UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Botucatu

FCA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
UNESP | BOTUCATU

ISABELLA BARBOSA MARQUES

PROSPECÇÃO DE CORANTES NATURAIS ORIUNDOS DE FLORES COMESTÍVEIS

Botucatu

2022

ISABELLA BARBOSA MARQUES

PROSPECÇÃO DE CORANTES NATURAIS ORIUNDOS DE FLORES COMESTÍVEIS

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da Unesp Campus de Botucatu, para obtenção do título de Doutor em Agronomia (Horticultura).

Orientador(a): Prof. Dr. Filipe Pereira Giardini Bonfim

Botucatu

2022

M357p

Marques, Isabella Barbosa

Prospecção de corantes naturais oriundos de flores comestíveis / Isabella Barbosa Marques. -- Botucatu, 2022

71 p.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agronômicas, Botucatu

Orientador: Filipe Pereira Giardini Bonfim

1. Corantes naturais. 2. Flores Comestíveis. 3. Aditivos alimentares. 4. Atividade antioxidante. 5. Compostos bioativos. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agronômicas, Botucatu. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Botucatu

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: PROSPECÇÃO DE CORANTES NATURAIS ORIUNDOS DE FLORES COMESTÍVEIS

AUTORA: ISABELLA BARBOSA MARQUES
ORIENTADOR: FILIPE PEREIRA GIARDINI BONFIM

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em AGRONOMIA (HORTICULTURA), pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. FILIPE PEREIRA GIARDINI BONFIM (Participaçao Presencial)
Producao Vegetal / Faculdade de Ciencias Agronomicas de Botucatu UNESP

Prof.ª Dr.ª PRICILA VEIGA DOS SANTOS (Participaçao Presencial)
Produção Vegetal / Faculdade de Ciências Agronômicas de Botucatu - UNESP

Prof.ª Dr.ª JORDANY APARECIDA DE OLIVEIRA GOMES (Participaçao Virtual)
Pós-Doutoranda - Centro de P&D de Recursos Genéticos Vegetais / Instituto Agronômico de Campinas

Dr.ª GABRIELA GRANGHELLI GONÇALVES (Participaçao Virtual)
Jaguariúna/SP / .

Prof.ª Dr.ª REGINA MARTA EVANGELISTA (Participaçao Presencial)
Horticultura / Faculdade de Ciências Agronômicas de Botucatu - UNESP

Botucatu, 19 de agosto de 2022

Aos meus amados pais, Ailton e Ivane,

Aos meus amados irmãos, Pablo e Lucas,

Dedico.

Agradecimentos

Ao meu bom Deus pelo dom da vida, por me permitir viver essa fase de Pós-Graduação que mesmo, às vezes, tão doída me fez crescer e amadurecer.

À minha Mãe do céu, Maria Santíssima, por me carregar no colo, me consolar nos momentos mais difíceis, por iluminar meus caminhos e me acalmar, me mostrando que tudo ficaria bem, que eu estava no caminho certo.

Aos meus pais Ivane e Ailton e aos meus irmãos Pablo e Lucas, por todo o apoio, incentivo e amor incondicionais neste período. Obrigada por acreditarem em mim mais do que eu mesma. Nada disso teria sentido ou importância se eu não tivesse vocês. Essa conquista, esse título não é meu, é nosso. Jamais conseguirei agradecer suficientemente a vocês.

A toda a minha família pelo apoio e incentivo incessantes. Especialmente à tia Daka, por ter sido o meu lar aqui neste estado, o simples fato de estar em sua presença, em qualquer lugar que fosse, fazia eu me sentir em casa.

Ao meu querido orientador prof. Dr. Filipe, que sempre fez muito além de sua função de orientação, foi um grande prazer e uma honra aprender com você nos últimos cinco anos. Obrigada pela confiança depositada em mim e no meu trabalho. Fazer doutorado em tempos de pandemia foi complexo, mas ter um orientador compreensivo e humano deixou o percurso menos difícil. Você é inspiração.

Agradeço de forma muito especial aos que ajudaram na execução direta deste trabalho, tanto na fase de campo, quanto nas análises laboratoriais e na escrita da tese: Hilbaty, Juliana, Letícia, Gustavo, Isabela, Lucas, Jordany, Nathália e Júlio. Obrigada de todo o meu coração, vocês tornaram esse trabalho possível.

Aos demais estagiários do Laboratório de Plantas Medicinais e aos membros do Grupo de Pesquisa em Horticultura Orgânica e Biodiversidade que ajudaram em alguma etapa deste trabalho.

Aos amigos de São Bento que sempre me apoiaram tanto, acreditaram em mim e se fizeram presentes mesmo à distância - especialmente Mona, Matheus, Anna Clara e Júnior.

À minha amiga Sara pela amizade, companheirismo, aconchego, por me mostrar uma Botucatu que eu não conhecia e por dividir um pouquinho da sua família comigo, fazendo com que os dias aqui fossem melhores e tivessem mais sentido. Sua amizade - e sua família – foram um verdadeiro presente do céu pra mim em Botucatu. Não há distância que desfaça os laços que construímos.

Agradeço imensamente ao meu amigo Júlio. Que sorte a minha ter você como amigo há 10 anos. Pois há 10 anos você me faz acreditar que eu posso, que eu consigo, que eu dou conta. Devo muito do meu sucesso acadêmico a você. Obrigada por nunca me

deixar desistir, por me encorajar sempre. Olha só onde eu cheguei, olha só onde nós chegamos. Obrigada, colega. Você é incrível.

Agradeço a todos que de alguma forma, de algum lugar – especialmente minha Comunidade São Bento - torceram, rezaram por mim, mandaram boas energias e acreditaram que era possível, que eu era capaz.

À minha psicóloga Fernanda, que diagnosticou o TDAH e conduziu/conduz um tratamento adequado que fez com que a escrita da tese fosse muito mais tranquila e prazerosa.

Aos funcionários da Fazenda Experimental Lageado e do Pomar da Horticultura por toda a ajuda ao longo do doutorado.

Ao departamento de Produção Vegetal e à FCA pela estrutura física e humana disponibilizada para a realização deste trabalho.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pela concessão da bolsa - Brasil – Código de financiamento 001.

A todos que foram meus professores ao longo da vida, desde a pré-escola até a última disciplina do doutorado, tem um pouquinho de cada um de vocês nessa tese, na profissional e na pessoa humana que sou.

“O correr da vida embrulha tudo, a vida é assim: esquenta e esfria, aperta e daí afrouxa, sossega e depois desinquieta. O que ela quer da gente é coragem. O que Deus quer é ver a gente aprendendo a ser capaz de ficar alegre a mais, no meio da alegria, e inda mais alegre ainda no meio da tristeza! ”

ROSA, J. G. **Grande sertão: veredas**. 22. ed. São Paulo: Editora Companhia das Letras, 2019. p.519.

RESUMO

A cor é um atributo de suma importância na aceitação de produtos, especialmente dos alimentícios. Em razão dos possíveis danos que os corantes sintéticos podem acarretar à saúde humana há uma busca por alternativas a estes aditivos. Os corantes naturais são potenciais substitutos aos sintéticos, pois são considerados não tóxicos e ainda podem propiciar efeitos benéficos em virtude de suas atividades bioativas, como a antioxidante. Objetivou-se com o presente estudo prospectar flores comestíveis com potencial uso como corante natural. Foram avaliadas as espécies *Calendula officinalis* L.*(*calêndula), *Tropaeolum majus* L. (capuchinha), *Hibiscus acetosella* Welw. ex hiern (vinagreira-roxa) e híbridos de *Viola* x *wittrockiana* Gams (amor-perfeito roxo, amor-perfeito púrpura e amor-perfeito vermelho). Os corantes obtidos através dessas flores foram analisados quanto ao rendimento de extrato, teor de compostos fenólicos totais, atividade antioxidante pelo método DPPH, determinação de pigmentos (carotenoides, antocianinas, clorofila *a* e clorofila *b*), análise da cor instrumental em matriz alimentícia e estabilidade de corantes. Os dados de estabilidade foram submetidos à análise de variância e teste de médias (Teste F a 5% de probabilidade). Os demais foram submetidos à estatística descritiva e à análise multivariada. Todas os corantes alcançaram altos valores de rendimento de extrato, com destaque para a capuchinha vermelha (38%). Os corantes avaliados apresentaram elevada atividade antioxidante, com mais de 70 % de Sequestro de Radicais Livres (SRL), os oriundos de amor-perfeito púrpura, capuchinha salmão e capuchinha vermelha exibiram porcentagens de SRL próximas a 90%. Apresentaram ainda altos valores de compostos fenólicos totais, sendo o corante proveniente do amor-perfeito roxo o que detém o maior valor (2658,39±24,4 mgEAG.g^{-1}). As maiores concentrações de antocianinas e de carotenoides foram identificadas nos corantes de vinagreira-roxa. Pela análise de cor instrumental, em conformidade com os valores de ºHue, infere-se que os corantes oriundos de amor-perfeito roxo e de capuchinha vermelha expressam coloração vermelho-violeta. Já os corantes de amor-perfeito púrpura e amor-perfeito vermelho manifestam coloração azul-violeta. Os corantes de capuchinha salmão e capuchinha laranja detêm coloração vermelho. Os corantes de calêndula, capuchinha amarela e vinagreira-roxa exibem coloração laranja. E o corante de capuchinha púrpura exprime coloração violeta. Os corantes obtidos através das flores de capuchinha laranja, amor-perfeito roxo, amor-perfeito vermelho e vinagreira-roxa não sofreram influência de nenhum dos fatores de estabilidade avaliados, portanto, todos eles são considerados estáveis nas condições deste estudo. Tanto a variação de pH e temperatura quanto a interação entre esses fatores influenciaram na estabilidade do corante de amor-perfeito púrpura, deste modo, é considerado instável. Em virtude dos resultados apresentados, os corantes de capuchinha laranja, vinagreira-roxa, amor-perfeito roxo e amor-perfeito vermelho são considerados promissores para uso como corante natural, pois se mostraram estáveis nas condições do estudo, expressaram altos valores de compostos fenólicos totais e elevada atividade antioxidante. Estudos futuros são requeridos para aplicação desses

corantes em distintas matrizes alimentares, bem como quanto ao potencial nutricional destes.

Palavras-chave: pigmentos naturais; flores alimentícias; atividade antioxidante; aditivo alimentar.

ABSTRACT

Color is an attribute of paramount importance in the acceptance of products, especially foodstuffs. Due to the possible damage that synthetic dyes can cause to human health, there is a search for alternatives to these additives. The natural dyes are potential substitutes for synthetic ones, because they are considered non-toxic and can also provide beneficial effects due to their bioactive activities, such as antioxidants. The present study aimed to prospect edible flowers with potential use as a natural dye. The species *Calendula officinalis* L. (marigold), *Tropaeolum majus* L. (nasturtium), *Hibiscus acetosella* Welw. ex hiern (purple vinegar) and the hybrid of *Viola* x *wittrockiana* Gams (purple pansy, blue pansy and red pansy (all hybrids) were evaluated. The dyes obtained from these flowers were analyzed for extract yield, content of total phenolic compounds, antioxidant activity by DPPH method, determination of pigments (carotenoids, anthocyanins, chlorophyll a and chlorophyll b), instrumental color analysis in food matrix and stability of dyes. The stability data were submitted to analysis of variance and test of means (F Test 5% probability). The others were submitted to descriptive statistics and multivariate analysis. All dyes reached high values of extract yield, especially red nasturtium (38%). The dyes evaluated showed high antioxidant activity, with more than 70% of SRL, the ones from purple pansy, salmon nasturtium and red nasturtium exhibited percentages of Free Radical Sequestration (SRL) close to 90%. They also showed high values of total phenolic compounds, with the dye from the purple pansy having the highest values (2658.39±24.4 mgEAG.g-1). The highest concentrations of anthocyanins and carotenoids were identified in the purple vinegar dyes. Through the instrumental color analysis, in accordance with the ºHue values, it is inferred that the dyes from purple pansy and red nasturtium express a red-violet color. Purple pansy and red pansy dyes show a blue-violet color. Salmon nasturtium and orange nasturtium dyes have a red color. The colorings of marigold, yellow nasturtium and purple vinegar exhibit orange coloring. And the purple nasturtium dye expresses violet coloring. The dyes obtained from orange nasturtium, purple pansy, red pansy and purple vinegar flowers were not influenced by any of the stability factors evaluated, therefore, all of them are considered stable under the conditions of this study. Both the pH and temperature variation and the interaction between these factors influenced the stability of the purple pansy dye, thus, it is considered unstable. Due to the results presented, the orange nasturtium, purple vinegar, purple pansy and red pansy dyes are considered promising for use as natural dyes, as they were stable under the conditions of the study, expressing high values of total phenolic compounds. and high antioxidant activity. Future studies are required for the application of these dyes in different food matrices, as well as for their nutritional potential.

Keywords: natural pigments; food flowers; antioxidant activity; food additive.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 17

2 REVISÃO DE LITERATURA 19

2.1 Corantes alimentícios 19

2.1.1 Corantes sintéticos **20**

2.1.2 Corantes naturais **21**

2.2 Antocianinas 24

2.3 Carotenoides 25

2.4 Clorofilas *a* e *b* 27

2.5 Flores comestíveis 29

2.5.1 Calêndula **30**

2.5.2 Amor-perfeito **30**

2.5.3 Capuchinha **31**

2.5.4 Vinagreira-roxa **32**

3 MATERIAL E MÉTODOS 33

3.1 Condução do experimento em campo 33

3.1.1 Local do estudo **33**

3.1.2 Espécies **33**

3.1.3 Produção de Mudas **33**

3.1.4 Tratos Culturais **34**

3.2 Análises Laboratoriais 35

3.2.1 Obtenção do Corante **35**

3.2.2 Determinação do Teor de Compostos Fenólicos Totais **36**

3.2.3 Atividade Antioxidante pelo método DPPH **37**

3.2.4 Determinação de Pigmentos (Carotenoides, Antocianinas, Clorofila a e b) **37**

3.2.5 Estabilidade dos Corantes **38**

3.2.6 Análise da Cor Instrumental em matriz alimentícia **39**

3.2.7 Análise de dados **40**

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO 41

5 CONCLUSÃO..... 52

REFERÊNCIAS..... 53

APÊNDICE A..... 70

APÊNDICE B..... 71

1 INTRODUÇÃO

A aceitação de um produto alimentício pelo consumidor está diretamente relacionada ao aspecto visual. Além de importante atributo sensorial, os consumidores usualmente relacionam a cor ao sabor, cheiro, segurança e qualidade geral de um produto (RAMESH; MUTHURAMAN, 2018). De acordo com Lermen e colaboradores (2015), os seres humanos usam 87% da visão para definir e aceitar o padrão de qualidade de um produto alimentício, portanto, o aspecto visual é um dos maiores motivadores de compra (SAHOTA, 2013).

Entre alguns dos motivos de se adicionar cor a um produto estão o intuito de restituir sua aparência original, que pode ser afetada durante os estágios do processamento, para intensificar a cor que usualmente é correlacionada a determinados produtos e para proporcionar cor aos isentos de cor (CONSTANT *et al*., 2002; SPENCE, 2015).

As indústrias do segmento alimentício utilizam, principalmente, os corantes artificiais como aditivos de cor, pois os mesmos apresentam menor custo de produção e maior estabilidade frente aos corantes naturais. Entretanto, de acordo com a literatura científica, o uso prolongado destes aditivos pode causar danos à saúde (EL-WAHAB; MORAM, 2013). O uso de corantes artificiais é frequentemente questionado pelas possíveis reações adversas aos consumidores. A carcinogenicidade e a toxicidade atribuídas a estes corantes restringem seu uso e contribuem para o aumento do interesse em pesquisas com corantes naturais com a finalidade de substituir os corantes sintéticos (BOO *et al*., 2012).

Os corantes naturais ganharam interesse dos pesquisadores e do mercado consumidor em virtude de sua segurança, propriedades nutricionais e atividade biológica (RODRIGUEZ-AMAYA, 2016). O uso desses corantes depende principalmente da sua extração econômica a partir de fontes naturais. O que é um entrave, haja vista que durante a extração eles são passíveis de sofrerem oxidação, isomerização, fotooxidação ou formação de complexos metálicos. E fatores como temperatura, luz e pH podem comprometer a estabilidade dos mesmos (FENNEMA; DAMODARAN; PARKIN, 2010).

Entre os benefícios atribuídos aos corantes naturais estão propriedades importantes como atividade antioxidante e antimicrobiana. Nesse contexto, surgem as flores comestíveis com potencial fonte de corantes, dotadas de cores diversas e ricas

em compostos bioativos. Calêndula (*Calendula officinalis*), capuchinha (*Tropaeolum majus*), vinagreira-roxa (*Hibiscus acetosella*) e amor-perfeito (*Viola* x *wittrockiana*) são exemplares de flores comestíveis. Apresentam uso seguro quanto ao seu consumo, sendo amplamente utilizadas em preparações culinárias como: doces, bolos, saladas, sopas, vinagres, manteigas, bebidas (licores, ponches e vinhos), saladas de frutas, carnes, cubos de gelo e corantes. Além do sabor agradável, são ricas em flavonoides, carotenoides, compostos fenólicos, vitaminas, minerais e compostos antioxidantes (FERNANDES *et al*., 2016; HUANG *et al*., 2017).

Os antioxidantes possuem íntima relação com a prevenção de envelhecimento precoce e de doenças degenerativas associadas ao envelhecimento, como câncer, doenças cardiovasculares, catarata, declínio do sistema imune e disfunções cerebrais. A presença destes compostos no corpo é de extrema importância, visto que eles são os responsáveis por controlar a atividade maléfica desempenhada pelos agentes oxidantes. Diante disso, observa-se que é relevante que se tenha uma dieta rica em compostos fenólicos e carotenoides, que podem ser encontrados nas flores comestíveis e incorporados na alimentação por intermédio de seu processamento como condimento (SOUSA *et al*., 2007; GONÇALVES *et al*., 2012; SANTOS *et al*., 2014; HUANG *et al*., 2017; PIRES *et al*., 2017).

No entanto, o grande desafio para as indústrias em substituir os corantes sintéticos pelos naturais ocorre devido à carência de estudos de prospecção de fontes alternativas e à instabilidade dos corantes naturais. Assim, o presente estudo visa prospectar potenciais corantes alimentícios, oriundos de flores comestíveis, bem como quantificar os compostos bioativos nos extratos, avaliar sua estabilidade quanto a diferentes temperaturas e pH e sua atividade biológica.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Corantes Alimentícios

De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), no Item 1.2 da Portaria nº 540, de 27 de outubro de 1997, os aditivos alimentares são quaisquer ingredientes que incorporados aos alimentos durante o processo de fabricação, embalagem, armazenagem, transporte ou manipulação, têm função de alterar suas características biológicas, químicas, físicas e/ou sensoriais sem o propósito de nutrir (BRASIL, 1997).

