentos poliméricos coloridos para aplicação em confeitaria

BEATRIZ ALEXANDRA LAMAS

Licenciada em Gastronomia

Orientadora: Maria do Carmo Martins Serrano,
Investigadora Auxiliar, Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária

Co-orientadora: Maria Paula Amaro de Castilho Duarte,
Professora Auxiliar, Universidade NOVA de Lisboa

Júri:

Presidente: Nome do(a) presidente,
Professor(a) Catedrático(a), FCT-NOVA

Arguentes: Nome de um dos arguentes,
Professor Associado, Outra Universidade
Nome do outro arguente,
Professor Auxiliar, Ainda Outra Universidade

Orientador: Nome do orientador presente nas provas,
Professor Associado, FCT-NOVA

Membros: Mais um membro do júri,
Professora Catedrática, Outra Universidade
E ainda mais um membro do júri,
Professor Auxiliar, Ainda Outra Universidade

MESTRADO EM TECNOLOGIA E SEGURANÇA ALIMENTAR

Universidade NOVA de Lisboa
Março, 2024

Utilização de antocianinas em revestimentos poliméricos coloridos para aplicação em confeitaria

Copyright © Beatriz Lamas, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade NOVA de Lisboa.

A Faculdade de Ciências e Tecnologia e a Universidade NOVA de Lisboa têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos os que tornaram este projeto possível, com um especial agradecimento à Doutora Carmo Serrano que me deu a oportunidade de participar neste projeto, sempre com o seu apoio, disponibilidade, orientação e sugestões que foram imprescindíveis para a realização deste trabalho, assim como um especial agradecimento à Doutora Maria Paula Duarte, também minha orientadora, pela igual disponibilidade, apoio e esclarecimento de dúvidas. Agradeço à Professora Doutora Conceição Oliveira do Instituto Superior Técnico da Universidade de Lisboa pela disponibilidade para a realização das análises de LC-MS/MS.

Quero também agradecer ao IPMA e ao iBET por disponibilizarem o liofilizador para o desenvolvimento do projeto, com um especial agradecimento à Doutora Carla Pires do IPMA e ao Miguel Batista por me terem auxiliado nas liofilizações. Agradeço também à Andreia Soares do Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária por me ter auxiliado no laboratório sempre que precisei.

Um especial e profundo agradecimento à minha mãe, ao meu namorado, aos meus tios e à minha irmã por me apoiarem nesta etapa tão difícil, mas significativa do meu percurso não só escolar, mas da vida. Obrigada pelo vosso amor incondicional!

Quero agradecer a todos aqueles que não mencionei, mas que de alguma forma contribuíram para a realização deste projeto.

“A cor é uma energia que influencia diretamente a alma.” (Wassily Kandinsky).

RESUMO

Este estudo tem como objetivo desenvolver revestimentos poliméricos de cor roxa utilizando corantes naturais de antocianina para aplicação em amêndoas de chocolate. O objetivo foi o de obter uma formulação de cor estável e uniforme ao longo do processamento e armazenamento, melhorando a aparência e a durabilidade das amêndoas para apelar aos consumidores preocupados com a saúde e alinhar-se com as exigências do mercado. Os materiais vegetais, tais como cascas de rabanete (*Raphanus sativus*), cenoura preta (*Daucus carota* ssp. *sativus* var. *atrorubens*), casca e polpa de batata-doce roxa (*Ipomoea batatas* (L.) Lam) e folhas de sorgo (*Sorghum bicolor* L.), foram utilizados para obter extratos com a tonalidade roxa desejada. A goma arábica e a goma de alfarroba foram utilizadas como materiais poliméricos para avaliar qual o polímero que estabiliza eficazmente as antocianinas, constituindo uma formulação ótima para o revestimento de amêndoas. Os resultados mostraram que todos os extratos apresentaram propriedades bioativas, nomeadamente atividade antioxidante e antidiabética, destacando-se, neste último caso, o extrato de sorgo. A caracterização estrutural das antocianinas permitiu identificar principalmente antocianinas aciladas, com exceção do extrato de folhas de sorgo que contém maioritariamente apigeninidina, um pigmento pertencente ao grupo 3-de-soxiantocianinas. A goma de alfarroba proporcionou uma melhor resistência à temperatura e menores percentagens de degradação para os revestimentos coloridos de extratos vegetais em comparação com a goma arábica, tornando-a mais eficaz na estabilização das antocianinas durante o processamento térmico. O extrato de polpa de batata-doce roxa proporcionou uma variação de cor mais subtil em revestimentos poliméricos de pastas de açúcar, tornando-o um produto superior e escolha mais consistente para colorir amêndoas de roxo. Este estudo contribui para práticas sustentáveis na indústria de confeitaria, indo ao encontro das preferências dos consumidores por produtos mais saudáveis e amigos do ambiente.

Palavras chave: Antocianinas, Revestimentos comestíveis, Confeitaria, Estabilidade térmica, Sensibilidade ao pH, Bioatividade, Propriedades antioxidantes, Propriedades antidiabéticas.

ABSTRACT

This study aims to develop purple-colored polymeric coatings using natural anthocyanin colorants for application to chocolate almonds. The objective is to achieve a stable and uniform color formulation throughout processing and storage, enhancing the appearance and durability of the almonds to appeal to health-conscious consumers and align with market demands. Plants like peels of radish (*Raphanus sativus*), black carrot (*Daucus carota* ssp. *sativus* var. *atrorubens*), peel and pulp of purple sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam), and sorghum leaves (*Sorghum bicolor* L.), were employed to obtain the desired purple hue. Arabic gum and locust bean gum were utilized as polymeric materials to assess which polymer effectively stabilizes anthocyanins, constituting an optimal formulation for coating almonds. The results showed that all extracts presented bioactive properties, namely antioxidant and antidiabetic activity, with sorghum extract standing out in the latter case. The structural characterization of anthocyanins allowed the identification of mainly acylated anthocyanins, except for sorghum leaf extract, which contains mainly apigeninidin, a pigment belonging to the 3-deoxyanthocyanin group. Locust bean gum provided better temperature resistance and lower degradation percentages for coloured coatings of plant extracts compared to Arabic gum, making it more effective for stabilizing anthocyanins during thermal processing. In sugar pastes, sweet potato pulp extracts exhibited less colour variation than dye factory and synthetic dyes when used alone, and, when combined with spirulina blue dye, provided a more stable and subtle colour variation in polymeric-coated sugar pastes, making it a superior and more consistent choice for colouring almonds purple. This study contributes sustainable practices in the confectionery industry while meeting consumer preferences for healthier and environmentally friendly products.

Keywords: Anthocyanins, Edible coatings, Confectionery, Temperature stability, pH sensitivity, Bioactivity, Antioxidant properties, antidiabetic properties

ÍNDICE

1	INTRODUÇÃO E OBJETIVOS.....	1
2	ENQUADRAMENTO TEÓRICO	3
2.1	Aditivos Alimentares: Corantes naturais.....	3
2.2	Antocianinas.....	5
2.2.1	Antocianinas aciladas e não aciladas.....	6
2.2.2	Desoxiantocianidinas	8
2.3	Fatores que afetam a estabilidade das antocianinas.....	9
2.3.1	Métodos de extração	9
2.3.2	Influência do solvente.....	10
2.3.3	Influência do pH.....	11
2.4	Revestimentos poliméricos coloridos para aplicação em confeitaria.....	13
2.4.1	Goma arábica	15
2.4.2	Goma de alfarroba.....	16
2.5	Avaliação da qualidade da matéria corante	17
3	DESENVOLVIMENTO EXPERIMENTAL	19
3.1	Reagentes e enzimas	19
3.2	Material vegetal	19
3.3	Extração das antocianinas e das 3-DXA	20
3.4	Seleção do melhor método de extração com base na análise espectrofotométrica UV-Vis	23
3.5	Avaliação da qualidade da matéria corante	23

3.5.1	Caraterização química dos extratos	23
3.5.2	Avaliação das atividades biológicas	26
3.6	Revestimentos corantes para confeitaria.....	29
3.6.1	Termoestabilidade de revestimentos corantes para confeitaria.....	30
3.6.2	Revestimentos de confeitaria de cor roxa: efeitos da adição de corante azul	31
3.6.3	Análise por colorimetria	32
3.7	Métodos estatísticos	32
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
4.1	Seleção do melhor método de extração das antocianinas e das 3-DXA	33
4.2	Avaliação do teor de antocianinas e compostos fenólicos totais nos extratos corantes	35
4.3	Identificação e caraterização estrutural das antocianinas nos extratos corantes.....	36
4.4	Avaliação da bioatividade.....	41
4.5	Avaliação da termoestabilidade dos revestimentos poliméricos coloridos	43
4.6	Revestimentos poliméricos roxos em pastas de açúcar: efeito da adição de corante azul	49
4.7	Análise de componentes principais (PCA)	53
5	CONCLUSÕES	57

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Estrutura química das seis principais antocianidinas na forma de catião flavílio (Awika <i>et al.</i> , 2004)	5
Figura 2: Estrutura molecular de diversas antocianinas aciladas identificadas por LC-MS.....	7
Figura 3: Estrutura das antocianinas (A); Estrutura das 3-dexociantocianidinas (B) (Awika <i>et al.</i> , 2004).....	8
Figura 4: Possíveis transformações estruturais das antocianinas em meio aquoso em função do pH (Março <i>et al.</i> , 2008).....	12
Figura 5: Modelos de interação entre goma arábica e 3-desoxiantocianidinas (Herrman <i>et al.</i> , 2022)	16
Figura 6: Estrutura química da goma de alfarroba (Petitjean & Isasi, 2022)	16
Figura 7: Fluxograma representativo da extração das antocianinas da cenoura preta, casca de batata-doce roxa, polpa de batata-doce roxa e casca de rabanete. *) Razão sólido:líquido de 1:5 (m/v) para a cenoura preta, 1:3 (m/v) para a casca de rabanete e casca de batata-doce roxa e 1:1 (m/v) para a polpa de batata-doce roxa. **) com exceção do extrato de casca de rabanete.	21
Figura 8: Fluxograma representativo da extração das 3-DXA do Sorgo.	22
Figura 9: TAT dos extratos de polpa (BD) e casca (CBD) da Batata-doce roxa, casca de rabanete (R) e de cenoura preta (CR) a pH 3 e pH 8 obtidos a 530 nm, 546 nm e 580 nm. Os valores são apresentados com a média ± desvio padrão de duas experiências paralelas. Em cada amostra e para cada comprimento de onda, letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).	34
Figura 10: Teor de 3-DXA totais para os extratos do sorgo (S) a pH 10 obtidos a 530 nm, 546nm e 580 nm. Os valores são apresentados com a média ± desvio padrão de duas experiências paralelas. Para cada comprimento de onda, letras indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).....	35
Figura 11: Perfil cromatográfico, obtido entre os 450 e 550 nm, dos extratos de: 1) polpa de batata-doce roxa (BD); 2) casca de batata-doce roxa (CBD); 3) cenoura preta (CR), 4) casca de rabanete (R) e 6) corante comercial natural (FN). O perfil do extrato 5) folhas de sorgo (S) foi traçado entre 400-500 nm.....	39
Figura 12: Análise HPLC-DAD-HRMS/MS obtida no modo ESI positivo do extrato de polpa de batata-doce roxa. 1) DAD cromatograma adquirido entre 450-550 nm; cromatogramas iônicos extraídos e respectivos espectros de massa tandem para os catiões precursores: (1'a) m/z 787; 1'b) m/z 893; 1'c) m/z 907; 1'd) m/z 949; 1'e) m/z 1069.....	40

Figura 13: Percentagem de degradação das antocianinas e 3-DXA após ensaios de estabilidade à temperatura dos revestimentos poliméricos coloridos com casca e polpa de batata-doce (CBD e BD), casca do rabanete (R), cenoura-preta (CR) e folha do sorgo (S), corante comercial natural (FN), goma arábica (GA), goma de alfarroba (L) e sem revestimento (SR). Os valores são apresentados com a média \pm desvio padrão de duas experiências paralelas. Barra com letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).....	46
Figura 14: Variação de cor dos revestimentos coloridos de roxo, com casca e polpa de batata-doce roxa (CBD e BD), casca de rabanete (R), cenoura preta (CR), folha do sorgo (S) e corante comercial natural (FN), goma arábica (GA), goma de alfarroba (L) e sem revestimento (SR), após os ensaios de estabilidade à temperatura. Os valores são apresentados com a média \pm desvio padrão de duas experiências paralelas. barras com letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).....	47
Figura 15: Variação de cor dos extratos corantes [batata-doce roxa (BD-Polpa; CBD-Casca), cenoura preta (CR), casca de rabanete (R), folha de sorgo (S) e corante da comercial natural (FN), sem adição de corante azul], com as amêndoas coloridas com corantes <i>clean label</i> (CL) e corantes sintéticos (CS) usados como controle, após 72h de secagem (antes) e após 5 meses de conservação (após). Os valores são apresentados com a média \pm desvio padrão de duas experiências paralelas. Barras com letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).	50
Figura 16: Variação de cor das formulações dos extratos corantes [batata-doce roxa (BD-Polpa; CBD-Casca), cenoura preta (CR), casca de rabanete (R) e corante comercial natural (FN), com a adição de corante azul] com as amêndoas coloridas com corantes naturais (<i>clean label</i>) (CL) e corantes sintéticos (CS) usados como controle, após 72h e 5 meses de conservação. Os valores são apresentados com a média \pm desvio padrão de duas experiências paralelas. Barras com letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).....	52
Figura 17: Projeção dos atributos no plano.....	56
Figura 18: Projeção das amostras no plano definido pelas duas componentes principais.....	56

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Matérias corantes e polímeros utilizados na preparação de revestimentos poliméricos de cor roxa.....	30
Tabela 2: Matérias corantes e polímeros utilizado na preparação de revestimentos poliméricos de cor roxa, com a adição de corante azul.	32
Tabela 3: Teor de antocianinas (TAT) e compostos fenólicos totais (CFT), em peso seco (PS), dos extratos aquosos de polpa (BD) e casca (CBD) de batata-doce roxa, cenoura preta (CR), casca de rabanete (R), folhas de sorgo (S) e do corante comercial natural (FN). Os valores apresentados correspondem a valores médios \pm desvio-padrão..	35
Tabela 4: Identificação das antocianinas aciladas maioritárias presentes nos extratos de polpa de batata-doce roxa (BD), casca de batata-doce roxa (CBD), cenoura preta (CR), casca de rabanete (R), folhas de sorgo (S) e corante comercial natural (FN)	38
Tabela 5: Atividade antioxidante pelos métodos DPPH e FRAP e atividade antidiabética pelos métodos de inibição das enzimas α -glucosidase e α -amilase, em peso seco (PS), dos extratos aquosos de polpa (BD) e casca (CDB) de batata-doce roxa, cenoura preta (CR), casca de rabanete (R), folhas de sorgo (S) e corante comercial natural (FN).	41
Tabela 6: Valores cinéticos para os revestimentos roxos contendo os extratos corantes da polpa (BD) e casca (CBD) da batata-doce roxa, casca de rabanete (R), cenoura preta (CR), sorgo (S) e corante comercial natural (FN), sem revestimento (SR) e com goma arábica (GA) ou goma de alfarroba (L) (média \pm SD). Equações de regressão, coeficiente de regressão (r^2) e valores da constante de degradação (k_d) e do tempo de meia vida ($t_{1/2}$) a 90 °C. Os valores são apresentados com a média \pm desvio padrão de duas experiências paralelas. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas ($p < 0,05$)...	44
Tabela 7: Cor dos revestimentos coloridos com extratos de casca (CBD) e polpa de batata-doce roxa, cenoura preta (CR), folha de sorgo (S), casca de rabanete (R) e corante comercial natural (FN), em goma de alfarroba (L), goma arábica (GA) e sem revestimento (SR), no sistema RGB, após os ensaios de estabilidade à temperatura.	48
Tabela 8: Cor dos revestimentos coloridos com extratos dos extratos de casca (CBD) e polpa (BD) de batata-doce roxa, cenoura preta (CR), casca de rabanete (R), folha de sorgo (S) e corante comercial natural (FN), em goma de alfarroba (L), no sistema RGB, em comparação com a cor das amêndoas <i>clean label</i> (CL) e coloridas com corantes sintéticos (CS), após 72 h de secagem.....	49
Tabela 9: Cor dos revestimentos coloridos com os extratos de casca (CBD) e polpa (BD) de batata-doce roxa, cenoura preta (CR), casca de rabanete (R), folha de sorgo (S) e corante comercial natural (FN), em goma de alfarroba (L), no sistema RGB, em comparação com a cor das amêndoas <i>clean label</i> (CL) e coloridas com corantes sintéticos (CS), após 5 meses de conservação.....	49

Tabela 10: Cor dos revestimentos de goma de alfarroba (L), contendo extratos da batata-doce roxa (BD-Polpa; CBD-Casca), cenoura preta (CR), casca de rabanete (R) e corante comercial natural (FN) com a adição de corante azul de espirulina, no sistema RGB e cor das amêndoas coloridas com corantes naturais (<i>clean lable</i>) (CL) e com corantes sintéticos (CS), ao fim de 72h de secagem.....	51
Tabela 11: Cor dos revestimentos de goma de alfarroba (L), contendo extratos da batata-doce roxa (BD-Polpa; CBD-Casca), cenoura preta (CR), casca de rabanete (R) e corante comercial natural (FN) com a adição de corante azul de espirulina, no sistema RGB e cor das amêndoas coloridas com corantes naturais (<i>clean lable</i>) (CL) e com corantes sintéticos (CS), ao fim de 5 meses de conservação.....	53
Tabela 12: Valores próprios e extração das componentes principais.....	53
Tabela 13: Coeficientes de correlação entre os atributos (variáveis iniciais) e as três componentes principais.....	54

SIGLAS

ADI	Dose diária aceitável
BD	Polpa de batata-doce
BPF	Boas práticas de fabrico
CBD	Casca de batata-doce roxa
CFT	Compostos fenólicos totais
CR	Cenoura preta
DNS	Ácido 3,5-dinitrosalicílico
DPPH	Radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo
3-DXA	3-Desoxiantocianinas
EFSA	Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos
EAG	Equivalente de ácido gálico
FN	Corante comercial natural
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência
HRMS	Espectrometria de massa de alta resolução
IC₅₀	Concentração na mistura reacional que inibe em 50% a atividade enzimática
LC-MS	Cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massa
MS	Espectrometria de massa
m/v	Massa/volume
R	Rabanete
rpm	Rotações por minuto
S	Folhas de sorgo
TAT	Teor de antocianinas totais
TE	Equivalente de trolox
TPTZ	2,4,6-tris (2-piridil)-S-triazina
UE	União Europeia
US	Ultrassons
UV-VIS	Ultravioleta-Visível
v/v	Volume/volume

INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

A cor é uma das primeiras características a que o consumidor reage quando se depara com um produto alimentar, sendo por vezes esse aspeto visual o suficiente para a aceitação ou rejeição do produto. A indústria da confeitaria é uma das indústrias alimentares que mais apela à cor, sendo possível encontrar diferentes cores em variados produtos, como coberturas para bolos, drageias, rebuçados, gomas, amêndoas de chocolate, etc. Contudo, os corantes utilizados por grandes empresas de confeitaria são maioritariamente sintéticos, por serem mais resistentes à luz, pH e temperatura, fáceis de aplicar e permitirem a obtenção de cores vibrantes e estáveis. No entanto, estudos demonstraram (OEIHA, 2021), que a ingestão contínua de produtos contendo este tipo de corantes pode, a longo prazo, ter efeitos negativos para a saúde humana.

Os consumidores estão cada vez mais informados e preferem produtos mais saudáveis. Consciente destas preferências, a indústria alimentar tem procurado responder substituindo corantes sintéticos como o azul brilhante FCF (E 133) e o vermelho allura AC (E 129) por corantes naturais, com propriedades bioativas, e que possam contribuir para melhorar a saúde dos consumidores e por sua vez a saúde pública.

As antocianinas são compostos corantes presentes em variados produtos vegetais como o morango, couve-roxa, mirtilo, rabanete, framboesa, entre outros. Estes compostos, podem ser utilizados como fontes alternativas de corantes para na confeitaria, uma vez que fornecem um vasto espetro de cores desde o vermelho ao azul. As antocianinas têm sido associadas a potenciais benefícios na saúde, nomeadamente na diminuição do risco de doenças associadas ao stress oxidativo, como as doenças neurodegenerativas e cardiovasculares (Sun *et al.*, 2018; Chen *et al.*, 2022). Além disso, a utilização destes compostos em produtos de confeitaria, como alternativa aos corantes sintéticos, oferece a possibilidade de obter produtos *clean label*, ou seja, produtos em cujo rótulo não constam ingredientes que possam ser percebidos pelos consumidores como indesejáveis, tais como, os aditivos sintéticos.

Vários estudos têm sido publicados sobre a extração das antocianinas utilizando várias metodologias convencionais e não convencionais (Bittar, 2016; Akogou *et al.*, 2017; Silva *et al.*, 2017; Türker & Doğan, 2022). Estudos de estabilidade à luz, temperatura e pH permitiram a aplicação destes compostos em variados produtos alimentares (Março *et al.*, 2008; Pinheiro *et al.*, 2010; Cortez *et al.*, 2016; Espinosa-Acosta *et al.*, 2018). Na confeitaria, estes compostos têm sido aplicados em revestimentos poliméricos, que apresentam uma função protetora nas antocianinas, nomeadamente em relação à sua estabilidade quando expostas à luz. A estabilidade das antocianinas nestes revestimentos poliméricos é diferente consoante o tipo de material polimérico, sendo ainda influenciada por fatores como a concentração do corante, a temperatura ou o pH (Pavlati & Orts, 2009; Mellinas *et al.*, 2016; Chaturvedi *et al.*, 2020).

Neste contexto, este trabalho teve como principal objetivo desenvolver revestimentos poliméricos de cor roxa, para aplicação em amêndoas de chocolate, usando como corantes antocianinas naturais, extraídas de diversas fontes vegetais, incluindo subprodutos das indústrias agroalimentares (cascas) e da produção agrícola (folhas) de modo a baixar os custos dos corantes obtidos, utilizando fontes vegetais sustentáveis e promovendo práticas mais amigas do ambiente. Pretendia-se obter uma formulação de cor estável e uniforme, durante o processamento e armazenamento, para melhorar a aparência e durabilidade das amêndoas, atrair consumidores preocupados com a saúde e com o ambiente e atender às exigências do mercado.

A concretização deste objetivo centrou-se em algumas etapas principais:

1) Avaliação do potencial de diferentes materiais vegetais, nomeadamente de folhas de sorgo (*Sorghum bicolor* L.), casca de rabanete (*Raphanus sativus* L.), cenoura preta (*Daucus carota* ssp. *sativus* var. *atrorubens* Alef.) e casca e polpa de batata-doce roxa (*Ipomoea batatas* (L.) Lam), bem como de diferentes procedimentos de extração para obtenção do corante roxo.

2) Avaliação da qualidade dos corantes alimentares naturais desenvolvidos, através da determinação da sua composição química e potencial bioativo.

3) Utilização de dois materiais poliméricos, nomeadamente a goma arábica e a goma de alfarroba, para selecionar o polímero que permitisse uma estabilização mais eficaz das antocianinas, constituindo uma melhor formulação para aplicação nas amêndoas.

4) Avaliação da estabilidade dos revestimentos desenvolvidos sob diferentes condições de temperatura e armazenamento, de modo a avaliar o seu desempenho em produtos de confeitaria, como modelo, para avaliar a sua adequação para diversas aplicações.

ENQUADRAMENTO TEÓRICO

2.1 Aditivos Alimentares: Corantes naturais

Com a industrialização nos meados do século XX, houve uma alteração na alimentação da população que resultou numa maior disponibilidade de alimentos e numa gama mais alargada de produtos disponíveis. Esta revolução, auxiliada pelos avanços da química, trouxe novas formas de conservação dos produtos, possibilitando o acesso a alimentos sazonais fora da época, assim como a pratos mais complexos pré-cozinhados de modo a suprir as necessidades de uma população em crescimento exponencial (Honorato *et al.*, 2013). Na indústria alimentar os aditivos tiveram um papel crucial no desenvolvimento de novos produtos, visto que possuem funções tecnológicas, que afetam as características dos produtos alimentares ou têm como objetivo conseguir propriedades ou efeitos específicos (DGAV, 2023).

De acordo com o Regulamento nº1333/2008, um aditivo alimentar é “qualquer substância não consumida habitualmente como género alimentício em si mesma e habitualmente utilizada como ingrediente característico dos géneros alimentícios, com ou sem valor nutritivo, e cuja adição intencional aos géneros alimentícios, apresenta um objetivo tecnológico na fase de fabrico, transformação, preparação, tratamento, embalagem, transporte ou armazenagem, tenha por efeito, ou possa legitimamente considerar-se como tendo por efeito, que ela própria ou os seus derivados se tornem direta ou indiretamente um componente desses géneros alimentícios” (Regulamento (CE) N.º 1333/2008).

O mesmo Regulamento classifica os aditivos alimentares 26 classes funcionais, sendo cada aditivo codificado com a letra E seguida de um número, que define as condições de utilização, de acordo com a categoria do alimento e os teores máximos de utilização. A classe dos corantes (E 100-E 199), compreende corantes sintéticos (E 110- amarelo-sol FCF ou amarelo alaranjado S, E 122- azorrubina ou carmosina, E 123- amarante, E 129- vermelho allura AC, E 133- azul brilhante FCF, entre outros) e os naturais (E 140- clorofilas e clorofilinas, E 162- vermelho de beterraba ou betanina, E 163- antocianinas, entre outros) (ASAE, S.D; Regulamento (CE) N.º 1333/2008).

Os aditivos alimentares são avaliados pela Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos (EFSA), através do painel sobre aditivos e nutrientes adicionados aos alimentos

(*Panel on Food Additives and Nutrient Sources Added to Food*), que avalia a segurança dos aditivos alimentares, tendo em conta as suas propriedades químicas e biológicas e a sua potencial toxicidade. Mesmo depois do seu uso ter sido autorizado na União Europeia (UE), nas quantidades e condições de utilização definidas no Regulamento nº 1333/2008, a segurança dos aditivos alimentares tem obrigatoriamente de continuar a ser avaliada à luz dos novos conhecimentos científicos. Assim, é obrigatória a atualização dos valores de Dose Diária Aceitável (ADI), ou seja, das doses que, tendo por base os conhecimentos científicos atuais, podem ser ingeridas diariamente ao longo da vida, sem que daí resultem efeitos prejudiciais para a saúde, tendo sempre em consideração os grupos mais sensíveis da população (Torres *et al.*, S.D.; DGAV, 2023).

Os aditivos corantes sintéticos como por exemplo: amarelo-sol FCF/amarelo alaranjado S (E 110), amarelo de quinoleína (E 104), azorubina ou carmosina (E 122), vermelho allura AC (E 129), tartarazina (E 102) e ponceau 4R (E 124); têm sido alvo de estudo por se ter observado que o consumo de alimentos com estes corantes apresentava, em crianças, sintomas de inquietação, irritabilidade, insónia, agressividade e falta de atenção (OEHHA, 2021). Outros corantes, como o azul brilhante FCF (E 133), que deriva do alcatrão de hulha, e o vermelho allura AC (E 129), derivado do alcatrão de hulha ou do petróleo, têm-se mostrado citotóxicos e apresentado associação com o desenvolvimento de algumas doenças, como cancro, alergias, asma, enxaquecas e doenças inflamatórias intestinais (Oliveira *et al.*, 2013; Pinheiro & Abrantes, 2015; Olas *et al.*, 2021).

Como resultado dos processos de reavaliação da segurança dos corantes autorizados, a EFSA tem, em alguns casos, diminuído o valor de ADI e, noutros casos, obrigado a que os rótulos incluíssem a informação de que podem “causar efeitos negativos na atividade e atenção das crianças”. Este processo de reavaliação também já levou à proibição da utilização de alguns corantes para uso alimentar, como é caso do dióxido de titânio (E 171) por se ter comprovado ser genotóxico (Regulamento da Comissão (UE) 2022/63).

Consequentemente, a indústria alimentar tem procurado moléculas corantes, que possam competir com as suas análogas sintéticas, e que apresentem vantagens para a saúde da população (Pereira *et al.*, 2020). No entanto, estes corantes apresentam limitações à sua utilização relacionadas com a estabilidade à luz, temperatura, pH, baixa coloração, interação com alguns compostos presentes no processamento dos alimentos, etc. (Março *et al.*, 2008).

