



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA - UNB  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
PÓS-GRADUAÇÃO EM NANOCIÊNCIA E NANOBIOTECNOLOGIA**

Victoria Baggi de Mendonça Lauria

**Síntese de nanossistemas à base de biopigmentos extraídos de resíduos de  
matrizes vegetais e suas aplicações como corantes naturais**

**BRASÍLIA/DF**

**2021**

Victoria Baggi de Mendonça Lauria

**Síntese de nanossistemas à base de biopigmentos extraídos de resíduos de matrizes vegetais e suas aplicações como corantes naturais**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Nanociência e Nanobiotecnologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Nanociência e Nanobiotecnologia.

**Orientador:** Prof. Dr. Luciano Paulino da Silva

**BRASÍLIA/DF**

**2021**

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço à minha família, em especial à minha mãe Katia Maria Baggi de Mendonça e ao meu irmão gêmeo Lucas Baggi de Mendonça Lauria, que sempre me incentivaram na busca pelo conhecimento e estiveram presentes em todos os momentos dessa trajetória.

Ao professor Luciano Paulino da Silva pela oportunidade dada, pelos grandes ensinamentos e dedicação no processo de orientação.

Às agências e/ou órgãos de fomento à pesquisa, CAPES, CNPq e FAP-DF, pelo suporte financeiro e apoio técnico-científico.

À UnB pela oportunidade e convênio celebrado com a Embrapa, possibilitando o desenvolvimento e realização das atividades relacionadas à pesquisa.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Nanociência e Nanobiotecnologia (PPGNANO) da Universidade de Brasília (UnB) pela transmissão de conhecimento na área.

À Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (CENARGEN) e ao Laboratório de Nanobiotecnologia (LNANO) por permitirem o desenvolvimento de minhas atividades experimentais, bem como pelas oportunidades de participação em eventos técnico-científicos.

Ao time do LNANO pelos cafés e grandes momentos de descontração.

Aos meus amigos, em especial Ana Júlia Barbosa, Camila Letícia, Caroline Ribeiro, Gabriel de Campos, Fernanda Bellaniza, Ísis de Araújo, Mariane Vieira, Marília Masson, Vanessa Sampaio e Victor Hugo, pelo companheirismo, apoio e risadas ao longo dessa jornada.

A todos os entrevistados que contribuíram com o desenvolvimento da pesquisa.

“A ciência serve para nos dar uma ideia de  
quão extensa é a nossa ignorância”  
(Félicité Robert de Lamennais)

## RESUMO

A atual demanda mercadológica por produtos alimentícios mais saudáveis acarretou na exploração de alternativas seguras para a produção de corantes naturais. A respeito disso, resíduos vegetais e seus subprodutos, como cascas, bagaços, e sementes passaram a ser considerados como potenciais fontes para a obtenção de pigmentos naturais. No entanto, o uso de biopigmentos ainda apresenta desafios, visto que há uma carência de fontes adequadas para a sua extração, assim como uma baixa estabilidade desses compostos quando expostos a variações extremas de temperatura, luz, pH e oxigênio. Neste sentido, faz-se necessário a descoberta de fontes com alto teor de pigmentos aplicáveis em produtos alimentícios, bem como o desenvolvimento de estratégias para minimizar o processo de degradação dessas substâncias naturais. A partir disso, o presente estudo foi dividido em duas etapas. A primeira delas teve por objetivo identificar diferentes resíduos vegetais como potenciais candidatos para a obtenção de pigmentos naturais, avaliando-os quanto à sua aplicabilidade para o desenvolvimento de corantes naturais nanoestruturados. Já a segunda visava a avaliar, junto à população brasileira, o padrão atual de consumo de corantes artificiais e naturais presentes em alimentos, bem como a preferência de compra e/ou consumo entre amostras de gelatinas coloridas artificialmente e amostras incorporadas com os pigmentos naturais nanoestruturados. Sendo assim, para o desenvolvimento da primeira etapa foram realizadas extrações eco amigáveis variando a solução extrativa e a concentração de resíduo. Os extratos estudados foram obtidos de diferentes matrizes vegetais e a quantificação das cores dos extratos foi feita pelo modelo de cor RGB. Como resultado, constatou-se que tais variáveis influenciaram no perfil de cor RGB dos pigmentos naturais obtidos. Ademais, folhas externas de *Brassica oleracea* L. var. *capitata* f. *rubra* e cascas de *Cucurbita maxima*, de *Cucurbita maxima* × *Cucurbita moschata* e de *Beta vulgaris* L. se mostraram ótimos recursos naturais para a extração de pigmentos naturais com cores e escalas tonais variadas. A partir desses resultados, lipossomas, micelas e nanopartículas poliméricas foram produzidos como alternativas para o melhoramento da estabilidade desses compostos. Como resultado, foram obtidos nanossistemas com tamanhos variados e heterogêneos. Ademais, esses demonstraram ser alternativas viáveis para o aumento da estabilidade de pigmentos naturais ao longo do tempo de armazenamento. Para a realização da segunda etapa do presente estudo, um questionário virtual foi aplicado, junto à população brasileira. Como resultado, constatou-se que a grande maioria dos entrevistados acredita que corantes artificiais fazem mal à saúde, caso sejam consumidos em excesso, e mais da metade declarou possuir um nível de preocupação elevado e/ou razoável quanto à presença desses compostos em alimentos. A respeito de corantes naturais e a relação com a saúde, a grande maioria não os considera como potenciais fontes de risco e gostaria que houvesse mais opções de produtos alimentícios no mercado com a adição desses. Além disso, a maioria dos entrevistados se mostrou a favor do reaproveitamento de resíduos vegetais para o desenvolvimento de novos produtos e produção de corantes naturais. Por fim, a maioria das gelatinas coloridas com os pigmentos naturais nanoestruturados despertou maior preferência de compra e/ou consumo em relação àquelas contendo corantes artificiais. Sendo assim, pigmentos naturais obtidos de resíduos vegetais se apresentam como fontes naturais promissoras por serem economicamente e tecnologicamente viáveis para a produção de corantes nanoestruturados.

**Palavras-chave:** corantes alimentícios; corantes naturais; extração eco amigável; modelo de cor RGB; resíduos vegetais.

## ABSTRACT

The current market demand for healthier food products has led to the exploration of safe alternatives for producing natural dyes. In this regard, vegetal residues, and their by-products, such as peels, pomace, seeds, etc., came to be considered as potential sources for obtaining natural pigments. However, the use of biopigments presents challenges, due to the lack of adequate sources, as well as low stability of these compounds when it is exposed to extreme variations in temperature, light, pH, and oxygen. In this sense, it is necessary to discover sources with high contents of applicable pigments in food products, as well as developing strategies to minimize these natural substances' degradation process. From this, the present study was divided into two stages. The first of them aimed to identify different vegetal residues as potential candidates for obtaining natural pigments, evaluating them as to their applicability for developing nanostructured natural dyes. The second aimed to assess the current Brazilian consumption pattern of artificial and natural dyes present in foods, as well as the preference of purchase and/or consumption between samples of artificially colored gelatins and samples incorporated with the nanostructured natural pigments. Thus, for the development of the first stage, eco-friendly extractions were carried out, varying the extractive solution and residue concentrations. The studied extracts were obtained from different vegetal matrices, and the quantification of the extract colors was done by the RGB color model. As a result, it was found that such variables influenced the RGB color profile of the obtained natural pigments. In addition, outer leaves of *Brassica oleracea* L. var. *capitata* f. *rubra*, and peels of *Cucurbita maxima*, *Cucurbita maxima* × *Cucurbita moschata*, and *Beta vulgaris* L. proved to be excellent natural resources for extracting pigments containing varied colors and tonal scales. From these results, liposomes, micelles, and polymeric nanoparticles were produced as alternatives for improving these compounds' stability. As a result, nanosystems with heterogeneous sizes were obtained. Furthermore, they proved to be good alternatives for increasing natural pigments' stability over storage time. To carry out the second stage of the present study, a virtual questionnaire was applied to the Brazilian population. As a result, the vast majority believe that artificial colorings are not good for health if consumed in excess, and more than half of the respondents reported having a high and/or reasonable level of concern about the presence of these compounds in food. In respect of natural dyes and their relationship with health, the vast majority do not consider them as a risk potential source. In addition, most respondents would like to have, in the market, more options of food products containing natural colorants. Finally, most gelatins colored with nanostructured natural pigments had greater purchase and/or consumption preference compared to those containing artificial dyes. Therefore, natural pigments obtained from vegetal residues are promising natural sources for being economically and technologically viable to produce nanostructured dyes.

**Keywords:** food coloring; natural dyes; eco-friendly extraction; RGB color model; vegetal residues.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Representação da região do espectro da luz visível ao olho humano.....	19
<b>Figura 2</b> - Representação esquemática das somas de cores no modelo de cor RGB.....	21
<b>Figura 3</b> - Representação estrutural de lipossoma unilamelar e multilamelar.....	29
<b>Figura 4</b> - Representação de agregação de surfactante em formato esférico e tubular. ....	30
<b>Figura 5</b> - Representação de nanocápsulas e nanoesferas. <b>A)</b> ativo dissolvido no núcleo oleoso; <b>B)</b> ativo adsorvido à matriz polimérica; <b>C)</b> ativo retido no interior da matriz polimérica; <b>D)</b> ativo adsorvido à superfície da matriz polimérica. ....	32
<b>Figura 6</b> - Fluxograma das etapas metodológicas realizadas durante o desenvolvimento do estudo.....	34
<b>Figura 7</b> - Resíduos vegetais utilizados no estudo. <b>A)</b> cascas de abóbora híbrida tetsukabuto; <b>B)</b> cascas de abóbora moranga; <b>C)</b> cascas de batata-doce; <b>D)</b> cascas de beterraba; <b>E)</b> cascas de cenoura; <b>F)</b> cascas de chuchu; <b>G)</b> talos de couve; <b>H)</b> folhas externas de repolho roxo.....	35
<b>Figura 8</b> - Representação esquemática da designação em código utilizada para descrever os nanossistemas produzidos ao longo do estudo. ....	39
<b>Figura 9</b> - Valores médios ( $\pm$ desvio padrão da média) de RGB dos pigmentos naturais obtidos em diferentes soluções extrativas. <b>A)</b> pigmentos naturais extraídos de cascas de abóbora híbrida tetsukabuto; <b>B)</b> pigmentos naturais extraídos de cascas de abóbora moranga; <b>C)</b> pigmentos naturais extraídos de cascas de batata-doce; <b>D)</b> pigmentos naturais extraídos de cascas de beterraba; <b>E)</b> pigmentos naturais extraídos cascas de cenoura; <b>F)</b> pigmentos naturais extraídos de cascas de chuchu; <b>G)</b> pigmentos naturais extraídos de talos de couve; <b>H)</b> pigmentos naturais extraídos de folhas externas de repolho roxo. Em cada figura, colunas com letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas ao nível de 5% pelo Teste de Tukey, sendo “a” em relação a água e “b” em relação ao etanol 25% da cor correspondente.....	50
<b>Figura 10</b> - Triplicatas (1 <sup>a</sup> , 2 <sup>a</sup> e 3 <sup>a</sup> ) dos pigmentos naturais extraídos a partir de diferentes concentrações de resíduos (3,3%; 5%; 10%; 20 e 30%). <b>1 A-E)</b> pigmentos obtidos de cascas de abóbora híbrida tetsukabuto; <b>2 A-E)</b> pigmentos obtidos de cascas de abóbora moranga; <b>3 A-E)</b> pigmentos obtidos de cascas de beterraba; <b>4 A-E)</b> pigmentos obtidos de folhas externas de repolho roxo. O perfil colorimétrico exibido pelas amostras é resultante da incidência da própria luz do laboratório que apresenta uma temperatura de cor branca fria 5000K. ....	53
<b>Figura 11</b> - Valores médios ( $\pm$ desvio padrão da média) de RGB das triplicatas (1, 2 e 3) dos pigmentos naturais extraídos a partir de diferentes concentrações de resíduos (3,3%; 5%;	

10%; 20% e 30%). **A)** pigmentos obtidos de cascas de abóbora híbrida tetsukabuto; **B)** pigmentos obtidos de cascas de abóbora moranga; **C)** pigmentos obtidos de cascas de beterraba; **D)** pigmentos obtidos de folhas externas de repolho roxo. ....54