Trata-se de uma classe de substâncias fortemente complexas e heterogêneas, deste modo, critérios como origem, estrutura química, função, dentre outros parâmetros são considerados para classificá-los. De acordo com sua função, categoriza-se tais substâncias como: agentes conservantes, acidificantes, emulsionantes, estabilizantes, espessantes, umidificantes, anti-umidificantes, aromatizantes, edulcorantes e corantes (ARTIGAS-ARTIGAS *et al*., 2017; RODRIGUES *et al*., 2017).

Os corantes ou aditivos coloridos são uma classe de aditivos alimentares que, por definição, são substâncias cujo objetivo é conferir, intensificar ou restaurar a cor de um alimento, bebidas ou aplicações não alimentares, como produtos farmacêuticos, por exemplo, com o intuito de que este apresente características idênticas ou similares as de um produto natural (AMCHOVA *et al*., 2015).

Em conformidade com o artigo 8º do Regulamento (CE) nº 1333/2008 do parlamento Europeu, os corantes inseridos propositalmente aos alimentos são substâncias cujas finalidades são restituir a cor original afetada durante o processamento, embalagem ou distribuição. Bem como garantir uniformidade da coloração, intensificá-la ou protegê-la de efeitos degradantes da luz. Agir como indicativo visual de qualidade, tornando o produto mais atrativo visualmente. Ou simplesmente conferir cor a um produto alimentício (HUTCHINGS, 1994).

Dentre os atributos sensoriais de um alimento não se pode preterir a cor, pois o aspecto visual influencia diretamente na aceitação global de um determinado alimento, tendo em vista que o primeiro contato do consumidor com o produto se dá através da visão. A indústria alimentar vale-se deste recurso sensorial para satisfazer

as expectativas dos consumidores através da coloração dos alimentos, para que os mesmos sejam visualmente agradáveis e atrativos (SOUZA, 2012).

Existem três categorias de corantes permitidas pela legislação para uso em alimentos, são elas: os corantes naturais, os corantes artificiais e o corante caramelo. Segundo o artigo 10 do Decreto nº 55.871, de 26 de março de 1965 (BRASIL, 1965), considera-se corante natural o pigmento ou corante inócuo extraído de substância vegetal ou animal. Já o corante artificial é a substância obtida por processo de síntese (com composição química definida). O corante caramelo é o produto obtido a partir de açúcares pelo aquecimento a temperatura superior ao seu ponto de fusão e posterior tratamento indicado pela tecnologia. Os corantes podem se apresentar de diversas maneiras, na fase líquida, em forma de pó, pasta e suspensão (HOUGHTON; HENDRY, 2012).

2.1.1 Corantes Sintéticos

Os corantes sintéticos ou artificiais são uma classe de aditivo alimentar cuja única função é conferir cor, tornando bebidas e alimentos visualmente mais atrativos, não possuindo nenhum valor nutricional (MANISH *et al*., 2017).

O primeiro corante artificial foi sintetizado, acidentalmente, por William Henry Perkin, no ano de 1865, e ficou conhecido como malva ou malveína. Tal descoberta ocorreu enquanto o cientista estudava a oxidação da fenilamina com dicromato de potássio (SHARMA *et al*., 2011).

Existe uma grande heterogeneidade de compostos com capacidade colorante, o que faz com que a lista de corantes aceitáveis em cada país seja variável (COULSON, 1980; QUEIJA, 2001; PRADO; GODOY, 2003). Nos Estados Unidos permite-se o uso de sete corantes sintéticos em alimentos, já a legislação da União Europeia autoriza o uso de 16 destes aditivos de cor (ZAHRA *et al*., 2017).

Em reunião da Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos, do Ministério da Saúde, realizada em 1977, passou-se a estabelecer as condições gerais de elaboração, classificação, apresentação, designação, composição e fatores essenciais de qualidade dos corantes empregados na produção de alimentos e bebidas no Brasil. Pela legislação brasileira atual, permite-se o uso de 16 corantes artificiais no país, são eles: Amaranto (E-123), Eritrosina (E-127), Tartrazina (E-102), Indigotina (E-132), Azul Brilhante FCF (E-133), Azorrubina (E-122), Verde Rápido FCF

(E-143), Azul Patente V (E-131), Marrom HT (E-155), Ponceau 4R (E-124), Amarelo Crepúsculo (E-110), Vermelho 2G (E-128), Vermelho 40 (E-129), Amarelo de quinoleína (E-104), Negro brilhante BN (E-151) e Litol rubina BK (E-180). Permite-se também o uso dos seguintes corantes orgânicos sintéticos idênticos aos naturais: Beta-caroteno e Caramelo II, III e IV (BRASIL, 2015). Ainda de acordo com a legislação brasileira, alimentos aos quais foram adicionados corantes artificiais devem exibir em seu rótulo a indicação de “colorido artificialmente”.

Os corantes artificiais possuem vantagens inegáveis, já que a maioria apresenta alta estabilidade a variações de luz, temperatura, pH e oxigênio, detêm alta uniformidade na cor conferida, alta capacidade colorante, possibilidade quase nula de contaminação microbiológica e custo de produção relativamente baixo (EL-WAHAB; MORAM, 2013).

Entretanto, ao longo dos últimos anos, tem-se discutido sobre os riscos toxicológicos em decorrência da ingestão frequente de aditivos alimentares colorantes que estão presentes na composição de alimentos industrializados, pois o uso abusivo dessas substâncias pode trazer riscos à saúde humana (ALBUQUERQUE *et al*., 2017; JIMENEZ-GONZALEZ *et al*., 2018).

Em virtude dos possíveis danos à saúde correlacionados à adição desses corantes sintéticos aos alimentos há, nos dias atuais, maior demanda do mercado consumidor por alimentos naturais e mais saudáveis (CAROCHO *et al*., 2015; LACHNO *et al*., 2019). O que faz com que a indústria de alimentos busque alternativas de aditivos cujo impacto à saúde do consumidor seja ínfimo (PINELA *et al*., 2019). Deste modo, realizam-se pesquisas com o intuito de identificar novas matrizes para a elaboração de aditivos, que para além da coloração, propiciem benefícios à saúde através de suas propriedades bioativas, como, por exemplo, os corantes naturais (VIEIRA *et al*., 2019).

2.1.2 Corantes Naturais

Na contemporaneidade os consumidores se mostram mais preocupados com a segurança dos corantes sintéticos, o que reforça a demanda por corantes naturais (RODRIGUEZ-AMAYA, 2016). Aliado a isso, há uma crescente diminuição no número de corantes sintéticos aprovados nos últimos anos, o que culminou em maior atenção

dos pesquisadores pela elaboração de corantes naturais, pois costumam ter maior aceitação internacional (BURROWS, 2009).

Denomina-se corante natural aquele que é obtido através de fontes naturais, sejam elas vegetais, animais ou minerais, ou pela síntese de compostos cuja estrutura química seja similar a natural (ESCUDERO-GILETE; ROMERO, 2017). Eles são classificados com base em sua origem: vegetal, animal e mineral (JIHAD, 2014). O açafrão é um exemplo de corante natural de origem vegetal, moluscos, crustáceos e insetos como a cochonilha são fontes geradoras de corantes de origem animal, ocre e argila que não recebam nenhum tratamento químico produzem corantes naturais minerais (KADOLPH, 2008; SINGH, 2015).

Além da classificação com base em sua origem, os corantes naturais podem ainda ser divididos, essencialmente, em três categorias, sendo tais categorias os produtos primários da agricultura, os resíduos e subprodutos da agricultura e silvicultura e os resíduos das indústrias de alimentos e bebidas (SHAHID *et al*., 2013).

No que diz respeito à estrutura química, os corantes naturais dividem-se em três categorias básicas: os compostos heterocíclicos, com estrutura tetra-pirrólica, que integram as clorofilas presentes em vegetais, o heme e as bilinas encontradas em animais. Compostos de estrutura isoprenoide, caracterizados pelos carotenoides, presentes em animais e especialmente em vegetais. E os compostos heterocíclicos contendo oxigênio - os flavonoides - que são exclusivos dos vegetais. As betalaínas e os taninos são outros dois grupos de corantes exclusivos do reino vegetal, com diversos compostos de estruturas versáteis (BOBBIO, 1992).

Stringheta (2007), comentou que os corantes naturais conquistariam êxito no mercado alimentício, pressupondo crescimento entre 5 e 10% anualmente para os mesmos, contra crescimento entre 2 e 5% para os artificiais. Entretanto, existem poucas informações disponíveis sobre o mercado de colorantes naturais, mas uma pesquisa realizada pela Grand View Research, Inc. estima que este mercado movimente US$ 37,49 bilhões até 2025 (GRAND VIEW RESEARCH, 2018).

Os corantes naturais mais amplamente comercializados e utilizados na indústria de alimentos são o extrato de urucum, carmim de cochonilha, curcumina e as antocianinas (VELOSO, 2012). Com destaque para o urucum, pois o mesmo responde por cerca de 90% do consumo do mercado brasileiro e quase 70% do mercado global (FABRI; TERAMOTO, 2015).

Os vegetais são as fontes mais importantes de corantes naturais, e exibem ampla gama de cores, como vermelho, amarelo, azul, preto, marrom e uma combinação destes. Quase todas as partes das plantas produzem corantes, seja a raiz, casca, caule, folhas, frutas, madeira, sementes ou flores (SARAVANAN *et al*., 2013; JIHAD, 2014). Há cerca de 500 espécies de plantas identificadas como potencial fonte de corante (JIHAD, 2014) e estima-se que existam mais de 2000 pigmentos sintetizados por suas diversas partes, entretanto, somente cerca de 150 foram comercialmente explorados (IQBAL *et al*., 2008).

Dentre os corantes naturais conhecidos, as antocianinas destacam-se como potencial substituta aos corantes vermelho e roxo (ROSA *et al*., 2019), enquanto os carotenoides podem substituir corantes amarelo e laranja (RASCÓN *et al*., 2011) e as clorofilas os de cor verde (PORRARUD; PRANEE, 2010).

O uso de corantes oriundos de fontes naturais é uma tendência atual em virtude do receio dos consumidores em relação à segurança dos corantes artificiais, que é reforçado pelos potenciais benefícios que os corantes naturais oferecem (FONSECA-SANTOS *et al*., 2015; RODRIGUEZ-AMAYA, 2016).

Para além da função primordial de refinar a qualidade visual dos produtos alimentícios, os corantes oriundos de fontes naturais mostram-se mais seguros, livres de efeitos colaterais e tóxicos. Além disso têm forte correlação com propriedades bioativas e funcionais que possuem efeitos benéficos à saúde humana (CAROCHO *et al*., 2015). Entre as inúmeras funcionalidades biológicas estão a atividade antioxidante e antimicrobiana, prevenção de doenças crônicas não transmissíveis (ESQUIAVEL, 2016; RODRIGUEZ-AMAYA, 2016), propriedades antifúngicas, repelente de insetos, desinfetante, dentre outras de interesse farmacológico (JIHAD, 2014), e propriedades funcionais e nutracêuticas (LÓPEZ *et al*., 2018).

Ademais, os corantes naturais são considerados materiais não poluentes, bioprodutos de fontes biodegradáveis substituíveis, sustentáveis e renováveis, com impacto ambiental mínimo (JIHAD, 2014; CHANDAN *et al*., 2015; LÓPEZ *et al*., 2018; ROWLES III; ERDMAN, 2020).

Os corantes naturais têm ainda potencial para usos diversos além da indústria alimentícia. Podem ser empregados na indústria de tingimento têxtil (PATIL *et al*., 2016), de cosméticos (GUERRA *et al*., 2018), em células solares sensibilizadas com corante (SINGH *et al*., 2021), na coloração histológica (ALSHAMAR *et al*., 2021),

como indicador de pH (MISHRA *et al*., 2012), nas indústrias de medicamentos, papel, couro e tinta, e ainda na confeitaria (KŘÍŽOVÁ, 2015).

Entre os principais entraves da produção de corantes naturais está a dependência de matéria-prima e a variação dos pigmentos extraídos (MAPARI *et al*., 2005). Somado a isso, a maioria dos pigmentos naturais conhecidos e explorados apresentam alta sensibilidade à variação de temperatura e pH e estão propensos à danificação se expostos ao oxigênio, fontes de calor e luz (DELGADO-VARGAS *et al*., 2000). A temperatura é um fator de grande influência sob a solubilidades destes corantes, o que pode desencadear mudança de coloração dos mesmos (HOUGHTON; HENDRY, 2012; ESQUIAVEL, 2016).

2.2 Antocianinas

As antocianinas representam o maior e mais importante grupo de pigmentos naturais hidrossolúveis (CAVALCANTI, SANTOS, MEIRELES, 2011), ocorrem naturalmente nos vegetais, em partes como frutas, folhas, raízes e flores (SANTOS-BUELGA *et al*., 2014) e são responsáveis por conferir cores como vermelho, azul, roxo e laranja às partes de plantas (BLEVE *et al*., 2008; WANG *et al*., 2017).

Quimicamente são classificadas como compostos fenólicos, fazem parte especificamente da classe dos flavonoides e são largamente distribuídas no reino vegetal (ESFANJANI; JAFARI, 2016). Sua unidade estrutural básica é o cátion flavílico 2 - fenilcromenílio (HOU *et al*., 2004 ; JING; GIUSTI, 2010), substituído em posições especificas com açúcares como glicose, galactose e ramnose (LIU *et al*., 2010). Podem classificar-se em seis tipos de acordo com os grupos substituintes no anel B do cátion flavilíco, são eles a pelargonidina, cianidina, delfinidina, peonidina, petunidina e malvidina (HOLTON; CORNISH, 1995; RODRIGUEZ-AMAYA, 2019).

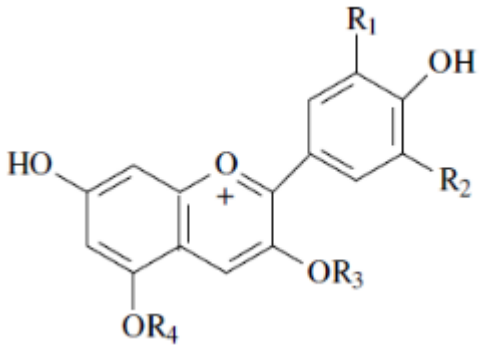
A estrutura química das antocianinas interfere em sua estabilidade e, por conseguinte, em sua cor e reatividade, pela presença de açúcares, açúcares acilados, metoxil e grupos hidroxila. À medida que aumenta o grau de hidroxilação, produz-se tons de azul, conquanto, quanto maior o grau de metoxilação, produz-se tons vermelhos (VARGAS *et al*., 2013). Variações de pH, luz, temperatura e oxigênio são fatores que também interferem na estabilidade das antocianinas (MUHAMAD *et al*., 2018; OTÁLORA *et al*., 2019).

Além de disporem de cores atraentes, as antocianinas têm alta solubilidade em água, o que possibilita sua inserção em matrizes alimentícias de base aquosa, tornando-as, portanto, potenciais candidatas a substituir corantes sintéticos (ARROYO-MAYA; MCCLEMENTS, 2015). O uso de antocianinas não se limita à sua aplicação como corante, ela pode ser usada como aditivo em virtude de suas propriedades antioxidantes e estabilidade sob condições ácidas (YOUSUF *et al*., 2015; MUHAMAD *et al*., 2018).

Em virtude da presença de antioxidantes as antocianinas podem atuar prevenindo doenças crônico-degenerativas (YOUSUF *et al*., 2015), detém ainda propriedades anti-inflamatórias, anticancerígenas e antidiabéticas, o que as tornam substâncias com potenciais efeitos benéficos para a saúde e de interesse para a indústria alimentícia (RODRIGUEZ-AMAYA, 2016).

A sensibilidade à mudança de pH, luz e temperatura é o principal limitante para o uso desses pigmentos como substitutos aos corantes sintéticos alimentícios (MUHAMAD *et al*., 2018; OTÁLORA *et al*., 2019).

Figura 1- Estrutura química de uma antocianianina (LIMA, 2007)



2.3 Carotenoides

Os carotenoides são um grupo de pigmentos lipossolúveis cuja coloração pode variar entre amarelo, laranja e vermelho. Cerca de 850 substâncias desta classe já foram identificadas até o momento (MAOKA, 2020). Podem ser definidos quimicamente como substâncias tetraterpênicas, formadas a partir de oito unidades

de isopreno, o isopentenil pirofosfato e seu isômero dimetilalil difosfato, com cinco átomos de carbono cada um (GHARIBZAHEDI *et al*., 2013; BHATT; PATEL, 2020).

Ocorrem naturalmente e em grande quantidade nos vegetais, mas também podem ser sintetizados por bactérias, fungos e algas ou acumulados em tecidos animais em resultado da dieta desses (DIAS *et al*., 2018). Classificam-se em carotenos e xantofilas. Os carotenos são caracterizados pela presença de uma cadeia hidrocarbônica linear ou ciclizada em um ou nos dois terminais da molécula. Já as xantofilas englobam os derivados oxigenados dos carotenos (MEZZOMO, FERREIRA, 2016), que são a β-criptoxantina, violaxantina e β-citraurina (RODRIGUEZ-AMAYA *et al*., 2008).

A composição dessas substâncias difere qualitativa e quantitativamente em função da matriz alimentar. Via de regra, o β-caroteno e a luteína são os carotenoides mais recorrentes na vasta diversidade de alimentos existentes, estando presentes em distintas concentrações (BEMFEITO, 2020).

São pigmentos com alta sensibilidade à luz, ao calor e ao oxigênio, tais fatores influenciam diretamente na estabilidade desses, pois estão associados a reações de oxidação (ARIMBOOR *et al*., 2015). Essas reações ocorrem em virtude da característica lipofílica destes pigmentos, que quando em contato com luz e altas temperaturas tendem a se oxidar. O grau de oxidação varia em função de fatores como tipo e concentração do carotenoide, bem como da matriz alimentar (BEMFEITO, 2020). A degradação oxidativa é a causa predominante de vastas perdas dessa substância, especialmente durante o processamento e armazenamento de alimentos (RODRIGUEZ-AMAYA, 2001; ARIMBOOR *et al*., 2015).

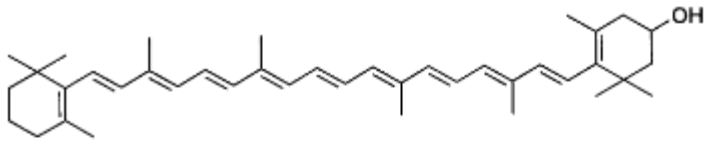
A alta reatividade química aliada à existência de duplas ligações conjugadas são características que atribuem ação antioxidante aos carotenoides, tornando-os fortemente eficientes no combate aos radicais livres. Tais fatores caracterizam-nos como moléculas bioativas que são elementos importantes na prevenção de diversas doenças (BHATT; PATEL, 2020).