Outra estratégia da indústria alimentar é a substituição dos aditivos alimentares, retirando os códigos E dos rótulos dos alimentos por ingredientes alimentares naturais com propriedades corantes, recorrendo a matérias vegetais pouco processadas que permitam obter soluções *clean label* mantendo a cor, qualidade e segurança dos alimentos.

2.2 Antocianinas

Uma das classes de corantes naturais mais estudadas são as antocianinas. Estes compostos são encontrados nas plantas e contribuem para as cores vermelha, violeta e azul observadas em muitos frutos (morangos, mirtilos, framboesas, bagas de sabugueiro, amoras), vegetais (couve-roxa, batata-doce roxa, rabanete, cenoura preta, beringela) e flores (centáurea, hibisco), etc. Diversos estudos têm demonstrado que as antocianinas apresentam vários benefícios para a saúde como efeito vasoprotetor, anti-inflamatório, anticancerígeno, propriedades quimio-protetoras e antineoplásticas (Awika *et al.*, 2005).

Estruturalmente, as antocianinas são glicosídeos de antocianidinas (possuem uma estrutura de catião flavílio, são compostos simples e solúveis em água e não possuem moléculas de açúcar) e pertencem ao grupo dos flavonóides por apresentarem um esqueleto base constituído por 15 átomos de carbonos (C15) distribuídos por vários anéis condensados formando uma estrutura do tipo C6-C3-C6 (Figura 1). Na natureza, as seis antocianidinas (agliconas) mais comuns diferem entre si pelo grau de hidroxilação e metoxilação dos seus anéis. As antocianinas encontram-se na natureza na forma glicosilada em uma ou mais posições por diferentes tipos de açúcares (glucose, ramnose, xilose, galactose, etc.) (Março *et al.*, 2008).

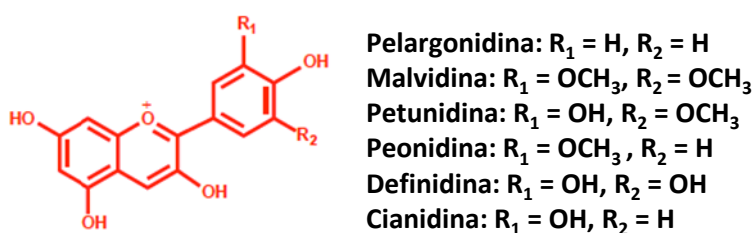


Figura 3: Estrutura química das seis principais antocianidinas na forma de catião flavílio (Awika *et al.*, 2004)

As antocianinas que existem em maior abundância na natureza são a pelargonidina, cianidina, peonidina, delfinidina, petunidina e malvidina (Figura 1). As cores rosa, vermelho, vermelho-púrpura e magenta são provenientes geralmente de cianidina e/ou pelargonidina com ou sem peonidina, enquanto as tonalidades mais azuladas devem-se à presença de delfinidina. Estes compostos são solúveis em água tendo baixa solubilidade em solventes orgânicos, tornando-se assim uma boa fonte corante de grau alimentar (Março *et al.*, 2008).

As diferentes colorações das fontes vegetais são devidas a múltiplos fatores, incluindo diferenças na estrutura das antocianinas (número de grupos hidroxilos, grau de metilação, ligações com ácidos fenólicos e açúcares, etc.), presença de co-pigmentos, íons metálicos ou o valor de pH (Março *et al.*, 2008).

Diversos estudos têm sido realizados para caracterizar as antocianinas presentes em diferentes produtos vegetais. Por exemplo, Otsuki *et al.* (2002) identificaram no rabanete as antocianinas cianidina-3-glucósido, pelargonidina-3,5-diglucósido e pelargonidina 3-rutinósido-5-glucósido. Por outro lado, Sun *et al.* (2018) identificaram cianidina 3-soforósido-5-glucósido, peonidina 3-soforósido-5-glucósido, peonidina 3-dicafeoilsoforósido-5-glucósido e peonidina 3-cafeoil-p-hidroxibenzoilsoforósido-5-glucósido em batata-doce roxa. Por sua vez, Kammerer *et al.* (2003), identificaram em cenoura preta, as antocianinas cianidina-3-glucósido, cianidina-3-(6"-malonilglucósido), peonidina-3-glucósido e peonidina-3-(6"-malonilglucósido). No caso do sorgo, apenas foram identificadas antocianinas nomeadamente apigeninidina, luteolinidina, 5-metoxi-apigeninidina e 7-metoxi-apigeninidina (Geera *et al.*, 2012).

Existem inúmeros estudos, *in vitro* e *in vivo*, sobre as atividades biológicas das antocianinas, nomeadamente sobre as suas propriedades antioxidantes e antidiabéticas, que permitem apontar para um impacto positivo na saúde, devendo, assim, o seu consumo regular ser incentivado (Sun *et al.*, 2018; Chen *et al.*, 2022).

2.2.1 Antocianinas aciladas e não aciladas

Conforme já anteriormente referido, a utilização de corantes naturais está a ser procurada pela indústria alimentar como forma de colocar no mercado produtos com *clean label*, constituindo um passo para evitar corantes sintéticos. Contudo, a falta de estabilidade das antocianinas ao pH, temperatura, luz, oxigénio, processamento fazem com que a sua utilização na indústria alimentar seja dificultada, pois não é fácil controlar a coloração durante todo o processo de produção e armazenamento (Espinosa-Acosta *et al.*, 2018). Neste contexto, as antocianinas aciladas apresentam-se como potenciais alternativas às antocianinas (Luo *et al.*, 2022).

As antocianinas aciladas são derivados de antocianinas com padrões complexos de glicosilação e acilação que se podem encontrar naturalmente em raízes, caules, flores e frutos de muitas espécies de plantas (Luo *et al.*, 2022). Os ácidos mais comuns associados com as antocianinas incluem os ácidos alifáticos malónico, succínico, tartárico e málico, bem como os ácidos

fenólicos 4-hidroxibenzoico, sinápico, gálico, cumárico, ferúlico e cafeico, entre outros (Yañez-Apam *et al.*, 2023).

Na Figura 2 apresenta-se a estrutura molecular de diversas antocianinas aciladas identificadas em produtos vegetais como o rabanete, cenoura preta e batata-doce roxa.

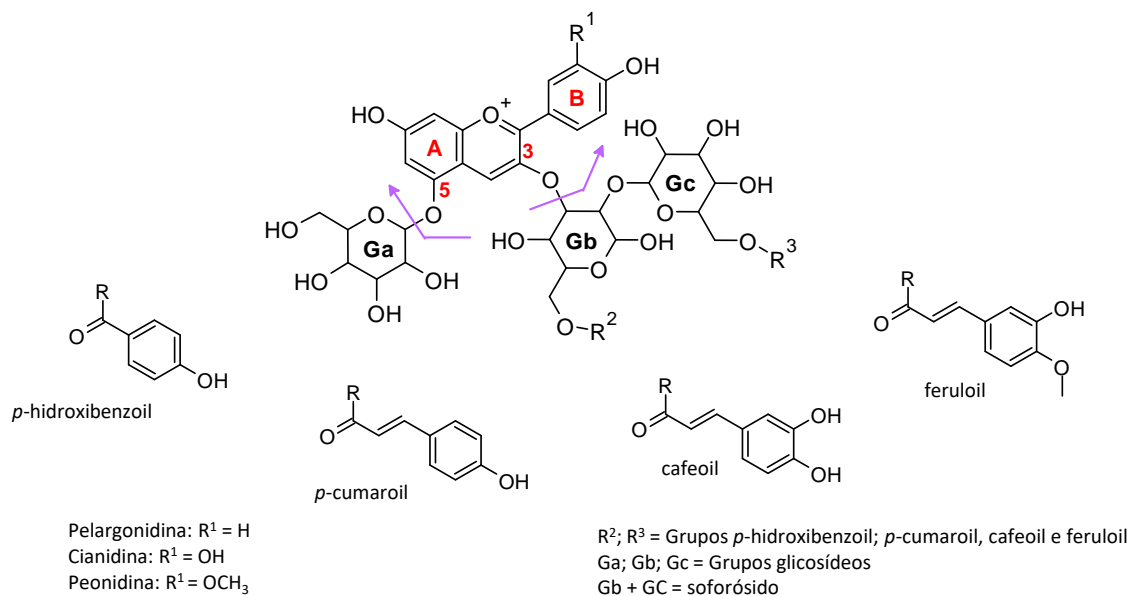


Figura 4: Estrutura molecular de diversas antocianinas aciladas identificadas por LC-MS

A alteração estrutural resultante da acilação, faz com que as antocianinas aciladas sejam mais estáveis ao pH, à temperatura e à interação com outros compostos da matriz do que as antocianinas não aciladas, tornando-as assim melhores fontes de corantes para a utilização na indústria alimentar (Luo *et al.*, 2022).

Tal como as antocianinas não aciladas, as antocianinas aciladas possuem igualmente diversas propriedades biológicas benéficas, nomeadamente propriedades prébióticas, antidiabéticas e antioxidantes, tendo o consumo de fontes vegetais com estas moléculas um papel importante na saúde (Sun *et al.*, 2018; Chen *et al.*, 2022; Luo *et al.*, 2022). Sun *et al.* (2018) estudaram as propriedades funcionais de cinco antocianinas à base de peonidina provenientes da batata-doce de polpa roxa, tendo demonstrado que todas apresentavam atividades antioxidantes *in vitro*, capacidade para estimular o crescimento de probióticos e inibir o crescimento de bactérias nocivas. Os mesmos autores mostraram que a atividade antioxidante das antocianinas aciladas em estudo era superior à das antocianinas não aciladas. A batata-doce roxa é rica em antocianinas o que a torna um alimento bastante saudável, devido à influência que estes compostos têm no nosso organismo, contendo maioritariamente as antocianinas aciladas

(Yang *et al.*, 2021). Para além disso, é reportado que a batata-doce de polpa roxa possui atividade antidiabética, fazendo deste modo com que o seu consumo esteja associado a uma melhoria na saúde humana (Yang *et al.*, 2021).

O estudo de Zaim *et al.* (2021) verificou que as antocianinas da cenoura preta exibem elevada atividade antioxidante, fazendo com que haja um melhoramento da saúde, prevenindo doenças crónicas. Tal como a batata-doce roxa, também a cenoura preta contém maioritariamente antocianinas aciladas (Esatbeyoglu *et al.*, 2016). Considerada como um alimento funcional devido às antocianinas que a compõe, a cenoura-roxa demonstrou também possuir atividade antidiabética (Esatbeyoglu *et al.*, 2016).

2.2.2 Desoxiantocianidinas

As 3-desoxiantocianidinas (3-DXA) distinguem-se das restantes antocianinas devido à particularidade de não possuírem um grupo hidroxilo na posição 3 (Figura 3) (Março *et al.*, 2008). A falta do grupo hidroxilo nesta posição faz com que a molécula não se ligue a moléculas de açúcar, diminuindo assim as interações com o meio externo (Março *et al.*, 2008). Esta característica confere às 3-DXA maior estabilidade à temperatura e ao pH que as antocianinas (Carbonneau *et al.*, 2014).

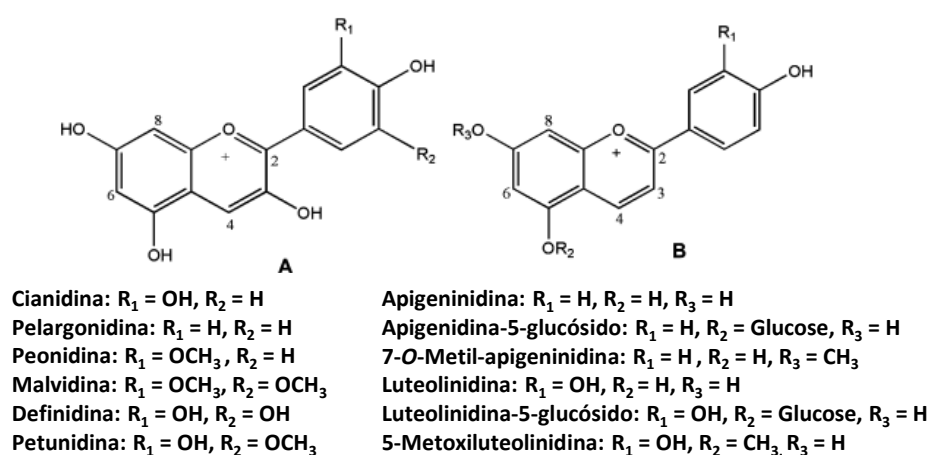


Figura 3: Estrutura das antocianinas (A); Estrutura das 3-dexociantocianidinas (B) (Awika *et al.*, 2004).

As 3-DXA são um tipo raro de antocianidinas que se podem encontrar em algumas flores como a *Arrabidaea chica*, *Sinningia cardinalis* e *Columnnea hybrida* e algumas espécies da

família Poaceae, nomeadamente no *Sorgo bicolor* (Xiong *et al.*, 2019). No sorgo bicolor, as principais formas de 3-desoxiantocianidinas presentes são a apigeninidina que confere a coloração amarela, luteolinidina que confere a coloração vermelha, 3-desoxiantocianidinas diméricas e pirano-3-desoxiantocianidinas (Awika *et al.*, 2004; Serrano *et al.*, 2019).

A utilização das 3-DXA como corante alimentar possui inúmeras vantagens comparativamente aos corantes sintéticos visto que, estes compostos, são antioxidantes potentes (Xiong *et al.*, 2019). Kumari *et al.* (2021) verificaram que as 3-DXA da farinha e do farelo do sorgo possuíam atividade inibidora da enzima α -glucosidase, enzima responsável pela quebra das ligações dos dissacáridos, nomeadamente maltose e sacarose, convertendo-os em monossacáridos passíveis de ser absorvidos. Desta forma, a inibição desta enzima pode ajudar a controlar a hiperglicemia pós-prandial, e, desta forma, contribuir para prevenir a diabetes tipo 2 e as suas complicações (Romeiras *et al.*, 2023).

2.3 Fatores que afetam a estabilidade das antocianinas

A estabilidade das antocianinas é afetada por fatores estruturais como, por exemplo, o grau de metoxilação, hidroxilação e/ou metilação ou as suas ligações com ácidos fenólicos e açúcares, bem como por fatores externos como o pH, temperatura e luz (Março *et al.*, 2008). De um modo geral, estes compostos são instáveis, pelo que é urgente estudar soluções com o intuito de diminuir a sua degradação, de modo a potenciar a sua utilização na indústria alimentar (Março *et al.*, 2008; Cai *et al.*, 2019).

A estabilidade das antocianinas extraídas das diferentes matérias vegetais vai depender da temperatura e do teor de sólidos, sendo que a taxa de degradação das antocianinas aumenta com o aumento destes dois fatores (Espinosa-Acosta *et al.*, 2018).

Devido à instabilidade das antocianinas, a seleção das condições de extração, nomeadamente temperatura, tempo, solvente e seu pH, é essencial para a obtenção e para a estabilidade da coloração pretendida.

2.3.1 Métodos de extração

Na literatura encontram-se referenciadas várias metodologias, convencionais ou não convencionais, para a extração das antocianinas de diferentes matrizes vegetais (Bittar, 2016; Akogou *et al.*, 2017; Silva *et al.*, 2017; Türker & Doğan, 2022).

Os métodos de extração sólido-líquido convencionais são constituídos pela maceração, infusão e extração “Soxhlet”, contudo estes métodos não são escaláveis para a atender à procura e às necessidades da indústria alimentar global (Bittar, 2016; Türker & Doğan, 2022).

Nos métodos de extração não convencionais encontram-se incluídas a extração líquida superaquecida (Luque-Rodríguez *et al.*, 2007), a extração assistida por ultrassom (Tiwari *et al.*, 2010), a extração assistida por micro-ondas (Liazid *et al.*, 2011) e a extração por hidrodifusão e gravidade assistida por micro-ondas (Bittar *et al.*, 2013).

Em todas as metodologias pretendem obter-se extratos na forma de preparações de consistência líquida, semissólida ou sólida, de modo a maximizar o rendimento dos compostos alvo, mantendo a integridade dos compostos corantes, nomeadamente, mantendo a sua estrutura e a cor pretendida, com reduzido impacto ambiental. Para cada sistema de extração são avaliadas as variáveis comuns (tempo de processamento, temperatura, percentagem de solvente, relação sólido-líquido) e as variáveis específicas (pressão, potência, frequência, voltagem, maceração, potência ultrassónica e radiação de micro-ondas) em relação aos compostos alvos.

Os métodos não convencionais distinguem-se por aumentarem a disponibilidade das antocianinas no solvente de extração, fazendo, deste modo, aumentar o respetivo rendimento (Luo *et al.*, 2018). Vários autores têm explorado a utilização de métodos de extração não convencionais, nomeadamente, Luo *et al.* (2018) utilizaram a extração assistida por ultrassons para obtenção de compostos corantes das folhas do sorgo. Toker & Doğan (2022) otimizaram a extração assistida por ultrassons com utilização de solventes eutéticos para extrair as antocianinas de cenoura preta. Em ambos os casos os rendimentos obtidos foram superiores aos da extração convencional.

2.3.2 Influência do solvente

Os solventes para extração utilizados no fabrico de géneros alimentícios e dos respetivos ingredientes, são regulamentados na Europa pela Diretiva 2009/32/CE. Além da água, apenas propano, butano, acetato de etilo, etanol, dióxido de carbono, acetona e óxido nitroso podem ser utilizados como solventes de extração, respeitando as boas práticas de fabrico, para todos os usos.

Akogou *et al.* (2017) avaliaram diferentes procedimentos para extrair os corantes vermelhos a partir das folhas do sorgo e concluíram que a extração com soluções aquosas a pH alcalino (pH=8-9), com carbonato e bicarbonato de sódio, à temperatura ambiente e a quente (T= 86°C), se revelaram os métodos mais eficientes para extrair a apigeninidina (Akogou *et al.*, 2017).

Ekaputra & Pramitasari (2020) utilizaram soluções aquosas e etanólicas acidificadas com diferentes concentrações de ácido cítrico (0%, 2%, 4% e 6%), para extrair antocianinas da batata-doce de polpa roxa, tendo concluído que a solução aquosa com uma concentração de 2% de ácido cítrico resultava numa maior extração destes compostos. No entanto, os mesmos autores, verificaram uma diminuição da atividade antioxidante, do teor de compostos fenólicos totais e do teor de flavonoides em comparação com os extratos realizados com os outros solventes testados.

Poucos estudos foram realizados até à data sobre a extração de antocianinas por solventes verdes comparativamente à utilização de solventes convencionais. Entende-se por solvente verde os solventes de extração amigos do ambiente, cuja aplicação não deve causar problemas de saúde e segurança, nem efeitos indiretos decorrentes da sua produção, utilização e eliminação, incluindo o esgotamento de fontes não renováveis (Tzanova *et al.*, 2024). Os solventes verdes não possuem efeitos adversos para o consumidor e incluem a água, soluções aquosas de ácido cítrico, ácido láctico, ácido acético, carbonato e bicarbonato de sódio, entre outros produtos que comumente já são utilizados na indústria alimentar, podendo deste modo ser ingeridos sem quaisquer advertências (Gizir *et al.*, 2008; Akogou *et al.*, 2017; Ekaputra & Pramitasari, 2020).

Gizir *et al.* (2008) estudaram as diferentes colorações resultantes da extração de antocianinas a partir da cenoura preta com recurso a variados solventes (ácido sulfúrico, ácido cítrico e ácido láctico), tendo verificado que a extração com ácido láctico e ácido cítrico permite obter uma maior concentração de antocianinas e menor acastanhamento na coloração dos extratos do que quando a extração era realizada com ácido sulfúrico. Por outro lado, Matus-Castillo *et al.* (2022) estudaram a extração das antocianinas a partir do rabanete, para incorporação em iogurte, utilizando como solvente o metanol. Contudo, o metanol, por ser um solvente tóxico, pode acarretar riscos ambientais e para a saúde do consumidor.

2.3.3 Influência do pH

O pH do solvente utilizado na extração de antocianinas é uma variável importante, uma vez que a estrutura e coloração das antocianinas pode variar em função do pH, como está representado na Figura 4 (Março *et al.*, 2008).

Em soluções aquosas com pH extremamente ácido (pH entre 1-2), as antocianinas apresentam uma coloração avermelhada devida à predominância da forma catião flavílio (AH⁺). Contudo, a pH superior a 2, pode observar-se um equilíbrio entre o catião flavílio e a pseudo-base carbinol (B) (Março *et al.*, 2008; Sousa *et al.*, 2020). Com o aumento do pH as antocianinas vão perdendo a cor, até que quando o pH se encontra próximo de 6 as formas da pseudobase carbinol são predominantes resultando em compostos quase incolores (Sousa *et al.*, 2020).

A pH acima de 6, tanto a estrutura pseudobase carbinol quanto anidrobases quinoidais (A) podem formar a estrutura cis-chalcona (C_C). Para que ocorra a formação da estrutura cis-chalcona é necessário que ocorra a ruptura do anel heterocíclico, o que, dependendo da antocianina, pode tornar esta reação irreversível (Março *et al.*, 2008). A valores de pH entre 6,5 e 9, pode formar-se a estrutura cis-chalcona derivada da anidrobases quinoidais ou com a formação de espécies anidrobases ionizadas (A⁻). A coloração azul resulta da ionização das antocianinas com formação de estruturas de anidrobases (Março *et al.*, 2008). Já em meio extremamente alcalino, a coloração amarela provém do equilíbrio entre formas ionizadas de chalconas cis e trans (C_c e C_t) (Março *et al.*, 2008).

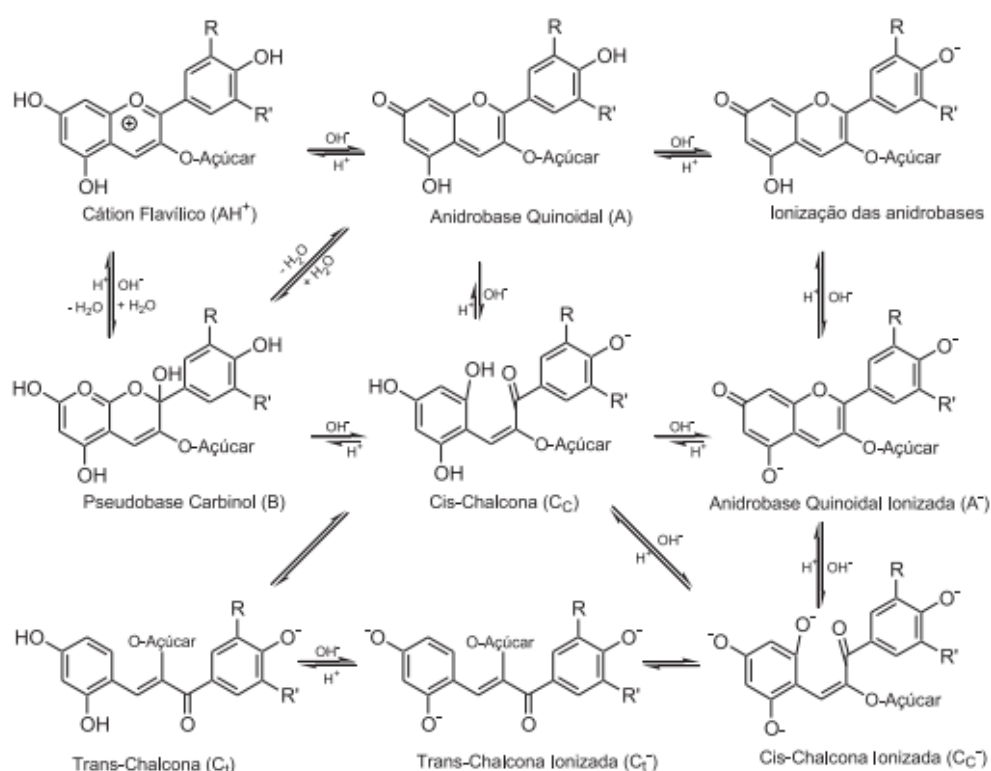


Figura 4: Possíveis transformações estruturais das antocianinas em meio aquoso em função do pH (Março *et al.*, 2008)

As 3-desoxiantocianidinas não possuem o mesmo comportamento que as antocianinas, visto que são mais resistentes às mudanças de cor em função do pH (Geera *et al.*, 2012; Sousa *et al.*, 2020). Assim, em vegetais contendo predominantemente 3-DXA, como é o caso do sorgo, não se verifica essa gama de cores tão ampliada (Geera *et al.*, 2012; Sousa *et al.*, 2020). Geralmente, as antocianinas em soluções aquosas com pH levemente ácido apresentam coloração vermelho-alaranjado, enquanto que a pH 5,0 há a formação de bases quinoidais e de espécies

de chalcona, alterando assim visivelmente os seus atributos cromáticos para a coloração roxa-azul (Março *et al.*, 2008; Sousa *et al.*, 2020). Contudo, no sorgo, Geera *et al.* (2012) relatam que não existe a formação de chalcona ou base quinoidais, confirmando que o sorgo é um extrato corante com elevada estabilidade ao pH.

Geera *et al.* (2012) afirmam que não existe diferença de cor significativa entre a extração de 3-DXA do sorgo a pH 1 e pH 7, contudo Sigurdson *et al.* (2018) afirmam que é possível extrair do sorgo a coloração violeta, quando se utiliza uma solução aquosa a pH 9.

A temperatura de extração também pode influenciar a coloração obtida, tendo sido verificado que as 3-DXA do sorgo apresentam uma coloração vermelha intensa quando extraídas a frio (Akogou *et al.*, 2017). Assim como nas 3-DXA, a degradação das antocianinas é acelerada com a aplicação de temperaturas mais elevadas (Março *et al.*, 2008).

A estabilidade das antocianinas à perda de cor, aumenta com a presença de ácidos fenólicos, sendo este efeito também visível na presença de flavonoides não-antociânicos, como, por exemplo, a rutina (Março *et al.*, 2008). O aumento da estabilidade das antocianinas pode resultar da copigmentação que é a associação entre a antocianina e um ou mais flavonóis por ligações de hidrogénio, fazendo com que o flavonol forme uma estrutura protetora da antocianina a fatores externos como o pH (Março *et al.*, 2008; Pinheiro *et al.*, 2010; Cortez *et al.*, 2016).

2.4 Revestimentos poliméricos coloridos para aplicação em confeitaria

Existem vários tipos de revestimentos poliméricos usados em aplicações alimentares para diversos fins, nomeadamente para preservação (por ex. retenção da humidade), realce de sabor (por ex. adição de aroma natural), melhoria de textura, e apelo visual (por ex. melhorar a cor ou acabamento brilhante) (Pavlath & Orts, 2009; Mellinas *et al.*, 2016).

Os materiais poliméricos utilizados na formulação de revestimentos à base de antocianinas para confeitaria, podem ter um impacto significativo na estabilização destes compostos durante o processo de fabrico. Alguns aspetos importantes incluem a estabilização das antocianinas à luz, calor, pH e oxidação (Março *et al.*, 2008), como resultado da formação de filme fornecer uma barreira protetora contra a humidade, a transmissão da luz e atuar como agente encapsulante, imobilizando as antocianinas e impedindo a descoloração devida à degradação (Mellinas *et al.*, 2016).

Algumas das características mais importantes dos materiais poliméricos, para serem utilizados nas formulações de revestimento, incluem a formação de filme, contínuo e uniforme, permitindo aumentar a adesão e a estabilidade das antocianinas na superfície dos produtos de

confeitaria (Mellinas *et al.*, 2016). Outra característica importante é a compatibilidade dos materiais poliméricos com as antocianinas e outros ingredientes da formulação, de modo a facilitar a dispersão e a distribuição uniforme das antocianinas dentro da matriz do revestimento e não afetar adversamente a estabilidade ou a cor das antocianinas no revestimento (Akhavan Mahdavi *et al.*, 2016). A escolha dos materiais poliméricos pode também influenciar a textura, conferir brilho ou opacidade, aroma e sabor aos produtos revestidos (Pavlath & Orts, 2009). Os materiais poliméricos utilizados nos revestimentos podem ainda influenciar a solubilidade, viscosidade e a aplicação dos revestimentos (por exemplo, pulverização, imersão) durante o processo industrial (Mellinas *et al.*, 2016).

Vários materiais poliméricos podem ser usados em revestimentos de antocianinas. Algumas opções incluem: os hidrocolóides (goma arábica, amidos modificados), derivados da celulose (hidroxipropilcelulose e carboximetilcelulose), proteínas (gelatina, caseína e isolados de proteína de soro de leite), polissacáridos (pectina), quitosano, entre outros (Mellinas *et al.*, 2016).

As formulações para revestimentos poliméricos coloridos à base de antocianinas podem ser líquidas ou sólidas. Na formulação líquida, o extrato corante de antocianinas é misturado com um material polimérico, no estado líquido, podendo incluir emulsionantes como ceras líquidas, glicerina ou lecitina de soja ou girassol. O revestimento no produto alimentar forma-se por aplicação desta mistura, por pulverização e secagem com aplicação de temperatura ($T = 45\text{ }^{\circ}\text{C}$) (Mellinas *et al.*, 2016).