**Figura 12** - Pigmentos naturais nanoestruturados (nanobiopigmentos). **A)** lipossomas contendo pigmento natural extraído de cascas de abóbora híbrida tetsukabuto (LPCA); **B)** micelas contendo pigmento natural extraído de cascas de abóbora moranga (MPCA); **C)** lipossomas contendo pigmento natural extraído de cascas de beterraba (LPCB); **D)** nanopartículas poliméricas de quitosana contendo pigmento natural extraído de folhas externas de repolho roxo (NPQPFR). O perfil colorimétrico exibido pelas amostras é resultante da incidência da própria luz do laboratório que apresenta uma temperatura de cor branca fria 5000K. ....57

**Figura 13** - Valores médios ( $\pm$  desvio padrão da média) de RGB dos pigmentos naturais ao longo do tempo de armazenamento. **A)** pigmento obtido das cascas de abóbora híbrida tetsukabuto; **B)** pigmento obtido das cascas de abóbora moranga; **C)** pigmento obtido das cascas de beterraba; **D)** pigmento obtido das folhas externas de repolho roxo. Em cada figura, letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas ao nível de 5% pelo Teste de Tukey, sendo “a” em relação a 2 dias, “b” em relação a 9 dias e “c” em relação a 16 dias. ....63

**Figura 14** - Valores médios ( $\pm$  desvio padrão da média) de RGB dos nanossistemas ao longo do tempo de armazenamento. **A)** LPCA; **B)** MPCA; **C)** LPCB; **D)** NPQPFR. Em cada figura, letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas ao nível de 5% pelo Teste de Tukey, sendo “a” em relação a 2 dias, “b” em relação a 9 dias e “c” em relação a 16 dias. ....64

**Figura 15** - Formação de precipitados nos extratos contendo pigmentos naturais (fileira A) em comparação aos nanobiopigmentos (fileira B). Fotografia do 26º dia de armazenamento. As leituras para análise RGB foram realizadas em triplicata para cada amostra contendo pigmentos naturais, bem como para os nanobiopigmentos desenvolvidos. **1, 2, 3 A)** pigmento obtido das cascas de abóbora moranga; **4, 5, 6 A)** pigmento obtido das folhas externas de repolho roxo; **7, 8, 9 A)** pigmento obtido das cascas de abóbora híbrida tetsukabuto; **10, 11, 12 A)** pigmento obtido das cascas de beterraba; **1, 2, 3 B)** MPCA; **4, 5, 6 B)** NPQPFR; **7, 8, 9 B)** LPCA; **10, 11, 12 B)** LPCB. ....65

**Figura 16** - Percentual da população participante do estudo em cada região do Brasil. ....66

**Figura 17** - Perfil do sexo da população participante do estudo. ....67

**Figura 18** - Perfil de faixas etárias em função do sexo da população participante do estudo. 67



<b>Figura 19</b> - Nível de instrução da população participante do estudo. ....	68
<b>Figura 20</b> - Opinião da população participante do estudo sobre corantes artificiais para a saúde .....	69
<b>Figura 21</b> - Nível de preocupação da população participante do estudo quanto à presença de corantes artificiais adicionados em alimentos. ....	69
<b>Figura 22</b> - Frequência de consumo de alimentos com corantes artificiais/coloridos artificialmente pela população do estudo. ....	70
<b>Figura 23</b> - Principais alimentos consumidos pela população participante do estudo que contém corantes artificiais em sua composição.....	70
<b>Figura 24</b> - Opinião da população participante do estudo sobre corantes naturais para a saúde. ....	71
<b>Figura 25</b> - Nível de preocupação da população participante do estudo quanto à presença de corantes naturais adicionados em alimentos.....	71
<b>Figura 26</b> - Preferência da população participante do estudo em relação ao consumo entre corantes artificiais e naturais. ....	72
<b>Figura 27</b> - Hábito de leitura de rótulos de alimentos da população participante do estudo...	73
<b>Figura 28</b> - Facilidade da população participante do estudo em encontrar produtos alimentícios no mercado com a adição de corantes naturais (coloridos naturalmente).....	74
<b>Figura 29</b> - Opinião da população participante do estudo sobre a possibilidade de haver mais opções de produtos alimentícios no mercado com a adição de corantes naturais/coloridos naturalmente. ....	75
<b>Figura 30</b> - Opinião da população participante do estudo em relação ao reaproveitamento de resíduos vegetais para o desenvolvimento de novos produtos. ....	76
<b>Figura 31</b> - Opinião da população participante do estudo em relação ao reaproveitamento de resíduos vegetais para a produção de corantes naturais. ....	76
<b>Figura 32</b> - Preferência de compra e/ou consumo entre amostras de gelatinas com corantes artificiais e aditivadas com os pigmentos naturais nanoestruturados. <b>A)</b> 157 - gelatina com corante ponceau 4R + vermelho 40, 324 - gelatina com LPCB; <b>B)</b> 276 - gelatina com corante tartrazina, 581 - gelatina com LPCA; <b>C)</b> 365 - gelatina com NPQPFR, 492 - gelatina com corante bordeaux + azul brilhante; <b>D)</b> 534 - gelatina com MPCA, 612 - gelatina com corante tartrazina. ....	79

## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro 1</b> - Nanossistemas produzidos a partir dos extratos contendo pigmentos naturais e suas respectivas designações.....	39
----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Resumo das extrações variando as concentrações de resíduos, a partir das melhores soluções extrativas e matrizes vegetais pré-estabelecidas.....	37
<b>Tabela 2</b> - Perfis médios de cor obtidos dos extratos contendo pigmentos naturais com água ultrapura, etanol 25% e etanol 96%. Os perfis de cor são apresentados como uma representação gráfica colorimétrica obtida pelo programa Microsoft Word 2010, a partir dos valores médios de RGB.....	48
<b>Tabela 3</b> - Coeficientes de variação (CV, %) dos valores médios de RGB entre as triplicatas, a partir da variação das concentrações de resíduos. Os valores de CV foram classificados de acordo com a classificação proposta por Pimentel-Gomes (1985).....	55
<b>Tabela 4</b> - DH, PDI e PZ médios ( $\pm$ desvio padrão da média) dos nanossistemas produzidos com os extratos contendo pigmentos naturais extraídos a partir de diferentes resíduos vegetais e de seus respectivos controles vazios.....	60
<b>Tabela 5</b> - Perfis médios de cor dos extratos contendo pigmentos naturais e dos nanossistemas (nanobiopigmentos) ao longo do tempo de armazenamento. Os perfis de cor são apresentados como uma representação gráfica colorimétrica obtida pelo programa Microsoft Word 2010, a partir dos valores médios de RGB.....	65
<b>Tabela 6</b> - Perfil médio de cor das amostras de gelatinas coloridas com corantes artificiais e com os nanobiopigmentos. Os perfis de cor são apresentados como uma representação gráfica colorimétrica obtida pelo programa Microsoft Word 2010, a partir dos valores médios de RGB.....	77
<b>Tabela 7</b> - Codificação das amostras de gelatinas coloridas com corantes artificiais e com os nanobiopigmentos.....	78

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABCSEM - Associação Brasileira do Comércio de Sementes e Mudas  
ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária  
CIE - *Commission Internationale de l'Eclairage*  
cm - Centímetro  
CMC - Concentração micelar crítica  
CMYK - *Cyan, Magenta, Yellow, Black Key* (Ciano, Magenta, Amarelo, Preto)  
CNNPA - Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos  
CNS - Conselho Nacional de Saúde  
CV - Coeficiente de variação  
 $C_5H_8$  - Isopreno  
DF - Distrito Federal  
DH - Diâmetro Hidrodinâmico  
DLS - Espalhamento de Luz Dinâmico  
FAO - *Food and Agriculture Organization*  
g - Grama  
°C - Grau Celsius  
h - Hora  
He-Ne - Hélio-Neônio  
HCl - Ácido clorídrico  
HSI - *Hue Saturation Intensity* (Matiz, Saturação, Intensidade)  
Hz - Hertz  
IN - Instrução Normativa  
K - Kelvin  
kg - Quilograma  
kHz - Quilohertz  
L - Litro  
LED - *Light Emitting Diode* (Diodo emissor de luz)  
LPCA - Lipossomas contendo pigmentos extraídos de cascas de abóbora  
LPCB - Lipossomas contendo pigmentos extraídos de cascas de beterraba  
LUV - *Large unilamellar vesicles*  
m - Metro  
mg - Miligrama

min - Minuto  
mL - Mililitro  
mol/L - Mol por litro  
MPCA - Micelas contendo pigmentos extraídos de cascas de abóbora  
MS - Ministério da Saúde  
mV - MiliVolt  
MVP - Produto Minimamente Viável  
mW - MiliWatt  
NaClO - Hipoclorito de sódio  
NaHCO<sub>3</sub> - Bicarbonato de sódio  
nm - Nanômetro  
NPQPFR - Nanopartículas poliméricas de quitosana contendo pigmentos extraídos de folhas de repolho roxo  
PCL - Poli(ε-caprolactona)  
PdI - Índice de Polidispersividade  
PGA - Poli (ácido glicólico)  
PLGA - Poli (ácido lático-co-ácido glicólico)  
PZ - Potencial Zeta  
p/v - Peso por volume  
RGB - *Red, Green, Blue* (Vermelho, Verde, Azul)  
rpm - Rotações por minuto  
s - Segundo  
SESI - Serviço Social da Indústria  
SUV - *Small unilamellar vesicles*  
TCLE - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido  
TPF - Tripolifosfato de sódio  
YUV - *Luminance, Blue-luminance, Red-luminance* (Luminância, Luminância azul, Luminância vermelha)  
µm - Micrômetro  
µL - Microlitro  
µL/h - Microlitro por hora  
% - Porcentagem

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b>	15
<b>1.1 JUSTIFICATIVA</b>	17
<b>1.2 OBJETIVOS</b>	18
<b>1.2.1 OBJETIVO GERAL</b>	18
<b>1.2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b>	18
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA</b>	19
<b>2.1 Cor e sua percepção</b>	19
<b>2.2 Corantes alimentícios</b>	22
<b>2.3 Resíduos vegetais e seus subprodutos como alternativas na produção de corantes naturais</b>	23
<b>2.4 Nanotecnologia na área alimentar</b>	27
<b>2.4.1 Lipossomas</b>	28
<b>2.4.2 Micelas</b>	30
<b>2.4.3 Nanopartículas poliméricas</b>	31
<b>3. MATERIAIS E MÉTODOS</b>	33
<b>3.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO</b>	33
<b>3.2 RESÍDUOS VEGETAIS</b>	35
<b>3.2.1 Aquisição</b>	35
<b>3.2.2 Processo de higienização</b>	36
<b>3.3 EXTRAÇÕES ECO AMIGÁVEIS DE PIGMENTOS NATURAIS</b>	36
<b>3.3.1 Variando a solução extrativa</b>	36
<b>3.3.2 Variando as concentrações de resíduos</b>	37
<b>3.4 ANÁLISE DO PERFIL COLORIMÉTRICO PELO MODELO DE CORES RGB</b>	38
<b>3.4.1 Análise estatística do perfil colorimétrico</b>	38
<b>3.5 PRODUÇÃO DE NANOSSISTEMAS LIPÍDICOS E POLIMÉRICOS</b>	39
<b>3.5.1 Micelas</b>	40
<b>3.5.2 Lipossomas</b>	40
<b>3.5.3 Nanopartículas poliméricas de quitosana</b>	41
<b>3.6 CARACTERIZAÇÃO DOS PIGMENTOS NATURAIS NANOESTRUTURADOS</b>	42
<b>3.6.1 Análise macroscópica</b>	42
<b>3.6.1 Determinação do Diâmetro hidrodinâmico (DH), índice de polidispersividade (PDI) e potencial Zeta (PZ)</b>	42

<b>3.7 AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE COLORIMÉTRICA EM FUNÇÃO DO TEMPO DE ARMAZENAMENTO ENTRE PIGMENTOS NATURAIS E SEUS RESPECTIVOS NANOSSISTEMAS .....</b>	<b>42</b>
<b>3.8 ANÁLISE RGB DE GELATINAS COLORIDAS COM PIGMENTOS NATURAIS NANOESTRUTURADOS E COM CORANTES ARTIFICIAIS .....</b>	<b>43</b>
<b>3.9 ESTUDO POPULACIONAL ACERCA DO PADRÃO DE CONSUMO DE CORANTES ARTIFICIAIS E NATURAIS PRESENTES EM ALIMENTOS, E AVALIAÇÃO DA PREFERÊNCIA DE COMPRA E/OU CONSUMO ENTRE AMOSTRAS DE GELATINAS .....</b>	<b>43</b>
<b>3.9.1 Coleta de dados .....</b>	<b>44</b>
<b>3.9.2 Amostragem e público-alvo .....</b>	<b>44</b>
<b>3.9.3 Garantias éticas aos participantes da pesquisa .....</b>	<b>44</b>
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>46</b>
<b>4.1 Extração variando a solução extrativa .....</b>	<b>46</b>
<b>4.2 Extração variando as concentrações de resíduos .....</b>	<b>51</b>
<b>4.3 Análise macroscópica dos pigmentos naturais nanoestruturados .....</b>	<b>56</b>
<b>4.4 Determinação do diâmetro hidrodinâmico (DH), índice de polidispersividade (PdI) e potencial Zeta dos pigmentos naturais nanoestruturados .....</b>	<b>58</b>
<b>4.5 Avaliação da estabilidade de cor em função do tempo de armazenamento .....</b>	<b>60</b>
<b>4.6 Avaliação do padrão de consumo de corantes artificiais e naturais presentes em alimentos .....</b>	<b>66</b>
<b>4.7 Preferência de compra e/ou de consumo entre amostras de gelatinas .....</b>	<b>77</b>
<b>5. CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS .....</b>	<b>81</b>
<b>6. REFERÊNCIAS .....</b>	<b>83</b>
<b>7. ANEXOS .....</b>	<b>92</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A cor influencia diretamente o comportamento alimentar, dado que está associada aos critérios de qualidade e segurança dos consumidores (CLYDESDALE, 1991). Por essa razão, a indústria alimentícia faz uso frequente de corantes artificiais em seus produtos, visando melhorar as características físico-químicas e sensoriais do alimento durante as etapas de produção e/ou processamento (BOBBIO; BOBBIO, 1992; CONSTANT; STRINGHETA; SANDI, 2002).