Por tratarem-se de substâncias eficientes na neutralização de radicais livres do organismo humano, estudos recentes apontam que essa especificidade auxilia na cura de determinados tipos de câncer e redução da formação de tumores em pacientes com câncer (MERHAN, 2017; AZIZ *et al*., 2020; ARZI, 2020; LIM; WANG, 2020). Estudos apontam ainda que certos carotenoides colaboram para a redução de distúrbios neurológicos e diabetes (MERHAN, 2017; AZIZ *et al*., 2020), proteção

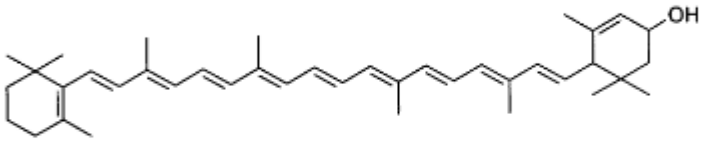
contra infecções maculares (RAVIKUMAR *et al*., 2016), prevenção de catarata e degeneração macular (ARUNKUMAR *et al*., 2020), redução de doenças cardiovasculares (DI PIETRO *et al*., 2020), prevenção de doenças neurodegenerativas (KOWSALYA *et al*., 2019; RZAJEW *et al*., 2020) e eficiência no combate a bactérias patogênicas. Determinadas espécies destes microrganismos sequer chegam a crescer na presença de carotenoides (RAVIKUMAR *et al*., 2016).

Os carotenoides têm potencial de gerar produtos com propriedade antioxidante, farmacêutica e nutracêutica (BODADE; BODADE, 2020), e sua demanda cresceu em virtude de seu potencial uso como aditivo alimentar (corante alimentar), com valor nutricional (MEZZOMO, FERREIRA, 2016).

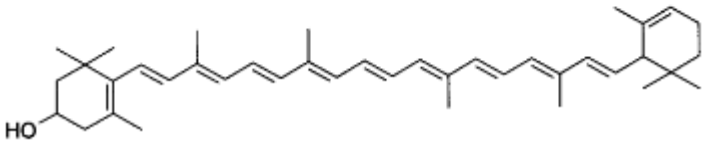
Figura 2- Estrutura química de carotenoides (MERCADANTE, 2001)



β-criptoxantina



α-criptoxantina



zeinoxantina

2.4 Clorofilas *a* e *b*

As clorofilas são os pigmentos mais abundantes do reino vegetal e também estão presentes em algas e cianobactérias. São pigmentos diretamente envolvidos no

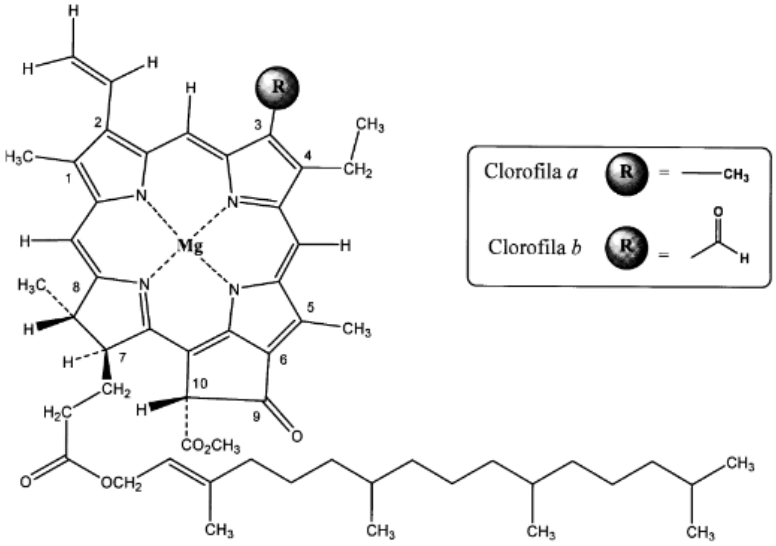
processo fotossintético e conferem cor verde às plantas. Elas apresentam um anel de porfirina e integram uma classe de tetrapirróis, que são constituídos por quatro anéis de pirrole com Magnésio no centro (ORMOND; FREEMAN, 2013). Estão agrupadas em cinco classes que diferem pelas suas estruturas químicas e são nomeadas de clorofila *a, b, c, d* e *e.* A clorofila *a*, de cor azul esverdeada, e a clorofila *b*, de cor verde amarelada, são as mais comuns nos vegetais, e usualmente encontram-se juntas em proporção de 3:1 (CORRÊA *et al*., 2019; ALBUQUERQUE *et al*., 2020).

As clorofilas são altamente instáveis na presença de luz, oxigênio, calor e variação de pH (BRITTON, 1983), condições que causarão sua degradação celeremente, com perda da cor verde em menos de 24 horas (MATILE; HORTENSTEINER, 1999). Alta temperatura e pH ácido são fatores que influenciam fortemente na estabilidade das clorofilas, com possibilidade de alteração da cor verde para marrom (CORRÊA *et al*., 2019; ALBUQUERQUE *et al*., 2020).

As clorofilas oriundas de plantas vêm sendo exploradas ao longo dos anos em todo o mundo (DELGADO-PELAYO *et al*., 2014). E em virtude de seu potencial pigmentante são empregadas há tempos como corante natural (SHAHID *et al*., 2013). São ainda benéficas ao corpo humano por disporem de atividade antioxidante e anti-inflamatória que auxiliam na prevenção de doenças crônicas, a exemplo do câncer (SUBRAMONIAM *et al*., 2012; MCQUISTAN *et al*., 2012; JOKOPRIYAMBODO *et al*., 2014).

Todavia, em razão de sua atuação como unidade captadora de luz no processo fotossintético (SHIBGHATALLAH *et al*., 2013), a presença de luz e calor excitam a transferência de energia e aumentam a reatividade da clorofila, o que a torna muito suscetível à degradação. O processo de degradação das clorofilas é rápido e se intensifica com a mudança de seus compostos derivados que expressam sua cor verde. As etapas de armazenamento e/ou processamento pós-colheita de produtos vegetais podem ocasionar perdas significativas de clorofilas por degradação (DISSANAYAKE *et al*., 2012; SHI *et al*., 2016).

Figura 3- Estrutura química das clorofilas *a* e *b* (STREIT, 2005)



2.5 Flores Comestíveis

Os hábitos alimentares humanos estão se modificando ao redor de todo o mundo. Cada vez mais a população tem se conscientizado e buscado uma alimentação mais saudável. Diversos estudiosos salientaram que as flores comestíveis estão entre os alimentos com boa qualidade nutricional (REZENDE *et al*., 2019). Rop e Mlcek (2012), afirmam que em inúmeros países essas flores são usadas pelo seu valor nutricional e medicinal, pelo sabor, forma e aparência estética.

Somado ao seu valor nutricional e conteúdo mineral, as flores comestíveis podem trazer benefícios à saúde por conterem diversos compostos bioativos com atividade antioxidante (PINAKIN *et al*., 2020). Tais compostos apresentam propriedades anti-inflamatórias e neuroprotetoras (LU *et al*., 2016), bem como atividade anti-hiperglicêmica e anticolinérgica (NOWICKA; WOJDYŁO, 2019), proteção contra efeitos oxidativos no eritrócito (YANG *et al*., 2019) e até mesmo na atividade anticâncer (NGUYEN *et al*., 2019).

Além do uso como ingrediente em preparações culinárias, as flores comestíveis estão sendo estudadas com o intuito de serem aplicadas como possíveis fontes para a produção de aditivos alimentares (PRATA *et al*., 2017; PINELA *et al*., 2019), pois são também dotadas de bioatividade e são fonte de pigmentos naturais, o que faz com que possuam potencial de coloração.

De acordo com Netam (2021), calêndula, capuchinha e amor-perfeito estão entre as flores comestíveis mais populares.

2.5.1 Calêndula

Calendula officinalis é espécie pertencente à família Asteraceae, trata-se de uma planta herbácea anual nativa da região Mediterrânea (BLUMENTHAL *et al*., 2000). Possui inflorescência em capítulos, que podem ser simples ou dobrados, com uma gama de cores de creme a amarelo e laranja, que podem ter o centro marrom escuro ou acompanhando a cor das lígulas (ARORA *et al*., 2013).

A cor das pétalas, laranja e amarela, são em virtude, principalmente, da presença de pigmentos carotenoides que a depender da quantidade e composição do pigmento têm sua tonalidade modificada (TANAKA *et al*., 2008; ZHU *et al*., 2010; FERNANDEZ-GARCIA *et al*., 2012).

Os carotenoides estão entre os muitos compostos bioativos descritos para *Calendula officin*alis (KISHIMOTO *et al*., 2005), que contém também flavonoides (DINDA *et al*., 2016), ácidos fenólicos, saponinas e terpenoides (KHALID; SILVA, 2012). O que faz com que essa espécie manifeste atividade antibacteriana e antioxidante (EFSTRATIOU *et al*., 2012; PARENTE *et al*., 2012) e seja empregada em preparações tópicas como agente cicatrizante e anti-inflamatório, além de auxiliar no tratamento de dermatites e queimaduras - incluindo queimaduras solares (ARORA *et al*., 2013).

A espécie está listada na German Commission E, European Scientific Co-operative on Phytotherapy, British Herbal Pharmacopoeia, monografias da Organização Mundial da Saúde para cicatrização de feridas e ações anti-inflamatórias (KHARE, 2007).

Em virtude da cor dourada de suas flores, a calêndula é utilizada para conferir cor em alternativa ao açafrão no comércio de especiarias (ZAMAN, 2003). Podem ser usadas como alimento, condimento, sob forma de chá, preparações cosméticas e como corante (CHAKRABORTHY, 2010).

2.5.2 Amor-perfeito

A *Viola* x *wittrockiana* Gams. é uma planta da família Violaceae que possui origem híbrida complexa, sendo resultante da combinação de, pelo menos, três espécies: *Viola tricolor*, *Viola altaica* e *Viola lutea* (VUKICS *et al*., 2008). Suas pétalas podem ser de diversas cores e até mesmo com duas ou três cores na mesma flor. É listada entre as flores comestíveis mais populares (LIM, 2014), com botões florais e flores inteiras comestíveis que possuem sabor suave e levemente refrescante e que são adicionadas a uma grande variedade de pratos culinários (TANG *et al*., 2010).

A cor das flores de amor-perfeito relaciona-se com presença de pigmentos. Predominantemente os tons amarelos devem-se à presença de carotenoides, com destaque para as xantofilas. Ao passo que as antocianinas são as responsáveis por atribuir as cores vermelha, azul e roxa para a maioria das pétalas (PARK *et al*., 2015).

A presença de substâncias como compostos fenólicos e carotenoides nesta espécie confere-lhe diversas atividades biológicas (ROP *et al*., 2012 ; SKOWYRA *et al*., 2014), que lhe atribuem propriedades terapêuticas, como laxante, depurativa, expectorante, anti-inflamatória, diurética e antioxidante (TANG *et al*., 2010). E seu intenso potencial antioxidante faz com que seja prospectada para uso como produto alimentício funcional (VUKICS *et al*., 2008).

2.5.3 Capuchinha

Tropaeolum majus L., popularmente conhecida no Brasil como capuchinha, chaguinha e nastúrcio, é uma planta anual de rápido crescimento que pertence à família Tropaeolaceae (LORENZI; MATOS, 2002). É nativa da região que compreende desde o Peru até o México e tem potencial para crescer em diversas partes do mundo em virtude de sua rusticidade e adaptabilidade (PANIZZA, 1997). É uma planta herbácea de caule macio e tortuoso e folhas arredondadas, cujas flores exibem corola pentâmera, com coloração que varia do amarelo ao vermelho escuro (SILVA *et al*., 2009).

Estudos realizados com a espécie relataram a presença de antocianinas (GARZÓN; WROLSTA, 2009), carotenoides (BAZYLKO *et al*., 2013) e flavonoides (BAZYLKO *et al*., 2014). Esses compostos conferem diversas atividades biológicas à capuchinha, entre elas, ação diurética, antioxidante, anti-hipertensiva e anti-

inflamatória (ROGERIO *et al*., 2007; GASPAROTTO *et al*., 2011; BRONDANI *et al*., 2016).

A *T. majus* tem aroma agradável e sabor picante, com características organolépticas similares ao agrião. Em função de seu considerável valor nutricional, especialmente altos teores de enxofre, as folhas, botões florais e flores de T. majus são utilizados na culinária (BOWN, 1995; PANIZZA, 1997; BOORHEM, 1999; VAZ; JORGE, 2006).

2.5.4 Vinagreira-roxa

O *Hibiscus acetosella* tem sua origem na África (SSEGAWA; KASENENE, 2007) e pertence à família Malvaceae (MAHR, 2008). No Brasil é popularmente chamada de vinagreira-roxa, groselheira ou quiabo-roxo (SAKHANOKHO; KELLEY, 2009). É um subarbusto perene e a planta inteira tem cor roxa avermelhada (WONG *et al*., 2010).

Thungmungmee e colaboradores (2019a), relatam que extratos de flores de *H. acetosella* apresentam conteúdo fenólico, como antocianinas e flavonóis, o que é confirmado por estudos de Wang *et al*. (2014), Zhen *et al*. (2016), e Ryu *et al*. (2017). Estudos preliminares constataram que a presença dessas substâncias confere atividades biológicas e potencial antioxidante às flores dessa espécie (WONG *et al*., 2010; TSUMBU *et al*., 2012; BRAIN; JOHN, 2014). Esse potencial antioxidante previne doenças neurodegenerativas, doenças cardiovasculares, câncer e diabetes (THUNGMUNGMEE *et al*., 2019b). Atividade antimutagênica foi encontrada nesta espécie por Vilela e colaboradores (2018).

Tanto as flores quanto as folhas de *H. acetosella* são usadas como corantes e na medicina tradicional, em virtude de atividade antioxidante e antibacteriana (WONG *et al*., 2009; WONG *et al*., 2010). O que sugere que podem servir como fonte de compostos bioativos e agente de coloração natural (THUNGMUNGMEE *et al*., 2019b).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Condução do experimento em campo

3.1.1 Local do estudo

O experimento foi desenvolvido na Área Experimental do Departamento de Produção Vegetal – Setor Horticultura da Faculdade de Ciências Agronômicas da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Campus de Botucatu. Segundo Köppen-Geiger (1948), o clima de Botucatu é classificado como Cwb, mesotérmico de inverno seco, com temperatura média anual de 19,4º C e precipitação pluviométrica média anual de 1314 mm (CUNHA; MARTINS, 2018).

3.1.2 Espécies

Para realizar a prospecção de corantes naturais oriundos de flores comestíveis as espécies investigadas no presente trabalho foram: calêndula (*Calendula officinalis* L.), capuchinha (*Tropaeolum majus* L.), amor-perfeito roxo, amor-perfeito púrpura e amor-perfeito vermelho (todos híbridos *Viola* x *wittrockiana* Gams.) e vinagreira-roxa (*Hibiscus acetosella* Welw. ex hiern). Todas foram cultivadas sob o sistema orgânico de cultivo para obtenção da matéria-prima (flores) para o estudo.

3.1.3 Produção de mudas

As espécies estudadas foram propagadas por sementes obtidas comercialmente. A semeadura foi realizada em bandejas de polipropileno de 128 células, preenchidas com o substrato comercial Carolina Soil® e mantidas em casa de vegetação com irrigação intermitente até o transplantio.

A semeadura de todas as espécies ocorreu no dia 07/08/2019. Para a calêndula semeou-se duas sementes por célula e para os amores-perfeitos, semeou-se de 3 a 5 sementes. O desbaste foi realizado 15 dias após a semeadura, no qual deixou-se apenas a plântula mais vigorosa em cada célula. Para a capuchinha e

vinagreira semeou-se apenas uma semente por célula, portanto sem necessidade de desbaste.

3.1.4 Tratos culturais

As espécies foram cultivadas sob as normas e diretrizes para Produção Orgânica Vegetal, em acordo com o regulamentado pela Lei Nº 10.831, de 23 de dezembro de 2003 e o Regulamento Técnico da Instrução Normativa 46, de 06/10/2011, complementada pela IN 17, de 18/06/2014.

Os atributos químicos do solo da área experimental estão apresentados na tabela 1.

Tabela 1 - Atributos químicos do solo da área experimental

pH	M.O.	P_{resina}	Al^{3+}	H+Al	Na	K	Ca	Mg	SB	CTC	V%	S	B	Cu	Fe	Mn	Zn
$CaCl_2$	g/dm^3	mg/dm^3	------ $mmol_c/dm^3$ ------									------- mg/dm^3 -----					
5,0	17	6	2	24	-	0,4	10	5	15	39	38	1	0,28	3,4	29	7,2	1,6

Fonte: Departamento de solos e recursos ambientais da FCA/Unesp

Através da interpretação dos resultados da análise de solo, ficou evidente a necessidade de correção do solo que foi realizada elevando a saturação por bases a 70%. Para isto incorporou-se calcário dolomítico ao solo da área experimental 50 dias antes do transplantio.

Para melhor condicionamento do solo aplicou-se 1 kg m^{-2} de composto orgânico produzido na própria Universidade e cujas características estão descritas na tabela 2.

Tabela 2 - Composição química do composto orgânico

N	P_2O_5	K_20	Umidade	M.O.	C.O.	Rel. C/N	pH
---------- % (ao natural) ----------					seco		ao natural
0,76	0,34	0,42	25	53	39	38/1	6,2

Fonte: Departamento de solos e recursos ambientais da FCA/Unesp

Para fornecer fósforo ao solo foi adicionado 17 g m^{-2} de P_2O_5 que foram fornecidos através do fertilizante orgânico fosfatado Yoorin. A torta de mamona foi adicionada para fornecer nitrogênio ao solo, sendo aplicado 1 kg m^{-2} deste fertilizante orgânico no solo. Para fornecer nutrientes durante o ciclo de cultivo, 200 g m^{-2} de Bokashi foram aplicados em cobertura na área experimental.

O cultivo foi conduzido em canteiros, em área equivalente a 70m², com 10m² para cada espécie mencionada. O espaçamento entre plantas adotado foi de 0,25x0,25cm para calêndula, 0,30x0,30cm para amor-perfeito, 0,30x0,20cm para capuchinha e 0,50x0,50cm para vinagreira-roxa.

O transplante das mudas para os canteiros da área experimental foi no dia 21 de setembro de 2019. A irrigação foi localizada através do método de gotejamento, utilizando fita gotejadora de vazão de 1,1L h^{-1}. A irrigação foi de 1h no início da manhã e 1 hora ao fim da tarde. Realizou-se capina manual na área experimental, sempre que necessário, para o controle de plantas espontâneas.