As gomas são os materiais poliméricos mais usados em revestimento na indústria de confeitaria, sendo misturadas com a matéria corante à base de antocianinas em calda de açúcar, uma vez que protegem as antocianinas e não conferem sabor (Mellinas *et al.*, 2016).

Na formulação sólida os extratos de antocianinas, em pó, são misturados com o material polimérico (sólido) sendo dissolvidos, por exemplo, em calda de açúcar, sendo o produto alimentar imergido nesta solução. Neste caso, o revestimento do produto forma-se após secagem, com aplicação de temperatura ($T=90\text{ }^{\circ}\text{C}$).

Para desenvolver revestimentos poliméricos coloridos à base de antocianinas, é necessário realizar formulações, utilizando diferentes materiais corantes e polímeros, e testar a estabilidade dessas formulações, utilizando os parâmetros do processo de fabrico (pH e temperatura) dos produtos alimentares onde as formulações irão ser aplicadas, de modo a selecionar os revestimentos que permitam manter a cor pretendida e que cumpram os requisitos regulamentares dos aditivos para aplicação em produtos alimentares.

2.4.1 Goma arábica

A goma arábica oriunda da *Acacia senegal* (Oliveira, 2017), tem a capacidade de formar géis e produzir soluções viscosas ou estabilizar sistemas de emulsão (Mellinas *et al.*, 2016). Esta goma, é um aditivo alimentar (E 414) amplamente utilizado na indústria por ser um emulsificante eficiente e por permitir a estabilização a longo prazo de uma gama variada de produtos, desde produtos alimentares à cosmética com capacidade de formar géis (Dror *et al.*, 2006).

A goma arábica é um derivado vegetal que possui uma estrutura química complexa, maioritariamente constituída por um polissacárido altamente ramificado e em menor proporção um complexo proteína-polissacárido. Esta goma é composta por três frações sendo que o polissacárido maioritário consiste numa estrutura central composta por β -(1→3) galactose com várias ramificações ligadas a arabinose e ramnose, que acabam em ácido glucurónico, outro complexo menor de arabinogalactano-proteína no qual as cadeias de arabinogalactano estão ligadas covalentemente a uma cadeia de proteína através de grupos serina e hidroxiprolina, e fração menor contendo uma maior percentagem de proteína constituída por uma glicoproteína que difere da anterior devido à sua composição em aminoácidos (Dror *et al.*, 2006).

Estudos sobre os benefícios da encapsulação e revestimento de antocianinas envolvendo a goma arábica têm vindo a ser desenvolvidos. Assim, Chung *et al.* (2016) estudaram a estabilidade da cor de antocianinas provenientes da cenoura preta, em bebidas, através da adição de goma arábica, tendo verificado que a adição de 1,5% de goma arábica resultou em produtos com uma cor mais estável, durante o processamento a 40 °C.

Por outro lado, Chranioti *et al.* (2015) estudaram o encapsulamento com diferentes revestimentos poliméricos de extratos de açafrão e beterraba em pastilhas elástica. Estes autores verificaram que com a utilização de uma mistura de goma arábica e amido modificado era possível obter maior proteção dos corantes naturais incorporados.

Já Serrano *et al.* (2023) estudaram a encapsulação das 3-DXA da folha de sorgo e verificaram, que os compostos liofilizados revestidos, possuíam maior estabilidade à temperatura de 80 °C por 18 h do que os sem revestimento.

Como resultado de um estudo sobre a estabilidade das 3-DXA em solução aquosa utilizando goma arábica, elaborado por Herrman *et al.* (2021), foram propostos modelos de interação das 3-DXA apigeninidina e luteolinidina com esta goma. Como se pode verificar na Figura 5, a goma arábica revelou ser mais eficiente para o revestimento da apigeninidina do que para o da luteolinidina. Os autores concluíram que a interação fraca entre a luteolinidina e a goma arábica está associada com a sua natureza hidrofílica (superior à apigeninidina) que limita o encapsulamento hidrofóbico pela glicoproteína da goma arábica.

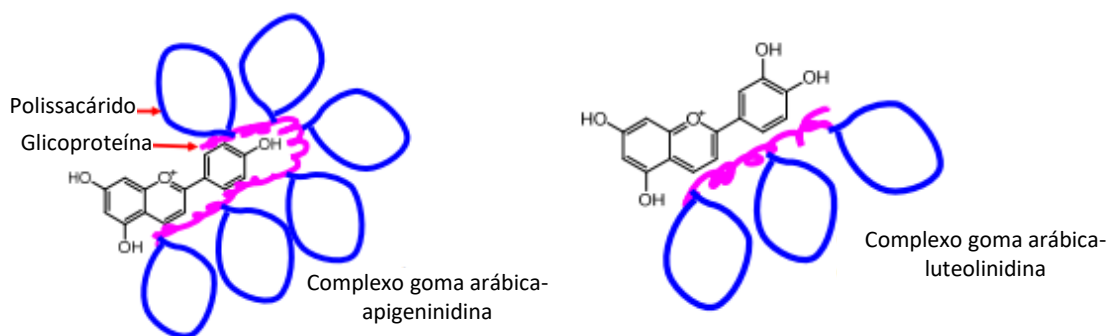


Figura 5: Modelos de interação entre goma arábica e 3-desoxiantocianidinas (Herrman *et al.*, 2022)

2.4.2 Goma de alfarroba

A goma de alfarroba é proveniente do endosperma da semente de alfarrobeira, *Ceratonia siliqua*. Esta goma é um aditivo alimentar (E 410) utilizado como agente espessante, estabilizante e gelificante ou emulsionante com objetivo de melhorar a textura do alimento. Este aditivo também é utilizado em setores como o farmacêutico, cosmético, têxtil, papel e ainda na indústria de petróleo (Zuidam & Nedovic, 2010; Petitjean & Isasi, 2022). A goma de alfarroba, pertence à família das galactomananas, e possui a particularidade de ser apenas solúvel em água quando aplicado calor, bem como por ser um hidrocoloide que não forma por géis isoladamente, apenas intensifica os géis formados por outras gomas (Petitjean & Isasi, 2022).

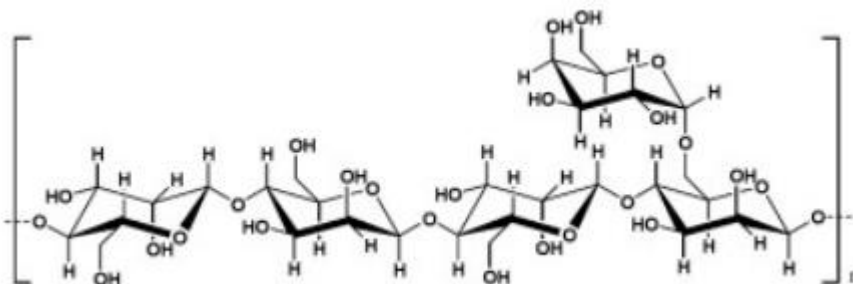


Figura 6: Estrutura química da goma de alfarroba (Petitjean & Isasi, 2022)

Como se pode observar na figura 6, a goma de alfarroba é constituída por cadeias lineares de (1 → 4)-β-D-manose com substituintes de (1 → 6) - α-D-galactose (Petitjean & Isasi, 2022). A solubilidade aquosa e a viscosidade da goma não dependem apenas da temperatura,

mas também do número de ramificações de galactose presentes, sendo que, quanto maior o número de unidades ramificadas, maior será a solubilidade e viscosidade a baixas temperaturas (Oliveira, 2017; Petitjean & Isasi, 2022).

A temperatura e o pH podem também modificar a viscosidade final da solução com goma de alfarroba, na medida em que alteram a massa molecular das cadeias poliméricas. À temperatura de 80 °C, a goma de alfarroba possui uma solubilização eficiente, tornando-se completamente solúvel, aumentando por sua vez a viscosidade (Petitjean & Isasi, 2022).

Estudos sobre a influência do solvente com a goma de alfarroba também já foram realizados como é exemplo Richardson *et al.* (1997), que demonstraram que a adição de soluções de sacarose reduzia a viscosidade intrínseca, devido a uma redução na qualidade do solvente ou a uma redução na associação polímero/polímero. Contudo, numa solução com 20% de sacarose existe um aumento da viscosidade, devido ao aumento na qualidade do solvente, porém em concentrações superiores de sacarose, a qualidade do solvente é reduzida devido à competição da água, aumentando a extensão da contração do polímero, fazendo assim com que a viscosidade diminua (Richardson *et al.*, 1997).

A goma de alfarroba é um polissacárido não é digerível no trato gastro intestinal humano, podendo ser classificado como uma fibra solúvel, que devido ao seu efeito na estrutura dos alimentos e à sua viscosidade pode alterar a degradação de hidratos de carbono durante a digestão (Barak & Mudgil, 2014). Consequentemente, este aditivo pode beneficiar a prevenção e tratamento de obesidade e diabetes, na medida em ajuda a regular os níveis de açúcar no sangue (Barak & Mudgil, 2014).

2.5 Avaliação da qualidade da matéria corante

A avaliação da qualidade dos corantes alimentares naturais envolve vários fatores:

- Certificação de que os corantes alimentares naturais sejam provenientes de fornecedores confiáveis que aderem às boas práticas de fabrico (BPF) e tenham medidas confiáveis de controle de qualidade em vigor.

- Realização de análises químicas para determinar a composição e pureza dos corantes alimentares naturais.

- Avaliação da estabilidade dos corantes alimentares naturais sob várias condições, como temperatura, luz, pH e armazenamento, permitindo determinar as propriedades de retenção de cor e o prazo de validade dos corantes.

- Realização de avaliações de segurança para garantir que os corantes alimentares naturais cumprem as normas regulamentares para aditivos alimentares. Isso inclui pesquisa de metais pesados, avaliação da contaminação microbiológica e pesquisa de alérgenos potenciais.

- Avaliação das características sensoriais dos corantes alimentares naturais, como odor, sabor e aparência, para garantir que atendam às expectativas e preferências do consumidor.
- Avaliação do desempenho dos corantes alimentares naturais em diferentes matrizes alimentares para avaliar sua adequação para diversas aplicações.
- Certificação de que os corantes alimentares naturais cumprem os regulamentos e padrões relevantes, como os estabelecidos pela EFSA na Europa.
- Estabelecimento de um sistema de rastreabilidade para investigar a origem e o manuseio dos corantes alimentares naturais em toda a cadeia de abastecimento. Isto envolve os registros detalhados do processo de avaliação de qualidade, incluindo os resultados de testes, especificações e certificados de análise de fornecedores.
- Implementação de um sistema de monitoração contínua da qualidade dos corantes alimentares naturais, incluindo testes e inspeções regulares para identificar quaisquer desvios dos padrões estabelecidos.
- Realização periódica de auditorias aos fornecedores para garantir que estes continuam a atender aos requisitos de qualidade e segurança e para resolver quaisquer problemas ou preocupações que possam surgir.

DESENVOLVIMENTO EXPERIMENTAL

3.1 Reagentes e enzimas

O etanol, o ácido cítrico, o citrato de sódio, o ácido gálico, o ácido clorídrico (37%), o ácido ascórbico, o sulfato de ferro (II) hepta-hidratado, o cloreto de ferro (III) hexa-hidratado e o acetato de sódio tri-hidratado foram adquiridos à Merck (Darmstadt, Alemanha). O carbonato de sódio anidro, o bicarbonato de sódio, o reagente de Folin-Ciocalteu, o hexacianoferrato de potássio (III) e o sulfato de sódio anidro foram adquiridos à Panreac (Barcelona, Espanha), a 2,4,6-tris (2-piridil)-S-triazina (TPTZ) e o cloreto férrico foram adquiridos à Fluka (Buchs, Alemanha). O etanol absoluto anidro foi adquirido a Carlo Erba (Marselha, França). Outros reagentes, tais como acarbose, cloreto de potássio, amido, fosfato de sódio, 4-nitrofenil- α -D glucopiranosídeo, ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico (trolox), o radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) e as enzimas α -amilase de pâncreas de porcino (tipo IV-B) e α -glucosidase de *Saccharomyces cerevisiae* foram adquiridos à Sigma-Aldrich (Sternheim, Alemanha). A goma de alfarroba de qualidade alimentar foi adquirida à Sosa (Ingredients S.L., Espanha), e a goma arábica de qualidade alimentar foi adquirida à Sigma-Aldrich (Darmstadt, Alemanha). O açúcar (sidul) e a pasta de açúcar branco sólido (Auchan) foram adquiridos numa loja comercial Auchan (Lisboa, Portugal). Todos os outros produtos químicos e reagentes não rotulados eram de grau analítico ou HPLC-MS Optima.

3.2 Material vegetal

As cenouras pretas (*Daucus carota* ssp. *sativus* var. *atrorubens* Alef.), rabanetes (*Raphanus sativus* L.) e batatas-doces roxas (*Ipomoea batatas* (L.) Lam) utilizados para extrair as antociani-

nas foram adquiridos em fresco numa loja comercial Celeiro (Sintra, Portugal). O sorgo (*Sorghum bicolor* L.) foi adquirido seco à empresa PMA28 (Varize, França), triturado num moinho (IKA Micro Fine Mill Culatti) com peneira de 1,0 mm de espessura, armazenado sob vácuo numa película de embalagem de polímero (LDPE 60 μm / PA 30 μm) (Amcors Flexibles, Portugal) e colocado em exsiccadores até à análise posterior.

3.3 Extração das antocianinas e das 3-DXA

As antocianinas da cenoura preta, da batata-doce (casca e polpa) e do rabanete (casca) foram extraídas de acordo com Musilova *et al.* (2020) com algumas modificações (Figura 7). O material foi descascado, cortado em pequenos pedaços (2 cm por 2 cm) e sujeito a extração sólido-líquido numa razão sólido-solvente de 1:5 (m/v) para as cenouras pretas, 1:3 (m/v) para as cascas de rabanete e batata-doce roxa e 1:1 (m/v) para a polpa de batata-doce roxa. Em todos os casos, foram realizadas extrações com dois solventes diferentes: 1) utilizando uma solução aquosa alcalina a pH 8, ajustada com bicarbonato de sódio (0,103 mg mL⁻¹ NaHCO₃) e carbonato de sódio (0,008 mg mL⁻¹ Na₂CO₃) (extratos a pH 8); 2) utilizando uma solução acidificada a pH 3 por adição de ácido cítrico (0,961 mg mL⁻¹, C₆H₈O₇) (extratos a pH 3).

Em ambos os casos (extração ácida ou alcalina), após adição do solvente, as misturas foram aquecidas numa placa de aquecimento (MR3001, Heidolph) a 100 °C, durante 10 minutos e, com exceção do extrato de casca de rabanete, homogeneizadas num ultra-turrax T25 (Janke & Kunkel) a 8000 rpm, durante 10 minutos. Em seguida, as misturas foram sonicadas (processador de ultrasons Hielscher UP200S) com uma amplitude de 50% e 0,5 ciclos durante 10 minutos. Após este procedimento, os extratos foram filtrados através de um filtro de 150 mm de diâmetro (Whatman n°1 Qualitative), sob vácuo (GAST DOA-P104-BN), sendo, por fim, congelados (-80 °C) e liofilizados (liofilizador Scanvac Cool Safe, Labogene Scandinavian).

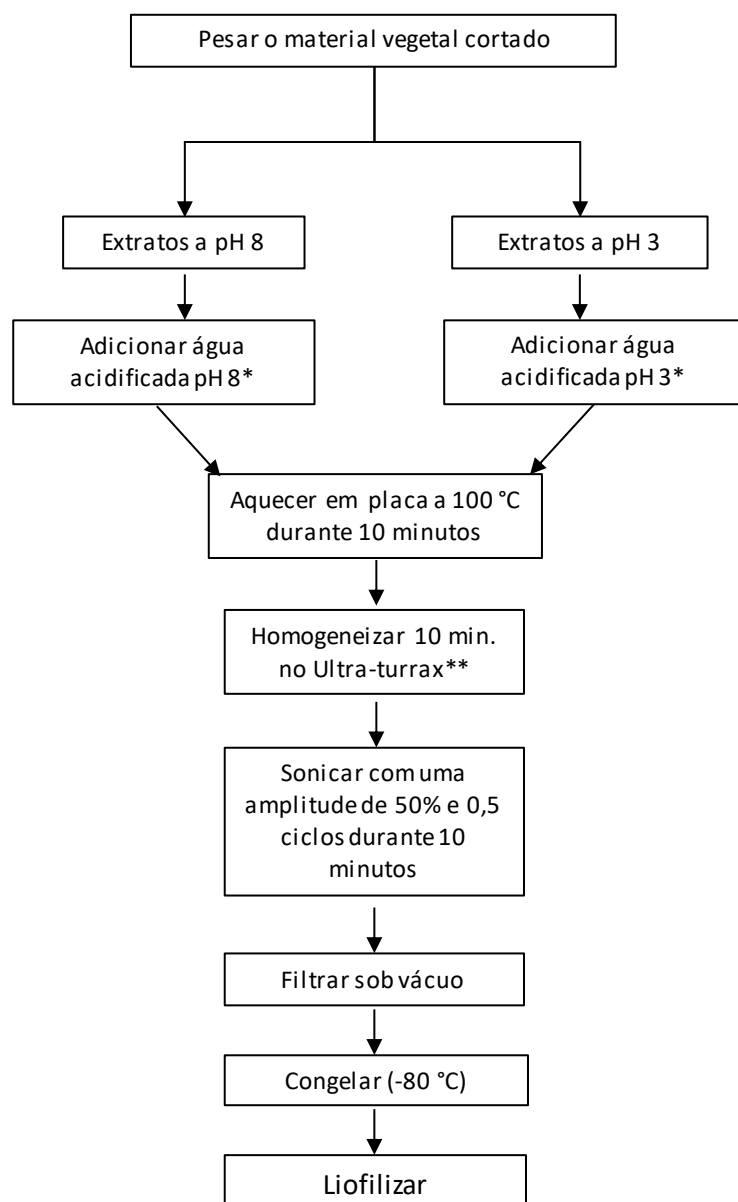


Figura 7: Fluxograma representativo da extração das antocianinas da cenoura preta, casca de batata-doce roxa, polpa de batata-doce roxa e casca de rabanete. *) Razão sólido:líquido de 1:5 (m/v) para a cenoura preta, 1:3 (m/v) para a casca de rabanete e casca de batata-doce roxa e 1:1 (m/v) para a polpa de batata-doce roxa. **) com exceção do extrato de casca de rabanete.

As 3-desoxiantocianidinas do sorgo foram extraídas utilizando duas metodologias distintas: maceração à temperatura ambiente, segundo um método adaptado de Akogou et al. (2018), e extração assistida por ultrassons (Figura 8). Em ambos os casos, a planta moída foi misturada com uma solução aquosa a pH 10 (ajustada com uma mistura de bicarbonato e carbonato de sódio) numa razão sólido líquido de 1:20 (m/v). No método de maceração, a mistura foi colocada num agitador orbital (Unitronic-OR, Selecta, Barcelona), a 25 °C e agitada a 70 rpm durante 30 minutos. Na extração assistida por ultrassons, após adição do solvente, as

misturas foram sonicadas (processador de ultrassons Hielscher UP200S) com uma amplitude de 50% e 0,5 ciclos durante 10 minutos.

Após a etapa de extração, tanto os extratos obtidos por maceração como os extratos obtidos por ultrassons, foram filtrados através de um filtro de 150 mm de diâmetro (Whatman nº1 Qualitative), sob vácuo (GAST DOA-P104-BN), congelados (-80 °C) e liofilizados (liofilizador Scanvac Cool Safe, Labogene Scandinavian).

Após liofilização, todos os corantes em pó foram pesados e armazenados em frascos de vidro (Schott 250 mL) dentro de exsicadores com sílica gel, no escuro e à temperatura ambiente. Os ensaios foram efetuados em duplicado.

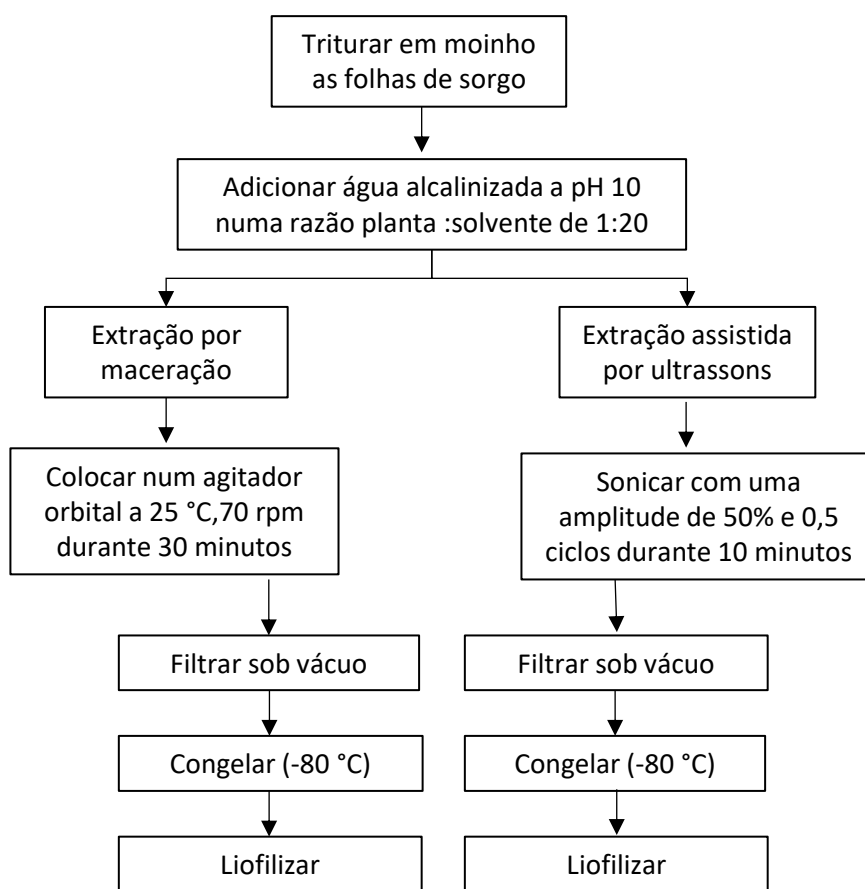


Figura 8: Fluxograma representativo da extração das 3-DXA do Sorgo.

3.4 Seleção do melhor método de extração com base na análise espectrofotométrica UV-Vis

A concentração de antocianinas (cenoura preta, polpa e casca de batata-doce roxa e casca de rabanete) ou de 3-DXA (sorgo) nos extratos em pó foi determinada para selecionar o melhor método de extração para cada material vegetal. Os extratos foram dissolvidos em soluções aquosas a pH 3 (para os extratos preparados a pH 3), pH 8 (para os extratos preparados a pH 8) e pH 10 (extratos de sorgo) em diferentes concentrações: 0,1% (m/v) para cenoura preta, e sorgo; 0,3% (m/v) para a casca de rabanete e casca de batata-doce roxa; e 0,6% (m/v) para a polpa de batata-doce roxa. A absorvância das soluções foi medida utilizando um espectrofotômetro de ultravioleta visível (UV-Vis de feixe duplo (Hitachi U-2010, EUA) aos comprimentos de onda de 530, 546 e 580 nm. As soluções aquosas a pH 3, pH 8 ou pH 10, utilizadas para dissolver os extratos, foram utilizadas para a correção da linha de base.

A concentração de antocianinas nas soluções aquosas foi calculada utilizando a lei de Beer-Lambert:

$$A = \varepsilon * c * l$$

Onde A é a absorvância, ε a absorvidade molar (coeficiente de extinção) do composto de antocianina (cianidina-3-glucósido: 26 900 L.mol.cm⁻¹) ou 3-DXA (apigeninidina: 27 629,5 L.mol.cm⁻¹) no comprimento de onda específico, c é a concentração da solução de antocianina em mol L⁻¹, e l é o percurso ótico (espessura da cuvete) em cm.

3.5 Avaliação da qualidade da matéria corante

Os extratos preparados foram caracterizados em termos químicos e funcionais. Um corante comercial natural, de composição química desconhecida, foi também caracterizado para comparação.

3.5.1 Caracterização química dos extratos

Foram realizadas análises químicas para determinar a composição e pureza dos corantes alimentares naturais, tendo envolvido técnicas analíticas como a espectroscopia de ultra-violeta visível (UV-Vis) e a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) com detecção por espectrometria de massa.

3.5.1.1 Determinação das antocianinas totais pelo método do pH diferencial

A determinação do teor de antocianinas totais (TAT) pelo método diferencial de pH consiste em medir a absorvância dos extratos de antocianinas a dois níveis de pH diferentes: pH 1,0 (solução de KCl 0,025 M, acidificada com HCl) e pH 4,5 (tampão acetato de sódio) e utilizar os valores de absorvância para calcular a concentração de antocianinas. O procedimento foi efetuado utilizando a metodologia descrita por Zafra-Rojas *et al.* (2016). Os extratos foram preparados nas soluções anteriormente referidas na concentração de 1,28 mg mL⁻¹ para a casca de rabanete e batata-doce roxa, 2,46 mg mL⁻¹ para a polpa de batata-doce roxa e 0,63 mg mL⁻¹ para cenoura preta, sorgo e corante comercial. Após um período de incubação de 15 min no escuro e à temperatura ambiente foi lida a absorvância a 510 nm e a 700 nm, num espectrofotômetro UV-Vis de feixe duplo (Hitachi U-2010, EUA). No caso do extrato de sorgo, as leituras foram realizadas a 470 nm e a 700 nm e apenas a pH 1,0, uma vez que a principal 3-DXA do sorgo, a apigeninidina, não é incolor a pH 4,5 (Akogou *et al.*, 2018).

O TAT foi calculado de acordo com a seguinte expressão:

$$TAT (mg/L) = (A \times DF \times MW) / (\epsilon \times l)$$

Em que o valor de A para os extratos de rabanete, cenoura preta e batata-doce é calculado pela seguinte expressão:

$$A = (absorvância_{510} - absorvância_{700})_{pH_{1,0}} - (absorvância_{510} - absorvância_{700})_{pH_{4,5}}$$

Enquanto que o valor de A para o extrato de sorgo foi calculado pela seguinte expressão:

$$A = (absorvância_{470} - absorvância_{700})_{pH_{1,0}}$$

DF é o fator de diluição (se aplicável), MW é o peso molecular da cianidina-3-glucósido (484,83 g mol⁻¹) ou da apigeninidina (255,24 g mol⁻¹) que está a ser analisada, ϵ é o coeficiente de extinção molar da cianidina-3-glucósido (26 900 Lmolcm⁻¹) ou da apigeninidina (27 629,5 Lmolcm⁻¹) que está a ser analisada e l é o comprimento do percurso da cuvete (1 cm) (Le *et al.*, 2019). Os resultados finais foram expressos em mg equivalentes de cianidina-3-glucósido por

g de extrato seco (extratos de cenoura preta, polpa e casca de batata-doce roxa e casca de rabanete) ou mg equivalentes de apigeninidina (extrato de sorgo). Todas as determinações foram efetuadas em triplicado.

3.5.1.2 Determinação dos compostos fenólicos totais pelo método Folin-Ciocalteu

O teor dos compostos fenólicos totais (CFT) nos extratos foi estimado utilizando o método colorimétrico de Folin-Ciocalteu descrito por Asami *et al.* (2003) e modificado por Pires *et al.* (2018), utilizando o ácido gálico como composto fenólico padrão. Resumidamente, 1-3 mL dos extratos (preparados e diluídos em água para ajustar a curva padrão) foram adicionados em balões volumétricos de 10 mL contendo água destilada e reagente fenólico Folin-Ciocalteu (0,5 mL) e agitados. Após 5 minutos, adicionou-se 1,5 mL de uma solução de carbonato de sódio 200 g.L⁻¹, ajustou-se o volume para 10 mL com água destilada, misturou-se e deixou-se repousar durante 2 h. Preparou-se um reagente em branco, substituindo a amostra por água destilada. A absorvância foi medida a 750 nm utilizando um espectrofotômetro UV-visível (feixe duplo; Hitachi U-2010, EUA). As concentrações de compostos fenólicos totais nos vários extratos foram determinadas com base na curva padrão $y=122,62x-0,0263$ ($r^2=0,9955$) em termos de gramas por litro de equivalentes de ácido gálico (GAE). Os resultados finais foram expressos em mg EAG por grama de extrato seco. Todas as determinações foram efetuadas em triplicado.