Todavia, hoje se vê que a sociedade adota hábitos alimentares que diferem expressivamente dos padrões vigentes há poucos anos. Tal mudança se deve à maior conscientização dos potenciais impactos ambientais vinculados, por exemplo, à produção de corantes sintéticos derivados do petróleo (CAROCHO *et al.*, 2014), bem como em relação aos malefícios à saúde vinculados a ingestão excessiva de alimentos aditivados com tais compostos (RAMESH; MUTHURAMAN, 2018). Nesse contexto, uma nova tendência emerge na indústria de alimentos, havendo destaque para a elaboração de estratégias tecnológicas aplicadas à exploração de novas alternativas seguras e sustentáveis para a produção de corantes naturais.

A esse respeito, coprodutos advindos de processos industriais, especificamente resíduos vegetais e seus subprodutos, como cascas, bagaços, sementes, etc., passaram a ser considerados recentemente como fontes promissoras para a produção de corantes naturais alimentícios (KUSHWAHA *et al.*, 2017; SHARMA; BHAT, 2021), dando origem a novas perspectivas no âmbito científico-tecnológico.

Os resíduos vegetais e seus subprodutos apresentam grande potencial tecnológico para a elaboração de produtos alternativos ao uso de corantes artificiais, visto que são recursos de custo baixo e apresentam, em sua composição, fitopigmentos seguros e até mesmo benéficos à saúde, como antocianinas, betalaínas, carotenoides e clorofilas. Ademais, tal reaproveitamento mostra-se de grande interesse na formulação de produtos que proporcionem saudabilidade e bem-estar. Isso se deve às suas propriedades antioxidantes, antineoplásicas e antimicrobianas (CHEN *et al.*, 2015; GENGATHARAN; DYKES; CHOO, 2015; LI *et al.*, 2015; RECHNER; KRONER, 2005).

Além dos potenciais ganhos apresentados, o incentivo ao reaproveitamento de resíduos vegetais e seus subprodutos se mostra como uma estratégia de expressiva importância ambiental, visto que reduz a produção de lixo orgânico, contribuindo para a minimização de inúmeros impactos ambientais negativos ocasionados pela decomposição desses materiais orgânicos no solo (HALL *et al.*, 2009).



No entanto, o interesse no uso de substitutos naturais aos corantes artificiais enfrenta desafios que precisam ser superados no que se refere à alta instabilidade desses biocompostos, especialmente em relação às variações de luz, oxigênio, pH e temperatura (BOBBIO; BOBBIO, 1992). Neste sentido, o emprego de estratégias nanotecnológicas para minimizar tal processo de degradação manifesta-se como uma alternativa emergente, uma vez que propriedades físico-químicas diferenciadas podem ser adquiridas em função da adoção de processos para estruturação em escalas de pequenas dimensões (GODDARD *et al.*, 2007; MARCONE, 2015).

Nesse contexto, uma das propostas dessa dissertação foi produzir nanossistemas lipídicos e poliméricos, por estratégias de química verde, mediante a utilização de pigmentos naturais extraídos de resíduos vegetais e seus subprodutos, no intuito de avaliá-los como potenciais corantes naturais em alimentos. Ademais, em virtude das mudanças nos hábitos alimentares da população, o presente estudo também objetivou avaliar a atual percepção e padrão de consumo de corantes artificiais e naturais junto a diferentes grupos populacionais que residem no Brasil, bem como avaliar a preferência de compra e/ou consumo de amostras de gelatinas coloridas com pigmentos advindos de resíduos vegetais *versus* àquelas coloridas artificialmente.

## **1.1 JUSTIFICATIVA**

O desenvolvimento do presente estudo justifica-se por três razões principais. A primeira delas, já apontada na seção de apresentação do tema, consiste na atual demanda do consumidor por alimentos mais saudáveis. Em segundo lugar, nota-se uma forte tendência da indústria de bens de consumo no desenvolvimento de corantes a partir de recursos naturais advindos de processos industriais, especificamente resíduos vegetais e seus subprodutos. Em terceiro e último lugar, mas não menos importante, vê-se uma carência na literatura de estudos comparativos envolvendo um grande número de resíduos vegetais para a obtenção eco amigável de pigmentos naturais, bem como o uso de múltiplas abordagens para nanoestruturação, visando à preservação das propriedades físico-químicas desses compostos bioativos.

## **1.2 OBJETIVOS**

### **1.2.1 OBJETIVO GERAL**

Desenvolver sistemas nanoestruturados, por estratégias de química verde, mediante a utilização de pigmentos naturais extraídos de resíduos vegetais, avaliando-os quanto à aplicabilidade para o desenvolvimento de corantes naturais para alimentos.

### **1.2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

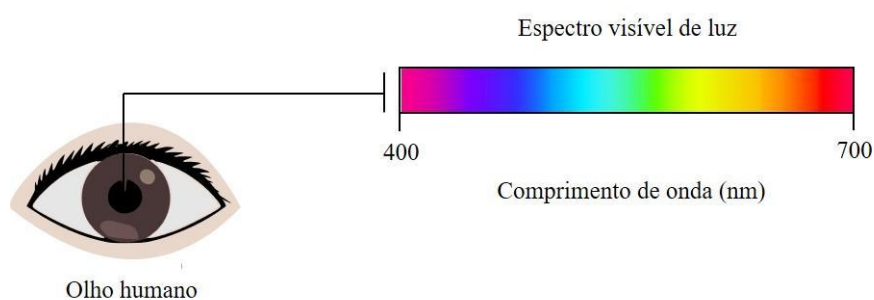
- Testar, otimizar e padronizar métodos químicos e físicos para extração de pigmentos naturais mediante emprego de resíduos vegetais, por estratégias ecologicamente sustentáveis;
- Desenvolver nanossistemas lipídicos e poliméricos, por rotas de síntese verde, a partir do uso de pigmentos naturais extraídos de resíduos vegetais;
- Avaliar as características físico-químicas dos pigmentos naturais nanoestruturados (nanobiopigmentos) desenvolvidos;
- Avaliar as características colorimétricas dos pigmentos naturais nanoestruturados em função do tempo de armazenamento;
- Avaliar a potencial aplicação dos pigmentos naturais nanoestruturados como corantes naturais em alimentos;
- Avaliar, junto à população, o padrão de consumo de corantes artificiais e naturais presentes em alimentos;
- Avaliar, junto à população, a preferência de compra e/ou consumo de alimentos coloridos naturalmente com nanobiopigmentos.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Cor e sua percepção

Desde os primórdios da civilização, a humanidade busca entender a cor e seu processo de percepção (SILVEIRA, 2015). Leonardo Da Vinci, Isaac Newton, Goethe e Michel-Eugène Chevreul foram alguns dos estudiosos que se propuseram a investigar esse fenômeno em seu aspecto físico, fisiológico e cultural. Tais compreensões e contribuições teóricas resultaram na origem da Teoria da Cor (GUIMARÃES, 2004).

A cor é definida como uma sensação percebida por organizações nervosas face à reflexão da luz sobre um corpo e/ou objeto (SILVEIRA, 2015). A luz é composta por ondas eletromagnéticas de comprimentos (m) e frequências (Hz) distintos, resultando no chamado espectro eletromagnético. Ao incidirem sobre um objeto, parte dessas ondas é absorvida e transformada em calor, e parte é refletida e captada pelo olho humano. Este, por sua vez, é capaz de detectar apenas uma faixa do espectro, chamada de região visível, que apresenta comprimentos de onda variando entre  $4,0 \times 10^{-7}$  nm e  $7,0 \times 10^{-7}$  nm (GASPAR, 2013), como ilustrado na Figura 1. Cada faixa de comprimento de onda está diretamente relacionada a uma cor. O vermelho, por exemplo, apresenta um comprimento de onda na faixa de 700 nm, já a cor violeta corresponde ao comprimento de onda na faixa de 400 nm (SILVEIRA, 2015). Isso posto, comprimentos de ondas distintos são capazes de desencadear variadas sensações visuais de cor.



**Figura 1** - Representação da região do espectro da luz visível ao olho humano.  
Fonte: elaboração própria (2021).

Essas sensações da cor são percebidas somente quando há o envolvimento da interpretação humana (SILVEIRA, 2015). São os cones e bastonetes presentes na retina, membrana do segmento posterior do olho, os responsáveis pela captação e tradução da radiação luminosa refletida sobre um objeto (BARRETT *et al.*, 2013). Os cones são células de forma alongada e cilíndrica, com segmentos externos cônicos, localizados na fóvea (região

central da retina). São eles os responsáveis pela visão cromática devido às suas capacidades de resposta em condições de luz intensa. Existem três tipos de cones: S, M e L, sendo esses responsivos às cores azul, verde e vermelha, respectivamente (TORTORA; DERRICKSON, 2017). Já os bastonetes são receptores de forma alongada, com segmentos externos cilíndricos. Diferentemente do observado para os cones, essas células atuam na visão noturna, uma vez que são capazes de distinguir apenas tons de cinza (TORTORA; DERRICKSON, 2017; SILVEIRA, 2015).

É por meio de um sistema conectivo, denominado nervo óptico, que os sinais nervosos provenientes dos fotorreceptores chegam ao córtex cerebral, havendo o processamento e interpretação da informação visual (BARRETT *et al.*, 2013). Essa interpretação que resultará na percepção da cor é peculiar a cada indivíduo, uma vez que aspectos socioculturais, simbólicos e psicológicos influenciam tal processo (SILVEIRA, 2015). Sendo assim, a partir das experiências vividas pelo ser humano são geradas respostas emocionais, refletindo diretamente no entendimento da cor. Isso posto, espaços de cores foram criados a fim de representar essa abrangência visual da cor em seu aspecto psicológico ou fisiológico, sendo esse último fundamentado em modelos matemáticos (KUEHNI; SCHWARZ, 2008).

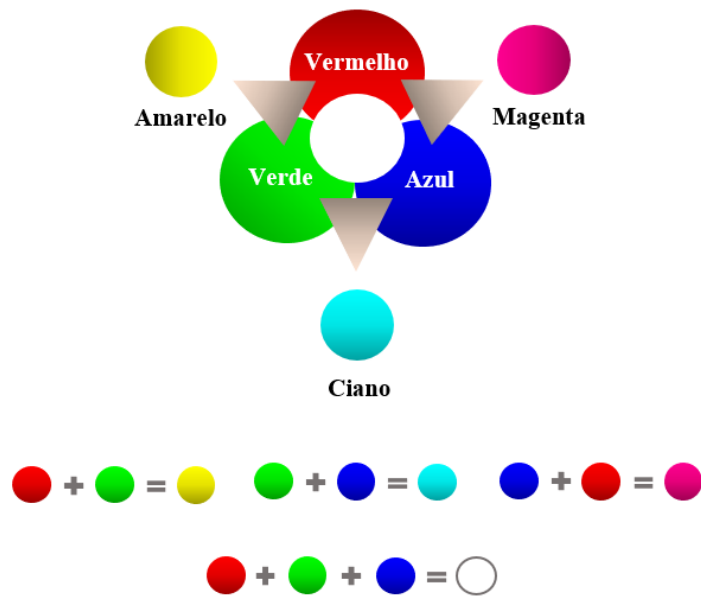
Os modelos sistemáticos bidimensionais de cor foram os primeiros a serem criados e contribuíram para a consolidação de modelos tridimensionais (KUEHNI; SCHWARZ, 2008). Dentre os sistemas de cor mais conhecidos, destaca-se o de Albert Henry Munsell (1858-1918) que propôs um sistema de ordenamento tridimensional de cores em formato cilíndrico (FEITOSA-SANTANA *et al.*, 2006; IBRAHEEM, 2012).