A colheita das flores foi realizada três vezes por semana, respeitando a presença da fenofase floração de cada espécie. Após cada colheita de flores realizava-se a contagem das mesmas, bem como aferição do peso fresco utilizando balança analítica de 0,01g de precisão. Posteriormente as flores eram levadas para secagem em estufa de circulação forçada de ar a 40°C até obter valor de massa seca constante aferida em balança semi-analítica.

3.2 Análises laboratoriais

3.2.1 Obtenção do Corante

Para chegar ao produto final a ser analisado - o corante natural - as amostras de flores foram submetidas à maceração estática a frio em solução hidro alcoólica (Etanol 70%), em tríplice extração por 72 horas (SCHIOZER; BARATA, 2007). Em cada extração foram utilizados 200mL de etanol 70% (o que equivalente a cerca de três vezes o volume de flores secas utilizadas), totalizando, portanto, 600mL ao fim da tríplice extração. Logo em seguida, foi concentrado em evaporador rotativo (Heidolph Hei-VAP), sob pressão reduzida (-760 mmHg), a 40 ± 0,5 °C até obter um volume final correspondente a, aproximadamente, 20% do volume inicial

(CONSTANT, 2003). Este por sua vez, foi submetido à secagem em estufa de circulação forçada de ar a 60ºC, obtendo-se assim, o produto final: o corante natural. Foram obtidos 10 corantes naturais: calêndula, vinagreira-roxa, amor-perfeito vermelho, amor-perfeito roxo, amor-perfeito púrpura. As sementes de capuchinha são sortidas, portanto, resultam em flores de diversas cores, deste modo, as mesmas foram separadas por cores para extração dos corantes, o que resultou em: capuchinha vermelha, capuchinha púrpura, capuchinha laranja, capuchinha amarela e capuchinha salmão.

Utilizou-se o etanol para extração pois o uso de solventes deve ser compatível com o emprego do produto final. Conforme a Resolução CNNPA n° 44 (BRASIL, 1977), o etanol está entre os solventes autorizados para uso na elaboração e processamento de corantes alimentícios. Ademais, o etanol é facilmente obtido no Brasil, tem baixo custo, baixa toxicidade e ainda apresenta propriedades bactericidas (PRENTICE-HERNANDEZ *et al*., 1992). O que é desejável, haja vista que os corantes serão adicionados a produtos alimentícios.

Posterior a isso, as características foram analisadas quanto ao rendimento do extrato (Re), que foi calculado dividindo-se o peso do extrato obtido (Pext) pelo peso das flores secas utilizadas para produzir os corantes (Pflores) multiplicado por 100 (Re = (Pext /Pflores) x 100). Também foram analisadas quanto ao teor de compostos fenólicos totais, atividade antioxidante pelo método DPPH, determinação de pigmentos (antocianinas, carotenoides, clorofilas a e b), cor instrumental e estabilidade de cada um dos corantes obtidos.

3.2.2 Determinação do Teor de Compostos Fenólicos Totais

A quantificação dos compostos fenólicos totais foi realizada pelo método de Folin-Ciocalteau descrito por Singlenton *et al*. (1999), com adaptações. Foram pesados, já em tubo falcon, 0,25 g de cada um dos corantes anteriormente citados, aos quais, em seguida adicionou-se 10 mL de metanol a 80%. A mistura foi levada ao banho ultrassônico por 1 hora e posteriormente à centrífuga por 30 minutos. Retirou-se o sobrenadante. 0,5mL do extrato foi transferido para tubo de ensaio, ao qual adicionou-se 9,5 mL de metanol a 80%. Acrescentou-se 2,5 mL da solução de Folin-Ciocalteau 10% e procedeu-se a agitação, com posterior repouso de 5 minutos. Após esse tempo foi acrescentado 2 mL de solução de carbonato de sódio a 2% e agitou-

se novamente. Após esse procedimento as amostras ficaram em repouso no escuro por duas horas.

Realizou-se a leitura utilizando o espectrofotômetro no comprimento de onda de 740 nm e todas as leituras foram realizadas em triplicata. A determinação da concentração dos compostos fenólicos totais foi obtida pela plotagem das absorbâncias das amostras na equação da curva de calibração confeccionada utilizando como padrão sintético o ácido gálico nas concentrações de 0,05 a 0,8 $mg.mL^{-1}$. Os resultados foram expressos em miligramas equivalentes de ácido gálico por grama de extrato ($mgEAG.g^{-1}$).

3.2.3 Atividade Antioxidante pelo método DPPH

Para determinação da atividade antioxidante pelo método DPPH utilizou-se adaptação da metodologia de Brand-Williams *et al*. (1995). Foram pesados, já em tubo falcon, 0,25 g de cada um dos corantes, aos quais, em seguida adicionou-se 10 mL de metanol a 80%. A mistura foi levada ao banho ultrassônico por 1 hora e posteriormente à centrífuga por 30 minutos. Retirou-se o sobrenadante. 0,2 mL do extrato foi transferido para tubo de ensaio aos quais adicionou-se 3,8 mL do radical DPPH com posterior homogeneização das amostras. Realizou-se leitura de absorbância no espectrofotômetro no comprimento de onda de 517 nm. Todas as leituras foram realizadas em triplicata.

A capacidade de sequestrar o radical livre foi calculada e expressa como % de inibição de oxidação, conforme a equação 1:

$$\% \text{ inibição DPPH} = \frac{(Abs.\ DPPH - Abs.\ amostra)}{Abs.\ DPPH} \times 100$$

3.2.4 Determinação de Pigmentos (Carotenoides, Antocianinas, Clorofila a e Clorofila b)

A determinação do teor de pigmentos foi feita segundo a metodologia de Sims e Gamon (2002), a partir de 0,05g de extrato de cada uma das espécies adicionados de 3 mL de acetona tamponada Tris-HCl, homogeneizados e centrifugados por 5

minutos a 2000 rpm. O sobrenadante foi retirado com auxílio de uma pipeta e a leitura da absorbância realizada em espectrofotômetro a 663 nm para clorofila a, 647 nm para clorofila b, 537 nm para antocianinas e 470 nm para carotenoides. Os resultados foram expressos em mg/100g.

Clorofila *a*= 0,01373 A_{663} – 0,000897 A_{537} – 0,003046 A_{647}

Clorofila *b*= 0,02405 A_{647} – 0,004305 A_{537} – 0,005507 A_{663}

Antocianina= 0,08173 A_{537} – 0,00697 A_{647} – 0,002228 A_{663}

$$\boldsymbol{Carotenoides} = \frac{(A_{470} - (17{,}1 \times (Clorofila\ a + Clorofila\ b) - 9{,}479 \times Antocianina))}{119{,}26}$$

3.2.5 Estabilidade dos Corantes

Os testes de estabilidade dos corantes foram realizados em diferentes condições de pH (3,0; 4,5 e 6,0), submetidas a diferentes temperaturas (25, 50 e 80°C), todos os corantes, em cada um dos valores de pH permaneceu nas temperaturas já citadas pelo período de 30 minutos. A concentração utilizada foi de 0,1% [0,01g de corante/10mL de solução de diferentes pH (m/v)]. O ácido cítrico foi utilizado para conferir os diferentes valores de pH (3,0; 4,5 e 6,0) às soluções utilizadas no teste de estabilidade. Foi utilizada água deionizada para a preparação das soluções, a mesma exibia valor de pH 6. Para chegar aos valores de pH 4,5 e pH 3 utilizou-se o ácido cítrico, o mesmo foi gotejado lentamente, de forma que houvesse abaixamento gradual do pH até obtenção dos valores pretendidos.

A estabilidade dos corantes foi avaliada pela variação da medida da absorbância relativa das amostras após as mesmas serem submetidas aos diferentes valores de pH e temperatura. As leituras foram realizadas nos seguintes comprimentos de onda: 700nm para amor-perfeito-roxo, amor-perfeito-púrpura, amor-perfeito-vermelho, capuchinha-púrpura e vinagreira-roxa. 560nm para calêndula, capuchinha-amarela, capuchinha-vermelha, capuchinha-salmão e capuchinha-laranja.

Esta análise foi realizada individualmente para cada corante, e foi adotado o delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3x3, contendo 3 repetições, totalizando 27 parcelas experimentais por corante.

Não existe valor de referência para a estabilidade, utilizou-se para esta análise a estatística paramétrica (análise de variância e teste F) para verificar se há ou não significância. A significância não fornece um valor absoluto, mas sim um contraste entre as médias, revelando se o contraste foi diferente ou igual a zero. Quando o contraste é igual a zero significa que não há diferença a 5% de significância e, portanto, o corante é estável, utilizando-se a sigla NS (não significativo). Já quando o contraste é diferente de zero, significa que houve diferença estatística a 5% de significância e, portanto, o corante é instável, utilizando-se o asterisco (*) para indicar a diferença estatística.

3.2.6 Análise da Cor Instrumental em matriz alimentícia

A análise de cor instrumental foi realizada nos corantes aplicados na matriz alimentar gelatina incolor, em que se utilizou 1g de corante em 60mL de gelatina. A mesma foi preparada utilizando água deionizada com pH 6. A análise foi realizada quando as amostras atingiram a consistência característica de gelatina.

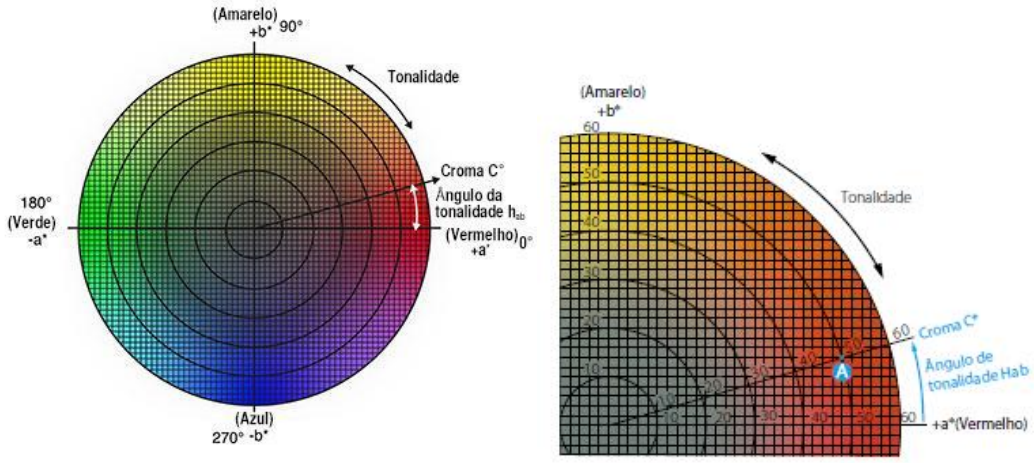
Utilizou-se o colorímetro da marca Konica Minolta (Chroma meter, CR 400/410) com determinação dos valores de L*, a* e b*, em que L*, expresso em porcentagem, indica valores de luminosidade (0 % = negro e 100 % = branco), a* indica a variação de cor do verde (-) até o vermelho (+) e o b* indica a variação de cor do azul (-) até o amarelo (+) (MINOLTA, 1998).

O ângulo Hue é o valor em graus correspondente ao diagrama tridimensional de cores 0° (vermelho), 90° (amarelo) e 270° (azul). O °Hue possui variação de: 0 a 18° para a coloração vermelho-violeta, 19 a 54° para a coloração vermelho, 55 a 90° para a coloração laranja, 91 a 126° para a coloração amarelo, 127 a 162° para amarelo-verde, 163 a 198° para a coloração verde, 199 a 234° para azul-verde, 235 a 270° para azul, 271 a 306° para azul-violeta e 307 a 342° para violeta, 343 a 360° vermelho-violeta, perfazendo 360°. C* é representado pelo Croma que define a intensidade da cor (Figura 2). Os valores numéricos de a* e b* foram convertidos em ângulo Hue e no Croma:

$^{o}Hue = \tan^{-1} (b^*/a^*)$

$C^* = Raiz ((a^*)^2 + (b^*)^2)$

Figura 4- Diagrama de cromaticidade e parte do diagrama de cromaticidade a*, b*



3.2.7 Análise de dados

Ao final do experimento os dados de estabilidade foram submetidos à análise de variância e teste de médias (Teste F a 5% de probabilidade). Os demais referentes à caracterização dos compostos bioativos e cor instrumental, por espécie, foram submetidos à estatística descritiva e análise multivariada.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A tabela 3 apresenta os valores de rendimento de cada um dos corantes analisados. O rendimento dos corantes naturais foi, em ordem crescente, de flores de vinagreira-roxa, capuchinha-amarela, calêndula, capuchinha-laranja, capuchinha-púrpura, amor-perfeito-vermelho, amor-perfeito-púrpura, capuchinha-salmão, amor-perfeito-roxo e capuchinha-vermelha.

Tabela 3 - Rendimento de extrato de corantes naturais oriundos de flores comestíveis cultivadas em Botucatu-SP, 2021

Espécie	Rendimento do extrato (%)
Vinagreira-roxa	19,28%
Capuchinha-amarela	21,00%
Calêndula	21,71%
Capuchinha-laranja	21,81%
Capuchinha-púrpura	26,80%
Amor-perfeito-vermelho	27,63%
Amor-perfeito-púrpura	35,60%
Capuchinha-salmão	35,80%
Amor-perfeito-roxo	36,07%
Capuchinha-vermelha	38,00%

Quando comparamos os resultados deste estudo com outros estudos de extração etanólica de extratos vegetais, fica evidente o alto rendimentos dos extratos de flores comestíveis. Brito e Silva (2022) encontram valores de 9,5% de rendimento para extratos etanólicos de folhas de chicória, 18,54% para folhas de coentro e 6,92% para folhas de jambu. Oliveira e colaboradores (2022) relataram rendimento de 9,08% para o extrato etanólico de folhas de *Syzygium cumini*.

O cálculo do rendimento de extratos é importante para estimar a quantidade necessária de matéria seca para alcançar determinada quantidade de corante. E se o custo benefício do cultivo de flores para fins de extração de corantes é positivo. O rendimento de extratos é influenciado por diversos fatores, tais como a matriz vegetal e o solvente utilizado, bem como a técnica, o tempo e a temperatura de extração. (Andreo *et al*., 2006; Franzen *et al*., 2018).

Os valores de luminosidade (L*), Croma (Cr) e ºHUE dos corantes oriundos de flores comestíveis estão apresentados na tabela 4.

Tabela 4 - Luminosidade (L*), Croma (Cr) e º Hue de corantes naturais oriundos de flores comestíveis cultivadas em Botucatu-SP, 2021

Espécie	L*	Cr	°Hue
Amor-perfeito-roxo	33,53	1,15	343,83
Amor-perfeito-púrpura	29,46	1,33	293,87
Amor-perfeito-vermelho	29,24	1,61	301,85
Capuchinha-púrpura	29,93	0,89	326,58
Capuchinha-amarela	37,14	11,71	87,41
Capuchinha-vermelha	30,31	1,82	354,29
Capuchinha-salmão	31,81	5,33	44,71
Capuchinha-laranja	31,43	3,12	29,25
Calêndula	37,93	14,21	76,26
Vinagreira-roxa	22,62	4,82	61,75

O valor da luminosidade (L*) é expresso em porcentagem e indica a variação de luminosidade das amostras, sendo que 0% assinala coloração escura e/ou opaca e 100% simboliza coloração branca ou de máxima luminosidade (MINOLTA, 1998; MORAIS *et al*., 2002).

Percebe-se, portanto, através da observação dos dados da tabela 4 que os valores de luminosidade dos corantes estão próximos, dentro de um intervalo pequeno, sendo que o oriundo da calêndula (37,93) é o que exibe valores mais altos de luminosidade, enquanto os de vinagreira-roxa (22,62) exibe os menores.

A cromaticidade (Cr) representa a intensidade da cor e varia de cores impuras a puras, em que as cores impuras assumem valores mais baixos, e as puras os valores mais altos (MORAIS *et al*., 2002). Percebe-se que os resultados foram baixos e sem grande variação para todos os corantes. O corante de calêndula (14,21) apresentou o maior valor de cromaticidade, enquanto o de capuchinha-púrpura (0,89) apresentou o menor.

Em conformidade com os valores de ºHue verificados neste estudo, evidencia-se que os corantes oriundos de amor-perfeito-roxo e de capuchinha vermelha expressam coloração vermelho-violeta (entre 343º e 360º). Já os corantes de amor-perfeito-púrpura e amor-perfeito-vermelho manifestam coloração azul-violeta (entre 271º e 306°). Os corantes de capuchinha-salmão e capuchinha-laranja detêm coloração vermelho (entre 19º e 54º). Os corantes de calêndula, capuchinha amarela e vinagreira-roxa exibem coloração laranja (entre 55º e 90º). E o corante de

capuchinha-púrpura exprime coloração violeta (entre 307º e 342º) (MORAIS *et al*., 2002).

A tabela 5 apresenta os valores dos pigmentos clorofila *a*, clorofila *b*, antocianinas e carotenoides presentes nos corantes naturais extraídos de flores comestíveis.

Tabela 5 - Pigmentos de corantes naturais oriundos de flores comestíveis cultivadas em Botucatu-SP, 2021

Espécie	Clorofila a (µg.100g^{-1})	Clorofila b (µ.100g^{-1})	Antocianinas (µg.100g^{-1})	Carotenoides (µg.100g^{-1})
Amor-perfeito púrpura	15,97	6,40	147,39	25,36
Amor-perfeito vermelho	20,73	4,48	126,74	23,22
Amor-perfeito roxo	3,05	42,22	110,62	16,12
Capuchinha-laranja	8,37	-1,54	51,31	37,45
Capuchinha-púrpura	5,57	4,90	53,94	23,62
Capuchinha-amarela	6,39	-0,77	22,75	34,84
Capuchinha-vermelha	1,80	-2,33	61,22	17,58
Capuchinha-salmão	2,17	-0,81	35,45	27,20
Calêndula	0,56	-0,96	23,21	35,66
Vinagreira-roxa	4,88	8,20	250,16	44,81

Quando se trata do pigmento clorofila *a*, observa-se grande variação entre os corantes. Os corantes produzidos a partir de flores de amor-perfeito-vermelho e amor-perfeito-púrpura exibiram maiores valores deste pigmento, em contrapartida, os menores valores de clorofila *a* foram obtidos do corante de flores de calêndula, sendo o único com valores abaixo de 1 µg.100g^{-1}. O corante de amor-perfeito-roxo exibiu os maiores valores de clorofila *b*, enquanto os menores valores foram para a capuchinha-vermelha.