3.5.1.3 Identificação e caracterização estrutural de antocianinas presentes nos extratos

A identificação e caracterização estrutural de antocianinas presentes num extrato foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) acoplada a espectrometria de massa (MS). A cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massa (LC-MS), fornece informação acerca da massa molecular dos compostos enquanto os espectros MS/MS fornecem detalhes estruturais baseados em fragmentos característicos. A caracterização estrutural da antocianina exige, na ausência de padrões analíticos, o recurso a ensaios de espectrometria de massa de alta resolução (HRMS e HRMS/MS), de forma a medir com exatidão os valores da relação massa/carga (m/z), que fornecem informação valiosa para a formulação de proposta de fórmula iônica das antocianinas em identificação.

A antocianina é uma forma glicosídica; a análise do espectro MS/MS permite identificar qual a aglicona (antocianidina) presente na estrutura, o tipo e posição dos grupos glicosídeos acoplados à antocianina, bem como a presença de outros substituintes, nomeadamente grupos compostos fenólicos.

Alíquotas de 10 µL dos extratos foram inicialmente analisadas num sistema LC-MS composto por um HPLC Ultimate 3000RS com Detetor de Matriz de Díodos (DAD) acoplado a um espectrómetro de massa LCQ Fleet com um analisador armadilha de iões quadrupolar e fonte de ionização ESI (Thermo Scientific, CA, USA). O varrimento completo foi efetuado no modo ESI positivo, na gama 100-1500 m/z. O sistema DAD foi monitorizado na gama entre 220 e 700 nm, tendo sido registados os espectros UV/VIS a 520, 320 e 280 nm.

A identificação e caracterização estrutural das antocianinas foi efetuada com um sistema UHPLC Elute acoplado a um espectrómetro de massa de alta resolução QqTOF Impact II (Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha), em interface com uma fonte ESI a operar em modo positivo. Os parâmetros otimizados do espectrómetro foram os seguintes: *end plate offset*: 500 V; voltagem do capilar: +4,5 kV; gás de nebulização (N₂): 2,8 bars; gás de secagem (N₂): 8 Lmin⁻¹; temperatura de secagem: 200 °C. A calibração do analisador TOF foi efetuada com uma solução de formato de sódio 10 mM, introduzida na fonte de iões através de uma válvula de seis portas com um *loop* de 20 µL, no início de cada análise. Os espectros de massa foram adquiridos no modo dependente de dados (DDA) numa gama de massas entre 100-1500 m/z, com uma taxa de aquisição de 3 Hz, utilizando um método dinâmico com um tempo de ciclo fixo de 3 s. A configuração e controle da interface LC/MS foi efetuada pelo *software* CompassHystar e a aquisição dos dados pelo Data Analysis 4.4 (Bruker Daltonics).

A separação cromatográfica foi realizada com uma coluna Kinetex C18 (150 x 2,1 mm; tamanho da partícula 2,6 µm; Phenomenex, USA), usando um gradiente de eluição de 0,1 % (v/v) ácido fórmico em água (fase móvel A) e metanol (fase móvel B), e um fluxo de 250 µL/min. As condições de eluição foram as seguintes: 0-0,5 min, isocrático 5% B; 0,5-14,0 min, gradiente linear até 80% B; 14-15 min, gradiente linear até 100% B; 15-18 min isocrático 100% B; 18-20 min, gradiente linear até 5 % B e com 5 min para reequilíbrio da coluna A coluna cromatográfica e o amostrador foram mantidos a uma temperatura de 35 °C e 8 °C, respetivamente.

3.5.2 Avaliação das atividades biológicas

Os extratos das diferentes matrizes vegetais foram avaliados *in vitro* relativamente à capacidade antioxidante, através dos métodos FRAP, DPPH, e à atividade antidiabética utilizando a inibição das enzimas α-amilase e α-glucosidase.

3.5.2.1 Capacidade antioxidante

3.5.2.1.1 Método de captação de radicais livres

O método de captação de radicais livres utilizando o DPPH foi realizado de acordo com o procedimento descrito por Kondo *et al.* (2004), com ligeiras modificações. Resumidamente, um volume de 0,1 mL de cada extrato de material corante foi adicionado em diferentes concentrações a 2 mL de 0,07 mmol L⁻¹ DPPH em 950 g L⁻¹ de etanol. As misturas foram agitadas e permaneceram por 60 min à temperatura ambiente no escuro. A absorvância das amostras foi medida a 517 nm, utilizando um espectrofotômetro UV-visível (feixe duplo; Hitachi U-2010, Cincinatti, Illinois, EUA). A absorção de uma amostra em branco contendo a mesma quantidade de etanol e solução de DPPH atuou como controle negativo. Os resultados da atividade antioxidante foram determinados com base na curva padrão $y=0,0008x+0,0345$ ($r^2=0,9953$) realizada com diferentes concentrações de trolox, tendo os resultados sido expressos em mmol equivalentes de trolox (TE) por grama de extrato seco. Todas as determinações foram efetuadas em triplicado.

3.5.2.1.2 Atividade antioxidante pelo método de redução do ião ferro

A atividade antioxidante pelo método de redução do ião ferro (FRAP) mede a formação de um composto Fe²⁺-tripiridiltriázina de cor azul a partir da forma oxidada incolor Fe³⁺ pela ação de antioxidantes doadores de elétrons. O ensaio FRAP foi efetuado utilizando uma metodologia modificada de Deighton *et al.* (2000). De forma resumida, o reagente FRAP foi preparado com 1 mmol L⁻¹ de TPTZ e 2 mmol L⁻¹ de cloreto férrico em acetato de sódio 0,25 mol L⁻¹ (pH 3,6). Os extratos diluídos (200 µL) foram misturados com 1,8 mL de reagente FRAP, deixados em repouso durante 4 minutos à temperatura ambiente (20 °C), e a absorvância do complexo azul foi monitorizada a 593 nm e determinada em relação a um branco de água, utilizando um espectrofotômetro UV-visível (feixe duplo; Hitachi U-2010). Foi preparada uma curva padrão $y=0,0218x+0,0767$ ($r^2=0,9933$) utilizando diferentes concentrações de sulfato de ferro. Os valores FRAP são apresentados como mmol Fe²⁺ por grama de extrato seco (poder redutor férrico). Todas as determinações foram efetuadas em triplicado.

3.5.2.2 Avaliação da atividade antidiabética

A atividade antidiabética foi avaliada através da avaliação do potencial dos extratos para inibir as enzimas digestivas de hidratos de carbono α -amilase e α -glucosidase.

3.5.2.2.1 Ensaio de inibição da α -amilase

O ensaio de inibição da α -amilase foi efetuado de acordo com o procedimento descritos por Bernfeld (1995) e Ferron *et al.* (2020). Assim, os extratos de casca de rabanete, cenoura preta e polpa e casca de batata-doce roxa foram dissolvidos em água ($20 \mu\text{g mL}^{-1}$) e depois diluídos para concentrações que variaram de 2,5 a $18 \mu\text{g mL}^{-1}$. O extrato de sorgo foi dissolvido em etanol:água (50 %, v/v) ($10 \mu\text{g mL}^{-1}$) e diluído para concentrações que variaram de 2 a $9 \mu\text{g mL}^{-1}$. Para o ensaio, $100 \mu\text{L}$ de α -amilase ($0,5 \text{ mg mL}^{-1}$ em tampão fosfato de sódio 0,02 M, pH 6,9, 6,7 mM NaCl) e $100 \mu\text{L}$ de cada concentração de extrato foram incubados a 37°C por 10 min. Em seguida, foram adicionados $100 \mu\text{L}$ de suspensão de amido (1% m/v em tampão de fosfato de sódio 0,02 M, pH 6,9, 6,7 mM NaCl) e as misturas foram novamente incubadas a 37°C durante 10 min. Em seguida, foram adicionados $200 \mu\text{L}$ de reagente de ácido 3,5-dinitrosalicílico (20 mL de DNS 96 mM, 8 mL de tartarato de potássio e sódio tetra-hidratado em 5,315 M em NaOH 2 M e 12 mL de água) e os tubos foram fervidos num bloco de aquecimento (Bioblock Scientific Code 92607) a 100°C durante 15 minutos. Em seguida, as misturas foram arrefecidas num banho de gelo, foram adicionados 2 mL de água destilada e a absorvância foi lida a 530 nm num espectrofotómetro UV-Vis (SPEKOL 1500, Analytik Jena, Alemanha). As misturas sem extratos de plantas foram utilizadas como controlos negativos e as misturas sem α -amilase foram utilizadas como branco das amostras. Foram utilizadas concentrações crescentes de acarbose (5,0 - $100,0 \mu\text{g/mL}$) como controlo positivo.

A taxa de inibição da enzima foi calculada de acordo com a seguinte equação:

$$\% \text{ Inibição} = \left(1 - \left(\frac{\text{Abs}_A - \text{Abs}_B}{\text{Abs}_{CN}} \right) \right) * 100$$

Em que Abs_{CN} é a absorvância do controlo negativo, Abs_A a absorvância da amostra e Abs_B a absorvância média dos brancos das amostras.

Os valores foram avaliados em triplicado e os resultados foram expressos como a concentração final (mg mL^{-1}), na mistura de reação, que reduziu a atividade enzimática em 50% (IC_{50}). Os dados são apresentados como médias \pm desvios-padrão.

3.5.2.2.2 Ensaio de inibição da α -glucosidase

O ensaio da α -glucosidase foi realizado de acordo com o procedimento descrito por Rouzbehan *et al.* (2017). Os extratos foram primeiro dissolvidos em água até uma concentração de 5 mg mL^{-1} e depois diluídos para concentrações que variaram entre 0,2 e $2,0 \text{ mg mL}^{-1}$. A α -

glucosidase (6,25 unidades mL⁻¹) e o 4-nitrofenil- α -D-glucopiranosido (2,5 mM) foram preparados em tampão fosfato de sódio 0,1 M a pH 6,9. Foram preparadas misturas de reação contendo 5 μ L de α -glucosidase, 125 μ L de tampão fosfato (pH 6,9, 0,1 M) e 20 μ L das diferentes concentrações de extratos numa microplaca de 96 poços (Greiner Bio-One, Rainbach im Mühlkreis, Áustria). Incubaram-se então as placas durante 15 min a 37 °C. Em seguida, foram adicionados 20 μ L de 4-nitrofenil- α -D- glucopiranosido e as placas foram incubadas durante mais 15 minutos, a 37 °C. Para parar as reações, foram adicionados 80 μ L de Na₂CO₃ 0,2 M em cada poço. A absorvância foi medida num leitor de microplacas (FLUOstar® Omega Plate Reader, BMG Labtech, Ortenberg, Alemanha) a 405 nm. As misturas de reação sem extratos foram utilizadas como controlos negativos e as misturas de reação sem enzima foram utilizadas como brancos das amostras. Concentrações crescentes de acarbose (80-980 μ g mL⁻¹) foram utilizadas como controlo positivo. A atividade inibitória dos extratos foi calculada de acordo com a seguinte equação:

$$\% \text{ Inibição} = \frac{(Abs_{CN} - (Abs_A - Abs_B)) * 100}{Abs_{CN}}$$

Em que Abs_{CN} é a absorvância do controlo negativo, Abs_A é a absorvância da amostra e Abs_B é a absorvância dos brancos das amostras. Os valores foram avaliados em quadruplicado e os resultados foram expressos como a concentração final (mg mL⁻¹) de extrato na mistura de reação, que reduz a atividade enzimática em 50 % (IC₅₀). Os dados são apresentados como médias \pm desvios-padrão.

3.6 Revestimentos corantes para confeitaria

A formulação de revestimentos poliméricos coloridos à base de antocianinas e 3DXA, para aplicação em produtos de confeitaria envolveu a seleção de corantes roxos (casca de rabanete, cenoura preta, casca e polpa de batata-doce roxa e sorgo) e materiais poliméricos (gomas de alfarroba e arábica) para aplicação em xarope de açúcar. As concentrações dos corantes foram ajustadas de acordo com a compatibilidade e as características desejadas para as amêndoas de chocolate (Tabela 1). O controlo utilizado foi um corante comercial de composição desconhecida. A quantidade de corantes a adicionar foi selecionada, com base na mesma absorção (Abs=1), a 510 nm para as antocianinas e 420 nm para as 3-DXA, na varredura do espectro UV-Vis. Os corantes foram adicionados aos materiais poliméricos e ao xarope de açúcar a 50 °C. As soluções foram homogeneizadas no ultra-turrax (T25, Janke & Kunkel) a 8000 rpm durante 5 minutos.

Tabela 1: Matérias corantes e polímeros utilizados na preparação de revestimentos poliméricos de cor roxa

Material	Quantidade (g)	Material polimérico	Quantidade (g)	Solução	Quantidade (mL)
Rabanete (R)	0,1	Goma arábica (GA)	0,2	Calda de açúcar	40
		Goma de alfarroba (L)			
		Sem revestimento (SR)			
Casca da batata-doce roxa (CBD)	0,1	Goma arábica (GA)	0,2	Calda de açúcar	40
		Goma de alfarroba (L)			
		Sem revestimento (SR)			
Polpa da batata-doce roxa (BD)	0,25	Goma arábica (GA)	0,2	Calda de açúcar	40
		Goma de alfarroba (L)			
		Sem revestimento (SR)			
Cenoura preta (CR)	0,05	Goma arábica (GA)	0,2	Calda de açúcar	40
		Goma de alfarroba (L)			
		Sem revestimento (SR)			
Sorgo (S)	0,05	Goma arábica (GA)	0,2	Calda de açúcar	40
		Goma de alfarroba (L)			
		Sem revestimento (SR)			
Corante fábrica (FN)	0,05	Goma arábica (GA)	0,2	Calda de açúcar	40
		Goma de alfarroba (L)			
		Sem revestimento (SR)			

3.6.1 Termoestabilidade de revestimentos corantes para confeitaria

A estabilidade das formulações de revestimentos poliméricos coloridos foi avaliada à temperatura de 90 ± 5 °C durante 75 min. Amostras (7 mL) das formulações indicadas na Tabela 1 foram colocadas em tubos de ensaio (20 mL) e seladas hermeticamente. Um corante comercial foi utilizado como controle nos testes de estabilidade à temperatura. Os tubos foram colocados na estufa (Ventilcell 111, Grupo MMM) e duplicados foram retirados a cada 15 minutos e imediatamente arrefecidos num banho de gelo para parar a degradação térmica. Os ensaios foram efetuados em duplicados.

As medições de absorvância das formulações dos materiais corantes foram utilizadas para determinar os parâmetros cinéticos de acordo com Serrano *et al.* (2023) e estimar a estabilidade das antocianinas e das 3-DXAs durante o aquecimento. As constantes de velocidade de reação de primeira ordem (K_d), os tempos de meia-vida ($t_{1/2}$), ou seja, o tempo necessário

para que ocorra 50% da degradação das antocianinas e das 3-DXAs, e a percentagem de degradação foram calculadas pelas seguintes equações:

$$\ln\left(\frac{C_t}{C_0}\right) = -k \times t$$
$$t_{1/2} = -\ln(0,5) \times k^{-1}$$
$$\% \text{ de degradação} = \frac{t \times 50\%}{T_{1/2}}$$

Sendo C_0 a concentração inicial das antocianinas ou 3-DXAs e C_t a concentração de antocianinas ou 3-DXAs após t minutos de aquecimento a uma dada temperatura.

A equação da velocidade integrada para uma reação de segunda ordem é determinada a partir de dados experimentais, podendo ser calculada a partir da velocidade inicial da reação e das concentrações iniciais das antocianinas ou 3-DXAs (Sousa *et al.*, 2020). A equação é representada como:

$$\frac{1}{[A]_t} = kt + \frac{1}{[A]_0}$$

Em que k é a constante de velocidade e $[A]_t$ é a concentração das antocianinas ou 3-DXAs após t minutos de aquecimento a uma dada temperatura, e $[A]_0$ é a concentração inicial das antocianinas ou 3-DXAs.

3.6.2 Revestimentos de confeitaria de cor roxa: efeitos da adição de corante azul

As formulações de revestimentos poliméricos, de cor roxa, à base de antocianinas e 3-DXA, com adição de espirulina como corante azul (Tabela 2) e sem adição de corante azul (Tabela 1), foram aplicadas em quadrados de 5 cm x 5 cm de pastas sólidas de açúcar de cor branca. As pastas foram pinceladas e secas numa estufa a 30 ± 5 °C, este procedimento foi repetido três vezes com intervalos de 30 minutos. Em seguida, as amostras foram secas durante 72 horas à mesma temperatura. A cor das pastas sólidas de açúcar foi medida por colorimetria, como indicado no ponto 3.6.3, e comparada com a cor de dois tipos de amêndoas comerciais de cor roxa; umas coloridas com corantes naturais "clean label" e outras coloridas com corantes sintéticos. Os ensaios foram efetuados em duplicado para todas as amostras.

Tabela 2: Matérias corantes e polímeros utilizado na preparação de revestimentos poliméricos de cor roxa, com a adição de corante azul.

Material	Quantidade (g)	Material polimérico	Quantidade (g)	Solução	Quantidade (mL)	Azul de espirulina (g)
Rabanete (R)	1,05	Goma de alfarroba (L)	0,3	Calda de açúcar	50	0,34
Casca da batata-doce roxa (CBD)	1,05	Goma de alfarroba (L)	0,3	Calda de açúcar	50	0,15
Polpa da batata-doce roxa (BD)	1,05	Goma de alfarroba (L)	0,3	Calda de açúcar	50	0,16
Cenoura preta (CR)	1,05	Goma de alfarroba (L)	0,3	Calda de açúcar	50	0,16
Corante fábrica (FN)	1,05	Goma de alfarroba (L)	0,3	Calda de açúcar	50	0,25

3.6.3 Análise por colorimetria

A análise colorimétrica foi efetuada de acordo com Serrano *et al.* (2023). As propriedades de cor no sistema CIELAB, a luminosidade (L^*), a cromaticidade vermelho-verde (a^*) e a cromaticidade amarelo-azul (b^*) foram medidas nas amostras líquidas usando um colorímetro Chroma meter CR-400 (Konica Minolta, Japão) e a água foi usada como referência padrão. As medidas de cor das amostras sólidas foram determinadas com um espectrofotômetro CS-5 CHROMA SENSOR (Datacolor International), utilizando um iluminante com geometria 45/0, luz D65, ângulo de 10° e com uma componente especular incluída, e a cor branca CIELAB foi utilizada como referência padrão. A diferença de cor entre as amostras foi calculada utilizando a seguinte equação:

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2}$$

Onde os valores de ΔL^* , Δa^* Δb^* correspondem à diferença de cor inicial (T_0) e a cor final (T_5) após os ensaios de termodegradação nos revestimentos. Os ensaios para avaliar a variação da cor e a degradação cinética foram realizados em duplicado.

Os valores CIELAB das amostras foram convertidos em RGB utilizando o software EASY RGB (easyrgb.com).

3.7 Métodos estatísticos

Os resultados foram submetidos a uma análise de variância (ANOVA) unidirecional, utilizando testes de comparação múltipla (Tukey HSD) para identificar diferenças entre grupos. As análises estatísticas foram testadas a um nível de probabilidade de 0,05. O intervalo, a média e o desvio-padrão relativo (RSD) de cada parâmetro foram calculados utilizando o software StatisticaTM 12.0.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Seleção do melhor método de extração das antocianinas e das 3-DXA

A Figura 9 mostra o teor total de antocianinas (TAT) obtido para os extratos de matrizes vegetais efetuados a pH 3 e pH 8, após a leitura da absorvância nos comprimentos de onda de 530 nm, 546 nm e 580 nm, correspondentes às cores vermelha, rosa e roxa, respetivamente.

Para ambos os valores de pH, os extratos de casca de batata-doce (CBD) apresentaram o TAT mais elevado, enquanto os extratos de polpa de batata-doce roxa (BD) apresentaram o mais baixo. Foram observadas diferenças significativas ($p > 0,05$) no TAT para todas as amostras a pH 3 (Figura 9), bem como a pH 8, exceto para o CBD. A extração a pH ácido resultou num TAT mais elevado para todos os extratos de amostras, com exceção do extrato de cenoura preta (CR).

Os valores de TAT indicados por Ekaputra & Pramitasari (2020) para extratos aquosos de polpa de batata-doce seca são inferiores aos apresentados na Figura 9. Esta discrepância pode ser devida à utilização de ultrassons (US), que pode provocar a rutura das paredes celulares da polpa e da casca da batata-doce, libertando assim mais antocianinas.

Wentian *et al.* (2016) verificou que a extração de antocianinas das cascas de rabanete com hexano acidificado é mais eficiente do que a extração aquosa acidificada com ácido cítrico. No entanto, o hexano é prejudicial para a saúde humana (DGS, 2018).

Embora Tucker & Doğan (2018) tenham observado que a extração de antocianinas em pH ácido é mais estável do que em pH alcalino, obtiveram valores TAT mais baixos e uma cor mais vermelha. Em contrapartida, a extração a pH alcalino resultou numa cor mais próxima do roxo.

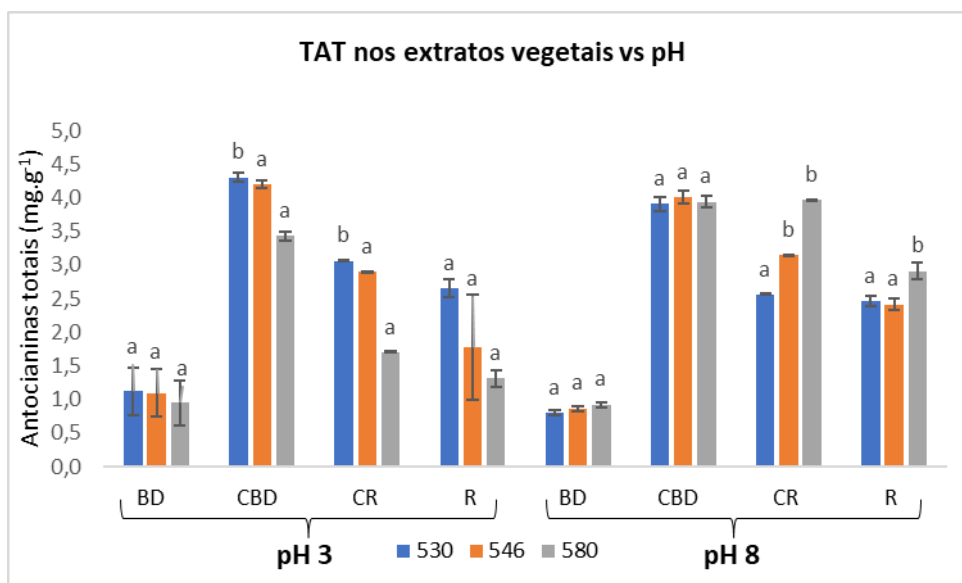


Figura 9: TAT dos extratos de polpa (BD) e casca (CBD) da Batata-doce roxa, casca de rabanete (R) e de cenoura preta (CR) a pH 3 e pH 8 obtidos a 530 nm, 546 nm e 580 nm. Os valores são apresentados com a média \pm desvio padrão de duas experiências paralelas. Em cada amostra e para cada comprimento de onda, letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).

A figura 10 apresenta os valores de 3-DXA obtidos a partir de folhas de sorgo (S) utilizando dois métodos de extração: maceração à temperatura ambiente e extração assistida por US. Os resultados indicaram um teor mais elevado de 3-DXA com o método de extração assistida por US. Luo *et al.* (2018) apresentaram resultados semelhantes, sugerindo que a utilização de US provoca a ruptura das paredes celulares do sorgo, libertando mais 3-DXA. No entanto, uma solução aquosa a pH 9 não produziu uma cor roxa, como observado por Sigurdson *et al.* (2018). Esta discrepância pode ser atribuída a diferenças no método de extração, diferença de variedade de sorgo utilizada bem como a diferentes condições edafoclimáticas que afetam as plantas, conduzindo a diferentes perfis de metabolitos secundários.

Com base nos resultados obtidos, foram selecionados os seguintes métodos para preparar os extratos corantes finais: extrações assistidas por US a pH 3 para todas as amostras, com a exceção de CR e S, em que foram selecionadas as extrações efetuadas a pH 8 e pH 10, respectivamente. Estes extratos finais foram caracterizados química e funcionalmente e aplicados no desenvolvimento de revestimentos corantes em confeitaria.

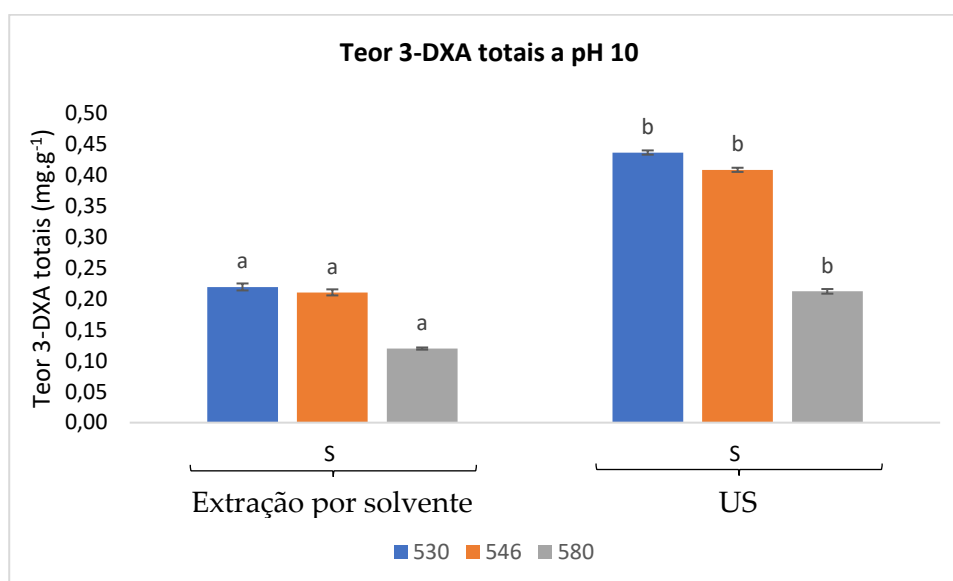


Figura 10: Teor de 3-DXA totais para os extratos do sorgo (S) a pH 10 obtidos a 530 nm, 546nm e 580 nm. Os valores são apresentados com a média \pm desvio padrão de duas experiências paralelas. Para cada comprimento de onda, letras indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).

4.2 Avaliação do teor de antocianinas e compostos fenólicos totais nos extratos corantes

Os resultados do teor de compostos fenólicos totais (CFT) e do teor de antocianinas totais (TAT) dos extratos aquosos corantes preparados a partir das várias matrizes vegetais em estudo estão representados na Tabela 3.

Tabela 3: Teor de antocianinas (TAT) e compostos fenólicos totais (CFT), em peso seco (PS), dos extratos aquosos de polpa (BD) e casca (CBD) de batata-doce roxa, cenoura preta (CR), casca de rabanete (R), folhas de sorgo (S) e do corante comercial natural (FN). Os valores apresentados correspondem a valores médios \pm desvio-padrão.

Amostras	CFT (mg GAE g ⁻¹) PS	TAT (mg g ⁻¹) PS
Polpa de batata-doce roxa (BD)	6,78 \pm 0,16 ^a	1,42 \pm 0,27 ^b
Casca de batata-doce roxa (CDB)	13,94 \pm 1,62 ^a	1,39 \pm 0,09 ^b
Cenoura preta (CR)	31,70 \pm 0,42 ^b	0,56 \pm 0,03 ^a
Casca de rabanete (R)	50,75 \pm 1,36 ^c	4,54 \pm 0,10 ^d
Folhas de sorgo (S)	39,03 \pm 4,37 ^b	0,39 \pm 0,05 ^a
Corante comercial natural (FN)	74,53 \pm 3,69 ^d	1,72 \pm 0,02 ^c

GAE) Equivalentes de ácido gálico. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).

Na Tabela 3 verifica-se que o conteúdo total de antocianina (TAT) dos extratos vegetais mostrou diferenças significativas ($p < 0,05$). O extrato R teve o maior TAT ($4,54 \pm 0,10 \text{ mg g}^{-1}$), enquanto S teve o menor ($0,39 \pm 0,05 \text{ mg g}^{-1}$). Os resultados obtidos com os extratos CBD e BD são inferiores aos relatados por Ekaputra & Pramitasari (2020) para extratos de batata-doce ($5,23 \pm 0,07 \text{ mg}$ de cianidina-3-glucósido g^{-1}). Kayodé *et al.* (2011) encontrou valores de 3-DXA entre 13,7 e 35,5 mg de cianidina-3-glucósido g^{-1} em extractos metanólicos de sorgo. No entanto, estes valores não são diretamente comparáveis aos valores de TAT para o extrato S apresentados na Tabela 3, uma vez que, no presente trabalho o cálculo foi efetuado utilizando o coeficiente de extinção molar (ϵ) da apigeninidina, o principal composto identificado no sorgo.