Apesar desses grandes avanços na representação da cor, foi somente a partir das *Recommendations officielles de la Commission Internationale de l'Eclairage*, em 1931, que a colorimetria tornou-se de fato viável (FEITOSA-SANTANA *et al.*, 2006). O sistema de cor CIE passou a ser amplamente utilizado, devido à sua capacidade de correlacionar os valores de cor com a percepção visual humana. Tal sistema é representado por um diagrama de cor tridimensional que evidencia as cores puras e suas misturas, sendo essas representadas em coordenadas x, y (correspondentes à cromaticidade) e Y (correspondente à luminância) (FEITOSA-SANTANA *et al.*, 2006).

A partir do sistema de cor CIE, novos modelos foram criados com a finalidade de simplificar e padronizar ainda mais o uso da cor. Tem-se como exemplos os modelos de cor RGB, CMYK, HSI, YUV, entre outros (IBRAHEEM *et al.*, 2012). Atualmente, uma das representações mais utilizadas para a detecção e exibição da cor em sistemas eletrônicos é o modelo de cor RGB. Esse sistema descreve as cores a partir da soma/combinção de três

cores puras luz, sendo essas o vermelho (R, do inglês *red*), o verde (G, do inglês *green*) e o azul (B, do inglês *blue*) (IBRAHEEM *et al.*, 2012; FORD; ROBERTS, 1998) (Figura 2). Esse modelo é classificado em dois tipos, sendo eles: linear, representado como RGB, e não-linear, representado como R'G'B'. O primeiro é utilizado basicamente em aplicativos de computação gráfica. Já o segundo é amplamente difundido na detecção, exibição e representação da cor em imagens, sendo os valores R'G'B' exibidos em um intervalo entre 0 a 255 (IBRAHEEM *et al.*, 2012).

É a partir da soma da variação de intensidade entre as cores RGB, que novos espectros colorimétricos são caracterizados. Por exemplo, a cor branca é representada pela soma da intensidade máxima de vermelho, verde e azul (R = 255; G = 255; B = 255), já o preto é expresso pela soma da emissão mínima dessas cores (R = 0; G = 0; B = 0) (IBRAHEEM *et al.*, 2012; ISHAD; CHEZIAN, 2013).



**Figura 2** - Representação esquemática das somas de cores no modelo de cor RGB.  
 Fonte: elaboração própria (2021).

Modelos de cor são ferramentas de grande valia no controle de qualidade para o setor industrial (WU; SUN, 2013). A indústria de alimentos, por exemplo, faz uso frequente desses sistemas para caracterizar a cor de corantes e produtos alimentícios, visto que a aparência está comumente associada à aceitação de um produto pelo ser humano (KAYS, 1999).

## 2.2 Corantes alimentícios

A cor é considerada um dos atributos sensoriais mais importantes no alimento, visto que é o primeiro critério de julgamento da qualidade e segurança pelo consumidor (CLYDESDALE, 1991). Diversos estudos indicam que as percepções visuais humanas acerca da cor de um alimento determinam a aceitação, bem como o consumo de um produto (IMRAM, 1999; WALSH *et al.*, 1990). Por exemplo, cores esverdeadas em queijos ou escuras em carnes despertam aversões por estarem associados a potenciais perigos (CLYDESDALE, 1993). Ademais, a cor também pode influenciar a percepção de doçura em frutas e bebidas (BAYARRI *et al.*, 2001) e frescor em carnes (FONT-I-FURNOLS; GUERRERO, 2014). Em virtude dessa influência no comportamento alimentar, a indústria alimentícia faz uso frequente de corantes artificiais a fim de preservar e/ou intensificar a cor inicial dos alimentos, dado que etapas de produção, processamento e armazenamento podem alterar expressivamente a coloração desses produtos (BOBBIO; BOBBIO, 1992; CONSTANT; STRINGHETA; SANDI, 2002).

De acordo com a Resolução nº 44/77 da CNNPA, do Ministério da Saúde (MS), corante é definido como “a substância ou a mistura de substâncias que possuem a propriedade de conferir ou intensificar a coloração de alimento (e bebida).” Sendo o corante artificial definido como “corante orgânico sintético não encontrado em produtos naturais”. Esses compostos artificiais apresentam grandes vantagens em relação àqueles de origem natural, como (i) alta estabilidade frente a variações de temperatura, pH, oxigênio e luz; (ii) alto poder tintorial; e (iii) baixo custo de produção. Devido a tais características, essas substâncias acabam sendo preferencialmente utilizadas na produção em larga escala de novos alimentos (CONSTANT; STRINGHETA; SANDI, 2002; PRADO; GODOY, 2003; ZANONI; YANAMAKA, 2006).

Atualmente, diversos corantes artificiais são permitidos para uso em alimentos no Brasil, são eles: tartrazina, amarelo crepúsculo, azorrubina, amaranto (Bordeaux S), ponceau 4R, eritrosina, vermelho 40, azul indigotina, azul patente V, azul brilhante e verde rápido. A concentração máxima desses compostos artificiais em um alimento varia em função do tipo de produto, de acordo com as Resoluções nº 387/99, 388/99, 03/2007, 04/2007, 60/2007 e 285/2019 (BRASIL, 1999a; BRASIL, 1999b; BRASIL, 2007a; BRASIL, 2007b; BRASIL, 2007c; BRASIL, 2019).

Apesar das vantagens e do apelo visual que corantes artificiais proporcionam aos alimentos, atualmente é possível notar uma substituição gradativa no uso desses por corantes naturais pela indústria de alimentos. Duas causas explicam tal fato, a primeira delas está

relacionada com a elevada preocupação, por parte da população, acerca dos potenciais impactos ambientais causados pelos processos aplicados na síntese de corantes artificiais (CAROCHO *et al.*, 2014). Já a segunda causa está relacionada com o aumento de relatos de caso apontando o surgimento de manifestações clínicas, como reações alérgicas, hiperatividade e neoplasias, associadas à ingestão excessiva de alimentos aditivados com esses produtos artificiais (RAMESH; MUTHURAMAN, 2018). Esses fatos, por si, justificam o interesse atual em ampliar o uso de diversos grupos de pigmentos naturais que apresentam cores variadas, em particular aqueles relacionados a metabólitos secundários típicos de vegetais, como: betalainas, carotenoides, clorofilas e flavonoides (DE MEJIA *et al.*, 2020; RAMESH; MUTHURAMAN, 2018). Em face disso, na próxima seção, serão abordadas alternativas sustentáveis para a obtenção de tais compostos naturais.

### **2.3 Resíduos vegetais e seus subprodutos como alternativas na produção de corantes naturais**

Resíduos vegetais e seus subprodutos (ex.: cascas, folhas, raízes, sementes, talos, entre outros) são recursos naturais provenientes do processamento de alimentos, como frutas e hortaliças. No setor agroindustrial, por exemplo, vê-se com frequência o descarte desses para a produção de sucos, geleias, doces, etc. Ademais, esses resíduos são também encontrados em abundância em comércios e domicílios. De um modo geral, o Brasil e/ou a população mundial não está habituada em aproveitar os alimentos em sua totalidade. De acordo com Redcorn, Fatemi e Engelberth (2018), cerca de 1/4 do suprimento mundial de alimentos é desperdiçado, e os consumidores representam um dos principais causadores desse problema, visto que são responsáveis por aproximadamente 51% do total de resíduos produzidos em determinadas regiões. Um exemplo prático pode ser visto no estudo realizado por Marchetto *et al.* (2008), onde constatou-se que apenas 58% das frutas e 75% dos legumes são realmente utilizados para o consumo. Parte desses alimentos ricos em nutrientes, como cascas e sementes, são comumente desprezados e/ou desperdiçados, originando elevadas quantidades de lixo orgânico.

O Brasil é um dos grandes produtores mundiais de hortaliças, sendo esse setor altamente diversificado e segmentado. Segundo a Associação Brasileira do Comércio de Sementes e Mudas (ABCSEM), cerca de 20 milhões de toneladas de 18 diferentes espécies de hortaliças são produzidas anualmente. As taxas de desperdício de tais alimentos chegam, muitas vezes, a 30% ou 40% (MARTINS; FARIAS, 2002).



Segundo a *Food and Agriculture Organization* (FAO), 1,3 bilhão de toneladas de comida são desperdiçadas ou perdidas ao longo das cadeias produtivas de alimentos, gerando impactos negativos para o meio ambiente devido a utilização maciça de recursos naturais (ex.: água, terra agrícolas, etc.) que são usados para produzir esses alimentos que acabam não sendo consumidos (FAO, 2017). Apenas uma pequena parcela dos resíduos é empregada em processos de compostagem ou produção de rações animais para a minimização do desperdício (HANG, 2006), enquanto a grande maioria é simplesmente descartada e negligenciada quanto aos seus potenciais usos em aplicações capazes de agregar valor. Reduzir o desperdício de alimentos poderia economizar mais de 1 bilhão de hectares de terras agrícolas que são utilizados para cultivar, anualmente, tais alimentos comumente descartados (PRINCIPATO, 2018). Estima-se que o custo alimentar global do desperdício de alimentos é de aproximadamente 2,6 trilhões de dólares por ano, dos quais os custos econômicos chegam a 1 trilhão de dólares, já os custos ambientais e sociais podem chegar a 700 e 900 bilhões de dólares, respectivamente (PRINCIPATO, 2018).

Nesse contexto, os resíduos vegetais passaram a ser considerados como fontes potenciais para a extração de compostos naturais, sendo esses utilizados na formulação de novos ingredientes e produtos de interesse da indústria de alimentos. Dentre esses compostos de grande relevância, destacam-se os pigmentos naturais para a produção de corantes. Estudos demonstram que a partir do reaproveitamento dessas fontes naturais é possível extrair pigmentos variados, como: betalaínas, carotenoides, clorofilas e flavonoides, que podem ser utilizados como substitutos de corantes sintéticos (MELLO *et al.*, 2015; RISK; EL-KADY; EL-BIALY, 2014; SILVA *et al.*, 2014).

As betalaínas são compostos nitrogenados hidrossolúveis e assemelham-se às antocianinas quanto à sua reatividade (DELGADO-VARGAZ; JIMENÉZ; PAREDES-LÓPEZ, 2000). Classificadas em betacianinas e betaxantinas, esses pigmentos são responsáveis pela coloração vermelho-violeta e amarelo-laranja em vegetais, respectivamente (STINTZING; CARLE, 2007). Além da propriedade de coloração, esses compostos apresentam atividades antioxidantes, antineoplásicas e antimicrobianas (GENGATHARAN; DYKES; CHOO, 2015). Vários estudos têm sido realizados para a extração de betalaínas a partir de diversas fontes de resíduos, objetivando sua utilização como corante natural em alimentos. Zin *et al.* (2020), por exemplo, otimizaram um método para a extração de betalaínas a partir de cascas de beterraba (*Beta vulgaris* L.), utilizando como variáveis experimentais o tempo de extração, proporção de resíduo para solvente e temperatura. Seus resultados demonstraram que a extração realizada em uma hora (1 h), à temperatura de 20°C e

com uma proporção de solvente de 0,8 (p/v), foi a mais eficiente para a obtenção dos biocompostos de interesse. Cascas de pitaya (*Hylocereus undatus*) também foram matérias-primas de estudo para a obtenção desses biopigmentos, como visto no estudo realizado por Mello *et al* (2015), onde constatou-se que tais resíduos apresentavam altas concentrações de betalaínas, sendo essas resistentes a elevadas temperaturas.