Maiores valores do pigmento antocianina foram obtidos no corante de flores de vinagreira-roxa, seguidos por amor-perfeito-púrpura, amor-perfeito-vermelho e amor-perfeito-roxo, que também alcançaram elevados valores deste pigmento. Calêndula e capuchinha-amarela exibiram os menores valores de antocianinas.

As antocianinas existem naturalmente nas flores (SANTOS-BUELGA *et al*., 2014) e conferem coloração como vermelho, azul e roxo para a maioria das pétalas (PARK *et al*., 2015; WANG *et al*., 2017), e como evidenciado acima, os corantes das flores com tais colorações foram os que apresentaram os maiores valores deste pigmento no presente estudo. Existe relação direta entre o conteúdo de antocianinas

e a atividade de sequestro de radicais, portanto, espera-se que o efeito antioxidante aumente com a elevação do teor de antocianinas (ESPINOSA-ACOSTA *et al*., 2018).

O corante obtido a partir de flores de vinagreira-roxa é o que detém maiores médias do pigmento carotenoide, seguido de capuchinha-laranja, calêndula e capuchinha-amarela**.** O que se deve ao fato dos carotenoides serem um grupo de pigmentos cuja coloração pode variar entre amarelo, laranja e vermelho (MAOKA, 2020). Amor-perfeito-roxo e capuchinha-vermelha apresentaram os menores valores de carotenoides. Foi possível observar variações no conteúdo de compostos bioativos dos corantes oriundos de flores analisados. Segundo Birasuren *et al*. (2013), a variabilidade genética dos genótipos é a provável causa das variações observadas dentro das mesmas espécies, haja vista que as todas foram cultivadas sob as mesmas condições ambientais. Skowyra *et al*. (2020), salienta ainda que a quantidade extraída de compostos fenólicos, flavonoides e antocianinas, e consequentemente a atividade antioxidante dependem da cor das pétalas.

Sakata e Uemoto (1976), e Sood *et al*. (2006), relataram que o conteúdo de antocianinas não segue um padrão consistente, portanto valores distintos deste pigmento são esperados. Fernandes e colaboradores (2019), não observaram nenhum padrão nos valores dos compostos fitoquímicos analisados em amores-perfeitos de cores distintas. E relatam ainda que foram encontradas diferenças quantitativas nos compostos presentes nas flores, sendo que as principais diferenças detectadas foram nos valores de carotenoides e antocianinas.

A capacidade antioxidante existente nas plantas está relacionada aos efeitos sinérgicos dos compostos bioativos acima citados, como os carotenoides e os compostos fenólicos, à exemplo das antocianinas (LARA-CORTÉS *et al*., 2014; STEFANIAK *et al*., 2019).

Estudos recentes apontam que a ingestão de compostos antioxidantes presentes nas flores é potencialmente benéfica para a saúde humana, tendo em conta que estes compostos, especialmente os polifenois, podem inibir o crescimento de células cancerosas, além de propiciar outros efeitos benéficos, como o controle de níveis de glicose (LOIZZO *et al*., 2015; FERNANDES *et al*., 2017; NOWICKA; WOJDYŁO, 2019).

A tabela 6 descreve os valores de sequestro de radicais livres (SRL %) e compostos fenólicos totais (mgEAG.g^{-1}) obtidos através da análise fitoquímica dos corantes naturais extraídos de flores comestíveis.

Tabela 6 - Compostos bioativos de corantes naturais oriundos de flores comestíveis cultivadas em Botucatu-SP, 2021

Espécie	DPPH (%)	CV(%)	Fenólicos totais (mgEAG.g^{-1})	CV(%)
Amor-perfeito púrpura	88,87±0,27	0,0030	727,56±30,05	0,0413
Capuchinha-salmão	88,19±0,36	0,0041	992,26±16,29	0,0164
Capuchinha-vermelha	88,04±0,23	0,0027	685,57±5,62	0,0082
Calêndula	84,74±0,45	0,0053	893,85±6,66	0,0074
Amor-perfeito roxo	84,12±0,39	0,0046	2658,39±24,4	0,0092
Amor-perfeito vermelho	81,61±0,59	0,0072	2317,26±4,31	0,0018
Capuchinha-amarela	80,09±0,15	0,0019	1514,58±1,46	0,0009
Capuchinha-púrpura	79,99±0,23	0,0029	2429,01±0,85	0,0003
Capuchinha-laranja	77,48±0,18	0,0023	1405,70±72,70	0,0517
Vinagreira-roxa	73,45±3,13	0,0427	2145,89±72,50	0,0337

Os corantes avaliados apresentaram elevada atividade antioxidante, com mais de 70 % de sequestro de radicais livres (SRL). Os corantes naturais oriundos do amor-perfeito-púrpura, capuchinha-salmão e capuchinha-vermelha destacaram-se com altas porcentagens de SRL, próximas a 90%. O corante natural obtido através da vinagreira-roxa exibiu os menos valores de SRL, seguido da capuchinha-laranja e capuchinha púrpura, com valores abaixo de 80%.

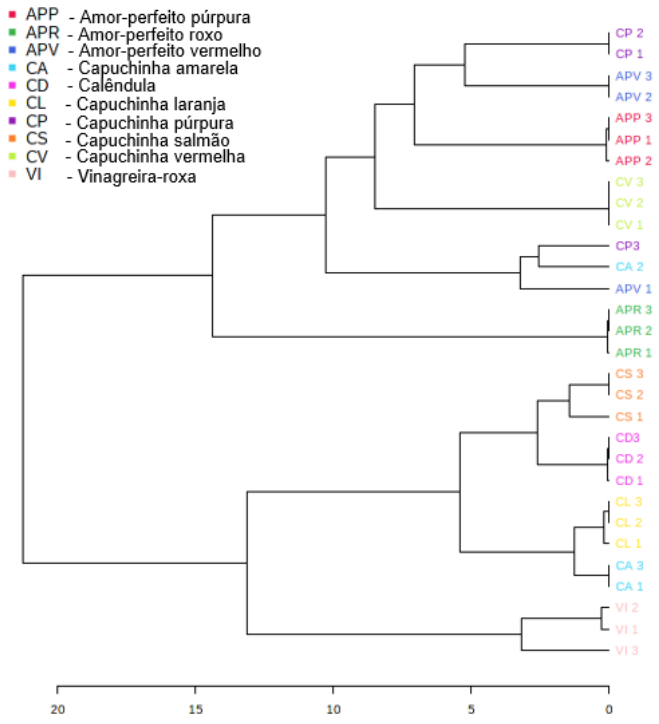
Birasuren *et al*. (2013), destacam que a capacidade antioxidante de extratos e derivados vegetais está associada ao conteúdo de compostos fenólicos totais, devido a capacidade dessas substâncias em doarem átomos de hidrogênio dos grupamentos hidroxilas para estabilizar elétrons desemparelhados dos radicais livres. No entanto, não trata-se de uma relação direta, como observado no presente estudo, em que os maiores valores de compostos fenólicos totais foram obtidos para os corantes provenientes do amor-perfeito-roxo (2658,39 mgEAG.g^{-1}), capuchinha-púrpura (2429,01±0,85 mgEAG.g^{-1}), amor-perfeito-vermelho (2317,26±4,31 mgEAG.g^{-1}) e vinagreira roxa (2145,89±72,50 mgEAG.g^{-1}), que apresentaram valores inferiores de SRL, em comparação a outros corantes com menor conteúdo de compostos fenólicos, mas alta atividade antioxidante, como o amor-perfeito-púrpura, capuchinha-salmão e capuchinha vermelha.

Estudos recentes relataram uma correlação positiva entre o conteúdo de compostos fenólicos e atividade antioxidante em flores comestíveis (ZHENG *et al*., 2018; CHENSOM *et al*., 2019; POLKA *et al*., 2019). No entanto, de acordo com Skowyra *et al*. (2014), variações nos valores de capacidade antioxidante de extratos

distintos podem ser atribuídas às diferenças químicas referentes aos compostos fenólicos de cada matriz analisada, de forma que maiores quantidades de fenólicos não refletem necessariamente em maior capacidade de SRL.

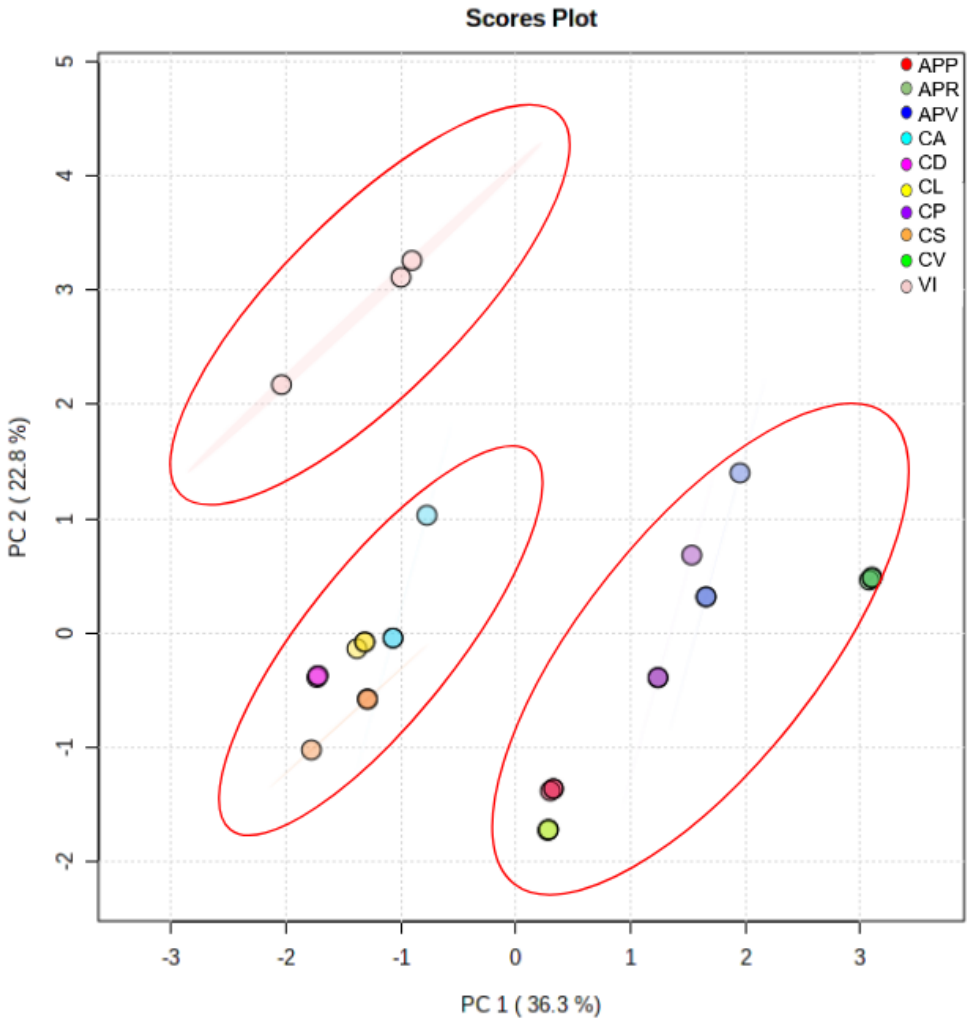
As variáveis analisadas foram submetidas, em conjunto, à análise multivariada de dados, por meio de métodos não supervisionados – Análise de componentes principais (PCA) e agrupamentos hierárquicos (HCA). De acordo com a HCA (Figura 5), verifica-se a formação de dois grupos, considerando-se como linha de corte para classificação 75% da distância euclidiana. O primeiro grupo é composto pelos corantes vinagreira (VI), capuchinha-amarela (CA), capuchinha-laranja (CL), calêndula (CD), capuchinha-salmão (CS) e o segundo pelos corantes capuchinha-púrpura (CP), amor-perfeito vermelho (APV), amor-perfeito púrpura (APP), capuchinha vermelha (CV) e amor-perfeito roxo (APR). A vinagreira (grupo I) e o amor-perfeito roxo (grupo II) foram os corantes mais dissimilares dentro de cada grupo, e assim, podem ser considerados como dois subgrupos. Esses resultados podem ser explicados pela PCA, em que serão observados os pesos de cada variável para os grupos formados.

Figura 5- Dendrograma dos corantes naturais obtidos de flores cultivadas em Botucatu-SP, 2021



A PCA permitiu explicar 59,1 % da variação total dos dados (Figura 6). É possível observar a formação de três grupos, sendo eles: grupo A (capuchinha vermelha, capuchinha púrpura, amor-perfeito púrpura, amor-perfeito vermelho e amor-perfeito roxo), grupo B (capuchinha laranja, capuchinha amarela, capuchinha salmão e calêndula) e grupo C (vinagreira-roxa).

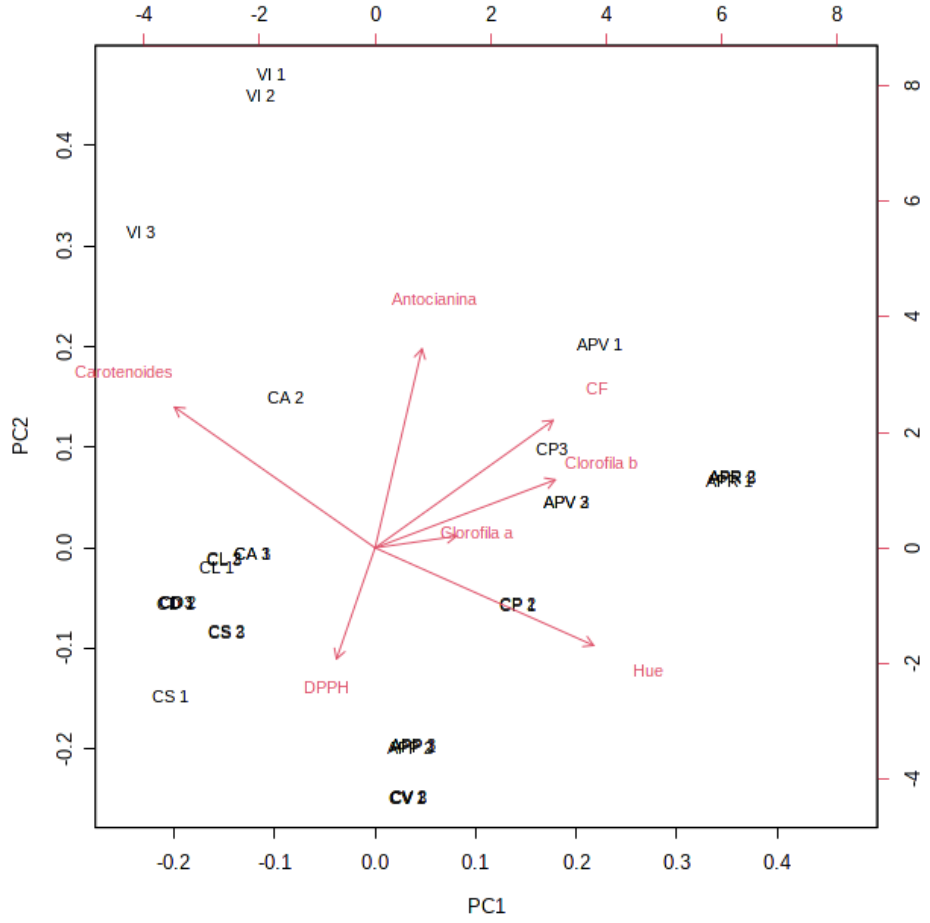
Figura 6- Gráfico de score das duas primeiras componentes principais da análise de corantes naturais obtidos de flores cultivadas em Botucatu-SP, 2021



De acordo com o biplot da análise de componentes principais (PC1 e PC2) (Figura 7), verifica-se que os corantes das espécies capuchinha vermelha, capuchinha púrpura, amor-perfeito púrpura, amor-perfeito vermelho e amor-perfeito roxo agruparam-se em razão da correlação com as características °Hue, compostos fenólicos, clorofila *a* e clorofila *b*, compondo o grupo A. As variáveis atividade

antioxidante (DPPH) e carotenoides foram responsáveis pela separação do grupo B (capuchinha laranja, capuchinha amarela, capuchinha salmão e calêndula). As antocianinas foram responsáveis por alocar a vinagreira-roxa em um grupo isolado (grupo C).

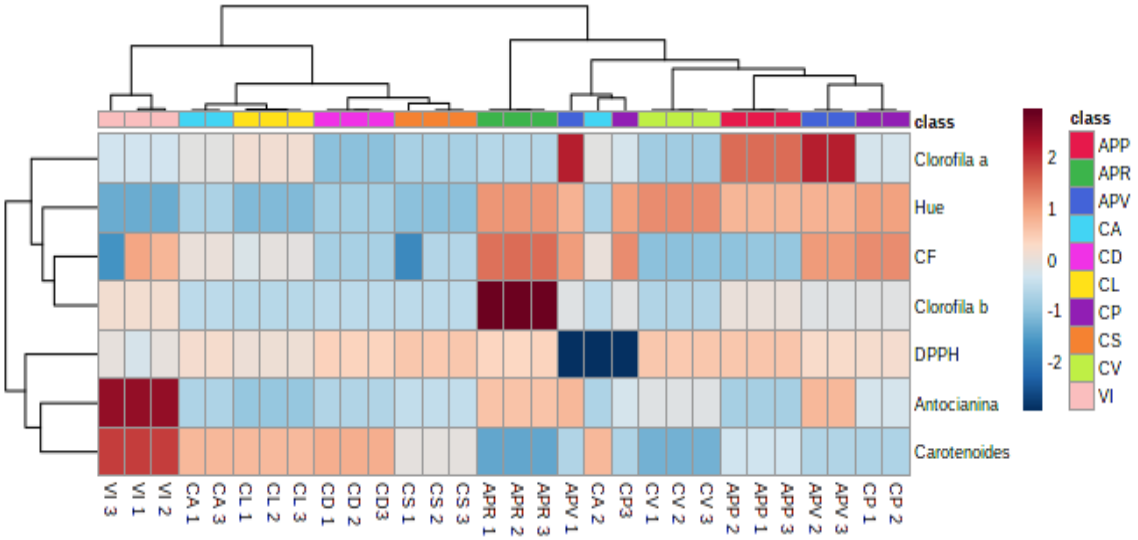
Figura 7- Biplot da análise de componetes principais (PC1 X PC2) de corantes naturais obtidos de flores cultivadas em Botucatu-SP, 2021



Nota-se, no mapa de calor apresentado na figura 8, que o Grupo A (capuchinha púrpura, amor-perfeito vermelho, amor-perfeito púrpura, capuchinha vermelha e amor-perfeito roxo) mostra correlação positiva com ° Hue e atividade antioxidante (DPPH) e correlação negativa com carotenoides e antocianinas. Já o Grupo B (capuchinha salmão, calêndula, capuchinha laranja e capuchinha amarela) possui correlação positiva com carotenoides e DPPH, no entanto, exibe correlação negativa com antocianinas e clorofila *a* e *b*. Observa-se que o grupo C (vinagreira-roxa) exibe

correlação positiva com carotenoides e antocianinas, ao passo que apresenta correlação negativa com clorofila *a* e °Hue.