Para o extrato de CR, os valores de TAT são inferiores aos comunicados em estudos anteriores, como o de Nistor *et al.* (2020), que obteve 0,18 mg de cianidina-3-glucósido g^{-1} utilizando extração aquosa.

O conteúdo fenólico total (CFT) dos extratos vegetais é apresentado na Tabela 3. O corante comercial natural (FN) apresentou o maior CFT ($74,5 \pm 3,7 \text{ mg GAE g}^{-1}$), enquanto o extrato BD apresentou o menor ($6,78 \pm 0,16 \text{ mg GAE g}^{-1}$). Não foram observadas diferenças significativas ($p < 0,05$) no CFT para os extratos CBD e BD ou para os extratos CR e S. Estes resultados são consistentes com os relatados por Ekaputra & Pramitasari (2020), que encontraram valores de CFT de $12,81 \pm 0,01 \text{ mg GAE g}^{-1}$ em extratos aquosos acidificados de batata-doce.

Os resultados de CFT para S são semelhantes aos relatados por Tugli *et al.* (2019), que variaram de 7,30 a 107,85 mg GAE g^{-1} usando extração ácida. Os valores de CFT obtidos para a casca de R utilizando a extração enzimática corroboram os da literatura, com Rani *et al.* (2021) a reportar valores de CFT entre 40,27 e 74,78 mg GAE g^{-1} . Chorol (2019) utilizaram metanol e acetona para a extração da casca de rabanete, obtendo valores de CFT inferiores (1,7 e 39,4 mg GAE g^{-1}).

4.3 Identificação e caracterização estrutural das antocianinas nos extratos corantes

Na tabela 4 apresenta-se a estrutura molecular e os grupos funcionais mais representativos das antocianinas aciladas identificadas nos extratos em análise.

No caso das antocianinas, os espectros de UV-VIS obtidos na análise HPLC com um detetor de matriz de díodos (DAD) fornecem informação adicional para a sua identificação. O

espectro de UV-VIS de uma antocianina apresenta duas bandas de absorção características, uma banda entre 260-280 nm (região UV), e outra banda na região VIS entre 490-550 nm. Se o açúcar presente na estrutura estiver acilado, o espectro apresenta uma banda complementar entre os 310-340 nm. Os valores de λ_{max} listados na Tabela 4 claramente indicam que nos extratos analisados (exceto sorgo) as antocianinas maioritárias se encontram na forma acilada. Esta informação é suportada pelos resultados ESI(+)-MS e ESI(+)-MS/MS (Tabela 4).

Na Figura 11 apresentam-se os cromatogramas de DAD dos extratos em análise, extraídos para um λ_{max} entre 450 e 550 nm. Os cromatogramas dos extratos BD e CBD claramente indicam que ambos apresentam idêntica composição de antocianinas aciladas. O cromatograma do extrato CBD apresenta um sinal 10x superior ao do extrato BD, o que reflete o facto do extrato CBD ter praticamente o dobro da concentração do extracto BD. De acordo com a lei de Lambert-Beer a absorvância de uma amostra é proporcional à sua concentração, daí a intensidade do sinal do cromatograma da amostra CBD ser superior.

Os picos cromatográficos atribuídos às antocianinas identificadas no extrato R apresentam um valor de absorvância na zona do visível mais baixo do que os observados nas antocianinas dos outros extratos. Este dado suporta a identificação da aglicona pelargonidina. Esta aglicona contém apenas um grupo hidroxilo na sua estrutura (Figura 11), o que leva a um valor de absorvância mais baixo (515 nm) devido à ocorrência de um desvio batocrómico. No extracto de sorgo foi identificado um pico com uma absorvância na zona dos azuis (λ_{max} 472 nm) que no espectro de massa gerou um catião com m/z 255,1 atribuído à apigeninidina, um dos principais pigmentos do sorgo que pertence ao grupo das 3- desoxiantocianidinas (Serano, 2022).

Na figura 12 ilustra-se o resultado da análise HPLC-DAD e dos dados obtidos nos ensaios de espectrometria de massa tandem de alta resolução. Para cada tempo de retenção, existe uma correspondência entre cada pico observado no cromatograma DAD e no cromatograma iónico. Cada ião precursor identificado (valor m/z) foi isolado no analisador de massa de alta resolução e fragmentado, originando os espectros tandem, os espectros ESI(+)-MS/MS. A partir da diferença entre os valores m/z do ião precursor isolado e dos iões fragmentos gerados no ensaio tandem é possível identificar a presença dos grupos funcionais presentes na estrutura. Por exemplo, no espectro 1^o da Figura 12, a diferença entre os picos m/z 449 e 287 corresponde a uma perda de 162 u, indicando a presença de um glucósido na estrutura.

Da análise dos espectros de DAD e de espectrometria de massa tandem obtidos para todos os extratos foi possível identificar a aglicona presente em cada ião precursor bem como a presença dos grupos glicósidos e fenólicos presentes na estrutura de antocianina. Da conjugação dos dados obteve-se uma fórmula iónica para cada catião antocianina, e uma proposta de identificação por comparação com dados da literatura (Otsuki *et al.*, 2002; Sun *et al.*, 2012;

Oleinitis *et al.*, 2019; Coelho de Jesus *et al.*, 2021; Su *et al.*, 2019; Koley *et al.*, 2020; Serrano, 2022). Estes dados estão sumarizados na Tabela 4.

Tabela 4: Identificação das antocianinas aciladas maioritárias presentes nos extratos de polpa de batata-doce roxa (BD), casca de batata-doce roxa (CBD), cenoura preta (CR), casca de rabanete (R), folhas de sorgo (S) e corante comercial natural (FN).

Tr (min)	λ max (nm)	[M] ⁺ [m/z; fórmula iônica]	MS/MS [m/z; atribuição]	Composto provável	Extrato
6,6	268;514	787.2300; [C ₃₄ H ₄₃ O ₂₁] ⁺	301.1; [C ₁₆ H ₁₃ O ₆] ⁺	Pn-3-sopho-5-glu	BD; CBD
7,1	274;472	255.0652; [C ₁₅ H ₁₁ O ₄] ⁺	.	Apigeninidina	S
7,6	284;326	581.1511; [C ₂₆ H ₂₉ O ₁₅] ⁺	287.1; [C ₁₅ H ₁₁ O ₆] ⁺	Ci-3-pentosil-glu	CR
7,8	260;330 518	893.2359; [C ₄₀ H ₄₅ O ₂₃] ⁺	449.1; [C ₂₁ H ₂₁ O ₁₁] ⁺ 287.1; [C ₁₅ H ₁₁ O ₆] ⁺	Ci-3- <i>p</i> -hidroxi-benzoil-sopho-5-glu	BD; CBD
7,9	286;330 532	949.2622; [C ₄₃ H ₄₉ O ₂₄] ⁺	287.1; [C ₁₅ H ₁₁ O ₆] ⁺	Ci-3-pentosil-hexosil-sinapil-hexoside	CR
8,1	284;328 528	919.2521; [C ₄₂ H ₄₇ O ₂₃] ⁺	287.1; [C ₁₅ H ₁₁ O ₆] ⁺	Ci-3-xilosil-feruloil-glucosil-glu	CR
8,6	258;332 520	907.2517; [C ₄₁ H ₄₇ O ₂₃] ⁺	463.1; [C ₂₂ H ₂₃ O ₁₁] ⁺ 301.1; [C ₁₆ H ₁₃ O ₆] ⁺	Pn-3- <i>p</i> -hidroxi-benzoil-sopho-5-glu	BD; CBD
9,7	282;326 528	949.2631; [C ₄₃ H ₄₉ O ₂₄] ⁺	449.1; [C ₂₁ H ₂₁ O ₁₁] ⁺ 287.1; [C ₁₅ H ₁₁ O ₆] ⁺	Ci-3-feruloil-sopho-5-glu	BD; CBD
9,8	286;322 508	919.2679; [C ₄₂ H ₄₇ O ₂₃] ⁺	433.1; [C ₂₁ H ₂₁ O ₁₀] ⁺ 271.1; [C ₁₅ H ₁₁ O ₅] ⁺	Pg-3- cafeoil-sopho-5-glu	R
10,2	288;328 528	1069.2829; [C ₅₀ H ₅₃ O ₂₆] ⁺	463.1; [C ₂₂ H ₂₃ O ₁₁] ⁺ 301.1; [C ₁₆ H ₁₃ O ₆] ⁺	Pn 3-cafeoil- <i>p</i> -hidroxi-benzoil-sopho-5-glu	BD; CBD; FN
10,4	288;328 528	1125.3066; [C ₅₃ H ₅₇ O ₂₇] ⁺	963.2; [C ₄₇ H ₄₇ O ₂₂] ⁺ 463.1; [C ₂₂ H ₂₃ O ₁₁] ⁺ 301.1; [C ₁₆ H ₁₃ O ₆] ⁺	Pn 3-cafeoil-feruloil-sopho-5-glu	FN
10,5	284;316 508	903.2562; [C ₄₂ H ₅₇ O ₂₂] ⁺	271.1; [C ₁₅ H ₁₁ O ₅] ⁺	Pg-3- <i>p</i> -cumaroil-sopho-5-glu	R
10,8	290;324 530	1197.2932; [C ₅₅ H ₄₇ O ₃₀] ⁺	949.2; [C ₄₆ H ₄₇ O ₂₂] ⁺ 535.1; [C ₂₄ H ₂₃ O ₁₄] ⁺ 287.1; [C ₁₅ H ₁₁ O ₆] ⁺	Ci-3-cafeoil-feruloil-sopho-5-malonil-glu	FN
10,9	284;316 510	1019.2667; [C ₄₆ H ₅₁ O ₂₆] ⁺	771.2; [C ₃₇ H ₃₉ O ₁₈] ⁺ 519.1; [C ₂₄ H ₂₃ O ₁₃] ⁺ 271.1; [C ₁₅ H ₁₁ O ₅] ⁺	Pg-3-feruloil-sopho-5-malonil-glu	R
11,5	286;320 514	1181.2992; [C ₅₅ H ₅₇ O ₂₉] ⁺	933.2; [C ₄₆ H ₄₅ O ₂₁] ⁺ 519.1; [C ₂₄ H ₂₃ O ₁₃] ⁺ 271.1; [C ₁₅ H ₁₁ O ₅] ⁺	Pg-3-cafeoil-2-cafeoil-sopho-5-glu	R

Tr: Tempo de retenção; Pn: Peonidina; Ci: Cianidina; Pg: Pelargonidina; Sopho: Suforósido; Glu: Glucósido

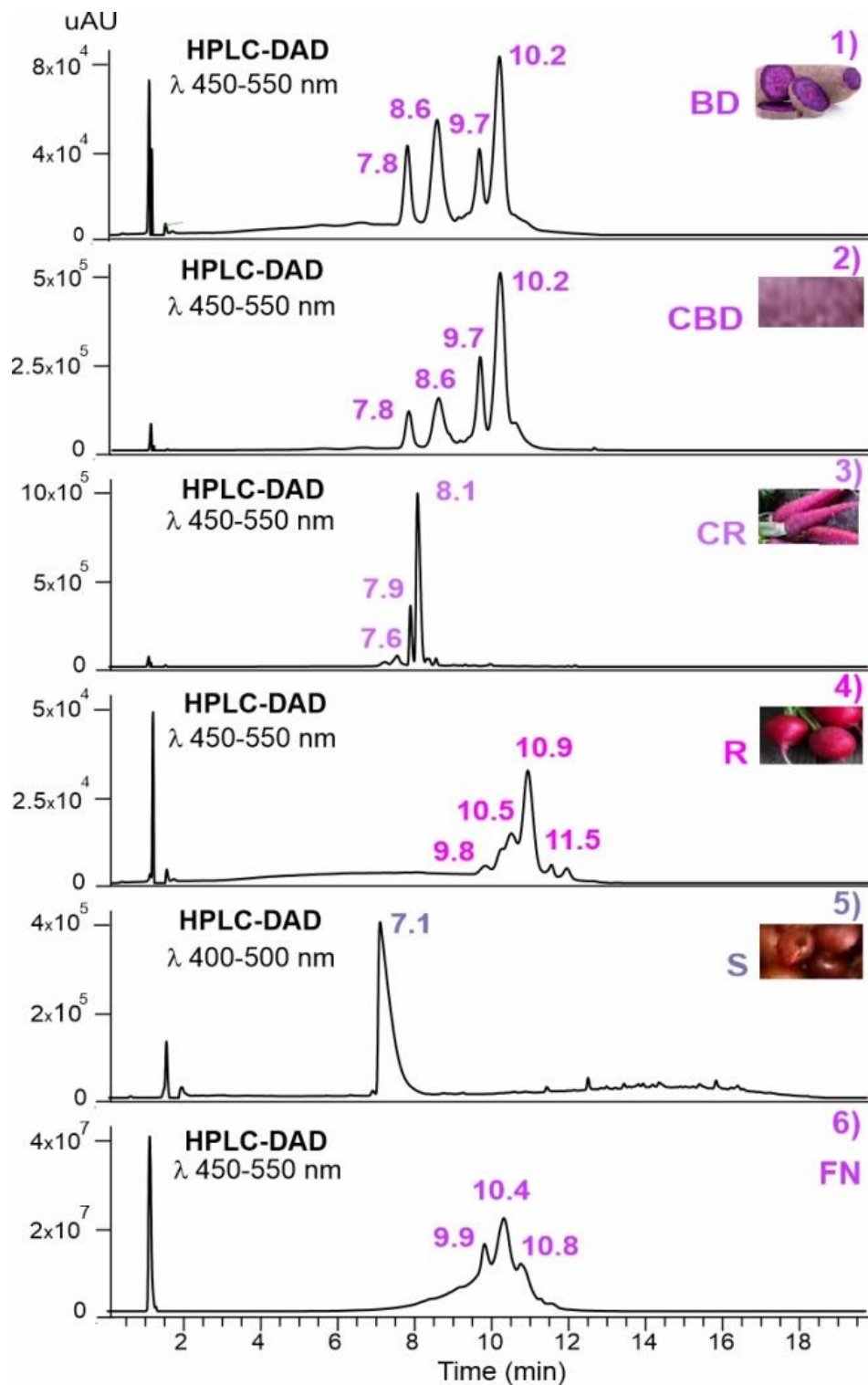


Figura 11: Perfil cromatográfico, obtido entre os 450 e 550 nm, dos extratos de: 1) polpa de batata-doce roxa (BD); 2) casca de batata-doce roxa (CBD); 3) cenoura preta (CR), 4) casca de rabanete (R) e 6) corante comercial natural (FN). O perfil do extrato 5) folhas de sorgo (S) foi traçado entre 400-500 nm.

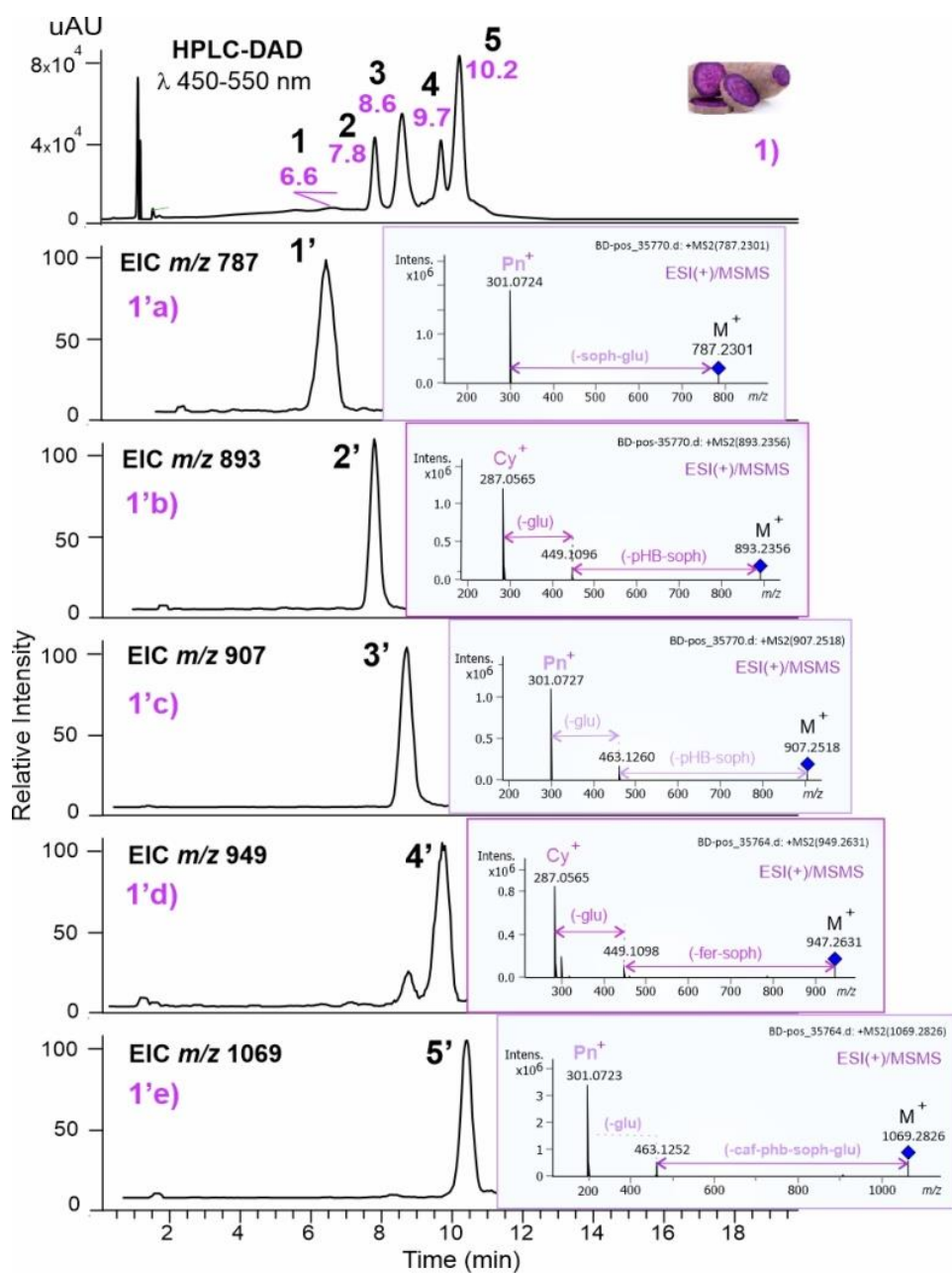


Figura 12: Análise HPLC-DAD-HRMS/MS obtida no modo ESI positivo do extrato de polpa de batata-doce roxa. 1) DAD cromatograma adquirido entre 450-550 nm; cromatogramas iônicos extraídos e respectivos espectros de massa tandem para os cátions precursores: (1'a) m/z 787; 1'b) m/z 893; 1'c) m/z 907; 1'd) m/z 949; 1'e) m/z 1069.

4.4 Avaliação da bioatividade

A análise das propriedades bioativas dos extratos aquosos corantes, preparados a partir das diferentes matrizes vegetais, incluiu a avaliação da atividade antioxidante, determinada pelos métodos DPPH e FRAP, e a avaliação da atividade antidiabética, avaliada pela capacidade de inibição das enzimas α -amilase e α -glucosidase (Tabela 5).

Tabela 5: Atividade antioxidante pelos métodos DPPH e FRAP e atividade antidiabética pelos métodos de inibição das enzimas α -glucosidase e α -amilase, em peso seco (PS), dos extratos aquosos de polpa (BD) e casca (CDB) de batata-doce roxa, cenoura preta (CR), casca de rabanete (R), folhas de sorgo (S) e corante comercial natural (FN).

Amostras	DPPH	FRAP	IC ₅₀ (mg.mL ⁻¹)	IC ₅₀ (mg.mL ⁻¹)
	(mmol ETg ⁻¹)PS	(mmol Fe ²⁺ g ⁻¹)PS	α -amilase	α -glucosidase
Polpa de batata-doce roxa (BD)	0,18 ± 0,006 ^b	96,36 ± 1,91 ^b	2,70 ± 0,08 ^c	n.d.
Casca de batata-doce roxa (CDB)	0,37 ± 0,008 ^d	246,47 ± 0,89 ^c	2,80 ± 0,13 ^{c, d}	n.d.
Cenoura preta (CR)	0,25 ± 0,004 ^c	449,65 ± 0,57 ^e	3,70 ± 0,19 ^e	n.d.
Casca de rabanete (R)	0,31 ± 0,098 ^d	309,10 ± 7,35 ^d	3,00 ± 0,20 ^d	n.d.
Folhas de sorgo (S)	0,22 ± 0,026 ^d	67,89 ± 2,72 ^a	1,40 ± 0,01 ^a	0,120 ± 0,004
Corante comercial natural (FN)	0,056 ± 0,010 ^a	872,80 ± 13,35 ^f	2,40 ± 0,04 ^b	n.d.
Acarbose (controlo positivo)	–	–	0,012 ± 0,001	0,336 ± 0,015

ET) Equivalentes de trolox; n.d.) Não detetável. Os valores são apresentados com a média ± desvio padrão de duas experiências paralelas. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).

A capacidade antioxidante dos extratos foi avaliada pelo ensaio DPPH, que avalia a capacidade de captação de radicais, e pelo ensaio FRAP, que avalia a capacidade redutora. Todos os extratos vegetais apresentaram capacidade antioxidante detetada em ambos os ensaios.

As capacidades antioxidantes dos extratos vegetais diferiram significativamente ($p < 0,05$) entre os ensaios DPPH e FRAP. No ensaio DPPH não foram observadas diferenças significativas ($p > 0,05$) entre os extratos de casca de rabanete, casca de batata-doce e folhas de sorgo. No entanto, o método FRAP revelou diferenças significativas ($p < 0,05$) entre estes extratos.

O extrato de casca de batata-doce roxa exibiu a capacidade antioxidante mais elevada no ensaio do DPPH ($0,37 \pm 0,008$ mmol TE g⁻¹ PS), enquanto o extrato do corante comercial natural apresentou a mais baixa ($0,056 \pm 0,01$ mmol TE g⁻¹ PS). Os resultados podem ser explicados pelas diferentes capacidades das antocianinas com diferentes padrões de acilação (S1) em doar átomos de hidrogénio ou eletrões, o que afeta o seu desempenho no ensaio DPPH. No ensaio FRAP, o extrato FN demonstrou a maior capacidade antioxidante ($872,80 \pm 13,35$ mmol Fe²⁺ g⁻¹), enquanto o extrato S apresentou a menor ($67,89 \pm 2,72$ mmol Fe²⁺ g⁻¹). De um modo geral, os valores de FRAP foram consistentes com o teor de compostos fenólicos totais (Tabela 3), o que se pode explicar pelo facto, dos compostos fenólicos, poderem doar eletrões para reduzir

os íons férricos a íons ferrosos, resultando numa maior capacidade antioxidante no ensaio FRAP.

Os resultados do ensaio DPPH para o extrato de casca de batata-doce roxa são consistentes com os reportados por Pari *et al.* (2024), que reportam valores variando entre $150,00 \pm 0,02$ mg TE g⁻¹ no extrato liofilizado.

O valor de FRAP para o extrato de sorgo efetuado com uma solução alcalina (Tabela 5) foi inferior aos valores descritos por Tugli *et al.* (2019), que realizaram a extração utilizando solventes ácidos.

Os resultados de capacidade antioxidante obtidos através dos métodos DPPH e FRAP para os extratos de casca de rabanete e cenoura preta foram superiores aos reportados na literatura (Beevi *et al.*, 2012; Kang *et al.*, 2016; Rani *et al.*, 2021). Estas discrepâncias podem ser atribuídas aos diferentes solventes e concentrações utilizadas nos ensaios, e ao tipo e estrutura das antocianinas presentes nos extratos, incluindo os seus padrões de acilação, que desempenham um papel crucial na capacidade antioxidante medida pelos métodos DPPH e FRAP. As variações nestes compostos nas diferentes matrizes vegetais podem levar a diferenças nas capacidades antioxidantes observadas.

O controlo da hiperglicemia pós-prandial é um fator importante no tratamento da diabetes tipo 2 (Ofosu *et al.*, 2021). Assim, impedir a absorção de glucose através da inibição das enzimas que hidrolisam de hidratos de carbono α -amilase, responsável pela digestão do amido da dieta, e α -glucosidase, responsável pela hidrólise dos dissacáridos em glucose, poderia potencialmente prevenir a diabetes tipo 2 e as suas complicações (Ofosu *et al.*, 2021; Uuh-Narvaez *et al.*, 2021; Romeiras *et al.*, 2023). De facto, a acarbose e outros inibidores das enzimas digestivas dos hidratos de carbono são normalmente utilizados como medicamentos orais para controlar a diabetes de tipo 2 (Kim *et al.*, 2011).

Todos os extratos inibiram a α -amilase, mas, nas condições testadas, apenas o extrato de sorgo foi capaz de inibir a atividade da α -glucosidase (Tabela 5). Foram observadas diferenças significativas ($p < 0,05$) entre a atividade inibitória da α -amilase dos extratos vegetais, com valores de IC₅₀ a variar entre 1,40 mgmL⁻¹, para o extrato de sorgo, e 3,70 mgmL⁻¹ para o extrato de cenoura preta. Embora todos os extratos tenham mostrado atividade inibidora da α -amilase, todos se revelaram menos eficazes do que a acarbose (controlo positivo).

Os resultados obtidos com o extrato de folhas de sorgo estão de acordo com estudos anteriores que relataram atividades inibidoras da α -amilase e da α -glucosidase de extratos etanólicos a 70% de diferentes génotipos de grãos de sorgo (Kim *et al.*, 2011; Ofosu *et al.*, 2021).

Nesses estudos, e de acordo com os presentes resultados, os extratos de sorgo também apresentaram uma atividade inibidora da α -glucosidase mais forte do que a acarbose. Adicionalmente, Kumari *et al.* (2021) também relatou atividades inibidoras da α -glucosidase de extratos metanólicos de farelo e farinha de seis variedades de sorgo.

Outros autores descreveram também uma atividade inibidora mais pronunciada da α -amilase do que da α -glucosidase para o extrato aquoso de rabanete (Uuh-Narvaez *et al.*, 2020), extratos liofilizados de cenoura preta (Yusuf *et al.*, 2021) e extratos etanólicos a 12% de batata-doce roxa (Chintha *et al.*, 2023).

Sabe-se que vários polifenóis podem inibir as enzimas α -amilase e α -glucosidase, devido à sua capacidade de se ligarem a resíduos de aminoácidos nos locais ativos das enzimas (Kim *et al.*, 2011, Kumari *et al.*, 2021). No entanto, no presente trabalho, a capacidade dos extratos vegetais para inibir as enzimas que hidrolisam os hidratos de carbono correlacionou-se mal com os teores de fenólicos totais ou de antocianinas totais (Tabela 3). Assim, de acordo com estudos anteriores, os resultados obtidos também sugerem que, para a inibição de enzimas digestivas, o tipo de polifenóis é mais significativo do que as quantidades de compostos fenólicos totais (Podsędek *et al.*, 2014). Deste modo, os polifenóis com elevado peso molecular e elevado grau de polimerização parecem apresentar uma maior atividade inibidora da α -glucosidase. Outros fatores, como a classe e subclasses dos compostos fenólicos ou o tipo de unidades de açúcar ligadas às estruturas fenólicas, podem também desempenhar um papel fundamental nas atividades inibitórias dos polifenóis. Além disso, a diversidade de compostos fenólicos presentes nos extratos de plantas pode contribuir de forma sinérgica e/ou antagônica para a inibição da α -amilase e da α -glucosidase (Podsędek *et al.*, 2014 Ofosu *et al.*, 2021).

A atividade inibidora da α -amilase e particularmente da α -glucosidase do extrato de sorgo, sugere que a sua incorporação nos alimentos, possa ser uma estratégia promissora para retardar a digestão dos hidratos de carbono e prevenir a hiperglicemia pós-prandial.

4.5 Avaliação da termoestabilidade dos revestimentos poliméricos coloridos

Os resultados obtidos para a cinética de degradação das formulações de revestimentos poliméricos, de cor roxa, à base de antocianinas e 3-DXA, estão representados na Tabela 6. Verifica-se quanto maior é o tempo de exposição à temperatura elevada, menor é o tempo de meia vida ($t_{1/2}$) das antocianinas e maior são os valores das constantes de degradação (k_d). Os resultados para o $t_{1/2}$ das antocianinas e 3-DXA obtidos para os extratos do corante comercial, natural, sem revestimento (FN-SR) e revestido com goma de alfarroba (FN-L); e para extrato

do corante do sorgo revestido com goma de alfarroba (S-L) apresentam uma diferença significativa ($p > 0,05$) comparativamente com as restantes matérias corantes com e sem revestimento. Não foram observadas diferenças significativas ($p > 0,05$) nas constantes de degradação (k_d) entre os revestimentos com extratos de casca de rabanete com ambas as gomas (R-L e R-GA), o revestimento com corante comercial natural com goma de alfarroba (FN-L) e com extratos de batata-doce roxa sem revestimento (BD-SR e CBD-SR).