Os carotenoides, por sua vez, são pigmentos lipofílicos formados por uma estrutura insaturada formada por oito unidades de isopreno ( $C_5H_8$ ). Amplamente distribuídos na natureza, esses compostos são responsáveis pela coloração amarela, laranja e vermelha de frutas, folhas, flores e vegetais (DELGADO-VARGAZ; JIMENÉZ; PAREDES-LÓPEZ, 2000). Mais de 600 carotenoides já foram identificados na natureza, sendo esses classificados em carotenos e xantofilas. O primeiro subgrupo é formado apenas por moléculas contendo carbono e hidrogênio; já o segundo é constituído por grupamentos hidroxila, carbonila e carboxila (DELGADO-VARGAZ; JIMENÉZ; PAREDES-LÓPEZ, 2000; RODRIGUEZ-AMAYA, 2018). Cascas de laranja mostram-se ótimas alternativas para a obtenção desses compostos naturais. Chedea *et al.* (2010), por exemplo, realizaram diferentes processos extrativos para a obtenção de pigmento carotenóide a partir de cascas de duas variedades de laranja (navel e valência). Os resultados demonstraram uma presença abundante de apocarotenoides em cascas da espécie valência, enquanto b-criptoxantina foi o principal composto encontrado nos resíduos de laranja navel. Cascas e polpas de abóboras (*Cucurbita maxima*) também são recursos de grande valia para a extração de carotenoides, uma vez que apresentam teores significativos do biopigmento a partir de extrações assistidas por ultrassom e micro-ondas, utilizando óleo de milho como solvente extrator (SHARMA; BHAT, 2021).

Já as clorofilas são pigmentos verdes anfifílicos formados por uma estrutura tetrapirrólica cíclica, a qual é composta por um íon de magnésio em seu centro. Amplamente presentes nos cloroplastos de plantas superiores e na maioria das algas, são encontrados em abundância sob duas formas: clorofila A e clorofila B (DELGADO-VARGAZ; JIMENÉZ; PAREDES-LÓPEZ, 2000). Responsáveis pela coloração verde em plantas, as clorofilas desempenham papel importante no processo de fotossíntese, estando comumente associadas a carotenoides, lipídeos e proteínas nos tecidos vegetais (BOBBIO; BOBBIO, 1992). As clorofilas podem ser extraídas de vários resíduos vegetais. Derrien *et al.* (2017) extraíram luteína e clorofila de subprodutos do espinafre e otimizaram tal processo por meio de metodologia de resposta de superfície. Ademais, resíduos industriais do processamento de abacates, mais especificamente cascas, podem ser explorados como fontes alternativas para a

extração de clorofilas e carotenoides, como descrito no estudo realizado por Wang *et al.* (2010).

Os flavonoides, por fim, são pigmentos naturais que apresentam estrutura heterocíclica. As antocianinas são as principais representantes desse grupo, sendo responsáveis pelas cores azul, violeta e vermelha em flores, frutas e folhas (MARKAKIS, 1982; DELGADO-VARGAZ; JIMENÉZ; PAREDES-LÓPEZ, 2000). Essa infinidade de cores é ocasionada pela combinação desses compostos com glicosídeos e/ou grupos acila e por suas interações com outros tipos de moléculas e/ou condições do meio (DELGADO-VARGAZ; JIMENÉZ; PAREDES-LÓPEZ, 2000). Além da capacidade de conferir cor, esses biopigmentos apresentam propriedades funcionais benéficas à saúde, atuando na prevenção de câncer, doenças cardiovasculares e diabetes (CHEN *et al.*, 2015; LI *et al.*, 2015; RECHNER; KRONER, 2005). Resíduos provenientes de jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) são relatados como boas fontes desses corantes naturais, uma vez que apresentam altos teores de antocianinas (FERNANDES *et al.*, 2020). Cascas de cebola vermelha também são consideradas boas fontes para a extração desse pigmento. Hashen *et al.* (2016), por exemplo, fizeram uso de diferentes solventes para a obtenção de antocianinas a partir de cascas de cebola vermelha (*Allium cepa*). Constatou-se que etanol acidificado (0,01% HCl) apresentou maior eficiência na extração, seguido de metanol acidificado (0,01% HCl). Ademais, os corantes obtidos a partir do método extrativo foram incorporados em diferentes preparações alimentares e submetidos, em seguida, a testes sensoriais. Os testes demonstraram uma boa aceitabilidade geral para os produtos incorporados com o biopigmento, demonstrando que tais recursos podem ser uma fonte comercial de corantes alimentares naturais.

Como é possível notar a partir da breve revisão de literatura até aqui apresentada, a biovalorização de resíduos vegetais e subprodutos mostra-se viável como forma sustentável para a produção de corantes naturais. Sendo assim, novas estratégias de gerenciamento dessas fontes naturais devem ser adotadas pelo setor industrial, a fim de minimizar os desperdícios e os impactos ambientais negativos advindos das etapas de processamento e produção de alimentos. Ademais, ressalta-se a necessidade da adoção de tecnologias que permitam a proteção de tais compostos naturais frente a variações extremas de temperatura, pH, luz e oxigênio durante as etapas de processamento e armazenamento, visto que esses biocompostos podem sofrer processos de oxidação, isomerização, desidrogenação e hidrólise ao longo do tempo, ocasionando alterações de cor e instabilidade. Tem-se como exemplo a ocorrência de processos de hidrólise das ligações glicosídicas em antocianinas a temperaturas elevadas, induzindo a sua perda de cor característica (SCHIOZER; BARATA, 2013). Ademais,

betacianinas são altamente sensíveis ao aumento de temperatura, presença de luz e oxigênio, acarretando uma mudança de cor vermelha para amarela devido a ocorrência de reações de desidrogenação e isomerização (SCHIOZER; BARATA, 2013). Nesse contexto, o emprego de estratégias nanotecnológicas, mostra-se promissor, dado que estudos na literatura já demonstraram a eficiência de nanossistemas na proteção de biopigmentos. Em face disso, na próxima seção, serão abordados processos nanotecnológicos comumente utilizados na indústria de alimentos, bem como os benefícios que essas abordagens trazem no aumento da estabilidade de pigmentos naturais quando expostos a condições adversas (ex.: temperatura, luz e pH).

## 2.4 Nanotecnologia na área alimentar

A nanotecnologia refere-se a um campo da tecnologia responsável pela manipulação de materiais, dispositivos e sistemas em escala nanométrica ( $10^{-9}$  m) (HORNYAK *et al.*, 2008). Essa manipulação de materiais em níveis atômico e molecular para conferir-lhes novas propriedades parece ser um conceito moderno. Contudo, esse controle da matéria pode ser observado desde a antiguidade. Há exemplos como a taça de *Lycurgus*, um objeto decorativo romano de 400 d.C. que apresentava um dicroísmo aparente em virtude da interação da luz com nanopartículas de ouro, prata e cobre presentes em sua matriz de vidro. A reflexão da luz sobre a taça gerava uma coloração esverdeada, e uma coloração avermelhada era obtida em função da luz transmitida (HORNYAK *et al.*, 2008). Essa propriedade óptica diferenciada obtida a partir da manipulação do tamanho de partículas metálicas era também observada em vitrais de igrejas medievais, onde a síntese de partículas coloidais de ouro com tamanhos distintos levava à produção de vidros com cores variadas e brilhantes (FARGES *et al.*, 2006).

Apesar dessas aplicações não deliberadas, foi somente por meio dos pensamentos de Richard P. Feynman a respeito da futura capacidade do ser humano de manipular e controlar moléculas e átomos individualmente, esses demonstrados na palestra denominada “*There’s Plenty of Room at the Bottom*” (1959), que tal área ganhou maior visibilidade, despertando o interesse da comunidade científica para a sua aplicação em diferentes campos, incluindo alimentos, agricultura, medicina, tecnologias da informação, energia, meio ambiente, entre outros (GODDARD *et al.*, 2007; LINDSAY, 2009).

Atualmente, a nanotecnologia vem sendo empregada de diversas formas na indústria de alimentos. Tem-se como exemplos o (i) nanoencapsulamento de substâncias funcionais, visando à melhoria da qualidade nutricional dos alimentos (GHORBANZADE *et al.*, 2017); a (ii) utilização de embalagens dotadas de nanopartículas para aumentar o tempo de prateleira

de um produto alimentício (SARWAR *et al.*, 2018); o (iii) desenvolvimento de nanossensores para a detecção e remoção de contaminantes em um alimento (BALASUBRAMANIAN *et al.*, 2018; KIM *et al.*, 2015); bem como a (iv) produção de nanopartículas, visando ao aumento da estabilidade de biopigmentos (RAVANFAR *et al.*, 2016), além de outros diversos exemplos.

Nesse contexto, a nanotecnologia tem um enorme potencial para revolucionar a área alimentar, em especial quando se trata do uso de pigmentos naturais como possíveis substitutos aos corantes sintéticos via produção de lipossomas, micelas e nanopartículas poliméricas de quitosana e outros biopolímeros (AMJADI *et al.*, 2018; HE *et al.*, 2017).

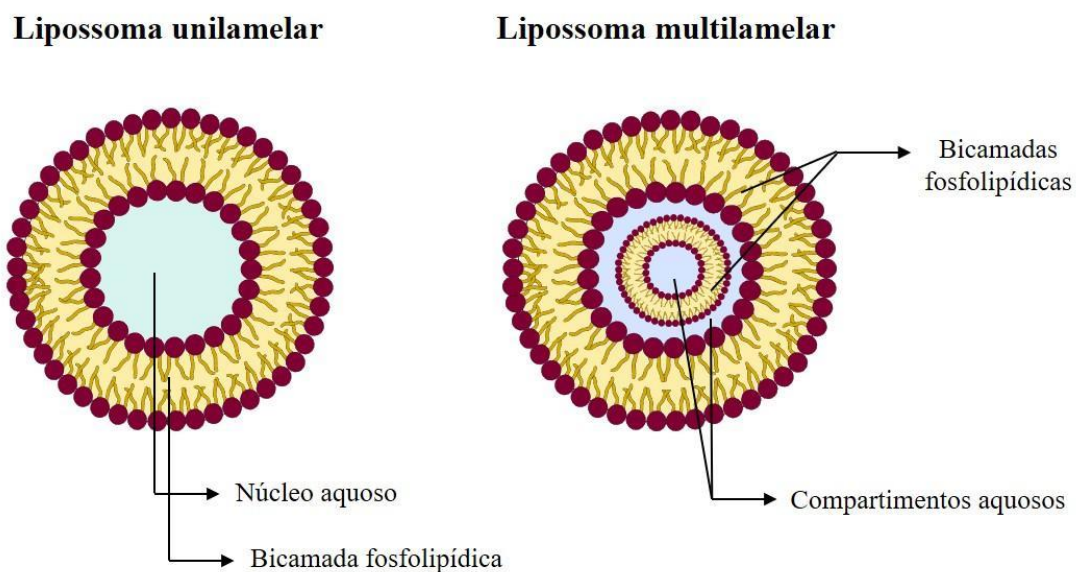
#### **2.4.1 Lipossomas**

Lipossomas são pequenas estruturas vesiculares esféricas formadas por uma ou mais bicamadas fosfolipídicas, que se organizam espontaneamente mediante hidratação em solução aquosa ou por ultrassom em meio aquoso (AKBARZADEH, 2013). Devido à sua biocompatibilidade, biodegradabilidade, baixa toxicidade e capacidade de proteger ativos contra agentes externos, tais sistemas passaram a ser de grande interesse na indústria de alimentos (MIRAFZALI; THOMPSON; TALLUA, 2014). Estudos já demonstraram, por exemplo, a eficiência desse sistema na proteção e aumento da estabilidade de diversos pigmentos naturais, sob diferentes condições ambientais (AMJADI *et al.*, 2018; CHI *et al.*, 2018; TAN *et al.*, 2014).

Os lipossomas são formados principalmente por fosfolipídeos, sendo fosfatidilcolinas, fosfatidilserina, fosfatidilglicerol e esfingomiéline os lipídeos mais empregados na formulação dessas vesículas (BATISTA; CARVALHO; MAGALHÃES, 2007). Essas moléculas são, de forma geral, formadas por uma cauda apolar constituída por cadeias de ácidos graxos (região hidrofóbica) e uma cabeça polar (região hidrofílica) composta por um grupo fosfato e uma base (colina, glicerol, etc.). Na presença de água, essas estruturas alinham-se de modo que as porções hidrofílicas se encontram em contato com o meio, originando uma ou mais bicamadas lipídicas concêntricas, estando estas separadas por compartimento aquoso (MIRAFZALI; THOMPSON; TALLUA, 2014; SHAIKESH *et al.*, 2009). Devido a essas características, os lipossomas são, portanto, capazes de carregar ativos hidrofílicos ou lipofílicos. Além de fosfolipídeos, colesterol e outras substâncias solúveis em óleo (ex.: tocoferol) costumam ser adicionados aos lipossomas, a fim de conferir novas propriedades (MIRAFZALI; THOMPSON; TALLUA, 2014).