Figura 8- Mapa de calor da correlação entre as variáveis analisadas e os corantes naturais obtidos de diferentes flores, cultivadas em Botucatu-SP, 2021



A tabela 7 apresenta dados sobre a estabilidade dos corantes submetidos a diferentes valores de pH e temperatura e a interação entre esses fatores.

Por meio da análise de variância (p>0,05) é possível avaliar a estabilidade dos corantes oriundos de flores comestíveis. Observou-se que alguns corantes sofreram influência dos tratamentos aplicados, com diferença estatística significativa entre os mesmos, estes são considerados não estáveis. Os corantes que não sofreram influência dos tratamentos (valores não significativos) são considerados estáveis à variação de pH, temperatura e a interação entre esses fatores.

Tabela 7 - Resumo da análise de variância de corantes naturais oriundos de flores comestíveis cultivadas em Botucatu-SP, submetidos a variação de Temperatura, pH e interação entre Temperatura e pH (TxpH), 2021

		Quadrados médios				
FV	GL	Capuchinha laranja	Amor-perfeito roxo	Amor-perfeito vermelho	Vinagreira-roxa	Capuchinha amarela
TEMPERATURA	2	0,033225926 NS	0,018127000 NS	0,008382111 NS	0,000642926 NS	0,002071815 NS
pH	2	0,000097 NS	0,011742333 NS	0,021462333 NS	0,000078037 NS	0,0055628148*
TxpH	4	0,005483982 NS	0,017707333 NS	0,021489278 NS	0,000404093 NS	0,001539648 NS
RESÍDUO	18	0,018871148	0,016975148	0,028119037	0,000487778	0,000813074
TOTAL	26					
C.V.%		2,4744994	0,3817929	1,0774561	2,4596758	2,300825

		Quadrados médios				
FV	GL	Calêndula	Capuchinha púrpura	Capuchinha vermelha	Capuchinha salmão	Amor-perfeito púrpura
TEMPERATURA	2	0,0446663333*	0,0034149259*	0,0034149259*	0,0049774444*	0,0010587778*
pH	2	0,012185444 NS	0,0090729259*	0,0090729259*	0,0002754444*	0,0002217778*
TxpH	4	0,003298111 NS	0,002147815 NS	0,002147815 NS	0,0000243889 NS	0,0001773889*
RESÍDUO	18	0,004296259	0,000958296	0,000958296	0,00004426	0,0000136667
TOTAL	26					
C.V.%		2,6610195	2,3326422	0,8641936	0,3525449	0,2108431

* significativo a 5% de probabilidade pelo teste F. NS não significativo.

Nota-se, através dos dados apresentados na tabela 7, que os corantes obtidos através das flores de capuchinha laranja, amor-perfeito roxo, amor-perfeito vermelho e vinagreira-roxa não sofreram influência de nenhum dos fatores avaliados, portanto, todos eles são considerados estáveis nas condições deste estudo. O corante de capuchinha amarela recebeu influência apenas da variação de pH, mantendo-se estável para as temperaturas avaliadas e para a interação entre pH e temperatura. O corante de calêndula não se mostrou estável sob as temperaturas avaliadas neste estudo. Mas manteve estabilidade nos pH aplicados e na interação entre temperatura e pH.

Os corantes obtidos através de flores de capuchinha púrpura, capuchinha vermelha e capuchinha salmão se mostraram instáveis sob os valores de temperatura e pH deste estudo. No entanto demonstraram estabilidade quando há interação entre esses dois fatores. O corante de amor-perfeito púrpura recebeu influência tanto do pH e da temperatura quanto da interação entre eles, deste modo, é considerado totalmente instável.

Os principais pigmentos presentes nos corantes naturais analisados neste estudo são as antocianinas e os carotenoides. Além de fatores como pH e temperatura, a estrutura química das antocianinas, sua concentração, a combinação de fatores ambientais como a presença de luz, de outros compostos fenólicos, de ácido ascórbico e de oxigênio afetam a estabilidade das mesmas em extratos vegetais (DELGADO-VARGAS; PAREDES-LÓPEZ, 2003 , SHAHIDI; NACZK, 2004; GARCÍA-TEJEDA *et al*., 2016). Ademais, o grau de acilação das antocianinas afetam sua estabilidade frente à temperatura, e este grau de acilação é variável dentro das antocianinas (LOPES *et al*., 2007). As antocianinas aciladas se mostraram mais estáveis às variações de pH e temperatura do que as não aciladas segundo Cevallos-Casals e Cisneros-Zevallos (2004). Tais aspectos podem explicar as respostas diferentes ao teste de estabilidade nos corantes que apresentam a antocianina como pigmento majoritário.

De acordo com Sridhar *et al*. (2021), a instabilidade dos carotenoides também é desencadeada por múltiplos fatores e pela interação entre os mesmos, como a composição da matriz analisada, por exemplo (PROVESI *et al*., 2011). Como o estudo foi realizado com matrizes diferentes, é natural a ocorrência de resultados sem padrão definido aos testes de estabilidade.

5 CONCLUSÃO

Os corantes oriundos de capuchinha laranja, vinagreira-roxa, amor-perfeito roxo e amor-perfeito vermelho detêm o maior potencial para serem explorados como corante natural, pois apresentaram estabilidade frente às condições analisadas neste estudo. Aliado a isso, os corantes de capuchinha laranja e vinagreira-roxa apresentaram os maiores valores de pigmento carotenoide, e os maiores valores do pigmento antocianina foram exibidos pelos corantes vinagreira-roxa, amor-perfeito roxo e amor-perfeito vermelho. Ademais, estes quatro corantes estão entre os que exibiram maiores valores de compostos fenólicos e possuem elevada atividade antioxidante.

REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, B. R. *et al*. Could fruits be a reliable source of food colorants? Pros and cons of these natural additives. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 61, n. 5, p. 805-835, 2021. https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1746904

ALBUQUERQUE, B. R. *et al*. Catechin-based extract optimization obtained from Arbutus unedo L. fruits using maceration/microwave/ultrasound extraction techniques. **Industrial Crops and Products**, v. 95, p. 404-415, 2017. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.10.050

ALSHAMAR, H. A.; DAPSON, R. W. Use of roselle extracted from Hibiscus sabdariffa for histological staining: a critical review and rational stain formulation. **Biotechnic & Histochemistry**, v. 96, n. 2, p. 94-101, 2021. https://doi.org/10.1080/10520295.2020.1769864

AMCHOVA, P.; KOTOLOVA, H.; RUDA-KUCEROVA, J. Health safety issues of synthetic food colorants. **Regulatory toxicology and pharmacology**, v. 73, n. 3, p. 914-922, 2015. https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2015.09.026

ANDREO, D.; JORGE, N. Natural antioxidants: extraction techniques. Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos, v. 24, n. 2, 2006.

ARIMBOOR, R. *et al*. Red pepper (*Capsicum annuum*) carotenoids as a source of natural food colors: analysis and stability - a review. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. 3, p. 1258–1271, 2015. https://doi.org/10.1007/s13197-014-1260-7.

ARORA, D.; RANI, A.; SHARMA, A. A review on phytochemistry and ethnopharmacological aspects of genus Calendula. **Pharmacognosy reviews**, v. 7, n. 14, p. 179, 2013. https://doi.org/10.4103 / 0973-7847.120520

ARROYO-MAYA, I. J.; MCCLEMENTS, D. J. Biopolymer nanoparticles as potential delivery systems for anthocyanins: Fabrication and properties. **Food research international**, v. 69, p. 1-8, 2015. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.12.005

ARTIGA-ARTIGAS, M.; ACEVEDO-FANI, A.; MARTÍN-BELLOSO, O Improving the shelf life o flow-fat cut cheeseusingnano emulsion-base dedible coatings containing oregano essential oil and mandar in fiber. **Food Control**, v. 76, p. 1–12, 2017. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.01.001

ARUNKUMAR, R.; GORUSUPUDI, A.; BERNSTEIN, P. S. The macular carotenoids: A biochemical overview. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids**, v. 1865, n. 11, p. 158617, 2020. https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2020.158617

ARZI, L. *et al*. Anti-metastatic properties of a potent herbal combination in cell and mice models of triple negative breast cancer. **Life sciences**, v. 243, p. 117245, 2020. https://doi.org/10.1016/j.lfs.2019.117245

AUN, M. V. *et al*. Aditivos em alimentos. **Revista Brasileira de Alergia e imunopatologia**, v. 34, n. 5, p. 177-186, 2011.

AZIZ, E. *et al*. Xanthophyll: health benefits and therapeutic insights. **Life sciences**, v. 240, p. 117104, 2020. https://doi.org/10.1016/j.lfs.2019.117104

BAZYLKO, A. *et al*. Comparison of antioxidant, anti-inflammatory, antimicrobial activity and chemical composition of aqueous and hydroethanolic extracts of the herb of Tropaeolum majus L. **Industrial Crops and Products**, v. 50, p. 88-94, 2013. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.07.003

BAZYLKO, A. *et al*. Inhibition of ROS production, photoprotection, and total phenolic, flavonoids and ascorbic acid content of fresh herb juice and extracts from the leaves and flowers of Tropaeolum majus. **Industrial Crops and Products**, v. 55, p. 19-24, 2014. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.01.056

BEMFEITO, C. M. *et al*. Carotenóides em alimentos: fatores interferentes na biossíntese e estabilidade frente ao processamento. In: Cordeiro, C. A. M. **Tecnologia de Alimentos Tópicos Físicos, Químicos e Biológicos - Volume 1**. 1ª ed. Guarujá, SP: Editora Científica Digital, 2020. p. 445-465. https://doi.org/10.37885/200800945

BHATT, T.; PATEL, K. Carotenoids: Potent to Prevent Diseases Review. **Natural Products and Bioprospecting**, v. 10, p. 109–117, 2020. https://doi.org/10.1007/s13659-020-00244-2

BIRASUREN, B.; KIM, N. Y.; JEON, H. L.; KIM, M. R. Evaluation of the antioxidant capacity and phenolic content of Agriophyllum pungens seed extracts from Mongolia. **Preventive Nutrition and Food Science**, v. 18, n. 3, p. 188, 2013.https://doi.org/10.3746 / pnf.2013.18.3.188

BLEVE, M. *et al*. An innovative method for the purification of anthocyanins from grape skin extracts by using liquid and sub-critical carbon dioxide. **Separation and Purification Technology**, v. 64, n. 2, p. 192-197, 2008. https://doi.org/10.1016/j.seppur.2008.10.012

BLUMENTHAL, M. *et al*. **Herbal medicine. Expanded commission E monographs**. Newton: Integrative Medicine Communications. 2000. 519p.

BOO, H. O. *et al*. Extraction and characterization of some natural plant pigments. **Industrial Crops and Products**, v. 40, p.129-135, 2012. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.02.042

BOBBIO, F.O.; BOBBIO, P. A. **Introdução à química de alimentos**. 2.ed. São Paulo: Editora Varela. 1992. 231p.

BODADE, R. G.; BODADE, A. G. Microencapsulation of bioactive compounds and enzymes for therapeutic applications. In: **Biopolymer-Based Formulations**. Elsevier, 2020. p. 381-404.

BOORHEM, R. L**. Segredos e virtudes das plantas medicinais**. Rio de Janeiro: Reader's Digest do Brasil Ltda. 1999.

BOWN D. **The herb Society of América - encyclopedia of herbs & their uses.** New York: Dorling Kindersley Publishing, New York. 1995. 448p.

BRAIN, A.; JOHN, M. Phenolic content and antioxidant activity of selected Ugandan traditional medicinal foods. **African Journal of Food Science**, v. 8, n. 8, p. 427-434, 2014. https://doi.org/10.5897/AJFS2014.1136

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. L. W. T. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT-Food science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995. https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5

BRASIL. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Informe Técnico nº 68 de 03 set. 2015. Classificação dos corantes caramelos II, II e IV e dos demais corantes autorizados para uso em alimentos, 2015. Disponível em: < https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/alimentos/informes/copy_of_68de2015> Acesso em 28 de outubro de 2020.

BRASIL. ANVISA. **Decreto no 55.871/65 de 26 de março de 1965**. Disponível em: < https://www2.camara.leg.br/legin/fed/decret/1960-1969/decreto-55871-26-marco-1965-396122-publicacaooriginal-1-pe.html>. Acesso em 28 de outubro de 2020.

BRASIL. Portaria nº 540-SVS/MS, de 27 de outubro de 1997. Aprova do Regulamento Técnico: Aditivos Alimentares-definições, classificação e emprego. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, 1997. Disponível em: < https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/legislacao-1/biblioteca-de-normas-vinhos-e-bebidas/portaria-no-540-de-27-de-outubro-de-1997.pdf/view >. Acesso em 28 de outubro de 2020.

BRASIL. Resolução n° 44 - CNNPA, de 1977. Estabelece as condições gerais de elaboração, classificação, apresentação, designação, composição e fatores essenciais de qualidade dos corantes empregados na produção e alimentos e bebidas. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 1 fev. 1978 e 24 abril 1978. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br>. Acesso em 13 de outubro de 2021.

BRITO, A. E. O.; SILVA, C. S. M. Atividade antimicrobiana de extratos vegetais de especiarias do norte do Brasil. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 2, p. 1-9, 2022.

BRITTON, G. **The biochemistry of natural pigments**. Cambridge: Cambridge University Press, 1983.

BRONDANI, J. C. *et al*. Traditional usages, botany, phytochemistry, biological activity and toxicology of Tropaeolum majus L.-A review. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**, v. 15, n. 4, p. 264-273, 2016.

BURROWS, J .D, A. Palette of our palates: a brief history of food coloring and its regulation. **Comprehensive Reviews in food science and food safety**, v. 8, n. 4, p. 394-408, 2009. https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2009.00089.x

CAROCHO, M.; MORALES, P.; FERREIRA, I. C. F. R. Natural food additives: Quo vadis? **Trends in Food Science & Technology**, v. 45, n. 2, p. 284-295, 2015. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.06.007

CAVALCANTI, R. N., SANTOS, D. T., MEIRELES, M. A. A. Non-thermal stabilization mechanisms of anthocyanins in model and food systems - An overview. **Food Research International**, v. 44, n. 2, p. 499-509, 2011. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.12.007

CEVALLOS-CASALS, B. A.; CISNEROS-ZEVALLOS, L. Stability of anthocyanin-based aqueous extracts of Andean purple corn and red-fleshed sweet potato compared to synthetic and natural colorants. **Food chemistry**, v. 86, n. 1, p. 69-77, 2004. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.08.011

CHAKRABORTHY, G. S. Phytochemical screening of Calendula officinalis Linn leaf extract by TLC. **International Journal of Research in Ayurveda and Pharmacy (IJRAP)**, v. 1, n. 1, p. 131-134, 2010.

CHANDAN, K. J. *et al*. Extraction of natural dye from marigold flower (Tagetes erecta L.) and dyeing of fabric and yarns: a focus on colorimetric analysis and fastness properties. **Der Pharmacia Lettre**, v. 7, n. 1, p. 185-195, 2015.

CHENSOM, S.; OKUMURA, H.; MISHIMA, T. Primary screening of antioxidant activity, total polyphenol content, carotenoid content, and nutritional composition of 13 edible flowers from Japan. **Preventive nutrition and food science**, v. 24, n. 2, p. 171, 2019. https://doi.org/10.3746/pnf.2019. 24.2.171

CORREA, R. C. G.*et al*. Pigments and vitamins from plants as functional ingredients: Current trends and perspectives. In: **Advances in food and nutrition research**. Academic Press, 2019. p. 259-303. https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2019.02.003

CONSTANT, P. B. L. **Extração, caracterização e aplicação e antocianinas e açaí.** Viçosa, MG: UFV. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2003.

CONSTANT, P. B. L.; STRINGHETA, P. C.; SANDI, D. Corantes alimentícios. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 20, n. 2, 2002.

COULSON, J. Synthetic organic colours for food. In: **Developements in food colours - 1**. London: Walford, J. (Ed). Appl. Sc. Publ., 1980. p.47-94.

CUNHA, A. R.; MARTINS, D. Classificação climática para os municípios de Botucatu e São Manuel, SP. **Irriga**, v. 14, n. 1, p. 1-11, 2018. https://doi.org/10.15809/irriga.2009v14n1p1-11

DELGADO-PELAYO R., GALLARDO-GUERRERO L., HORNERO-MÉNDEZ D. Chlorophyll and carotenoid pigments in the peel and flesh of commercial apple fruit varieties. **Food Research International**, v. 65, p. 272-281, 2014. doi:10.1016/j.foodres.2014.03.025

DELGADO-VARGAS, F.; PAREDES-LÓPEZ, O. Natural colorants for food and nutraceutical uses. **Food Chemistry**, v. 4, p. 93-109, 2003.

DI PIETRO, N.; DI TOMO, P.; PANDOLFI, A. Carotenoids in cardiovascular disease prevention. **JSM Atheroscler**, v. 1, n. 1, p. 1002, 2016.

DIAS, M. G, *et al*. Comprehensive database of carotenoid contents in ibero-american foods. A valuable tool in the context of functional foods and the establishment of recommended intakes of bioactives. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 66, n. 20, p. 5055-5107, 2018. https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b06148

DINDA, M. *et al*. The Water Fraction of Calendula officinalis Hydroethanol Extract Stimulates In Vitro and In Vivo Proliferation of Dermal Fibroblasts in Wound Healing. **Phytotherapy research,** v. 30, n. 10, p. 1696-1707, 2016. https://doi.org/doi:10.1002/ptr.5678

DISSANAYAKE, P. K.; YAMAUCHI, N.; SHIGYO, M. Presence of pheophytin and its formation as a chlorophyll derivative in selected crop species. **The Journal of Agricultural Sciences**, v.7, n. 3, p. 127-134. 2012. https://doi.org/10.4038/jas.v7i3.4876

EFSTRATIOU, E. *et al*. Antimicrobial activity of Calendula officinalis petal extracts against fungi, as well as Gram-negative and Gram-positive clinical pathogens. **Complementary Therapies in Clinical Practice**, v. 18, n. 3, p. 173-176, 2012. https://doi.org/10.1016/j.ctcp.2012.02.003

EL-WAHAB, H. M. F. A.; MORAM, G. S. E. Toxic effects of some synthetic food colorants and/or flavor additives on male rats. **Toxicology and industrial health**, v. 29, n. 2, p. 224-232, 2013. https://doi.org/10.1177/0748233711433935

ESCUDERO-GILETE, M. L.; ROMERO, I. M. V. Colorantes alimentarios. In: **Aditivos alimentarios**. Dextra, 2017. p. 109-142.