Tabela 6: Valores cinéticos para os revestimentos roxos contendo os extratos corantes da polpa (BD) e casca (CBD) da batata-doce roxa, casca de rabanete (R), cenoura preta (CR), sorgo (S) e corante comercial natural (FN), sem revestimento (SR) e com goma arábica (GA) ou goma de alfarroba (L) (média \pm SD). Equações de regressão, coeficiente de regressão (r^2) e valores da constante de degradação (k_d) e do tempo de meia vida ($t_{1/2}$) a 90 °C. Os valores são apresentados com a média \pm desvio padrão de duas experiências paralelas. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).

Amostras	Equação		K_d	$T_{1/2}$ (h)
BD-GA	$\ln y = 9E-05x^2 - 0,0127x + 4E-05$	$R^2 = 0,998$	$2,64 \pm 0,90^{a,e}$	$12,87 \pm 12,10^a$
BD-L	$\ln y = 0,0001x^2 - 0,0113x + 0,022$	$R^2 = 0,937$	$1,56 \pm 0,06^{b,c,d}$	$8,38 \pm 3,98^a$
BD-SR	$\ln y = -0,001x - 0,0052$	$R^2 = 0,955$	$0,0025 \pm 0,0021^a$	$7,23 \pm 6,08^a$
CBD-GA	$\ln y = 0,0002x^2 - 0,0195x - 0,0297$	$R^2 = 0,959$	$1,78 \pm 0,24^{c,d}$	$4,62 \pm 2,60^a$
CBD-L	$\ln y = 8E-05x^2 - 0,0095x - 0,0083$	$R^2 = 0,900$	$1,24 \pm 0,17^{b,c}$	$3,23 \pm 2,82^a$
CBD-SR	$\ln y = -0,0012x + 0,0033$	$R^2 = 0,949$	$0,0014 \pm 0,0003^a$	$8,42 \pm 1,70^a$
R-GA	$\ln y = -0,0155x - 0,0361$	$R^2 = 0,984$	$0,0013 \pm 0,004^a$	$0,95 \pm 0,25^a$
R-L	$\ln y = -0,0078x + 0,0121$	$R^2 = 0,970$	$0,007 \pm 0,001^a$	$1,6 \pm 0,27^a$
R-SR	$\ln y = 0,0002x^2 - 0,025x - 0,0006$	$R^2 = 0,992$	$3,037 \pm 0,365^e$	$3,57 \pm 0,01^a$
CR-GA	$\ln y = 0,0001x^2 - 0,0111x - 0,0266$	$R^2 = 0,913$	$1,01 \pm 0,61^{a,b,c}$	$10,60 \pm 4,37^a$
CR-L	$\ln y = 4E-05x^2 - 0,0074x + 0,0219$	$R^2 = 0,951$	$1,20 \pm 0,09^{b,c}$	$15,7 \pm 11,38^a$
CR-SR	$\ln y = -0,0019x + 0,0059$	$R^2 = 0,983$	$0,0019 \pm 7,1 \times 10^{-5}^a$	$6,25 \pm 0,23^a$
FN-GA	$\ln y = -0,0039x - 0,0154$	$R^2 = 0,957$	$0,0036 \pm 0,0005^a$	$3,28 \pm 0,47^a$
FN-L	$\ln y = -0,0001x^2 + 0,0061x + 0,0025$	$R^2 = 0,991$	$0,540 \pm 0,004^{a,b}$	$21,55 \pm 11,08^b$
FN-SR	$\ln y = 1E-05x^2 - 0,0002x - 0,1595$	$R^2 = 0,996$	$0,524 \pm 0,000^{a,b}$	$98,83 \pm 0,00^a$
S-GA	$\ln y = 0,0001x^2 - 0,0133x - 0,0116$	$R^2 = 0,986$	$0,71 \pm 0,07^{a,b,c}$	$17,47 \pm 13,02^a$
S-L	$\ln y = 2E-05x^2 - 0,0027x - 0,0049$	$R^2 = 0,960$	$0,637 \pm 0,009^{a,b}$	$72,83 \pm 7,40^{a,b}$
S-SR	$\ln y = 2E-05x^2 - 0,0027x - 0,0004$	$R^2 = 0,995$	$0,8162 \pm 0,0242^{a,b}$	$18,62 \pm 13,70^a$

Relativamente aos ensaios de termoestabilidade das formulações de revestimentos poliméricos, de cor roxa, verificou-se que as antocianinas são mais resistentes à temperatura em revestimentos de goma de alfarroba do que em goma arábica, com exceção dos extratos corantes obtidos a partir da casca e polpa da batata-doce roxa que ofereceram maior resistência à temperatura em goma de arábica. Na goma de alfarroba foram os extratos de cenoura preta e

sorgo que apresentaram maior resistência com a temperatura. Em ambos os revestimentos poliméricos foram os extratos de casca de rabanete que apresentaram a menor resistência à temperatura.

Asra *et al.* (2020) mostraram uma maior estabilidade ($t_{1/2} = 96,3$ h) para os extratos de casca de batata-doce a pH 3 e à temperatura (80 °C), do que os valores apresentados na Tabela 6. Por outro lado, Cipriano *et al.* (2015) corroboram os dados obtidos para a termoestabilidade da polpa da batata-doce roxa a 80 °C, tendo reportado um tempo de meia vida de $8,5 \pm 2,2$ h, para o mesmo corante. Estas diferenças podem dever-se às quantidades de materiais corantes, solvente e os valores de pH utilizados nos ensaios de estabilidade realizados pelos diferentes autores.

No que diz respeito às antocianinas da cenoura preta, Sadilova *et al.* (2006) demonstraram que são muito estáveis a pH 1. Neste estudo, verificamos que são também muito estáveis a pH 8 à temperatura de 90 °C durante 1h.

Nas formulações de revestimentos poliméricos, a partir das soluções corantes do sorgo verificou-se uma melhor resistência à temperatura nas gomas de alfarroba e arábica do que o corante comercial. Outros autores Serrano *et al.* (2023), já tinham reportado que a estabilidade do sorgo era maior a pH alcalino do que a pH ácido.

No que diz respeito aos ensaios de estabilidade com a temperatura das soluções corantes sem revestimentos, verificou-se que o corante comercial natural apresentou melhor resistência do que todas as soluções corantes de antocianinas e 3-DXA, levando a colocar a hipótese de este ter sido fornecido já com uma formulação de revestimento polimérico desconhecida.

Na figura 13 encontram-se representadas as percentagens de degradação das antocianinas, determinadas após os ensaios de estabilidade à temperatura das formulações de revestimentos poliméricos, de cor roxa.

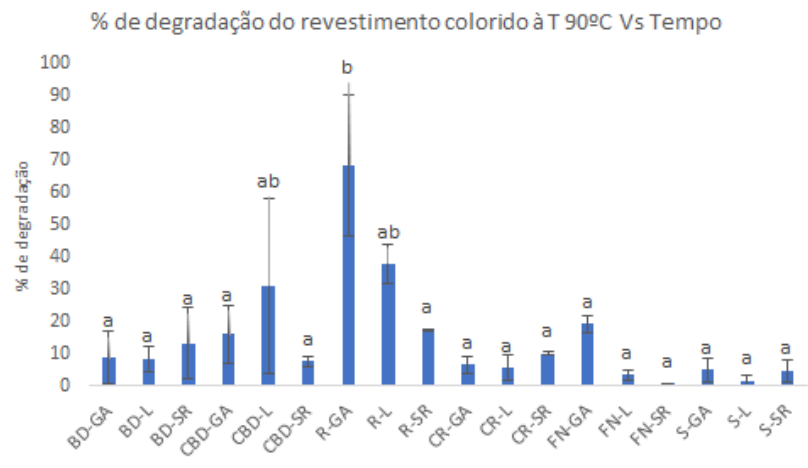


Figura 13: Percentagem de degradação das antocianinas e 3-DXA após ensaios de estabilidade à temperatura dos revestimentos poliméricos coloridos com casca e polpa de batata-doce (CBD e BD), casca do rabanete (R), cenoura-preta (CR) e folha do sorgo (S), corante comercial natural (FN), goma arábica (GA), goma de alfarroba (L) e sem revestimento (SR). Os valores são apresentados com a média \pm desvio padrão de duas experiências paralelas. Barra com letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).

A percentagem de degradação dos extratos de casca de rabanete e da casca de batata-doce revestidos com goma arábica (R-GA) e goma de alfarroba (R-L; CBD-L) apresentaram diferenças significativa ($p < 0,05$) comparativamente aos restantes extratos corantes revestidos com os mesmos materiais poliméricos.

A menor percentagem de degradação das antocianinas e 3-DXA foi obtida com o revestimento à base de goma de alfarroba, tendo os extratos do sorgo (S-L) e corante comercial natural (FN-L) apresentado a menor degradação com a temperatura. A maior degradação correspondeu às antocianinas provenientes das cascas do rabanete e batata-doce roxa em ambos os materiais poliméricos, indicando que estes materiais não protegem estes compostos. Nos extratos sem revestimento verificou-se a mesma tendência observada para o revestimento de alfarroba, tendo o menor valor correspondido ao corante comercial (FN-SR).

A menor degradação das antocianinas com a temperatura foi obtida para o corante comercial natural (FN) sem revestimento, isto pode ser devido a este ter corante ter sido fornecido com um revestimento.

O facto da goma de alfarroba (L) estabilizar melhor as antocianinas com a temperatura do que a goma arábica (GA), pode dever-se à natureza hidrofílica das moléculas de antocianinas que estabelecem interações fracas com a cadeia hidrofóbica da glicoproteína da goma arábica, conforme reportado por Herrman *et al.* (2021). Além disso, um aumento da concentração

da goma de arábica de 0,5 % para 1,5 % poderia ter levado a uma maior estabilidade das antocianinas durante o processamento com a temperatura, conforme reportaram Chung *et al.* (2016) com os revestimentos poliméricos de goma arábica a 1,5 % com corantes presentes na cenoura preta.

As diferenças de cor das amostras analisadas por colorimetria, apresentam-se na Figura 14.

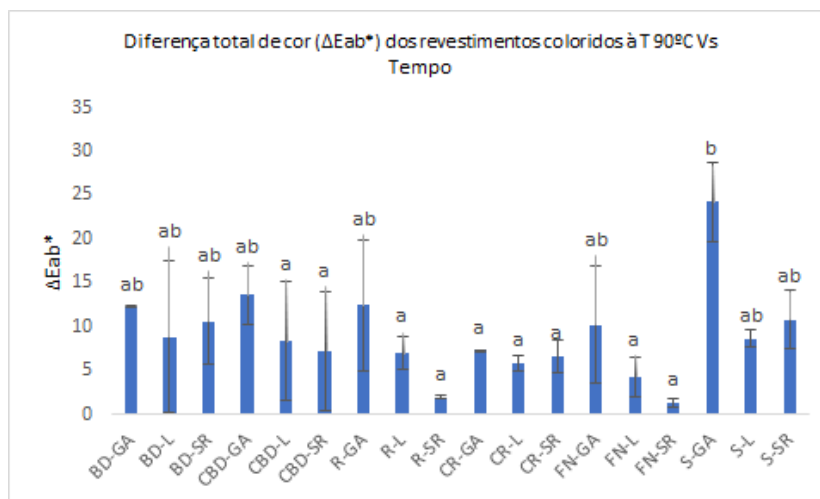


Figura 14: Variação de cor dos revestimentos coloridos de roxo, com casca e polpa de batata-doce roxa (CBD e BD), casca de rabanete (R), cenoura preta (CR), folha do sorgo (S) e corante comercial natural (FN), goma arábica (GA), goma de alfarroba (L) e sem revestimento (SR), após os ensaios de estabilidade à temperatura. Os valores são apresentados com a média ± desvio padrão de duas experiências paralelas. barras com letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).

Os resultados da variação de cor das formulações de revestimentos poliméricos apresentados na figura 14 mostram que, entre os extratos revestidos com goma arábica, foi o extrato corante de sorgo o que apresentou maior variação de cor com a temperatura, e o extrato de cenoura preta o que apresentou a menor variação. Relativamente aos revestimentos poliméricos com goma de alfarroba, foi o extrato da polpa de batata-doce roxa que apresentou a maior variação de cor e o corante comercial o que apresentou a menor. No que diz respeito aos extratos corantes sem revestimentos a maior variação da cor foi obtida no extrato de folha de sorgo e a menor foi obtida com o corante comercial. Não se verificaram diferenças significativas ($p < 0,05$) entre a cor dos extratos da cenoura preta, em revestimento de goma arábica e os extratos de casca de rabanete, cenoura preta, casca da batata-doce roxa e corante comercial, em revestimento de goma de alfarroba e os extratos de casca de rabanete, cenoura preta, casca de batata-doce roxa e corante comercial sem revestimento.

Os resultados da estabilidade dos extratos, com e sem revestimento, à temperatura de 90 °C, durante 1h 15 min, foram analisados colorimetricamente no sistema CIELAB e convertidos para o sistema RGB (Tabela 7), de acordo com o procedimento indicado.

Tabela 7: Cor dos revestimentos coloridos com extratos de casca (CBD) e polpa de batata-doce roxa, cenoura preta (CR), folha de sorgo (S), casca de rabanete (R) e corante comercial natural (FN), em goma de alfarroba (L), goma-arábica (GA) e sem revestimento (SR), no sistema RGB, após os ensaios de estabilidade à temperatura.

Soluções	t=0 min	t=15min	t=30min	t=45min	t=60min	t=75min
R-GA						
CR-GA						
BD-GA						
CBD-GA						
S-GA						
FN-GA						
R-L						
CR-L						
BD-L						
CBD-L						
S-L						
FN-L						
R-SR						
CR-SR						
BD-SR						
CBD-SR						
S-SR						
FN-SR						

Na Tabela 7 é possível observar uma descoloração com o tempo de exposição à temperatura elevada dos extratos corantes, com e sem revestimento, ao longo do tempo. Esta descoloração é menor nos revestimentos poliméricos com a goma de alfarroba. Por isso, este material polimérico foi o utilizado nas formulações dos extratos corantes para aplicação em pastas de açúcar de cor branca para confeitaria.

4.6 Revestimentos poliméricos roxos em pastas de açúcar: efeito da adição de corante azul

Extratos corantes em pastas de açúcar, sem adição de corante azul de espirulina

Na Tabela 8 e 9 apresentam-se as cores obtidas, no sistema RGB, para as pastas coloridas com os extratos corantes, secos durante 72 h (Tabela 8) e após cinco meses de armazenamento à luz e à temperatura ambiente (Tabela 9). Neste ensaio foram incluídas amêndoas coloridas com um corante natural (*clean label*) e com um corante sintético para comparação. As cores indicam que o extrato obtido a partir da polpa de batata-doce roxa foi o que apresentou uma cor mais próxima da amêndoa colorida com corantes sintéticos. Além disso, comparando as cores dos vários revestimentos antes e após armazenamento, é possível verificar que as mesmas foram perdendo intensidade.

Tabela 8: Cor dos revestimentos coloridos com extratos de casca (CBD) e polpa (BD) de batata-doce roxa, cenoura preta (CR), casca de rabanete (R), folha de sorgo (S) e corante comercial natural (FN), em goma de alfarroba (L), no sistema RGB, em comparação com a cor das amêndoas *clean label* (CL) e coloridas com corantes sintéticos (CS), após 72 h de secagem

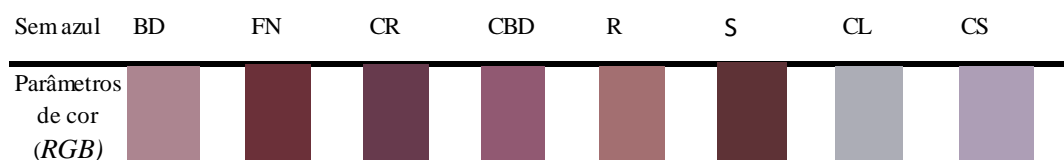
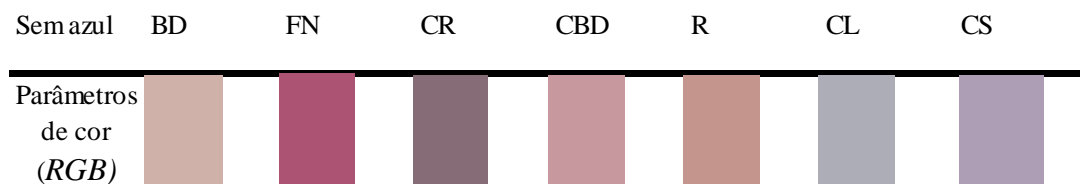


Tabela 9: Cor dos revestimentos coloridos com os extratos de casca (CBD) e polpa (BD) de batata-doce roxa, cenoura preta (CR), casca de rabanete (R), folha de sorgo (S) e corante comercial natural (FN), em goma de alfarroba (L), no sistema RGB, em comparação com a cor das amêndoas *clean label* (CL) e coloridas com corantes sintéticos (CS), após 5 meses de conservação.



A Figura 15 mostra a variação de cor (ΔE_{ab}^*) dos revestimentos poliméricos com os extratos corantes, sem adição do corante azul de espirulina, aplicados em pastas de açúcar após secagem de 72 h e após cinco meses de armazenamento à luz e temperatura ambiente, em relação à cor de dois tipos amêndoas comerciais (*clean label* e com corante sintético) utilizadas como controle.

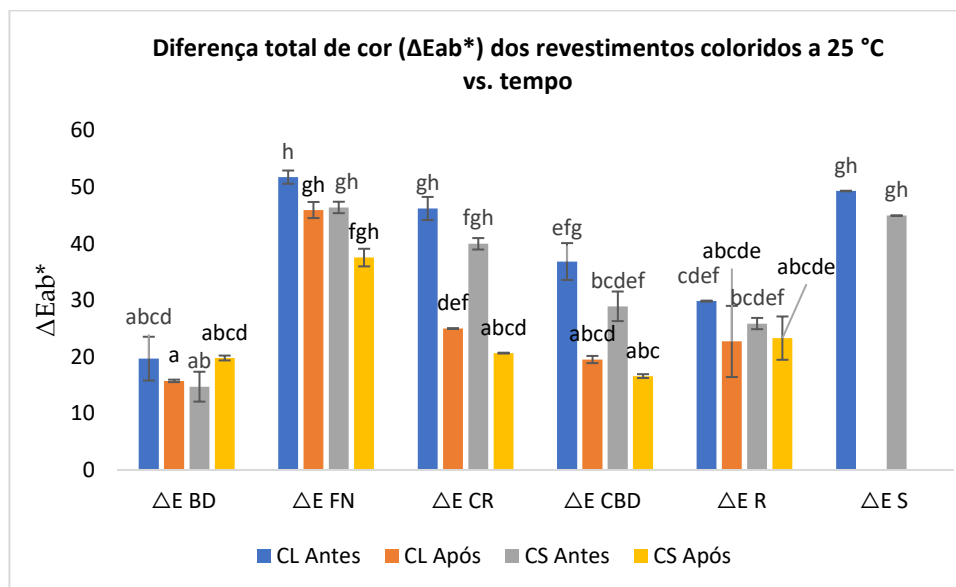


Figura 15: Variação de cor dos extratos corantes [batata-doce roxa (BD-Polpa; CBD-Casca), cenoura preta (CR), casca de rabanete (R), folha de sorgo (S) e corante da comercial natural (FN), sem adição de corante azul], com as amêndoas coloridas com corantes *clean label* (CL) e corantes sintéticos (CS) usados como controle, após 72h de secagem (antes) e após 5 meses de conservação (após). Os valores são apresentados com a média \pm desvio padrão de duas experiências paralelas. Barras com letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).

Os resultados mostraram que os revestimentos com extrato de polpa da batata-doce foram os que apresentaram menor variação de cor quer após secagem de 72 h, quer após 5 meses de conservação, em relação às amêndoas comerciais coloridas, quer com corantes naturais (*clean label*) quer com corantes sintéticos. Em contraste, o extrato DF foi o que exibiu a maior diferença de cor. Notavelmente, o extrato de sorgo apresentou uma diferença significativa na variação de cor para as amêndoas coloridas com os dois tipos de corantes. Observaram-se diferenças significativa ($p > 0,05$) entre a variação de cor dos revestimentos com os extratos de todas as matrizes corantes aplicados nas pastas de açúcar, em comparação com as amêndoas controle.

Extratos corantes em pastas de açúcar, com adição de corante azul de espirulina

Devido à grande variação de cor que os revestimentos contendo extrato de folhas de sorgo apresentaram em relação à cor das amêndoas coloridas com os dois tipos de corantes, este extrato já não foi incluído nesta parte do trabalho.

Na tentativa de conseguir aproximar mais a cor dos revestimentos em estudo à cor das amêndoas controle, prepararam-se novas formulações com adição de um corante natural azul (azul de espirulina). Na Tabela 10 apresentam-se as cores obtidas, no sistema RGB, para as pastas coloridas com os extratos corantes, com a adição de corante azul e secos durante 72h, enquanto na Tabela 11 as cores das mesmas pastas após cinco meses de conservação à luz e à temperatura ambiente. As cores indicam que o revestimento corado com o extrato de polpa de batata-doce roxa foi o que continuou a apresentar uma cor mais próxima das amêndoas coloridas com o corante sintético, quer após as 72 h de secagem, quer após os cinco meses de armazenamento.

Tabela 10: Cor dos revestimentos de goma de alfarroba (L), contendo extratos da batata-doce roxa (BD-Polpa; CBD-Casca), cenoura preta (CR), casca de rabanete (R) e corante comercial natural (FN) com a adição de corante azul de espirulina, no sistema RGB e cor das amêndoas coloridas com corantes naturais (*clean table*) (CL) e com corantes sintéticos (CS), ao fim de 72h de secagem.

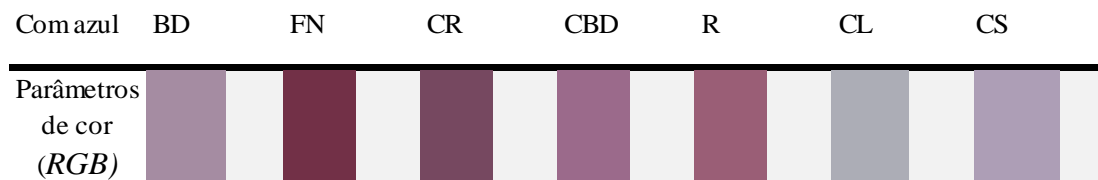
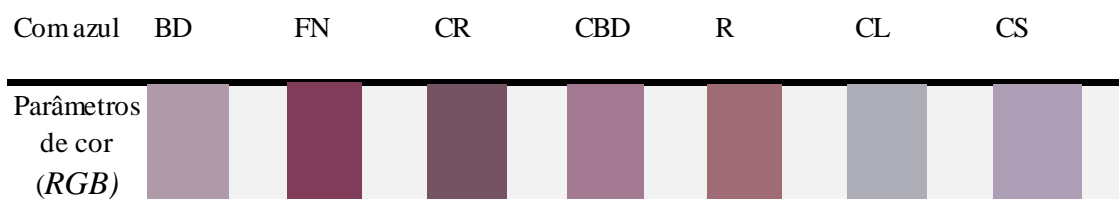


Tabela 11: Cor dos revestimentos de goma de alfarroba (L), contendo extratos da batata-doce roxa (BD-Polpa; CBD-Casca), cenoura preta (CR), casca de rabanete (R) e corante comercial natural (FN) com a adição de corante azul de espirulina, no sistema RGB e cor das amêndoas coloridas com corantes naturais (*clean table*) (CL) e com corantes sintéticos (CS), ao fim de 5 meses de conservação



A Figura 16 mostra a variação de cor (ΔE_{ab}^*) dos revestimentos poliméricos com os extratos corantes, com adição do corante azul de espirulina, aplicados em pastas de açúcar após secagem de 72 h e após cinco meses de armazenamento à luz e temperatura ambiente, em relação à cor de dois tipos amêndoas comerciais (*clean label* e com corante sintético) utilizadas como controle.

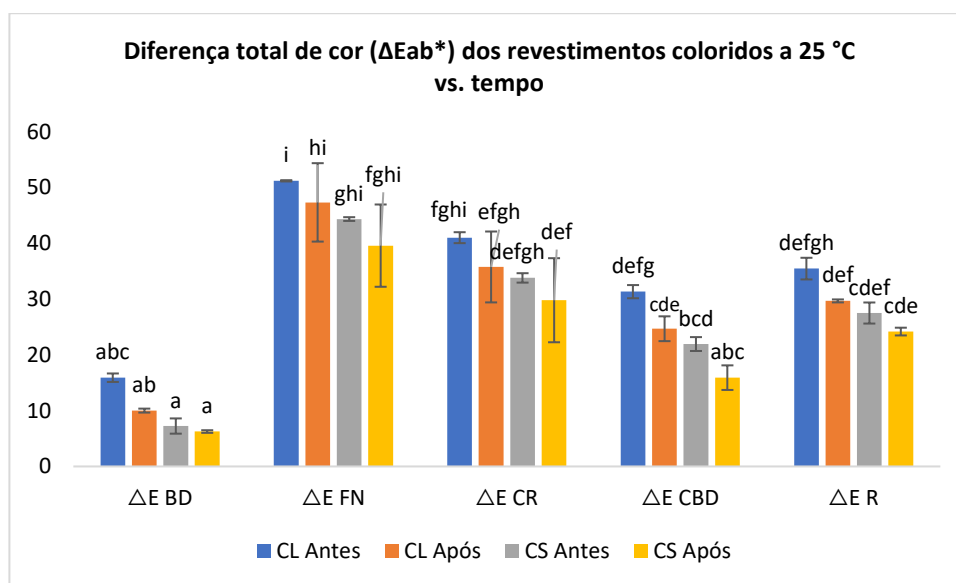


Figura 26: Variação de cor das formulações dos extratos corantes [batata-doce roxa (BD-Polpa; CBD-Casca), cenoura preta (CR), casca de rabanete (R) e corante comercial natural (FN), com a adição de corante azul] com as amêndoas coloridas com corantes naturais (*clean label*) (CL) e corantes sintéticos (CS) usados como controle, após 72h e 5 meses de conservação. Os valores são apresentados com a média \pm desvio padrão de duas experiências paralelas. Barras com letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).

Verificou-se a mesma tendência na variação de cor das formulações sem a adição de corante azul, tendo a menor variação de cor, em relação às amêndoas controle, sido observada nos revestimentos corados com o extrato de polpa de batata-doce roxa com a adição de corante azul e a maior diferença de cor sido verificada com os revestimentos contendo o corante natural comercial.

Observaram-se diferenças significativa ($p > 0,05$) entre a variação de cor dos revestimentos com os extratos, com a adição de corante azul de espirulina, de todas as matrizes corantes, com exceção para os extratos da polpa da batata-doce roxa, quando aplicados nas pastas de açúcar, em comparação com as amêndoas controle.

A comparação entre a diferença de cor dos revestimentos contendo os extratos corantes com e sem a adição de corante azul (Figura 15 e Figura 16) e as amêndoas controle, permite verificar que a variação de cor é menor quando é adicionado o corante azul de espirulina. Além disso, o ensaio de conservação ao fim de 5 meses, para as mesmas formulações, permitiu observar também uma diminuição na variação de cor relativamente às amêndoas controle o que permite concluir que a cor se mantém inalterada durante o período de conservação de cinco meses.

4.7 Análise de componentes principais (PCA)

Os valores próprios e a extração dos componentes principais estão apresentados na Tabela 12, onde as duas primeiras componentes explicam 60,34% da variância: a primeira componente explica 38,07% e a segunda componente explica 22,27%. As componentes principais que apresentam valor próprio superior a 1 consideram-se significativos ($p < 0,05$), sendo que as duas primeiras componentes principais apresentam valores próprios de 3,43 e 2,00.

Tabela 22: Valores próprios e extração das componentes principais

Principal Componente 1	Valor próprio	% Variância Total	Valor próprio Cumulativo	Cumulativo %
1	3,43	38,07	3,43	38,07
2	2	22,27	5,43	60,34
3	1,3	14,48	6,73	74,82
4	0,91	10,11	7,64	84,93
5	0,73	8,07	8,37	93
6	0,35	3,89	8,72	96,89
7	0,17	1,87	8,89	98,76
8	0,1	1,16	8,99	99,92
9	0,01	0,08	9	100

A relação das variáveis (parâmetros originais) com os componentes principais é determinada pelos coeficientes de correlação apresentados na Tabela 13.