Os lipossomas podem ser classificados de acordo com a sua organização estrutural, como também em relação a sua interação com o ambiente biológico. Considerando suas

características estruturais, essas vesículas são divididas em: multilamelares, constituídas por duas ou mais bicamadas lipídicas; ou unilamelares, constituídas de uma única bicamada lipídica (Figura 3). Essas últimas, ainda podem ser subdivididas em: vesículas unilamelares pequenas (SUV) e vesículas unilamelares grandes (LUV) (BATISTA; CARVALHO; MAGALHÃES, 2007; SHAILESH *et al.*, 2009). Lipossomas com diâmetros próximos a 200 nm tendem a apresentar apenas uma bicamada fosfolipídica, enquanto lipossomas multilamelares apresentam diâmetros maiores (MIRAFZALI; THOMPSON; TALLUA, 2014).



**Figura 3** - Representação estrutural de lipossoma unilamelar e multilamelar.  
Fonte: elaboração própria (2021).

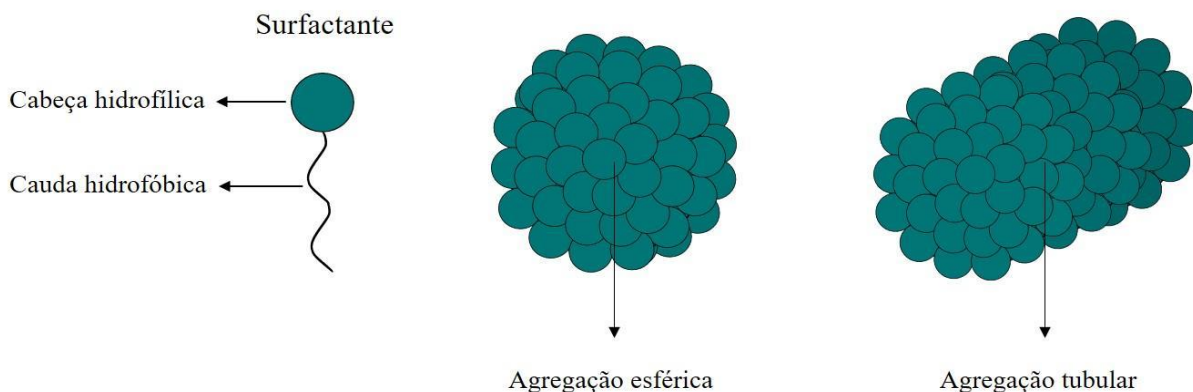
Com relação à interação com o ambiente biológico, os lipossomas podem ser classificados em: (i) lipossomas convencionais, caracterizados pela presença de fosfolipídeos, colesterol e um lipídeo com carga negativa ou positiva; (ii) lipossomas de longa circulação, constituídos pelos mesmos componentes dos lipossomas convencionais, todavia ainda apresentam uma cobertura superficial hidrofílica, e (iii) lipossomas sítio-específicos, caracterizados pela presença de ligantes de direcionamento associados à superfície (BATISTA; CARVALHO; MAGALHÃES, 2007).

Vários métodos podem ser empregados para a produção de lipossomas com diferentes características. Todavia, a grande maioria envolve a hidratação de um filme lipídico. Neste processo, lipídeos são dissolvidos em um solvente orgânico. Esse, por sua vez, é evaporado e um filme lipídico é formado. Por fim, esse último é hidratado com água ou solução tampão, havendo a formação espontânea de lipossomas (BATISTA; CARVALHO; MAGALHÃES,

2007). Técnicas de sonicação, extrusão e microfluidização podem ser adotadas, visando à obtenção de vesículas pequenas e homogêneas (MIRAFZALI; THOMPSON; TALLUA, 2014).

#### 2.4.2 Micelas

Micelas são agregados de surfactantes formados espontaneamente em solução aquosa, a partir de determinada concentração crítica (WENNERSTRÖM, 1979). Tais estruturas são comumente esféricas, todavia podem apresentar agregados em formato tubular (LINDMAN; WENNERSTRÖM, 1980), como representado na Figura 4.



**Figura 4** - Representação de agregação de surfactante em formato esférico e tubular.  
Fonte: elaboração própria (2021).

O tamanho e a forma desses sistemas variam em função da concentração e estrutura química do surfactante, bem como das condições experimentais. Por exemplo, uma elevada concentração de surfactantes tende a promover um aumento no tamanho das micelas. Por outro lado, o aumento da temperatura ao longo do processo de formação ocasiona uma diminuição do tamanho micelar (LINDMAN; WENNERSTRÖM, 1980). Essa capacidade dos surfactantes em formar micelas é atribuída à estrutura química dessas moléculas, dado que apresentam uma porção hidrofílica ou polar, a qual é referida como cabeça, e uma porção hidrofóbica ou apolar, denominada cauda. Em solução aquosa, tais moléculas tendem a se autoassociar espontaneamente, de modo que a porção hidrofílica se encontra em contato direto com o meio (LINDMAN; WENNERSTRÖM, 1980).

No entanto, esse processo de micelização ocorre somente a partir de uma concentração mínima do surfactante, denominada concentração micelar crítica (CMC). Abaixo da CMC, por exemplo, os surfactantes permanecem em sua forma monomérica, não havendo uma autoassociação para a formação de grandes agregados. Já acima da CMC, mudanças nas

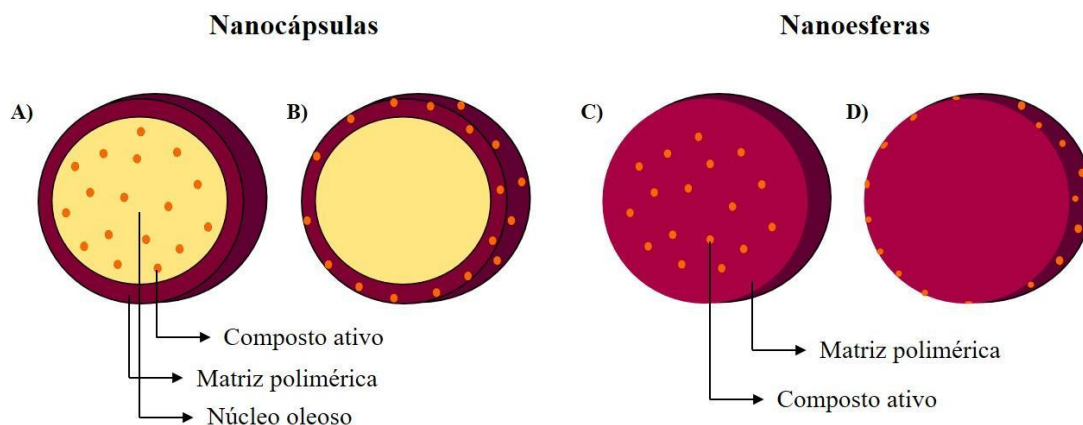
propriedades físico-químicas dos surfactantes são observadas, resultando na formação espontânea de micelas (LINDMAN; WENNERSTRÖM, 1980). A CMC é uma propriedade característica de cada surfactante. Logo, alterações estruturais nessas moléculas, como comprimento da cauda, estrutura da cadeia carbônica e natureza da cabeça polar, influenciam diretamente na variação da CMC. Ademais, fatores experimentais como temperatura, pH, presença de eletrólitos, etc., também podem interferir na CMC (LINDMAN; WENNERSTRÖM, 1980).

Diferentes surfactantes podem ser empregados na formulação de micelas. Em geral, esses são classificados de acordo com sua origem, carga elétrica, composição química, massa molecular e número de cadeias (DALVIN, 2011). Na indústria de alimentos, micelas são comumente utilizadas para aumentar a solubilidade de compostos de interesse em matrizes alimentares. Ademais, devido à sua capacidade de proteção, pode-se destacar o uso desses sistemas na minimização da degradação de biopigmentos em microambientes variados. Tem-se como exemplo, a estabilização química de antocianinas em micelas aniônicas (MULINACCI *et al.*, 2001) e carotenoides em micelas catiônicas (LEUNG *et al.*, 2008).

### **2.4.3 Nanopartículas poliméricas**

As nanopartículas poliméricas são sistemas carreadores com tamanhos que variam de 20 a 1000 nm (SABLIOV; ASTETE, 2015). Formados por polímeros e surfactantes, essas nanoestruturas podem se apresentar como nanocápsulas ou nanoesferas, conforme o método de preparação (SOPPIMATH *et al.*, 2001). As nanocápsulas são estruturas caracterizadas por uma membrana polimérica disposta ao redor de um núcleo líquido oleoso, estando o composto ativo dissolvido nesse último ou adsorvido à superfície polimérica. Já as nanoesferas são sistemas formados apenas por uma matriz polimérica, onde o ativo encontra-se disperso uniformemente na superfície da matriz ou aprisionado dentro da partícula (REIS *et al.*, 2006), como representado na Figura 5.





**Figura 5** - Representação de nanocápsulas e nanoesferas. **A)** ativo dissolvido no núcleo oleoso; **B)** ativo adsorvido à matriz polimérica; **C)** ativo retido no interior da matriz polimérica; **D)** ativo adsorvido à superfície da matriz polimérica. Fonte: elaboração própria (2021).

Diversos polímeros têm sido utilizados no desenvolvimento de nanopartículas, sendo esses de origem natural (ex.: pectina, quitosana, goma arábica, zeína, etc.) ou sintética (ex.: Poli ( $\epsilon$ -caprolactona) (PCL), Poli (ácido glicólico) (PGA), Poli (ácido lático-co-ácido glicólico) (PLGA), etc.) (SABLIOV; ASTETE, 2015). Um dos polímeros mais utilizados na indústria alimentícia é a quitosana. A quitosana é um polissacarídeo natural proveniente da desacetilação da quitina dos exoesqueletos de crustáceos (SABLIOV; ASTETE, 2015). Em virtude de suas propriedades mucoadesivas e antimicrobianas, baixa toxicidade, baixo custo de produção, biocompatibilidade e biodegradabilidade, a quitosana passou a ser utilizada na produção de nanopartículas visando à proteção e liberação sustentada de biocompostos, como antocianinas, em matrizes alimentares (HE *et al.*, 2017; MA *et al.*, 2020).

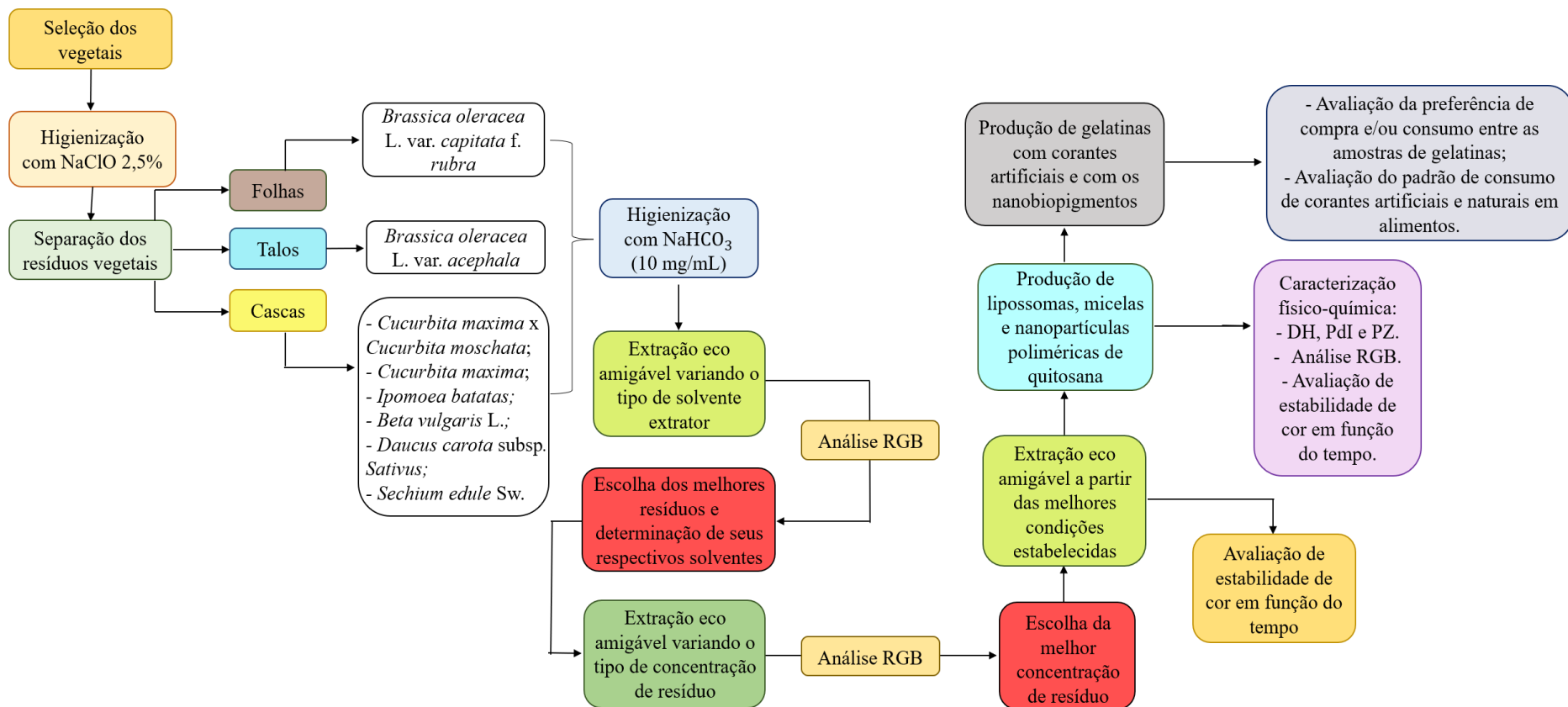
Existem vários métodos relatados na literatura para a preparação de nanopartículas de quitosana, dentre os quais se destaca a gelificação iônica. Essa técnica baseia-se na interação eletrostática entre as cargas positivas dos grupos amino da quitosana e as cargas negativas de uma substância polianiônica, como o tripolifosfato de sódio (TPF), em pH ácido. Primeiramente, a quitosana é dissolvida em água acidificada (pH 3,5-4). Em seguida, o TPF é adicionado lentamente na solução de quitosana, a qual se encontra sob agitação magnética, resultando na formação espontânea das nanopartículas. A concentração, massa molecular e pureza do polímero influenciam no tamanho das nanopartículas, que pode variar de 150 nm a mais de 1  $\mu$ m (SABLIOV; ASTETE, 2015).