ESPINOSA-ACOSTA, G. *et al*. Stability analysis of anthocyanins using alcoholic extracts from black carrot (Daucus carota ssp. Sativus var. Atrorubens Alef.). **Molecules**, v. 23, n. 11, p. 2744, 2018. https://doi.org/10.3390/molecules23112744

ESFANJANI, A. F.; JAFARI, S. M. Biopolymer nano-particles and natural nano-carriers for nano-encapsulation of phenolic compounds. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 146, p. 532-543, 2016. https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2016.06.053

ESQUIAVEL, P. **Handbook on Natural Pigments in Food and Beverages**. 2016. 538p.

FABRI, E. G.; TERAMOTO, J. R. S. Urucum: fonte de corantes naturais. **Revista da Associação brasileira de horticultura**, v.33, n. 1, p. 1, 2015. https://doi.org/10.1590/S0102-053620150000100023

FENNEMA, O. R.; DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L**. Química de Alimentos de Fennema**. 4. ed. Porto Alegre: Editora Artmed, 2010. 1120p.

FERNANDES, L. *et al*. **Do jardim à mesa.** Voz do Campo, Castelo Branco, v. 181, p. 8-9. 2015.

FERNANDES, L. *et al*. Edible flowers: A review of the nutritional, antioxidant, antimicrobial properties and effects on human health. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 60, p. 38-50, 2017. https://doi.org/10.1016/j.jfca.2017.03.017

FERNANDES, L. *et al*. Nutritional and nutraceutical composition of pansies (Viola× wittrockiana) during flowering. **Journal of food science**, v. 84, n. 3, p. 490-498, 2019. https://doi.org/10.1111/1750-3841.14482

FERNANDES, L. *et al*. Uma perspetiva nutricional sobre flores comestíveis. **Acta Portuguesa de Nutrição**, n. 6, p. 32-37, 2016. https://doi.org/10.21011/apn.2016.0606

FONSECA-SANTOS, B.; ANTONIO CORRÊA, M.; CHORILLI, M. Sustainability, natural and organic cosmetics: consumer, products, efficacy, toxicological and regulatory considerations. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 51, n. 1, p. 17-26, 2015. https://doi.org/10.1590/S1984-82502015000100002

FRANZEN, F. L. *et al*. Teor e rendimento de extratos de flores obtidos por diferentes métodos e períodos de extração. **Acta Iguazu**, v. 7, n. 1, p. 9-21, 2018.

GARCÍA-TEJEDA, Y. V. *et al*. Encapsulation of purple maize anthocyanins in phosphorylated starch by spray drying. **Cereal Chemistry**, v. 93, n. 2, p. 130-137, 2016. https://doi.org/10.1094/CCHEM-04-15-0072-R

GARZÓN, G. A.; WROLSTAD, R. E. Major anthocyanins and antioxidant activity of Nasturtium flowers (Tropaeolum majus). **Food Chemistry**, v. 114, n. 1, p. 44-49, 2009. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.09.013

GASPAROTTO, A. *et al*. Diuretic and potassium-sparing effect of isoquercitrin—An active flavonoid of Tropaeolum majus L. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 134, n. 2, p. 210-215, 2011. https://doi.org/10.1016/j.jep.2010.12.009

GHARIBZAHEDI, S. M. T.; RAZAVI, S. H.; MOUSAVI, S. M.. Microbial canthaxanthin: perspectives on biochemistry and biotechnological production. **Engineering in Life Sciences**, v. 13, n. 4, p. 408-417, 2013. https://doi.org/10.1002/elsc.201200153

GONÇALVES, A. F. K. *et al*. Anti-oxidant capacity, total phenolic contents and HPLC determination of rutin in Viola tricolor (L) flowers. **Free Radicals and Antioxidants**, v. 2, n. 4, p. 32-37, 2012. https://doi.org/10.5530/ax.2012.4.6

GUERRA, E.; LLOMPART, M.; GARCIA-JARES, C. Analysis of dyes in cosmetics: challenges and recent developments. **Cosmetics**, v. 5, n. 3, p. 47, 2018. https://doi.org/10.3390/cosmetics5030047

HOLTON, T. A.; CORNISH, E. C. Genetics and biochemistry of anthocyanin biosynthesis. **The Plant Cell**, v. 7, n. 7, p. 1071, 1995. https://doi.org/10.1105 / tpc.7.7.1071

HOU, D. X. *et al*. Anthocyanidins inhibit activator protein 1 activity and cell transformation: structure–activity relationship and molecular mechanisms. **Carcinogenesis**, v. 25, n. 1, p. 29-36, 2004. https://doi.org/10.1093/carcin/bgg184

HOUGHTON, J. D.; HENDRY, G. A. F. **Natural Food Colorants**. Saudi Medical Journal. 2012. 348p.

HUANG, W. *et al*. Phenolic compounds, antioxidant potential and antiproliferative potential of 10 common edible flowers from China assessed using a simulated in vitro digestion–dialysis process combined with cellular assays. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 97, n. 14, p. 4760-4769, 2017. https://doi.org/10.1002/jsfa.8345

HUTCHINGS, J. B. **Food colour and appearance**. Bedford: Springer Science & Business Media. 1994.

IQBAL, J.; BHATTI, I. A.; ADEEL, S. Effect of UV radiation on dyeing of cotton fabric with extracts of henna leaves. **Indian Journal of Fibre & Textile Research**, v. 33, p. 157-162, 2008.

JIHAD, Redwan. Dyeing of silk using natural dyes extracted from local plants. **International Journal of Scientific and Engineering Research**, v. 5, n. 11, p. 809-18, 2014.

JIMENEZ-GONZALEZ, O. *et al*. A potential natural coloring agent with antioxidant properties: Microencapsulates of Renealmia alpinia (Rottb.) Maas fruit pericarp. **NFS journal**, v. 13, p. 1-9, 2018. https://doi.org/10.1016/j.nfs.2018.08.001

JING, P.; GIUSTI, M. M. Contribution of berry anthocyanins to their chemopreventive properties. In: **Berries and Cancer Prevention**. Springer, New York, NY, 2011. p. 3-40. https://doi.org/10.1007/978-1-4419-7554-6_1

JOKOPRIYAMBODO, W. The antiradical activity of insoluble water suji (Pleomele angustifolia NE Brown) leaf extract and its application as natural colorant in bread product. **Journal of Food and Pharmaceutical Sciences**, v. 2, n. 2, 2014. https://doi.org/10.14499/jfps

KADOLPH, S. Natural Dyes: A Traditional Craft Experiencing New Attention. **Delta Kappa Gamma Bulletin**, v. 75, n. 1, 2008.

KHALID, K. A.; DA SILVA, J. T. Biology of Calendula officinalis Linn.: focus on pharmacology, biological activities and agronomic practices. **Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology**, v. 6, n. 1, p. 12-27, 2012.

KHARE C. P. **Indian Medicinal Plants: An Illustrated Dictionary**. Nova York: Springer Science Business Media. 2007. 900p.

KISHIMOTO, S. *et al*. Analysis of carotenoid composition in petals of calendula (Calendula officinalis L.). **Bioscience, biotechnology, and biochemistry**, v. 69, n. 11, p. 2122-2128, 2005. https://doi.org/10.1271/bbb.69.2122

KOWSALYA, K. *et al*. Super nutritive marine astaxanthin, an effectual dietary carotenoid for neurodegenerative diseases. **International Research Journal of Multidisciplinary Technovation**, v. 1, n. 6, p. 115-124, 2019. https://doi.org/10.34256/irjmtcon14

KŘÍŽOVÁ, H. Natural dyes: Their past, present, future and sustainability. In: MILITKÝ, J.; MISHRA, R. **Recent Developments in Fibrous Material Science**. OPS, 2015.

KUMAR, M.; VENKATESH, M. P.; KUMAR, T. M. P. Colourants and additives: existing and emerging safety concerns**. International Journal of Pharmaceutical and Clinical Research**, v. 9, p. 525-533, 2017. https://doi.org/10.25258/ijpcr.v9i7.8786

LACHNO, A. S. *et al*. Bioaditivos e aditivos naturais em alimentos: Corantes, antioxidantes e aromatizantes. Boletim Técnico-Científico, v. 5, n. 2, 2019.

LARA-CORTÉS, E. *et al*. Antioxidant capacity, nutritional and functional composition of edible Dahlia flowers. **Revista Chapingo. Serie horticultura**, v. 20, n. 1, p. 101-116, 2014. https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2013.07.024

LEE, Y. H. Colorimetric assay and antibacterial activity of cotton, silk, and wool fabrics dyed with peony, pomegranate, clove, coptis chinenis and gallnut extracts. **Materials**, v. 2, n. 1, p. 10-21, 2009.

LERMEN, F. H. *et al*. Teste de consumidores e análise de aparência, sabores e cores para o desenvolvimento de novos produtos: o case do Projeto de Broinhas de Milho Saboreadas. Revista Latino-Americana de Inovação e Engenharia de Produção, v. 3, n. 4, p. 97-110, 2015. http://dx.doi.org/10.5380/relainep.v3i4.37744

LIM, T. K. Viola × wittrockiana. In: LIM, T. K. (Ed.), Edible medicinal and non medicinal plants. The Netherlands: Springer. 2012.

LIM, J. Y.; WANG, X. D. Mechanistic understanding of β-cryptoxanthin and lycopene in cancer prevention in animal models. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids**, v. 1865, n. 11, p. 158652, 2020. https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2020.158652

LIMA, A. A. **Estrutura e reatividade de complexos de íons metálicos com flavonols, antocianinas e antocianidinas**. 2007. Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2007.

LIU, H. L.; JIANG, W. B.; XIE, M. X. Flavonoids: recent advances as anticancer drugs. **Recent patents on anti-cancer drug discovery**, v. 5, n. 2, p. 152-164, 2010. https://doi.org/10.2174/157489210790936261

LOIZZO, M. R. *et al*. Edible flowers: a rich source of phytochemicals with antioxidant and hypoglycemic properties. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 64, n. 12, p. 2467-2474, 2016. https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b03092

LOPES, T. *et al*. Antocianinas: uma breve revisão das características estruturais e da estabilidade. **Current Agricultural Science and Technology**, v. 13, n. 3, 2007. https://doi.org/10.18539/cast.v13i3.1375

LÓPEZ, C. J. *et al*. Optimization and comparison of heat and ultrasound assisted extraction techniques to obtain anthocyanin compounds from Arbutus unedo L. Fruits. **Food chemistry**, v. 264, p. 81-91, 2018. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.04.103

LORENZI H, MATOS F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil.** Nova Odessa: Ed. Instituto Plantarum de Estudos da Flora. 2002. 576p.

LU, B.; LI, M.; YIN, R. Phytochemical content, health benefits, and toxicology of common edible flowers: a review (2000–2015). **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 56, n. sup1, p. S130-S148, 2016. https://doi.org/10.1080/10408398.2015.1078276

MAHR S. Hibiscus acetosella. Wisconsin Master Gardener. Wisconsin: University of Wisconsin. 2008.

MAOKA, T. Carotenoids as natural functional pigments. **Journal of natural medicines**, v. 74, n. 1, p. 1-16, 2020. https://doi.org/10.1007/s11418-019-01364-x

MAPARI, S. A. S. *et al*. Exploring fungal biodiversity for the production of water-soluble pigments as potential natural food colorants. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 16, n. 2, p. 231-238, 2005. https://doi.org/10.1016/j.copbio.2005.03.004

MATILE, P.; HORTENSTEINER, S**. "Chlorophyll degradation", Annual Review of Plant Physiology**. Plant Molecule Biology, v. 50, p. 67-95. 1999

MCQUISTAN, T. J. *et al*. Cancer chemoprevention by dietary chlorophylls: A 12,000-animal dose–dose matrix biomarker and tumor study. **Food and Chemical Toxicology**, v. 50, n. 2, p. 341-352, 2012. https://doi.org/10.1016/j.fct.2011.10.065

MERCADANTE, A. Z.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. Confirmação da identidade da alfa-criptoxantina e incidencia de carotenóides minoritários provitamínicos a em verduras folhosas verdes. **Food Science and Technology**, v. 21, p. 216-222, 2001.

MERHAN, O. The biochemistry and antioxidant properties of carotenoids. **Carotenoids**, v. 5, p. 51, 2017. http://dx.doi.org/10.5772/67592

MEZZOMO, N.; FERREIRA, S. R. S. Carotenoids functionality, sources, and processing by supercritical technology: a review. **Journal of Chemistry**, v. 2016, 2016. https://doi.org/10.1155/2016/3164312

MINOLTA K. **Comunicação precisa da cor:** controle de qualidade da percepção à instrumentação. Seoul: Konica Minolta, 1998.

MISHRA, P. K. *et al*. Extraction of natural dye from *Dahlia variabilis* using ultrasound. **Indian Journal of Fibre**, v. 37, p. 83-86, 2012.

MORAIS, P. L. D. *et al*. Ponto de colheita ideal de mangas' Tommy Atkins' destinadas ao mercado europeu. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 24, p. 671-675, 2002. https://doi.org/10.1590/S0100-29452002000300025

MUHAMAD, I. I. *et al*. Advanced natural food colorant encapsulation methods: anthocyanin plant pigment. In: **Natural and artificial flavoring agents and food dyes**. Academic Press, 2018. p. 495-526. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811518-3.00015-6

NETAM, N. Edible flower cultivation: A new approach in floriculture industry. **The Pharma Innovation Journal**, v. 10, n. 3, p. 857-859, 2021. https://doi.org/10.22271/tpi.2021.v10.i3l.5896

NOWICKA, P.; WOJDYŁO, A. Anti-hyperglycemic and anticholinergic effects of natural antioxidant contents in edible flowers. **Antioxidants**, v. 8, n. 8, p. 308, 2019. https://doi.org/10.3390/antiox8080308

NGUYEN, C. *et al*. Hibiscus flower extract selectively induces apoptosis in breast cancer cells and positively interacts with common chemotherapeutics. **BMC complementary and alternative medicine**, v. 19, n. 1, p. 1-14, 2019. https://doi.org/10.1186/s12906-019-2505-9

OLIVEIRA, M. S. *et al*. Estudo do perfil fitoquímico e avaliação da atividade antioxidante do extrato vegetal de *Syzygium cumini*. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 9, p. e37911931808-e37911931808, 2022.

ORMOND, A. B.; FREEMAN, H. S. Dye sensitizers for photodynamic therapy. **Materials**, v. 6, n. 3, p. 817-840, 2013. https://doi.org/10.3390/ma6030817
OTÁLORA, M. C. *et al*. Encapsulating betalains from Opuntia ficus-indica fruits by ionic gelation: Pigment chemical stability during storage of beads. **Food chemistry**, v. 202, p. 373-382, 2016. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.01.115

PARENTE, L. M. L. *et al*. Wound healing and anti-inflammatory effect in animal models of Calendula officinalis L. growing in Brazil. **Evidence-based complementary and alternative medicine**, v. 2012, 2012. https://doi.org/10.1155/2012/375671

PARK, C. H. *et al*. Anthocyanin and carotenoid contents in different cultivars of chrysanthemum (Dendranthema grandiflorum Ramat.) flower. **Molecules**, v. 20, n. 6, p. 11090-11102, 2015. https://doi.org/10.3390/molecules200611090

PATIL, N. N.; DATAR, A. G. Applications of natural dye from Ixora coccinea L. in the field of textiles and cosmetics. **Coloration Technology**, v. 132, n. 1, p. 98-103, 2016. https://doi.org/10.1111/cote.12193

PINELA, J. *et al*. Optimization of heat-and ultrasound-assisted extraction of anthocyanins from Hibiscus sabdariffa calyces for natural food colorants. **Food chemistry**, v. 275, p. 309-321, 2019. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.09.118

PINAKIN, D. J. *et al*. Nutraceutical potential of tree flowers: A comprehensive review on biochemical profile, health benefits, and utilization. **Food Research International**, v. 127, p. 108724, 2020. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108724

PIRES, T. C. S. P *et al*. Nutritional and chemical characterization of edible petals and corresponding infusions: Valorization as new food ingredients. **Food Chemistry**, v. 220, p. 337-343, 2017. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.10.026

POLKA, D.; PODSĘDEK, A.; KOZIOŁKIEWICZ, M. Comparison of chemical composition and antioxidant capacity of fruit, flower and bark of Viburnum opulus. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 74, n. 3, p. 436-442, 2019. https://doi.org/10.1007/s11130-019-00759-1

PORRARUD, S.; PRANEE, A. Microencapsulation of Zn-chlorophyll pigment from Pandan leaf by spray drying and its characteristic. **International Food Research Journal**, v. 17, n. 4, p. 1031-1042, 2010.

PRADO, M. A.; GODOY, H. T. Corantes artificiais em alimentos**. Alimentos e Nutrição Araraquara**, v.14, n.2, p. 237-250, 2003.

PRATA, G. G. B. *et al*. Nutritional characterization, bioactive compounds and antioxidant activity of Brazilian roses (Rosa spp**). Journal of Agricultural Science and Technology**, v. 19, n. 5, p. 929-941, 2017.

PRENTICE-HERNANDEZ, C.; RUSIG, O.; CARVALHO, P. R. N. Efeito do pH na quantidade de bixina obtida em extratos alcalinos de urucum (Bixa orellana L.). **Revista Brasileira de Corantes Naturais**, v. 1, n. 1, p. 182 187, 1992.

PROVESI, J. G.; DIAS, C. O.; AMANTE, E. R. Changes in carotenoids during processing and storage of pumpkin puree. **Food Chemistry**, v. 128, n. 1, p. 195-202, 2011. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.03.027

QUEIJA, C.; QUEIRÓS, M. A.; RODRIGUES, L. M. A cor dos Alimentos. **Boletim da Sociedade Portuguesa de Química,** v. 80, p. 6-11, 2001.

RAMESH, M.; MUTHURAMAN, A. Flavoring and coloring agents: health risks and potential problems. In: **Natural and artificial flavoring agents and food dyes**. Academic Press, 2018. p. 1-28. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811518-3.00001-6

RASCÓN, M. P. *et al*. Carotenoid retention and storage stability of spray-dried encapsulated paprika oleoresin using gum Arabic and soy protein isolate as wall materials. **LWT-Food Science and Technology**, v. 44, n. 2, p. 549-557, 2011. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.08.021

RAVIKUMAR, S.; UMA, G.; GOKULAKRISHNAN, R. Antibacterial property of halobacterial carotenoids against human bacterial pathogens. **Journal of Scientific & Industrial Research**, v. 75, n.4, p. 253-257, 2016.

Regulamento (CE) no 1333/2008 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 16 de Dezembro de 2008, sobre aditivos alimentares, Jornal Oficial da União Europeia § (2008).