Tabela 13: Coeficientes de correlação entre os atributos (variáveis iniciais) e as três componentes principais

Variável	Principal Componente 1	Principal Componente 2	Principal componente 3
GA-K _d	0,87	0,28	-0,21
GA-T _{1/2}	0,65	-0,32	0,26
GA-Delta E	0,2	-0,82	0,14
L-K _d	0,89	0,39	-0,04
L-T _{1/2}	0,1	-0,65	0,4
L-DeltaE	0,06	-0,47	-0,51
SR-K _d	-0,73	-0,39	-0,37
SR-T _{1/2}	-0,41	0,22	0,78
SR-DeltaE	0,84	-0,39	0,08
*DPPH	-0,69	0,63	0,04
*FRAP	-0,6	0,52	0,53
*Folin	-0,83	-0,08	0,51
*Ant.Total	-0,65	-0,53	0,04
*IC ₅₀	0,56	0,13	0,46

Nas figuras 17 e 18 apresenta-se a projeção dos atributos no plano definido pelas duas primeiras componentes principais. A primeira componente principal (PC1) apresenta uma correlação positiva com as constantes de degradação da goma de alfarroba (L-K_d, 0,89) e goma arábica (GA-K_d, 0,87), e uma correlação negativa com o conteúdo fenólico total (CFT, -0,83), a constante de degradação dos corantes não revestidos (SR-K_d, -0,75) e o teor total de antocianinas (-0,65). Isto indica que à medida que as constantes de degradação das gomas aumentam, o teor de TPC, SR-K_d e antocianina diminui.

A segunda componente principal (PC2) é destacada por uma correlação positiva com a variação total de cor dos corantes não revestidos (SR-Delta E, 0,84) e a meia-vida dos corantes com revestimento de goma arábica (GA-T_{1/2}, 0,65). Por outro lado, apresenta uma correlação negativa com a variação total de cor dos revestimentos com goma arábica (GA-Delta E, -0,82), a meia-vida dos corantes com goma de alfarroba (L-T_{1/2}, -0,65) e a capacidade antioxidante (DPPH, -0,69). Isto sugere que à medida que a variação total da cor dos corantes não revestidos e a meia-vida dos corantes com revestimento de goma arábica aumentam, a variação total da cor dos revestimentos com goma arábica, a meia-vida dos corantes com goma de alfarroba e a capacidade antioxidante diminuem.

A projeção dos atributos no plano definido pelas duas componentes principais e pelas respectivas amostras, está ilustrada nas Figuras 17 e 18. Esta projeção resulta em três grupos distintos de acordo com o tipo de corante. O grupo contendo os corantes CBD, CR e BD apresenta constantes de degradação semelhantes tanto para a goma de alfarroba (L-K_d) como para a goma arábica (GA-K_d) indicando um desempenho consistente na manutenção da estabilidade do corante através destes revestimentos.

O grupo contendo corante S apresenta maior variação total de cor tanto para revestimentos de goma de alfarroba (L-Delta E) como de goma arábica (AG-Delta E). O corante S também apresenta valores de meia-vida mais elevados para revestimentos de goma de alfarroba (L-T_{1/2}) e goma arábica (AG-T_{1/2}). Isto sugere que o corante S é mais suscetível a alterações de cor, mas mantém sua estabilidade por um período mais longo em comparação com outros corantes.

Os corantes CBD, CR e BD apresentam maior semelhança com o corante da comercial natural (controle) quando considerados os quatorze parâmetros analisados. Isto indica que estes corantes são boas escolhas para uso em revestimentos como goma de alfarroba e arábica devido às suas propriedades de estabilidade e retenção de cor.

O corante S, embora estável por um período mais longo, é mais sujeito a variações significativas de cor. Estas conclusões podem ser úteis para aplicações específicas de revestimentos com base nas características do desempenho dos corantes.

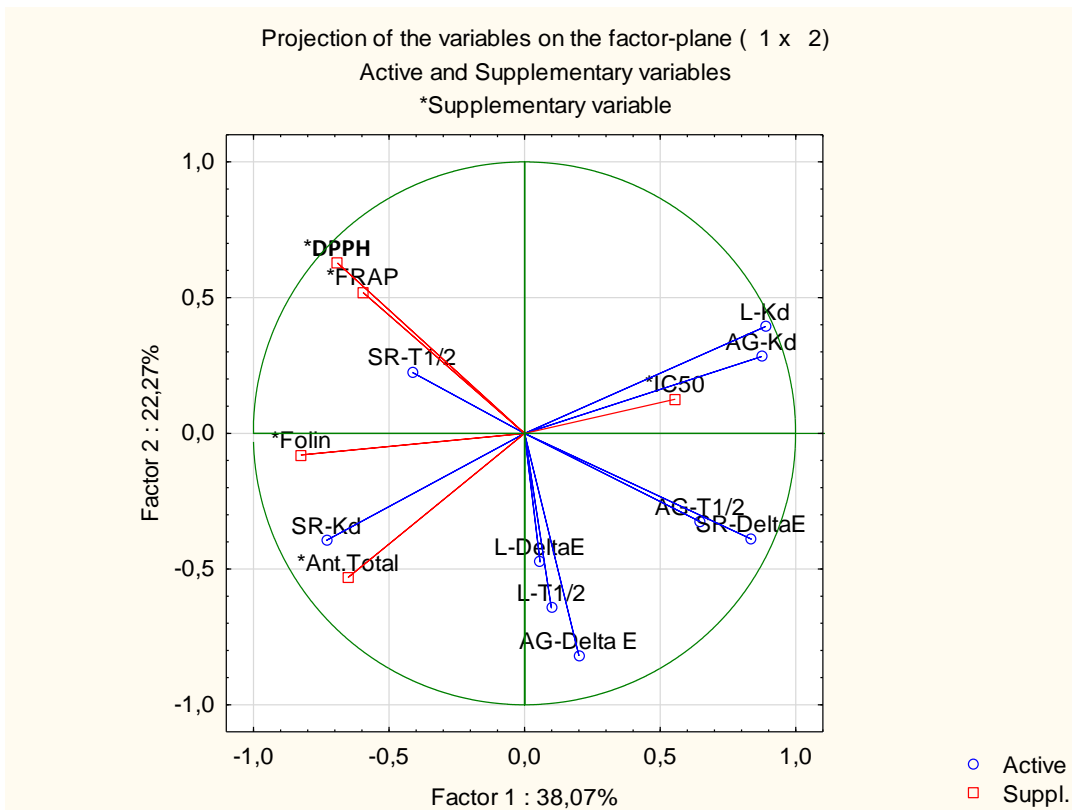


Figura 17: Projeção dos atributos no plano

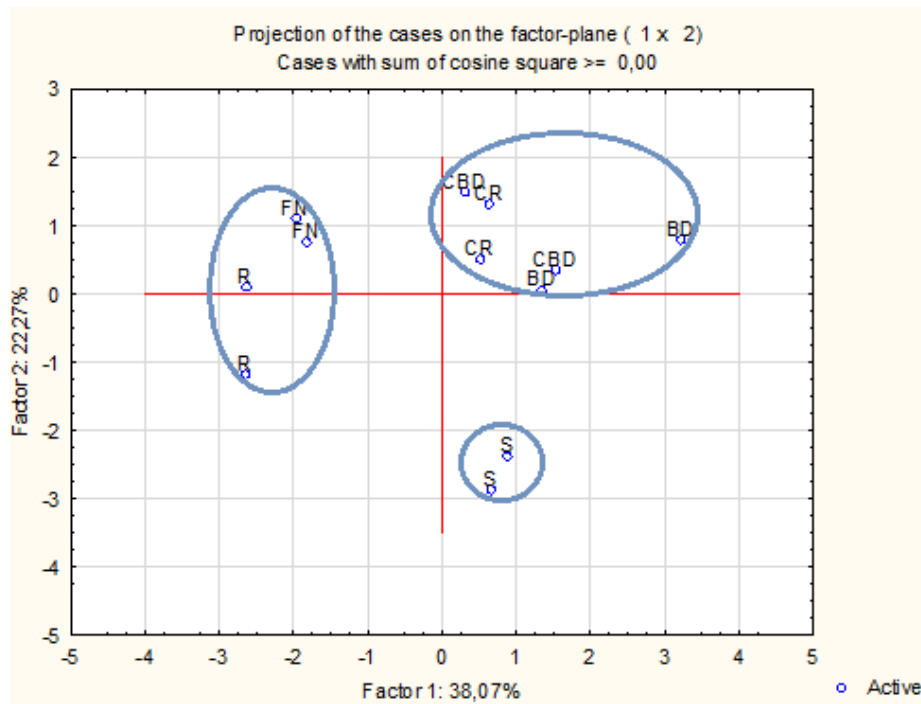


Figura 18: Projeção das amostras no plano definido pelas duas componentes principais

CONCLUSÕES

As antocianinas são sensíveis ao pH e mudam de cor em resposta a alterações de acidez ou alcalinidade. No entanto, os compostos 3-DXA que não alteram a cor com o pH revelaram um comportamento diferente das antocianinas, não sendo possível obter a cor roxa. O estudo permitiu avaliar como os revestimentos roxos respondem aos valores de pH encontrados nos produtos de confeitaria.

O extrato de casca de rabanete apresentou o maior teor de antocianinas totais, e corante comercial natural apresentou o maior teor de compostos fenólicos e a maior atividade antioxidante, no ensaio FRAP. No entanto, foi o extrato de folhas de sorgo que apresentou a maior atividade antidiabética, constituindo uma fonte alternativa de moléculas com potencial para fornecer alimentos funcionais ou suplementos dietéticos, que melhoram a saúde dos consumidores. As antocianinas são também valorizadas pelos seus potenciais benefícios para a saúde devido às suas propriedades antioxidantes.

O processo de identificação das estruturas de antocianinas presentes nos extratos, baseou-se em espectros UV-VIS de HPLC-DAD, revelando bandas de absorção características a 260-280 nm e 490-550 nm para antocianinas, com bandas adicionais (310-340 nm) indicando acilação por ácidos hidroxicinâmicos. O ESI-MS em modo positivo revelou que, com exceção do extrato de sorgo, a maioria das antocianinas nos extratos estavam aciladas. Foram identificadas 13 antocianinas, pertencentes principalmente às famílias das cianidinas e das peonidinas, frequentemente como estruturas antocianidinas 3-diglicosídeo-5-glicosídeo com substituições de ácidos hidroxicinâmicos. O extrato de cenoura preta continha antocianinas à base de cianidina, com várias porções de açúcar, algumas aciladas com ácidos p-cumárico, ferúlico e sinápico. Os compostos menores incluíam antocianinas aciladas de peonidina e pelargonidina.

O extrato de casca de rabanete continha predominantemente derivados de pelargonidina, indicados por uma mudança para azul nos espectros UV-VIS. Foram identificados 16 compostos à base de pelargonidina, principalmente di-glicosilados e acilados com ácidos hidroxicinâmicos e grupos malonilo. O corante comercial natural apresentou derivados acilados de cianidina e peonidina, com padrões de fragmentação que sugerem a presença de derivados

de antocianina-3-O-(cinamoil) sofrósídeo-5-O-glicosídeo, semelhantes aos dos extratos CBD e BD.

O sorgo apresentou um espectro UV-VIS distinto com um pico a 472 nm, correspondente à apigeninidina, um pigmento primário do sorgo pertencente ao grupo das 3-desoxiantocianinas. A análise conclui que o corante comercial contém provavelmente uma mistura de antocianinas de batata-doce roxa e de rabanete roxo.

Nos testes de estabilidade à temperatura, o estudo examinou a forma como as antocianinas e a 3-DXA em revestimentos corantes resistem a diferentes condições de temperatura normalmente encontradas durante a produção e armazenamento de produtos de confeitaria. Relativamente aos materiais poliméricos para desenvolver revestimentos coloridos com antocianinas e extratos de 3-DXA, foi a goma de alfarroba que melhor protegeu estes compostos. As conclusões destacam que os extratos de antocianinas de cenoura preta e os extratos de 3-DXA de sorgo foram os mais resistentes à temperatura, mantendo a capacidade dos revestimentos de manter a sua integridade estrutural, cor e funcionalidade a uma temperatura de 90 °C, durante 1h15 minutos.

A aplicação de revestimentos coloridos com extratos de antocianina e 3-DXA em pasta de açúcar, com e sem adição de corante azul, permitiu verificar que os extratos de antocianina da polpa de batata-doce apresentaram menor variação de cor em relação às amêndoas de controlo coloridas com corantes sintéticos após secagem durante 72 horas e armazenamento durante 5 meses à temperatura ambiente. Os extratos de batata-doce revelaram-se os mais adequados para substituir os corantes sintéticos em revestimentos de cor roxa em produtos *clean label*.

Embora os extratos de sorgo não forneçam a cor púrpura, podem ser utilizados como fonte de corante para a cor vermelha em produtos alimentares.

Trabalhos futuros poderão investigar se os revestimentos à base de antocianinas mantêm a sua bioatividade quando aplicados em produtos de confeitaria. As conclusões podem incluir resultados sobre a capacidade dos revestimentos para preservar os níveis de antioxidantes e os potenciais benefícios para a saúde nos produtos finais.

Com base nos resultados, podem ser criadas misturas de corantes de antocianina destas matrizes vegetais, com ou sem corantes azuis, variando a concentração dos extratos para otimizar a formulação e aplicação de revestimentos comestíveis à base de antocianina em produtos de confeitaria, substituindo os corantes Azo, prejudiciais para a saúde do consumidor.

Globalmente, o estudo avalia a viabilidade de incorporar antocianinas e revestimentos corantes à base de 3-DXA nos processos de produção de produtos de confeitaria. As conclusões centraram-se na praticabilidade, eficácia e potenciais vantagens da utilização destes revestimentos para melhorar a qualidade do produto, prolongar o prazo de validade e acrescentar valor nutricional. Estas conclusões forneceriam informações valiosas aos fabricantes de produtos de confeitaria, cientistas alimentares e investigadores interessados em desenvolver produtos alimentares inovadores e mais saudáveis.

BIBLIOGRAFIA

Akhavan Mahdavi, S., Jafari, S. M., Assadpoor, E., Dehnad, D. (2016). Microencapsulation optimization of natural anthocyanins with maltodextrin, gum Arabic and gelatin. *International Journal of Biological Macromolecules*, 85, pp. 379-385. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.01.011>.

Akogou, F. U., Kayodé, A. P., den Besten, H. M., & Linnemann, A. R. (2017). Extraction methods and food uses of a natural red colorant from dye sorghum. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98(1), pp. 361-368. <https://doi.org/10.1002/jsfa.847>

Akogou, F., Kayodé, A., den Besten, H., Linnemann, A., Fogliano, V. (2018). Effects of processing and storage on the stability of the red biocolorant apigeninidin from sorghum. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*, 90, pp. 592-597. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.12.071>

Al-Bittar, S. (2016). 3-Desoxiantocianinas: Síntese química, transformações estruturais, afinidade por íons metálicos e albumina sérica, atividade antioxidante. *Química orgânica*. Universidade de Avignon. França. (PDF)

Alexandri, M., Kachrimanidou, V., Papapostolou, H., Papadaki, A., Kopsahelis, N. (2022). Sustainable Food Systems: The Case of Functional Compounds towards the Development of Clean Label Food Products. *Foods*, 11(18) pp. 2796. <https://doi.org/10.3390/foods11182796>

Algarra, M., Fernandes, A., Mateus, N., Freitas, V. Esteves da Silva, J.C.G., Casado, J. (2014). Anthocyanin profile and antioxidant capacity of black carrots (*Daucus carota* L. Ssp. *Sativus* var. *Atrorubens* Alef.) From Cuevas Bajas, Spain. *Journal Food Composition and Analysis*, 33, 71-76. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2013.11.005>

Armalina, Y., Azizah, Z., Asra, R. (2020). The Degradation Rates of Natural Dyes from Natural Resources: A Review. Review Article, *Asian Journal of Pharmaceutical Research and Development*, 8(5), pp. 75-81. <https://doi.org/10.22270/ajprd.v8i5.827>

ASAE, Autoridade de Segurança Alimentar e Económica (S.D.). Corantes. Consultado a junho, 3, 2023, retirado de <https://www.asae.gov.pt/seguranca-alimentar/aditivos-alimentares/corantes.aspx>

Asami, D., Hong, Y., Barrett, D., Mitchell, A. (2003). Processing-induced changes in total phenolics and procyanidins in clingstone peaches. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83, pp 56-63. <https://doi.org/10.1002/jsfa.1275>.

Awika, J., Rooney, L., Waniska, R. (2004). Properties of 3-Deoxyanthocyanins from Sorghum. *Jornal of Agricultural and Food Chemistry*, (52) pp. 4388-4394. <https://doi.org/10.1021/jf049653f>

- Awika, J., Rooney, L., Waniska, R. (2005). Anthocyanins from black sorghum and their antioxidant properties. *Food Chemistry*, 90, pp. 293–301. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.03.058>
- Baenas, N.; Ferreres, F.; García-Viguera, C.; Moreno, D.A., (2015). Radish sprouts – Characterization and elicitation of novel varieties rich in anthocyanins. *Food Research International*, 69, 305–312. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2015.01.009>
- Barak, S., Mudgil, D. (2014). Locust bean gum: Processing, properties and food applications – A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 66, 74–80. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.02.01>
- Beevi, S., Mangamoori, L., Gowda, B. (2012). Polyphenolics profile and antioxidant properties of *Raphanus sativus* L. *Natural Product Research*, 26(6), pp. 557–563. <https://doi.org/10.1080/14786419.2010.521884>
- Benzie, I., Strain, J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1), pp. 70–76. <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>
- Bernfeld, P. (1955) Amylases α and β . *Methods in Enzymology*, 1, 149-158. [http://dx.doi.org/10.1016/0076-6879\(55\)01021-5](http://dx.doi.org/10.1016/0076-6879(55)01021-5).
- Bittar, S., Périno-Issartier, S., Dangles, O., Chemat, F. (2013). An innovative grape juice enriched in polyphenols by microwave-assisted extraction. *Food Chemistry*, 141(3), pp. 3268–3272. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.05.134>
- Cai, X., Du, X., Cui, D., Wang, X., Yang, Z., Zhu, G. (2019). Improvement of stability of blueberry anthocyanins by carboxymethyl starch/xanthan gum combinations microencapsulation. *Food Hydrocolloids*, 91, pp. 238-245. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.01.034>.
- Carbonneau, M.-A., Cisse, M., Mora-Soumille, N., Dairi, S., Rosa, M., Michel, F., Dangles, O. (2014). Antioxidant properties of 3-deoxyanthocyanidins and polyphenolic extracts from Côte d'Ivoire's red and white sorghums assessed by ORAC and in vitro LDL oxidisability tests. *Food Chemistry*, 145, pp. 701–709. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.07.025>
- Chaturvedi, S., Bhardwaj, A., Thakur, R. (2020). Edible films and coatings- A review of current scenario in the food industry. *Journal of Emerging Technologies and Innovative Research*, 7 (7), 2349-5162, pp. 100-107.
- Chen, K., Wei, X., Kortessniemi, M., Pariyani, R., Zhang, Y., Yang, B. (2022). Effects of acylated and nonacylated anthocyanins extracts on gut metabolites and microbiota in diabetic Zucker rats: A metabolomic and metagenomic study. *Food Research International*, (153). <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.110978>
- Chintha, P., Sarkar, D., Pecota, K., Dogramac, M., Hatterman-Valenti, H., Shetty, K. (2023). Phenolic bioactive-linked antioxidant, anti-hyperglycemic, and antihypertensive properties of sweet potato cultivars with different flesh color. *Horticulture, Environment, and Biotechnology*, 64, pp. 877–893. <https://doi.org/10.1007/s13580-023-00515-0>
- Chorol (2019). Antioxidant Content in Different Parts of Radish (*Raphanus sativus* L.) From Cold Arid Ladakh region of Trans- Himalaya (Jammu and Kashmir). *Pharmacognosy Journal* 2019; 11(5), pp. 1064-1070. <https://doi.org/10.5530/pj.2019.11.166>

- Chranioti, C., Nikoloudaki, A., Tzia, C. (2015). Saffron and beetroot extracts encapsulated in maltodextrin, gum Arabic, modified starch and chitosan: Incorporation in a chewing gum system. *Carbohydrate Polymers*, 127, pp. 252-263. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.03.049>
- Chung, C., Rojanasasithara, T., Mutilangi, W., McClements, D. (2016). Enhancement of colour stability of anthocyanins in model beverages by gum arabic addition. *Food Chemistry*, (201), pp. 14-22. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.01.051>
- Cipriano, P., Ekici, L., Barnes, R., Gomes, C., Talcott, T. (2015). Pre-heating and polyphenol oxidase inhibition impact on extraction of purple sweet potato anthocyanins. *Food Chemistry*, 180, pp. 227-234. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.02.02>
- Coelho de Jesus, M., Santiago, M., Pacheco, S., Gouvêa, A., Nascimento, L., Borguini, R., Guerra, J., Espindola, J., Godoy, R. (2021). Acylated anthocyanins from organic purple-fleshed sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam) produced in Brasil. *Scientia Agricola*, V.78, n.4, e20190309. <https://doi.org/10.1590/1678-992X-2019-0309>
- Constant, P., Stringheta, P., Sandi, D. (2002). Corantes Alimentício. Universidade Federal do Paraná, Brasil. Artigo, In *Boletim CEPPA*. Consultado a junho, 3, 2023, retirado de <https://revistas.ufpr.br/alimentos/article/viewfile/1248/1048>
- Cortez, R., Luna-Vital, D. A., Margulis, D., Gonzalez de Mejia, E. (2016). Natural Pigments: Stabilization Methods of Anthocyanins for Food Applications. *Comprehensive Reviews, Food Science and Food Safety*, 16(1), pp. 180-198. Doi:10.1111/1541-4337.12244
- Deighton, N., Brennan, R., Finn, C., Davies, H. (2000). Antioxidant properties of domesticated and wild *Rubus* species. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80, pp. 1307-1313.
- DGAV, Direção Geral de Alimentação e Veterinária (2023). Aditivos Alimentares. Consultado a junho, 3, 2023, retirado de <https://www.dgav.pt/alimentos/conteudo/generos-alimenticios/garantir-a-seguranca-dos-alimentos/aditivos-enzimas-e-aromas/aditivos-alimentares/>
- DGS, Direção-Geral da Saúde (2018). Guia Técnico n.º 2: Vigilância da Saúde dos trabalhadores expostos a agentes químicos cancerígenos, mutagénicos ou tóxicos para a reprodução. Programa Nacional de Saúde Ocupacional (PNSOC): 2.º Ciclo - 2013/2017, Direção-Geral da Saúde (Eds) Lisboa. <https://ordemosmedicos.pt/wp-content/uploads/2018/06/Guia-T%C3%a9cnico-n.%C2%BA-2-.pdf>
- Dias, T. (2016). Determinação do teor de fenólicos totais (Folin Ciocalteu) - Espectofotometria. Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Goiás. https://files.cercomp.ufg.br/weby/up/128/o/Fen%C3%b3licos_Totais_-_LANAL-UFG_Vers%C3%a3o_2.pdf?1545409339
- Directiva 2009/32/CE do Parlamento Europeu e do Conselho, de 23 de Abril de 2009, relativa à aproximação das legislações dos Estados-Membros sobre os solventes de extracção utilizados no fabrico de géneros alimentícios e dos respectivos ingredientes. *Jornal Oficial da União Europeia*. <https://eur-lex.europa.eu/lexuriserv/lexuriserv.do?Uri=OJ:L:2009:141:0003:0011:PT:PDF>
- Dror, Y., Cohen, Y., Yerushalmi-Rozen, R. (2006). Structure of gum arabic in aqueous solution. *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*, 44(22), pp. 3265-3271. <https://doi.org/10.1002/polb.20970>
- EFSA, European Food Safety Authority. (S.D.). Food colours. Consultado a junho, 3, 2023, retirado de <https://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/food-colours>

- Ekaputra, T., Pramitasari, R. (2020). Evaluation of physicochemical properties of anthocyanin extracts and powders from purple sweet potato (*Ipomoea batatas* L.). *Food Research*, 4 (6), pp. 2020 – 2029. [https://doi.org/10.26656/fr.2017.4\(6\).195](https://doi.org/10.26656/fr.2017.4(6).195)
- Esatbeyoglu, T., Rodríguez-Werner, M., Schlösser, A., Liehr, M., Ipharraguerre, I., Winterhalter, P., Rimbach, G. (2016). Fractionation of Plant Bioactives from Black Carrots (*Daucus carota* subspecies *sativus* varietas *atrorubens* Alef.) by Adsorptive Membrane Chromatography and Analysis of Their Potential Anti-Diabetic Activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(29), pp. 5901–5908. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b02292>
- Espinosa-Acosta, G., Jacques, A., Molina, G., Cornejo, J., Esparza, R., Martinez, A., González, I., Estevez, M. (2018). Stability Analysis of Anthocyanins Using Alcoholic Extracts from Black Carrot (*Daucus Carota* ssp. *Sativus* Var. *Atrorubens* Alef.). *Molecules* 23(11): 2744. <https://doi.org/10.3390/molecules23112744>
- Ferreira, L., Minuzzi, N., Rodrigues, R., Pauletto, R., Rodrigues, E., Emanuelli, T., Bochi, V. (2020). Citric acid water-based solution for blueberry bagasse anthocyanins recovery: Optimization and comparisons with microwave-assisted extraction (MAE). *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*, 113, 110064. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110064>
- Ferron, L., Colombo, R., Mannucci, B., Papetti, A. (2020). A New Italian Purple Corn Variety (Moradyn) Byproduct Extract: Antigliycative and Hypoglycemic In Vitro Activities and Preliminary Bioaccessibility Studies. *Molecules*, 25(8), 1958. <https://doi.org/10.3390/molecules25081958>
- Ficha de Informação de Segurança de Produtos Químicos. (2012). Metanol. In Merck. Consultado a junho, 3, 2023, retirado de <https://www.farmacia.ufmg.br/wp-content/uploads/2019/04/FISPQ-Diclorometano-1.pdf>
- Ficha de Informação de Segurança de Produtos Químicos. (2018). Diclorometano. In Merck. Consultado a junho, 3, 2023, retirado de <https://www.farmacia.ufmg.br/wp-content/uploads/2019/04/FISPQ-Diclorometano-1.pdf>
- Francis, F., Markakis, P. (1989). Food colorants: Anthocyanins. *Critical Reviews, Food Science and Nutrition*, 28 (4), pp. 273-314. <https://doi.org/10.1080/10408398909527503>
- Ge, J., Hu, Y., Wang, H., Huang, Y., Zhang, P., Liao, Z., Chen, M. (2017). Profiling of anthocyanins in transgenic purple-fleshed sweet potatoes by HPLC-MS/MS. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(14), pp. 4995–5003. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8379>
- Geera, B., Ojwang, L. O., Awika, J. M. (2012). New Highly Stable Dimeric 3-Deoxyanthocyanidin Pigments from *Sorghum bicolor* Leaf Sheath. *Journal of Food Science*, 77(5), pp. C566–C572. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2012.02668.x>
- Gizir, A., Turker, N., Artuvan, E. (2008). Pressurized acidified water extraction of black carrot [*Daucus carota* ssp. *Sativus* var. *Atrorubens* Alef.] Anthocyanins. *European Food Research and Technology*, 226, pp. 363–370. <https://doi.org/10.1007/s00217-006-0546-z>
- Gras, C.C.; Carle, R. Schweiggert, R.M. (2015). Determination of anthocyanins from black carrots by UHPLC-PDA after ultrasound-assisted extraction. *Journal Food Composition and Analysis*, 44, 170-177. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2015.08.011>