Uma vez realizados os principais apontamentos da bibliografia relevante produzida sobre o tema, passa-se à seção de metodologia, onde serão explicados os materiais e métodos empregados para realizar a extração de pigmentos dos resíduos objetos da dissertação.

### **3. MATERIAIS E MÉTODOS**

#### **3.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO**

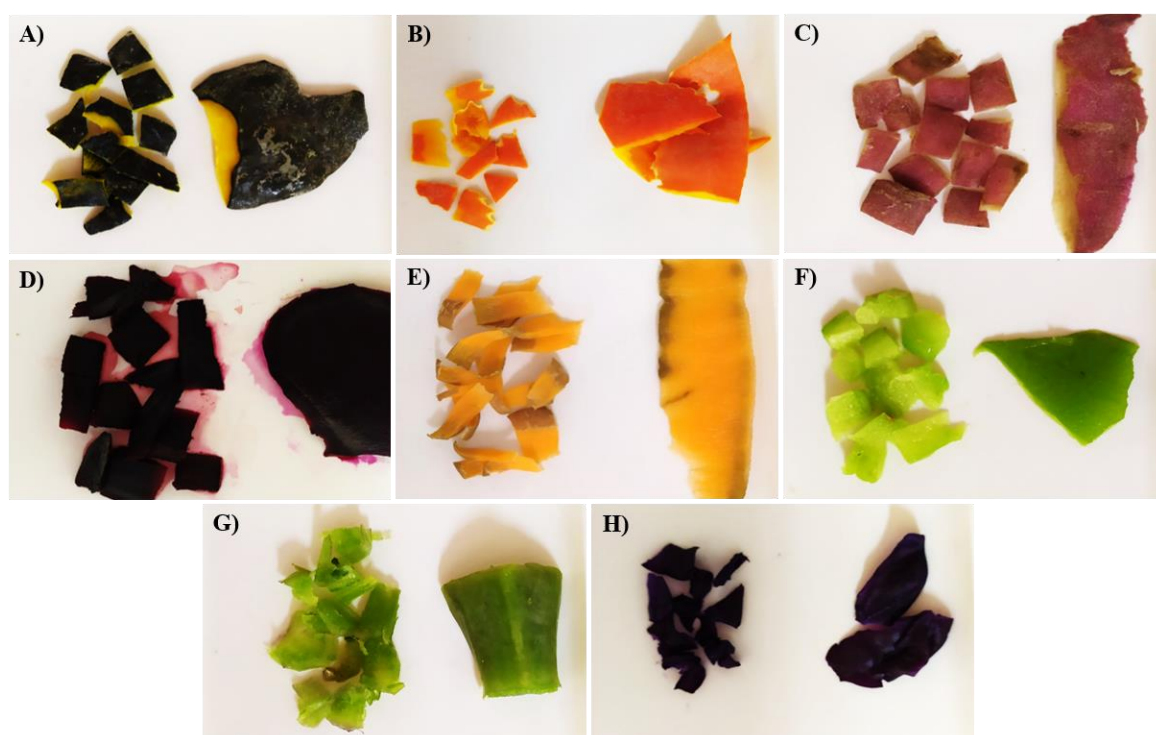
O delineamento do presente estudo ocorreu mediante a seleção e aquisição de resíduos vegetais; extração e nanoestruturação de pigmentos naturais; incorporação dos nanossistemas em matrizes alimentares; e estudo populacional. Testes iniciais foram realizados a fim de estabelecer os solventes mais adequados, bem como as melhores concentrações de resíduos vegetais para a extração de pigmentos naturais. Dando, assim, prosseguimento para a realização das demais metodologias propostas. Isso posto, a Figura 6 apresenta um fluxograma com todas as etapas metodológicas realizadas para o desenvolvimento do estudo.



**Figura 6** - Fluxograma das etapas metodológicas realizadas durante o desenvolvimento do estudo.  
Fonte: elaboração própria (2021).

### 3.2 RESÍDUOS VEGETAIS

Foram escolhidos oito diferentes resíduos vegetais para extração de pigmentos naturais (Figura 7): (i) cascas de abóbora híbrida tetsukabuto oriunda do cruzamento de duas espécies distintas de abóboras (*Cucurbita maxima* × *Cucurbita moschata*); (ii) cascas de abóbora moranga (*Cucurbita maxima*); (iii) cascas de batata-doce (*Ipomoea batatas*); (iv) cascas de beterraba (*Beta vulgaris* L.); (v) cascas de cenoura (*Daucus carota* subsp. *sativus*); (vi) cascas de chuchu (*Sechium edule* Sw); (vii) talos de couve (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*) e (viii) folhas externas de repolho roxo (*Brassica oleracea* L. var. *capitata* f. *rubra*).



**Figura 7** - Resíduos vegetais utilizados no estudo. **A)** cascas de abóbora híbrida tetsukabuto; **B)** cascas de abóbora moranga; **C)** cascas de batata doce; **D)** cascas de beterraba; **E)** cascas de cenoura; **F)** cascas de chuchu; **G)** talos de couve; **H)** folhas externas de repolho roxo. Fonte: elaboração própria (2021).

#### 3.2.1 Aquisição

Os resíduos de *Beta vulgaris* L., de *Daucus carota* subsp. *sativus*, de *Ipomoea batatas*, de *Sechium edule* Sw e do híbrido *Cucurbita maxima* × *Cucurbita moschata* foram obtidos por meio de uma doação realizada pela cozinha industrial do SESI, no Distrito Federal (DF). Os demais resíduos, como cascas de *Cucurbita maxima*, talos de *Brassica oleracea* L. var. *acephala* e folhas externas de *Brassica oleracea* L. var. *capitata* f. *rubra* foram obtidos após o consumo domiciliar dos respectivos alimentos pelos próprios membros do Laboratório de Nanobiotecnologia (LNANO) da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

### **3.2.2 Processo de higienização**

Todos os vegetais foram primeiramente submetidos a uma pré-lavagem com água corrente, visando à eliminação de sujidades macroscópicas presentes em suas superfícies. Em seguida, passaram por um processo de higienização com NaClO 2,5% (hipoclorito de sódio - Agistereli, Brasil), onde permaneceram imersos em 1 L da solução sanitizante por 15 min. Subsequentemente, os resíduos (cascas, folhas externas e talos) foram separados e passaram por uma segunda etapa de higienização com NaHCO<sub>3</sub> (bicarbonato de sódio - Kitano, Brasil) baseada no método utilizado por Yang *et al.* (2017) com adaptações. Esse objetivou minimizar os teores de agroquímicos possivelmente presentes. Sendo assim, os resíduos foram imersos em 500 mL de uma solução de NaHCO<sub>3</sub> a uma concentração de 10 mg/mL, permanecendo submersos durante 15 min. Posteriormente, foram suavemente enxaguados com água destilada, durante 2 min para a remoção do excesso de NaHCO<sub>3</sub>. Por fim, foram secos com o auxílio de um papel toalha e armazenados a -20°C em embalagens plásticas, devidamente identificadas, até o momento da realização das extrações dos pigmentos naturais.

## **3.3 EXTRAÇÕES ECO AMIGÁVEIS DE PIGMENTOS NATURAIS**

### **3.3.1 Variando a solução extrativa**

Foram utilizados três tipos de soluções extrativas para a obtenção de pigmentos naturais: água ultrapura - Tipo I (Gehaka, Brasil), etanol 25% e 96% (Itajá, Brasil). Foram pesados 0,5 g dos resíduos vegetais, previamente higienizados, em balança eletrônica de precisão (Q520-3, Quimis, Brasil). Em seguida, as amostras foram cortadas manualmente em tamanhos pequenos e homogêneos, com uma tesoura, e colocadas em béqueres de 25 mL (J. Prolab, Brasil) envoltos em papel alumínio, contendo 5 mL de cada solução extrativa. As amostras foram incubadas em banho de ultrassom (Q335D, Quimis, Brasil) por 30 min a 40 kHz. Em seguida, foram submetidas a agitadores magnéticos (Q261, Quimis, Brasil), permanecendo sob agitação durante 30 min. Posteriormente, os resíduos sólidos foram separados das soluções extrativas por centrifugação a 1500 rpm por 10 min (4°C) (5418 R, Eppendorf AG, Alemanha). Por fim, os sobrenadantes foram coletados e armazenados refrigerados (2-8°C) em tubos tipo Falcon de 15 mL (Alfa Brasil) até o momento da avaliação dos perfis de cor RGB. Com base nas análises RGB, pôde-se definir as melhores soluções extrativas, bem como os resíduos vegetais mais promissores. A partir daí, extrações variando as concentrações de massa de resíduo foram realizadas.

### 3.3.2 Variando as concentrações de resíduos

Cinco concentrações de resíduos (3,3%, 5%, 10%, 20%, 30%) foram utilizadas para avaliar o possível efeito dessa variável na extração de pigmentos naturais. Assim, os resíduos vegetais foram pesados e cortados em tamanhos pequenos e homogêneos com uma tesoura. Em seguida, foram colocados em béqueres de 25 mL (J.Prolab, Brasil) envoltos em papel alumínio, contendo 5 mL de solução extrativa. As amostras foram incubadas em banho de ultrassom (Q335D, Quimis, Brasil) por 30 min a 40 kHz. Posteriormente, foram agitadas durante 30 min em agitadores magnéticos (Q261, Quimis, Brasil). Os resíduos sólidos foram, então, separados das soluções extrativas por centrifugação a 1500 rpm por 10 min (4°C) (5418 R, Eppendorf AG, Alemanha) e os sobrenadantes foram coletados e armazenados refrigerados (2-8°C) em tubos tipo Falcon de 15 mL (Alfa Brasil). A avaliação dos perfis de cor RGB ocorreu no dia seguinte (24 h) após o processo de extração e armazenamento. Ressalta-se que as extrações foram conduzidas em triplicata para cada variação de concentração de resíduo a partir de um pool de material vegetal, a fim de avaliar a repetibilidade extrativa. Um resumo das extrações realizadas encontra-se na Tabela 1.

**Tabela 1** - Resumo das extrações variando as concentrações de resíduos, a partir das melhores soluções extrativas e matrizes vegetais pré-estabelecidas.

Fonte: elaboração própria (2021).