REZENDE, F. *et al*. Edible flowers as innovative ingredients for future food development: anti-alzheimer, antimicrobial, and antioxidant potential. **Chemical Engineering Transactions**, v. 75, p. 337-342, 2019. https://doi.org/10.3303/CET1975057

RYU, J. *et al*. Morphological characteristics, chemical and genetic diversity of kenaf (Hibiscus cannabinus L.) genotypes. **Journal of Plant Biotechnology**, v. 44, n. 4, p. 416-430, 2017. https://doi.org/10.5010/JPB.2017.44.4.416

RODRIGUES, C. *et al*. Bioprocessos na produção de aditivos alimentares. **Biotecnologia Aplicada à Agro&Indústria**, v. 4, p. 249-282, 2017. https://doi.org/10.5151/9788521211150-07

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Natural food pigments and colorants. **Current Opinion in Food Science**, v. 7, p. 20-26, 2016. https://doi.org/10.1016/j.cofs.2015.08.004

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; KIMURA, M.; AMAYA-FARFAN, J. **Fontes brasileiras de Carotenóides:** tabela brasileira de composição de carotenóides em alimentos. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2008. 98p.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **A guide to carotenoid analysis in foods.** 2001.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Update on natural food pigments-A mini-review on carotenoids, anthocyanins, and betalains. **Food Research International**, v. 124, p. 200-205, 2019. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.05.028

ROGERIO, A. P. *et al*. Anti-inflammatory activity of quercetin and isoquercitrin in experimental murine allergic asthma. **Inflammation research**, v. 56, n. 10, p. 402-408, 2007. https://doi.org/10.1007/s00011-007-7005-6

ROP, O. *et al*. Edible flowers—a new promising source of mineral elements in human nutrition. **Molecules**, v. 17, n. 6, p. 6672-6683, 2012. https://doi.org/10.3390/molecules17066672

ROSA, J. R. *et al*. Microencapsulation of anthocyanin compounds extracted from blueberry (Vaccinium spp.) by spray drying: Characterization, stability and simulated

gastrointestinal conditions. **Food Hydrocolloids**, v. 89, p. 742-748, 2019. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.11.042

ROWLES III, J. L.; ERDMAN J. R.; JOHN W. Carotenoids and their role in cancer prevention. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids**, v. 1865, n. 11, p. 158613, 2020. https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2020.158613

RUFINO, M.S.M. *et al*. Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. Fortaleza: EMBRAPA. Comunicado Técnico, n. 127, p. 1-4. 2007.

RZAJEW, J.; RADZIK, T.; REBAS, E. Calcium-involved action of phytochemicals: carotenoids and monoterpenes in the brain. **International journal of molecular sciences**, v. 21, n. 4, p. 1428, 2020. https://doi.org/10.3390/ijms21041428

SSEGAWA, P.; KASENENE, J. M. Medicinal plant diversity and uses in the Sango bay area, Southern Uganda. **Journal of ethnopharmacology**, v. 113, n. 3, p. 521-540, 2007. https://doi.org/10.1016/j.jep.2007.07.014

SAHOTA, A. **Sustainability: How the cosmetics industry is greening up.** 1. ed. Barcelona, ES: John Wiley & Sons, Ltd. 2013.

SAKHANOKHO, H. F.; KELLEY, R. Y. Influence of salicylic acid on in vitro propagation and salt tolerance in Hibiscus acetosella and Hibiscus moscheutos (cv ‘Luna Red’). **African Journal of Biotechnology**, v. 8, n. 8, 2009.

SAKATA, Y.; UEMOTO, S. Studies on the flower colours of the sweet pea I. Anthocyanidin pigmentation in flowers of Spring-flowering sweet pea. **Journal of the Japanese Society for Horticultural Science**, v. 45, n. 2, p. 181-186, 1976. https://doi.org/10.2503/jjshs.45.181

SANTOS, A. C. A. *et al*. Potencial antioxidante de antocianinas em fontes alimentares: revisão sistemática. **Revista Interdisciplinar**, v. 7, n. 3, p. 149-156, 2014.

SANTOS-BUELGA, C.; MATEUS, N.; FREITAS, V. Anthocyanins. Plant Pigments and Beyond. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.62, n. 29, p.6879-6884, 2014. https://doi.org/10.1021/jf501950s

SARAVANAN, P. *et al*. Extraction and application of eco-friendly natural dye obtained from barks of Odina wodier L. on cotton fabric. **Journal of Natural Product and Plant Resources**, v. 3, n. 2, p. 80-85, 2013.

SCHIOZER, A. L.; BARATA, L. E. S. Estabilidade de corantes e pigmentos de origem vegetal. **Revista Fitos Eletrônica**, v. 3, n. 02, p. 6-24, 2007.

SHAHID, M. *et al*. Recent advancements in natural dye applications: a review. **Journal of Cleaner Production**, v. 53, p. 310-331, 2013. https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2013.03.031

SHAHIDI, F.; NACZK, M. **Phenolics in food and nutraceuticals**. Washington, D.C.: CRC press. 2004.

SHAKERI, A. *et al*. Biological activities of three natural plant pigments and their health benefits. **Journal of Food Measurement and Characterization**, v. 12, n. 1, p. 356-361, 2018.

SHARMA, V.; MCKONE, H. T.; MARKOW, P. G. A global perspective on the history, use, and identification of synthetic food dyes. **Journal of Chemical Education**, v. 88, n. 1, p. 24-28, 2011. https://doi.org/10.1021/ed100545v

SHI, J. *et al*. Exogenous sodium nitroprusside treatment of broccoli florets extends shelf life, enhances antioxidant enzyme activity, and inhibits chlorophyll-degradation. **Postharvest Biology and Technology**, v. 116, p. 98-104, 2016. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2016.01.007

SHIBGHATALLAH, M. A. H. *et al*. Measuring leaf chlorophyll concentration from its color: A way in monitoring environment change to plantations. In: **AIP conference proceedings**. American Institute of Physics, 2013. p. 210-213. https://doi.org/10.1063/1.4820322

SILVA, R. M.M. F. *et al*. Aspectos da biologia de flores de Tropaeolum majus L. (Tropaeolaceae). 60° Congresso Nacional de Botânica, Feira de Santana, BA, Brazil. 2009.

SIMS, D. A.; GAMON, J. A. Relationships between leaf pigment content and spectral reflectance across a wide range of species, leaf structures and developmental stages. **Remote sensing of environment**, v. 81, n. 2-3, p. 337-354, 2002. https://doi.org/10.1016/S0034-4257(02)00010-X

SINGH, R. *et al*. Antimicrobial activity of some natural dyes. **Dyes and pigments**, v. 66, n. 2, p. 99-102, 2005.

SINGH, R. *et al*. Exploration of flower based natural dyes-a review. **Research Journal of Recent Sciences**, v. 4, n. IVC-2015), 2015.

SINGH, S. *et al*. Eco-friendly dye sensitized solar cell using natural dye with solid polymer electrolyte as hole transport material. **Materials Today: Proceedings**, v. 34, p. 760-766, 2021. https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.04.775

SINGLETON, V. L. *et al*. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. In: **Methods in enzymology**. Academic press. p. 152-178, 1999. https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1

SKOWYRA, M. *et al*. Characterization of phytochemicals in petals of different colours from Viola× wittrockiana Gams and their correlation with antioxidant activity. **Journal of Agricultural Science**, v. 6, n. 9, p. 93-105, 2014. https://doi.org/10.5539/jas.v6n9p93

SOOD, S.; VYAS, D.; NAGAR, P. K. Physiological and biochemical studies during flower development in two rose species. **Scientia Horticulturae**, v. 108, n. 4, p. 390-396, 2006. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2006.02.012

SOUSA, C. M. M. *et al*. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química nova**, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007. https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000200021

SOUZA, R. M. **Corantes naturais alimentícios e seus benefícios à saúde**. Rio de Janeiro: Centro Universitário Estadual da Zona Oeste - UEZO. 2012

SPENCE, C. On the psychological impact of food colour. **Flavour**, v. 4, n. 1, p. 21, 2015. https://doi.org/10.1186/s13411-015-0031-3

SRIDHAR, K.; INBARAJ, B. S.; CHEN, B. Recent Advances on Nanoparticle Based Strategies for Improving Carotenoid Stability and Biological Activity. **Antioxidants**, v. 10, n. 5, p. 713, 2021. https://doi.org/10.3390/antiox10050713

STEFANIAK, A.; GRZESZCZUK, M. E. Nutritional and biological value of five edible flower species. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca**, v. 47, n. 1, p. 128-134, 2019. https://doi.org/10.15835/nbha47111136

STREIT, N. M. *et al*. As clorofilas. **Ciência Rural**, v. 35, p. 748-755, 2005.

STRINGHETA, P.C. Uso e aplicação de corantes naturais. Apresentação realizada no evento sobre “Corantes artificiais e naturais em alimentos”. ITAL, Campinas, 2007.

SUBRAMONIAM, A. *et al*. Chlorophyll revisited: anti-inflammatory activities of chlorophyll a and inhibition of expression of TNF-α gene by the same. **Inflammation**, v. 35, n. 3, p. 959-966, 2012. https://doi.org/10.1007/s10753-011-9399-0

TANAKA, Y.; SASAKI, N.; OHMIYA, A. Biosynthesis of plant pigments: anthocyanins, betalains and carotenoids. **The Plant Journal**, v. 54, n. 4, p. 733-749, 2008. https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2008.03447.x

TANG, J. *et al*. Isolation and characterization of cytotoxic cyclotides from Viola tricolor. **Peptides**, v. 31, n. 8, p. 1434-1440, 2010. https://doi.org/10.1016/j.peptides.2010.05.004

TERCI, D. B. L.; ROSSI, A. V. Indicadores naturais de ph: usar papel ou solução? **Química Nova**, v. 25, n. 4, p. 684-688, 2002.

THUNGMUNGMEE, S.; WISIDSRI, N.; KHOBJAI, W. Antioxidant Activities of Chaba Maple (Hibiscus acetosella) Flower Extract. **Applied Mechanics and Materials**, v. 886, p. 34-39, 2019a. https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/AMM.886.34

THUNGMUNGMEE, S.; WISIDSRI, N.; KHOBJAI, W. The characteristics and antioxidant activities of Chaba Maple (Hibiscus acetosella) homemade

jam. **International Journal of Applied Pharmaceutics**, v. 886, p. 52-55, 2019b. https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/AMM.886.34

TSUMBU, C. N. *et al*. Polyphenol content and modulatory activities of some tropical dietary plant extracts on the oxidant activities of neutrophils and myeloperoxidase. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 13, n. 1, p. 628-650, 2012. https://doi.org/10.3390/ijms13010628

VARGAS, M. L. V. *et al*. Extraction and stability of anthocyanins present in the skin of the dragon fruit (Hylocereus undatus). **Food and Nutrition Sciences**, v. 4, n. 12, p. 1221, 2013. http://dx.doi.org/10.4236/fns.2013.412156

VAZ A. P. A.; JORGE, M. H. A. Capuchinha. In: EMBRAPA (Ed.). Plantas medicinais condimentares e aromáticas. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Corumbá, Brasil. 2006

VELOSO, L. A. **Dossiê técnico: corantes e pigmentos.** Serviço Brasileiro de Respostas Técnicas, 2012. Disponível em:< http://www.respostatecnica.org.br/dossietecnico/ downloadsDT/NTcwOA==> Acesso em: 24 abril. 2021

VIERA, I.; PÉREZ-GÁLVEZ, A.; ROCA, M. Green natural colorants**. Molecules**, v. 24, n. 1, p. 154, 2019. https://doi.org/10.3390/molecules24010154

VILELA, T. C. *et al*. Hibiscus acetosella extract protects against alkylating agent-induced DNA damage in mice. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 90, p. 3165-3174, 2018. https://doi.org/10.1590/0001-3765201820180144

VUKICS, V.; KERY, A.; GUTTMAN, A. Analysis of polar antioxidants in heartsease (Viola tricolor L.) and garden pansy (Viola x wittrockiana Gams.). **Journal of Chromatographic Science**, v. 46, n. 9, p. 823-827, 2008. https://doi.org/10.1093/chromsci/46.9.823

WANG, J. *et al*. Antioxidant activity of leaf extracts from different Hibiscus sabdariffa accessions and simultaneous determination five major antioxidant compounds by LC-Q-TOF-MS. **Molecules**, v. 19, n. 12, p. 21226-21238, 2014. https://doi.org/10.3390/molecules191221226

WANG, Y.; LI, J.; LI, B. Chitin microspheres: A fascinating material with high loading capacity of anthocyanins for colon specific delivery. **Food Hydrocolloids**, v. 63, p. 293-300, 2017. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.09.003

WONG, S. K.; LIM, Y. Y.; CHAN, E. W. C. Antioxidant properties of Hibiscus: Species variation, altitudinal change, coastal influence and floral colour change. **Journal of Tropical Forest Science**, p. 307-315, 2009. https://www.jstor.org/stable/23616755

WONG, S. K.; LIM, Y. Y.; CHAN, E. W. C. Evaluation of antioxidant, anti-tyrosinase and antibacterial activities of selected Hibiscus species. **Ethnobotanical Leaflets**, v. 2010, n. 7, p. 9, 2010.

YANG, P. *et al*. Six new compounds from the flowers of Chrysanthemum morifolium and their biological activities. **Bioorganic chemistry**, v. 82, p. 139-144, 2019. https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2018.10.007

YOUSUF, B. *et al*. Health benefits of anthocyanins and their encapsulation for potential use in food systems: a review. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 56, n. 13, p. 2223-2230, 2016. https://doi.org/10.1080/10408398.2013.805316

ZAHRA, N. *et al*. Effect of natural and synthetic dyes on human health. **International Research Journal of Biological Sciences**, v. 6, n. 10, p. 23-29, 2017.

ZAMAN, S. Medicinal plant, QoQnus publication. Tehran, İran. Country, p. 45-90, 2003.

ZHEN, J. *et al*. Phytochemistry, antioxidant capacity, total phenolic content and anti-inflammatory activity of Hibiscus sabdariffa leaves. **Food chemistry**, v. 190, p. 673-680, 2016. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.06.006

ZHENG, J. *et al*. Total phenolics and antioxidants profiles of commonly consumed edible flowers in China. **International journal of food properties**, v. 21, n. 1, p. 1524-1540, 2018. https://doi.org/10.1080/ 10942912.2018.1494195

ZHU, C. *et al*. The regulation of carotenoid pigmentation in flowers. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 504, n. 1, p. 132-141, 2010. https://doi.org/10.1016/j.abb.2010.07.028

APÊNDICE A – Espécies de flores prospectadas neste estudo

2021

a) amor-perfeito vermelho; b) amor-perfeito roxo; c) amor-perfeito púrpura; d) vinagreira-roxa; e) calêndula; f) capuchinha laranja; g) capuchinha púrpura; h) capuchinha salmão; i) capuchinha laranja; j) capuchinha amarela

APÊNDICE B – Corantes naturais oriundos de flores comestíveis

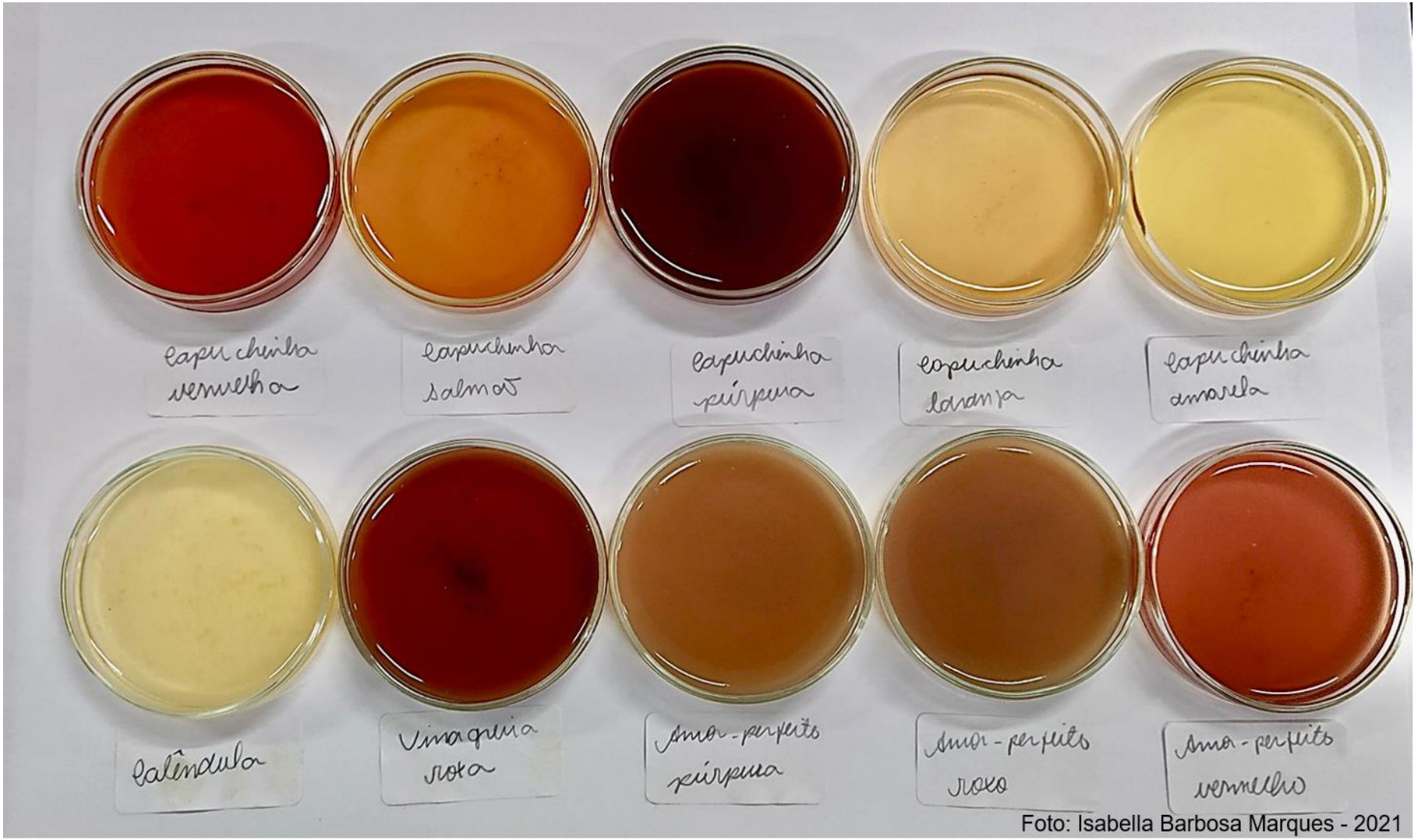


Foto: Isabella Barbosa Marques - 2021