- Herrman, D., Brantsen, J., Awika, J. (2021). Interactions of 3-deoxyanthocyanins with gum arabic and sodium alginate contributing to improved pigment aqueous stability. *Food Chemistry*, 372, 131233. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131233>
- Honorato, T., Batista, E., Nascimento, K., Pires, T. (2013). Aditivos alimentares: aplicações e toxicologia. Revisão de Literatura, *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*, 5 (8), pp. 1-11. (PDF)
- Im, Y.R.; Kim, I.; Lee, J. (2021). Phenolic composition and antioxidant activity of purple sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.): Varietal Comparisons and physical distribution. *Antioxidants*, 10, 462. <https://doi.org/10.3390/antiox10030462>
- Inácio, M., Lima, K., Lopes, V., Pessoa, J., Teixeira, G. (2013). Total anthocyanin content determination in intact açai (*Euterpe oleracea* Mart.) And palmitero-juçara (*Euterpe edulis* Mart.) Fruit using near infrared spectroscopy (NIR) and multivariate calibration. *Food Chemistry*, 136(3-4), pp. 1160-1164. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.09.04>
- Islam, Md.S.; Yoshimoto, M.; Terahara, N.; Yamakawa, O. (2002). Anthocyanin Compositions in Sweetpotato (*Ipomoea batatas* L.) Leaves. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 66 (11), 2483-2486. <https://doi.org/10.1271/bbb.66.2483>
- Iwashina, T. (2015). Contribution to Flower Colors of Flavonoids Including Anthocyanins: A Review. *Natural Product Communications*, 10 (3), pp. 529-544. <https://journals.sagepub.com/doi/pdf/10.1177/1934578X1501000335>
- Jafet Uuh-Narvaez, J., Alejandra González Tamayo, M., & Rubí Segura-Campos, M. (2020). A Study on Nutritional and Functional Study Properties of Mayan Plant Foods as a New Proposal for Type 2 Diabetes Prevention. In *Food Chemistry*, 128247. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128247>
- Jayaprakasha, G.K.; Murthy, K.N.C.; Pellati, F.; Patil, B.S. (2019). betasweet carrot extracts have antioxidant activity and in vitro antiproliferative effects against breast cancer cells. *Journal of Functional Foods*, 62, 103552. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.103552>
- Kammerer, D., Carle, R., Schieber, A. (2003). Detection of peonidin and pelargonidin glycosides in black carrots (*Daucus carota* ssp.sativus var.atrorubens Alef.) By high-performance liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 17(21), pp. 2407-2412. <https://doi.org/10.1002/rcm.1212>
- Kang, S., Lee, S., Shim, Y., Oh, M., Lee, N., Park, S. (2016). Antioxidant capacity of anthocyanin-rich fruits and vegetables and changes of quality characteristics of black carrot added pudding according to storage. *Journal of Applied Biological Chemistry. Korean Society for Applied Biological Chemistry*. <https://doi.org/10.3839/jabc.2016.047>
- Kayodé, A., Nout, M., Linnemann, A., Hounhouigan, J., Berghofer, E., Siebenhandl-Ehn, S. (2011). Uncommonly High Levels of 3-Deoxyanthocyanidins and Antioxidant Capacity in the Leaf Sheaths of Dye Sorghum. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(4), pp. 1178-1184. <https://doi.org/10.1021/jf103963t>
- Kim, J. S.; Hyun, T. K.; Kim, M. J. (2011). The inhibitory effects of ethanol extracts from sorghum, foxtail millet and proso millet on α -glucosidase and α -amylase activities. *Food Chemistry*, 124(4), 1647-1651. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.08.020>

- Koley, T. K.; Khan, Z.; Oulkar, D.; Singh, B.K.; Maurya, A.; Singh, B.; Banerjee, K. (2020). High resolution LC-MS characterization of phenolic compounds and the evaluation of antioxidant properties of a tropical purple radish genotype. *Arabian Journal of Chemistry*, 13, 1355-1366. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2017.11.007>
- Kondo, S., Tsuda, K., Muto, N., & Ueda, J. (2002). Antioxidative activity of apple skin or flesh extracts associated with fruit development on selected apple cultivars. *Scientia Horticulturae*, 96(1-4), pp. 177-185. [https://doi.org/10.1016/s0304-4238\(02\)00127-9](https://doi.org/10.1016/s0304-4238(02)00127-9)
- Kondo, S., Yoshikawa, H., Katayama, R. (2004). Antioxidant activity in astringent and non-astringent persimmons. *The Journal of Horticultural Science and Bio-technology*, 79:3, pp. 390-394. <https://doi.org/10.1080/14620316.2004.11511778>.
- Kumari, P., Umakanth, A., Narsaiah, T., Uma, A. (2021). Exploring anthocyanins, antioxidant capacity and α -glucosidase inhibition in bran and flour extracts of selected sorghum genotypes. *Food Bioscience*, 41, 100979. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.100979>
- Kwame Ofori, F., Elahi, F., Banan-Mwine Daliri, E., Tyagi, A., Qin Chen, X., Chelliah, R., Kim, J., Han, S., Oh, D. (2020). UHPLC-ESI-QTOF-MS/MS Characterization, Antioxidant and Antidiabetic Properties of Sorghum Grains. *Food Chemistry*, 127788. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127788>
- Lazzarotto, S., Scherruth, M., Calixto, P., Carraro, M., Silveira, A., Lazzarotto, M. (2020). Método de Folin Ciocalteu adaptado para quantificar polifenóis em extratos de erva-mate. *Revista Movimenta*, 13(3), pp. 419-426.
- Le, X., Huynh, M., Pham, T., Than, V., Toan, T., Bach, L., Trung, N. (2019). Optimization of Total Anthocyanin Content, Stability and Antioxidant Evaluation of the Anthocyanin Extract from Vietnamese Carissa Carandas L. Fruits. *Processes*, 7, 468. <https://doi.org/10.3390/pr7070468>
- Lee, M.J.; Park, J.S.; Choi, D.S.; Jung, M.Y., (2013). Characterization and quantification of anthocyanins in purple-fleshed sweet potatoes cultivated in Korea by HPLC-dadand HPLC-ESI-QTOF-MS/MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61, 3148-3158. <https://doi.org/10.1021/jf3055455>.
- Liazid, A., Guerrero, R., Cantos, E., Palma, M., Barroso, C. (2011). Microwave assisted extraction of anthocyanins from grape skins. *Food Chemistry*, 124(3), pp. 1238-1243. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.07.05>
- Luo, X., Cui, J., Zhang, H., Duan, Y., Zhang, D., Cai, M., & Chen, G. (2018). Ultrasound assisted extraction of polyphenolic compounds from red sorghum (*Sorghum bicolor* L.) Bran and their biological activities and polyphenolic compositions. *Industrial Crops and Products*, 112, pp. 296-304. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.12.019>
- Luo, X., Wang, R., Wang, J., Li, Y., Luo, H., Chen, S., Zeng, X., Han, Z. (2022). Acylation of Anthocyanins and Their Applications in the Food Industry: Mechanisms and Recent Research Advances. *Foods*. 11(14):2166. <https://doi.org/10.3390/foods11142166>
- Luque-Rodríguez, J., Castro, M., Pérez-Juan, P. (2007). Dynamic superheated liquid extraction of anthocyanins and other phenolics from red grape skins of winemaking residues. *Bioresource Technology*, 98, pp. 2705-2713. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.09.019>
- Março, P., Poppi, R., Scarminio, I. (2008). Procedimentos analíticos para Identificação de antocianinas presentes em extratos naturais. *Revisão, Química Nova*, 31 (5), pp. 1218-1222. <https://www.scielo.br/j/qn/a/pxt7hhkclrn7gmssrt4dykp/?Format=pdf>

- Matera, R.; Gabbanini, S.; Berretti, S.; Amorati, R.; De Nicola, G. R.; Iori, R.; Valgimigli, L.; (2025). Acylated anthocyanins from sprouts of *Raphanus sativus* cv. Sango: Isolation, structure elucidation and antioxidant activity. *Food Chemistry*, 166, 397–406; <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.06.056>
- Matus-Castillo, D., Moya-Hernández, J., Castillo-Guevara, C., Cervantes-Rodriguez, M., Arguelles-Martinez, L., Aguilar-Paredes, O., Méndez-Iturbide, D. (2022). Extraction and use of Anthocyanins from Radish (*Raphanus sativus* Var Crimson Gigant) as a Natural Colorant in Yogurt. *European Journal of Agriculture and Food Sciences*, 4 (6), pp. 26-33. <https://doi.org/10.24018/ejfood.2022.4.6.574>
- Mellinas, C., Valdes, A., Ramos, M., Burgos, N., Garrigos, M., Jimenez, A. (2016). Active edible films: Current state and future trends. Review, *Applied Polymer Science*, 42631, pp. 1-15. <https://doi.org/10.1002/app.42631>
- Musilova, J., Lidikova, J., Vollmannova, A., Frankova, H., Urminska, D., Bojnanska, T., Toth, T. (2020). Influence of Heat Treatments on the Content of Bioactive Substances and Antioxidant Properties of Sweet Potato (*Ipomoea batatas* L.) Tubers. *Jornal of Food Quality*, Article ID 8856260, pp. 1-10. <https://doi.org/10.1155/2020/8856260>
- Nistor, M.; Diaconeasa, Z.; Frond, A. D.; Stirbu, I.; Socaciu, C.; Pinte, A.; Rugina, D. (2020). Comparative efficiency of different solvents for the anthocyanins extraction from chokeberries and black carrots, to preserve their antioxidant activity. *Chemical Papers*, 75(2), 813–822. <https://doi.org/10.1007/s11696-020-01344-6>
- OEHHA, Office of Environmental Health Hazard Assessment. (2021). Potential Neurobehavioral Effects of Synthetic Food Dyes in Children. Consultado a junho, 3, 2023, retirado de <https://oehha.ca.gov/media/downloads/risk-assessment/report/healtheffects041621.pdf>
- Ofori, F. K., Elahi, F., Daliri, E. B. M., Tyagi, A., Chen, X. Q., Chelliah, R., Oh, D. H. (2021). UHPLC-ESI-QTOF-MS/MS characterization, antioxidant and antidiabetic properties of sorghum grains. *Food Chemistry*, 337, 127788. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127788>
- Olas, B., Bialecki, J., Urbańska, K., Bryś, M. (2021). The effects of natural and synthetic blue dyes on human health: A review of current knowledge and therapeutic perspectives. *Advances in Nutrition*, 12(6), pp. 2301-2311. <https://doi.org/10.1093/advances/nmab081>
- Oleinits, E., Hatern, M., Deineka, V., Chulkov, A., Blinova, I., Tretiakov, M. (2019). Determination of Anthocyanins of Purple Carrot Two Cultivars Advances. *Biological Sciences Research*, volume 7, pp 231. Copyright © 2019, the Authors. Published by Atlantis Press
- Oliveira, M., Alves, D., Lima, L., Sousa, J., Peron, A. (2013). Cytotoxicity of erythrosine (E-127), brilliant blue (E-133) and red 40 (E-129) food dyes in a plant test system *Acta Scientiarum*. Universidade Estadual de Maringá. *Biological Sciences*, 35 (4), pp. 557-562.
- Oliveira, S. (2017). Criação de um Bombom Pastel de Nata. Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Ciências Gastronómicas, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Lisboa.
- Otsuki, T., Matsufuji, H., Takeda, M., Toyoda, M., Goda, Y. (2002). Acylated anthocyanins from red radish (*Raphanus sativus* L.). *Phytochemistry*, 60(1), pp. 79–87. [https://doi.org/10.1016/s0031-9422\(02\)00063-8](https://doi.org/10.1016/s0031-9422(02)00063-8)
- Papetti, A. Milanese, C.; Zanchi, C.; Gazzani, G. (2014). HPLC-DAD-ESI/MS characterization of environmentally friendly polyphenolic extract from *Raphanus sativus* L. Var. “Cherry Belle” skin and stability of its red components. *Food Research Int.*, 65, 238–246; <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2014.04.046>
- Pari, Y. (2024). Evaluation of antioxidant properties present in potato extract sweet purple (*Ipomoea batatas* (L.) Lam). Paper presented at the Anais do 14 SLACA - Simpósio Latino Americano de Ciência de Alimentos.

- Patil, G., Madhusudhan, M., Ravindra Babu, B., Raghavarao, K. (2009). Extraction, dealcoholization and concentration of anthocyanin from red radish. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 48(1), pp. 364–369. <https://doi.org/10.1016/j.cep.2008.05.006>
- Patras, A., Brunton, N., O'Donnell, C., Tiwari, B. (2010). Effect of thermal processing on anthocyanin stability in foods; mechanisms and kinetics of degradation. *Trends, Food Science & Technology*, 21(1), pp. 3–11. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2009.07.004>
- Pavlath, A., Orts, W. (2009). Edible Films and Coatings: Why, What, and How? *Edible Films and Coatings for Food Applications*, pp. 1–23. https://doi.org/10.1007/978-0-387-92824-1_1
- Pereira, J., Formigoni, M., Viell, F., Pante, G., Bona, E., Vieira, A. (2020). Aditivos alimentares naturais emergentes: Uma revisão. *Realidades e Perspectivas em Ciência dos Alimentos*, pp. 46–84. <https://doi.org/10.46420/9786588319031>
- Petitjean, M., Isasi, J. (2022) Locust Bean Gum, a Vegetable Hydrocolloid with Industrial and Biopharmaceutical In Applications. *Molecules*, 27, 8265. <https://doi.org/10.3390/molecules27238265>
- Pinheiro, A., Cerqueira, M., Souza, B., Martins, J., Teixeira, J., Vicente, A. (2010). Utilização de revestimentos/filmes edíveis para aplicações alimentares. Instituto de Biotecnologia e Bioengenharia, Centro de Engenharia Biológica, Universidade do Minho. <https://core.ac.uk/download/pdf/55618039.pdf>
- Pinheiro, M., Abrantes, S. (2015). Determinação dos corantes artificiais presentes em balas consumidas por crianças com idade entre 3 e 9 anos. *Revista Analytica, São Paulo*, 13, (79), pp. 10–23.
- Pires, T., Dias, M., Barros, L., Alves, M., Oliveira, M., Santos-Buelga, C., Ferreira, I. (2018) Antioxidant and antimicrobial properties of dried Portuguese apple variety (*Malus domestica* Borkh. Cv Bravo de Esmolfe). *Food Chemistry*, 240, pp. 701–706. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.08.010>.
- Podsedek, A.; Majewska, I.; Redzynia, M.; Sosnowska, D.; Koziolkiewicz, M. (2014). In vitro inhibitory effect on digestive enzymes and antioxidant potential of commonly consumed fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(20), 4610–4617. <https://doi.org/10.1021/jf5008264>
- Rani, A., Arfat, Y., Aziz, R., Ali, L., Ahmed, H., Asim, S., Hocart, C. (2021). Enzymatically assisted extraction of antioxidant and anti-mutagenic compounds from radish (*Raphanus sativus*). *Environmental Technology & Innovation*, 23, 101620. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2021.101620>
- Regulamento (CE) N.º 1333/2008 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 16 de dezembro de 2008, relativo aos aditivos alimentares. (2008). *Jornal Oficial da União Europeia*. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/PDF/?Uri=CELEX:32008R1333&from=DE>
- Regulamento (EU) No 1169/2011 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 25 de outubro de 2011, sobre a prestação de informação alimentar aos consumidores. (2011). *Jornal Oficial da União Europeia*. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/PDF/?Uri=CELEX:32011R1169>
- Regulamento da Comissão (UE) 2022/63, de 14 de janeiro de 2022, que diz respeito ao aditivo alimentar dióxido de titânio (E 171). (2022). *Jornal Oficial da União Europeia*. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?Uri=CELEX:32022R0063>

- Richardson, P., Willmer, J., Foster, T. (1997). Dilute solution properties of guar and locust bean gum in sucrose solutions. *Food Hydrocolloids*, 12(3), pp. 339–348. [https://doi.org/10.1016/s0268-005x\(98\)00025-3](https://doi.org/10.1016/s0268-005x(98)00025-3)
- Romeiras, M. M.; Essoh, A. P.; Catarino, S.; Silva, J.; Lima, K.; Varela, E.; Duarte, M. P. (2023). Diversity and biological activities of medicinal plants of Santiago island (Cabo Verde). *Heliyon*, 9(4). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e14651>
- Rouzbehan, S., Moein, S., Homaei, A., Moein, M. (2017). Kinetics of α -glucosidase inhibition by different fractions of three species of Labiatae extracts: a new diabetes treatment model. *Pharmaceutical biology*, 55(1), pp. 1483-1488.
- Rymbai, H., Sharma, R., Srivastav, M. (2011). Biocolorants and its implications in Health and Food Industry - A Review. In *International Journal of pharmtch Research*, 3 (4), pp. 2228-2244.
- Sadilova, E., Stintzing, F., Carle, R. (2006). Thermal Degradation of Acylated and Nonacylated Anthocyanins. *Journal of Food Science*, 71(8), pp. C504–C512. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2006.00148.x>
- Saha, S.; Singh, J.; Paul, A.; Sarkar, R. (2020). Anthocyanin Profiling Using UV-Vis Spectroscopy and Liquid Chromatography Mass Spectrometry. *Journal of AOAC International*, 1, 23-39. <https://doi.org/10.5740/jaoacint.19-0201>
- Serrano, C. (2022). Efeito da microencapsulação da matéria corante do sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) atomizado e liofilizado. 3º Encontro das Tintureiras Nacionais, Universidade da Beira Interior, 2022
- Serrano, C., Sapata, M., Soares, A., Oliveira, M. (11 de dezembro de 2019). Efeito da microencapsulação da matéria corante do sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) atomizado e liofilizado. 1º Encontro GO-Tinturaria Natural.
- Serrano, C., Sapata, M., Oliveira, M., Soares, A., Pereira, C., Abreu, R., Barros, L. (2023). Encapsulation of Sorghum Leaf Red Dye: Biological and Physicochemical Properties and Effect on Stability. *Foods* 12(8), 1646. <https://doi.org/10.3390/foods12081646>
- Shin, T., Ahn, M., Kim, G. O., Park, S. U. (2015). Biological activity of various radish species. *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine*, 15(2), pp. 105–111. <https://doi.org/10.1007/s13596-015-0183-9>
- Sigurdson, G., Robbins, R., Collins, T., Giusti, M. (2018). Impact of location, type, and number of glycosidic substitutions on the color expression of o-dihydroxylated anthocyanidins. *Food Chemistry*, 268, pp. 416-423, ISSN 0308-8146. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.06.079>
- Silveira, A., Kassuia, Y., Domahovski, R., Lazzarotto, M. (2018). Método de DPPH adaptado: uma ferramenta para analisar atividade antioxidante de polpa de frutos da erva-mate de forma rápida e reprodutível. *Comunicado Técnico*, Embrapa. ISSN 1980-3982
- Slinkard, K., & Singleton, V. L. (1977). Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. *American journal of enology and viticulture*, 28(1), pp. 49-55. <https://doi.org/10.5344/ajev.1977.28.1.49>
- Sousa, D., Basílio, N., Oliveira, J., Freitas, V., Pina, F. (2020). A New Insight into the Degradation of Anthocyanins: Reversible versus the Irreversible Chemical Processes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 70 (2), pp. 656-668. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.1c06521>
- Stat. Soft. Inc. STATISTICA (Data Analysis Software System) Version 12
- Su, X., Griffin, J., Xu, J., Ouyang, P., Zhao, Z., Wang, W. (2019). Identification and quantification of anthocyanins in purple-fleshed sweet potato leaves. *Heliyon* 5 (6), e01964. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01964>

- Sun, H., Zhang, P., Zhu, Y., Lou, Q., He, S. (2018). Antioxidant and prebiotic activity of five peonidin-based anthocyanins extracted from purple sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.). *Scientific Reports*, (8), 5018. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-23397-0>
- Sun, J. Lin. L-ze; Chen, P. (2012). Study of the mass spectrometric behaviors of anthocyanins in negative ionization mode and its applications for characterization of anthocyanins and non-anthocyanin polyphenol. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 26, 1123–1133. <https://doi.org/10.1002/rcm.6209>
- Tan, J., Han, Y., Han, B., Qi, X., Cai, X., Ge, S., Xue, H. (2022). Extraction and purification of anthocyanins: A review. *Journal of Agriculture and Food Research*, 8, 100306, 2666-1543. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2022.100306>.
- Tiwari, B., Patras, A., Brunton, N., Cullen, P., O'Donnell, C. (2010). Effect of ultrasound processing on anthocyanins and color of red grape juice. *Ultrasonics sonochemistry*, 17(3), pp. 598–604. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2009.10.009>
- Torres, D., Costa, S., Carvalho, C., Vilela, S., Correia, D., Costa, M., Marinho, A., Pereira, R., Jorge, I., Severo, M., Casal, S., Cunha, S., Monteiro, S., Lopes, S., Gregório, M., Vasconcelos, F., Lopes, C. (S.D.). Exposição a aditivos e contaminantes alimentares em Portugal: Avaliação de risco e dicas de mitigação. Focaccia. (EBOOK) https://is-pup.up.pt/wp-content/uploads/2022/06/E-book_seguranca-dos-alimentos-1.pdf
- Truong, V-D.; Deighton, N.; Thompson, R.T.; mcfeters, R.F.; Dean, L.O.; Pecota, K.V.; Yencho, G.C. (2010). Characterization of Anthocyanins and Anthocyanidins in Purple-Fleshed Sweet potatoes by HPLC-DAD/ESI-MS/MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 404–410. <https://doi.org/10.1021/jf902799a>.
- Tugli, L., Essuman, E., Kortei, N., Nsor-Atindana, J., Nartey, E., Ofori-Amoah, J. (2019). Bioactive Tugli, L., Essuman, E., Kortei, N., Nsor-Atindana, J., Nartey, E., Ofori-Amoah, J. (2019). Bioactive constituents of waakye; a local Ghanaian dish prepared with *Sorghum bicolor* (L.) Moench leaf sheaths. *Scientific African*, 3, e00049. <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2019.e00049>
- Türker, D., Doğan, M. (2022). Ultrasound-assisted natural deep eutectic solvent extraction of anthocyanin from black carrots: Optimization, cytotoxicity, in-vitro bioavailability and stability. *Industrial Crops & Products*, 112, pp. 296–30. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2022.01.002>
- Tzanova, M. T., Yaneva, Z., Ivanova, D., Toneva, M., Grozeva, N., Memdueva, N. (2024). Green Solvents for Extraction of Natural Food Colorants from Plants: Selectivity and Stability Issues. *Foods*, 13(4), 605. <https://doi.org/10.3390/foods13040605>
- Uuh-Narvaez, J. J.; Tamayo; M. A. G.; Segura-Campos, M. R. (2020). A Study on Nutritional and Functional Study Properties of Mayan Plant Foods as a New Proposal for Type 2 Diabetes Prevention. *Food Chemistry*, 128247. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128247>
- Vargas, R., Perez, R. M., Perez, S., Zavala, M. A., & Perez, C. (1999). Antirolithiatic activity of *Raphanus sativus* aqueous extract on rats. *Journal of ethnopharmacology*, 68(1-3), pp. 335–338. [https://doi.org/10.1016/s0378-8741\(99\)00105-1](https://doi.org/10.1016/s0378-8741(99)00105-1)
- Wahyuningsih, S., Wulandari, L., Wartono, M., Munawaroh, H., Ramelan, H. (2017). The Effect of ph and Color Stability of Anthocyanin on Food Colorant. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 193. <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1757-899X/193/1/012047/pdf>

- Wentian, C., Eric, K., Jingyang, Y., Shuqin, X., Biao, F., & Xiaoming, Z. (2016). Improving red radish anthocyanin yield and off flavor removal by acidified aqueous organic based medium. *RSC Advances*, 6(100), 97532–97545. <https://doi.org/10.1039/c6ra16936h>
- Wu, X., Prior, R. (2005). Identification and Characterization of Anthocyanins by High-Performance Liquid Chromatography–Electrospray Ionization–Tandem Mass Spectrometry in Common Foods in the United States: Vegetables, Nuts, and Grains. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 53, pp. 3101–3113. <https://doi.org/10.1021/jf0478861>
- Xiong, Y., Zhang, P., Warner, R., Fang, Z. (2019). 3-Deoxyanthocyanidin Colorant: Nature, Health, Synthesis, and Food Applications. *Comprehensive Reviews, Food Science and Food Safety*. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12476>
- Yañez-Apam, J., Domínguez-Uscanga, A., Herrera-González, A., Contreras, J., Mojica, L., Mahady, G., Luna-Vital, A. (2023). Pharmacological Activities and Chemical Stability of Natural and Enzymatically Acylated Anthocyanins: A Comparative Review. *Pharmaceuticals*. Article, *MDPI Journal*, 16(5) pp. 638. <https://doi.org/10.3390/ph16050638>
- Yusuf, D., Nuraida, L., Dewanti-Hariyadi, R., Hunaef, D. (2021). In vitro Antioxidant and α -Glucosidase Inhibitory Activities of *Lactobacillus* spp. Isolated from Indonesian Kefir Grains. *Applied Food Biotechnology*, 8, pp. 39-46. <https://doi.org/10.22037/afb.v8i1.30367>
- Yusuf, E.; Wojdyło, A.; Oszmiański, J.; Nowicka, P. (2021). Nutritional, phytochemical characteristics and in vitro effect on α -amylase, α -glucosidase, lipase, and cholinesterase activities of 12 coloured carrot varieties. *Foods*, 10(4), 808. <https://doi.org/10.3390/foods10040808>
- Zafra-Rojas, Q.Y., Cruz-Cansino, N.S., Quintero-Lira, A., Gómez-Aldapa, C.A., Alanís-García, E., Cervantes-Elizarrarás, A., Güemes-Vera, N., Ramírez-Moreno, E. (2016). Application of Ultrasound in a Closed System: Optimum Condition for Antioxidants Extraction of Blackberry (*Rubus fruticosus*) Residues. *Molecules*, 21, 950. <https://doi.org/10.3390/molecules21070950>
- Zaim, M., Kara, I., Muduroglu, A. (2021). Black carrot anthocyanins exhibit neuroprotective effects against MPP+ induced cell death and cytotoxicity via inhibition of oxidative stress mediated apoptosis. *Cytotechnology*, 73(6), pp. 827–840. <https://doi.org/10.1007/s10616-021-00500-4>
- Zuidam, N., Nedovic, V. (Eds.). (2010). *Encapsulation Technologies for Active Food Ingredients and Food Processing*. Pp. 35-96. <https://doi.org/10.1007/978-1-4419-1008-0>

A.1 Amostras para o ensaio de Termoestabilidade

Códigos das amostras dos extratos das diferentes matrizes vegetais e respectivas massas utilizadas para o ensaio de termoestabilidade

Amostra	Código	Pigmento (g)	Polímero (g)	Calda de açúcar (ml)
Sorgo	S-GAa	0,0501	0,2042	40
Sorgo	S-GAb	0,0522	0,2032	40
Sorgo	S-La	0,0516	0,2041	40
Sorgo	S-Lb	0,053	0,2021	40
Sorgo	S-SRa	0,052	0	40
Sorgo	S-SRb	0,0522	0	40
Fábrica Natural	FN-GAa	0,0545	0,2042	40
Fábrica Natural	FN-GAb	0,052	0,2032	40
Fábrica Natural	FN-La	0,0563	0,2002	40
Fábrica Natural	FN-Lb	0,056	0,2009	40
Fábrica Natural	FN-SRa	0,0521	0	40
Fábrica Natural	FN-SRb	0,0522	0	40
Batata-Doce (Polpa)	BD-GAa	0,253	0,2005	40
Batata-Doce (Polpa)	BD-GAb	0,2514	0,2031	40
Batata-Doce (Polpa)	BD-La	0,2529	0,2011	40
Batata-Doce (Polpa)	BD-Lb	0,2516	0,202	40
Batata-Doce (Polpa)	BD-SRa	0,2536	0	40
Batata-Doce (Polpa)	BD-SRb	0,25	0	40
Batata-Doce (Casca)	CBD-GAa	0,1026	0,2019	40
Batata-Doce (Casca)	CBD-GAb	0,103	0,2005	40
Batata-Doce (Casca)	CBD-La	0,1045	0,201	40
Batata-Doce (Casca)	CBD-Lb	0,1002	0,203	40
Batata-Doce (Casca)	CBD-SRa	0,1019	0	40
Batata-Doce (Casca)	CBD-SRb	0,103	0	40
Cenoura preta	CR-GAa	0,0511	0,2032	40
Cenoura preta	CR -GAb	0,0521	0,2021	40
Cenoura preta	CR -La	0,0514	0,2012	40
Cenoura preta	CR -Lb	0,0501	0,2041	40
Cenoura preta	CR -SRa	0,056	0	40
Cenoura preta	CR -SRb	0,0538	0	40
Rabanete (Casca)	R-GAa	0,1036	0,2038	40
Rabanete (Casca)	R -GAb	0,1056	0,2033	40
Rabanete (Casca)	R -La	0,103	0,203	40
Rabanete (Casca)	R -Lb	0,1011	0,2022	40
Rabanete (Casca)	R -SRa	0,1022	0	40
Rabanete (Casca)	R -SRb	0,1008	0	40



(2024)

BEATRIZ LAMAS

UTILIZAÇÃO DE ANTOCIANINAS EM REVESTIMENTOS POLIMÉRICOS COLORIDOS PARA APLICAÇÃO EM CONFEITARIA