Fonte vegetal	Resíduo	Concentração de resíduo (%)	Solvente
Abóbora híbrida tetsukabuto	Casca	3,3	Etanol 96%
		5	
		10	
		20	
		30	
Abóbora moranga	Casca	3,3	Etanol 96%
		5	
		10	
		20	
		30	
Beterraba	Casca	3,3	Água ultrapura
		5	
		10	
		20	
		30	
Repolho roxo	Folhas externas	3,3	Etanol 25%
		5	
		10	
		20	
		30	

### 3.4 ANÁLISE DO PERFIL COLORIMÉTRICO PELO MODELO DE CORES RGB

As caracterizações colorimétricas dos pigmentos naturais foram realizadas em triplicata e determinadas pelo modelo de espaço de cor RGB. Um volume de 200 µL de cada pigmento foi adicionado em uma microplaca de 96 poços de fundo chato (Bio-Rad, EUA). Em seguida, essa foi inserida em uma caixa de acrílico iluminada por um *LightPad* contendo uma luz de *LED* com temperatura de cor branca fria 6500Kelvin (K) (Artograph A 920, EUA), a fim de garantir uma padronização na incidência de luz para todas as amostras e impedir que variações colorimétricas decorrentes de alterações dessa incidência viessem a ocorrer. As imagens foram adquiridas por meio de um sistema adaptado de *iPod BiO Assay*, utilizando o aplicativo *Experimental Assistant* (n3D BioSciences Inc., EUA).

As imagens digitais foram analisadas pelo *software* de processamento de imagem *ImageJ*. As áreas para a quantificação de cor foram selecionadas a partir do desenho geométrico “círculo”, presente na barra de ferramentas. A intensidade luminosa dos pixels, a média dos valores associados, bem como os valores de mínimo e máximo dos pixels presentes em cada seleção foram determinados pela opção “*Analyze*” > “*Measure*”. Por fim, a intensidade da luz nos espectros vermelho (R), verde (G) e azul (B) foram medidas pelas opções “*Plugins*” > “*Analyze*” > “*RGB Measure*”.

#### 3.4.1 Análise estatística do perfil colorimétrico

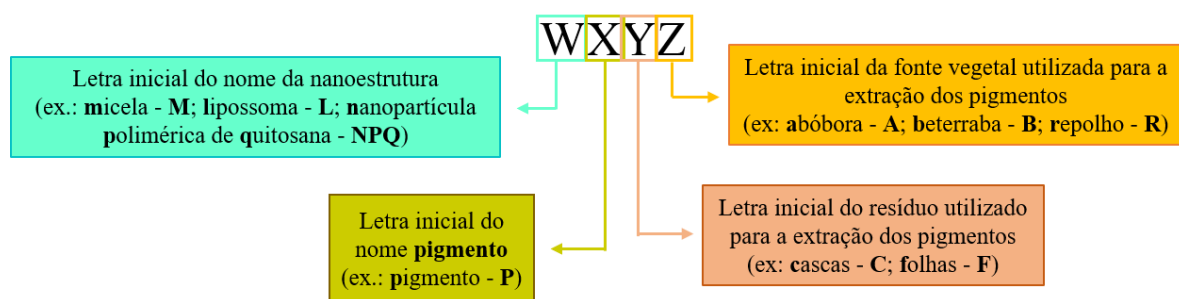
Os resultados experimentais obtidos, pelo sistema de cor, foram analisados estatisticamente a fim de estimar os efeitos das variáveis no processo de extração dos pigmentos, e assim, determinar as melhores condições do processo. Os dados foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA), no nível de significância de 5% ( $P < 0,05$ ), com o *software Paleontological Statistics software package - PAST* (versão 2.7c). Os resultados são apresentados como a média aritmética  $\pm$  desvio padrão da média.

Ademais, cálculos de coeficiente de variação (CV) foram realizados no programa *Microsoft Excel* (versão 2016) para avaliar a repetibilidade das extrações variando a concentração de resíduo. Os valores de CV foram classificados de acordo com a classificação proposta por Pimentel-Gomes (1985), em:

- Baixos: coeficientes de variação inferiores a 10%;
- Médios: coeficientes de variação entre 10 e 20%,
- Altos: coeficientes de variação entre 20 e 30%,
- Muito Altos: para valores acima de 30%.

### 3.5 PRODUÇÃO DE NANOSSISTEMAS LIPÍDICOS E POLIMÉRICOS

A partir dos melhores solventes e concentrações de resíduos pré-estabelecidas em ensaios anteriores, novas extrações foram conduzidas, a fim de se obter um volume final de 15 mL de pigmento natural para a realização de testes de estabilidade de cor, bem como para produção de micelas, lipossomas e nanopartículas poliméricas de quitosana. Ao final dos processos de nanoestruturação, os pigmentos naturais nanoestruturados foram armazenados refrigerados, em tubos tipo Falcon de 15 mL (Alfa Brasil) envoltos em papel alumínio. Uma designação em código foi dada a cada nanoestrutura produzida, de acordo com o esquema ilustrativo apresentado na Figura 8. No Quadro 1, encontram-se as nanoestruturas produzidas a partir de cada pigmento natural extraído de resíduos vegetais e sua designação em código.



**Figura 8** - Representação esquemática da designação em código utilizada para descrever os nanossistemas produzidos ao longo do estudo.

Fonte: elaboração própria (2021).

**Quadro 1** - Nanossistemas produzidos a partir dos extratos contendo pigmentos naturais e suas respectivas designações.

Fonte: elaboração própria (2021).

	Fonte vegetal	Resíduo	Nanossistema produzido	Designação da amostra
Pigmentos naturais	Abóbora ( <i>Cucurbita maxima</i> × <i>Cucurbita moschata</i> )	Cascas	Micelas	MPCA
	Abóbora ( <i>Cucurbita maxima</i> )	Cascas	Lipossomas	LPCA
	Beterraba ( <i>Beta vulgaris</i> L.)	Cascas	Lipossomas	LPCB
	Repolho roxo ( <i>Brassica oleracea</i> L. var. <i>capitata</i> f. <i>rubra</i> )	Folhas externas	Nanopartículas poliméricas de quitosana	NPQPFR



### 3.5.1 Micelas

Micelas foram produzidas a partir do pigmento natural obtido das cascas de abóbora (*Cucurbita maxima*). Sendo assim, 10 mL de pigmento em solução etanólica 96% foram transferidos para um béquer de 25 mL (J. Prolab, Brasil). Em seguida, adicionou-se à solução 0,15 µL do surfactante não iônico Tween 80 (Sigma-Aldrich, Alemanha). A solução, por sua vez, foi agitada por 15 s em agitador magnético (Q261, Quimis, Brasil) à temperatura ambiente. Logo após, uma alíquota de 3 mL da mistura foi transferida para um balão volumétrico de 25 mL (Phox, Brasil) e submetida a um processo de rotaevaporação (Q344M, Quimis, Brasil) a 50°C. Após a completa evaporação do solvente, foram adicionados 3 mL de água ultrapura - Tipo I (Gehaka, Brasil) e a solução foi agitada vigorosamente em agitador de tubos tipo vórtex (K 40-1020, Kasvi, Brasil) até o seu completo desprendimento do fundo do balão. Um controle vazio, sem a presença do pigmento natural, também foi produzido sob as mesmas condições metodológicas.

### 3.5.2 Lipossomas

Formulações lipossomais foram produzidas, pelo método de hidratação de filme lipídico, a partir dos pigmentos naturais obtidos das cascas de abóbora híbrida (*Cucurbita maxima* × *Cucurbita moschata*) e das cascas de beterraba (*Beta vulgaris* L). Para a formação dos filmes, pesou-se 0,020 g de lecitina de soja (Saint Charbel, Brasil), sendo essa adicionada separadamente em 4 mL do extrato etanólico contendo o pigmento obtido das cascas de *Cucurbita maxima* × *Cucurbita moschata* e em 4 mL de solvente etanol a 96%. Em seguida, as misturas foram colocadas em agitadores magnéticos (Q261, Quimis, Brasil), e permaneceram em agitação durante 10 min à temperatura ambiente. Posteriormente, 3 mL das misturas foram transferidas para balões volumétricos de 25 mL (Phox, Brasil) e submetidas a processo de rotaevaporação (Q344M, Quimis, Brasil) a 50°C, até a formação de filmes finos lipídicos nos fundos dos balões. O filme formado contendo o biopigmento obtido das cascas de *Cucurbita maxima* × *Cucurbita moschata* foi hidratado com 3 mL de água ultrapura - Tipo I (Gehaka, Brasil). Já o filme formado a partir da rotaevaporação do solvente etanólico a 96% foi hidratado com 3 mL do extrato aquoso contendo o biopigmento extraído das cascas de *Beta vulgaris* L. Em seguida, ambas as soluções foram agitadas vigorosamente em agitador de tubos tipo vórtex (K 40-1020, Kasvi, Brasil) até o completo desprendimento dos filmes do fundo dos balões. Um controle vazio, sem a presença dos pigmentos naturais, também foi produzido sob as mesmas condições metodológicas.

### 3.5.3 Nanopartículas poliméricas de quitosana

Nanopartículas poliméricas de quitosana foram produzidas a partir do biopigmento extraído das folhas externas de repolho roxo (*Brassica oleracea* L. var. *capitata* f. *rubra*). Sendo assim, 2,0 mL do biopigmento em solução etanólica a 25% foram rotaevaporados em 4 ciclos, sendo: 2 ciclos de 1 h a 40°C, seguidos de 2 ciclos de 1 h a 50°C. Após a completa evaporação do solvente, foram adicionados 2,0 mL de água acidificada (0,1 mol/L) com ácido acético glacial (Merck, Alemanha). Em seguida, a solução foi agitada vigorosamente em agitador de tubos tipo vórtex (K 40-1020, Kasvi, Brasil) por 5 min. Posteriormente, a solução foi transferida para um béquer de 10 mL contendo 0,004 g de quitosana de média massa molecular (*Chitosan from shrimp shells, ≥75% deacetylated*, Sigma Aldrich), sendo agitada por 1 h à temperatura ambiente. Em seguida, uma solução de tripolifosfato de sódio (TPF) (Sigma-Aldrich) a 1 mg/mL foi preparada em água ultrapura - Tipo I (Gehaka, Brasil). Para a formulação das nanopartículas, 1 mL da solução de TPF (1 mg/mL) foi gotejada de forma gradual, durante 1 min, com o auxílio de uma bomba de seringa (Kd Scientific, Estados Unidos) sobre a solução contendo o biopigmento + quitosana, sob agitação magnética. A formulação permaneceu em agitação constante por mais 5 min após o fim do gotejamento. Em seguida, a solução foi submetida à quebra de suas partículas com o auxílio de um dispersor ultra turrax (Dremel, Brasil), onde foram aplicados 6 ciclos de 15 s a 21.500 rpm, com intervalos de 30 s entre os ciclos. Um controle vazio, sem a presença do pigmento natural, também foi produzido sob as mesmas condições metodológicas.

## **3.6 CARACTERIZAÇÃO DOS PIGMENTOS NATURAIS NANOESTRUTURADOS**

### **3.6.1 Análise macroscópica**

As suspensões foram analisadas sob aspecto visual.

### **3.6.1 Determinação do Diâmetro hidrodinâmico (DH), índice de polidispersividade (PdI) e potencial Zeta (PZ)**

O DH e o PdI dos nanossistemas e seus respectivos controles vazios foram avaliados pela metodologia de DLS. Já o PZ foi determinado a partir de suas mobilidades eletroforéticas. Amostras dos pigmentos naturais nanoestruturados e os controles vazios foram diluídos na proporção de 1:10 em água ultrapura - tipo I (pH 6,0-7,0) e distribuídos em microtubos de polipropileno tipo *ependorf* de 1,5 mL (Axygen, EUA). Sendo assim, foram pipetados 100 µL de cada suspensão coloidal, adicionados a 900 µL de água ultrapura - tipo I (Gehaka, Brasil), totalizando um volume final de 1 mL. Posteriormente, 950 µL de cada uma das amostras foram pipetados, separadamente, em cubeta (célula capilar DTS1070). As análises foram realizadas em equipamento ZetaSizer Nano ZS (Malvern, Reino Unido) por DLS e PZ. As análises de DLS foram realizadas em ângulo de 173° utilizando laser de He-Ne (4 mW) a um comprimento de onda de 633 nm. Foram realizadas três medidas de cada amostra a 25°C, em modo de corrida automática. O PZ também foi determinado sob as mesmas condições de temperatura e número de réplicas, em modo de corrida automática. Os resultados da caracterização dos pigmentos naturais nanoestruturados e de seus respectivos controles vazios são apresentados como a média aritmética  $\pm$  desvio padrão da média.

## **3.7 AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE COLORIMÉTRICA EM FUNÇÃO DO TEMPO DE ARMAZENAMENTO ENTRE PIGMENTOS NATURAIS E SEUS RESPECTIVOS NANOSSISTEMAS**

Testes de estabilidade colorimétrica foram realizados com amostras acondicionadas em tubos tipo Falcon de 15 mL (Alfa Brasil), ao abrigo da luz e em refrigeração (2-8°C) por 26 dias. A avaliação da estabilidade ocorreu mediante caracterizações RGB realizadas semanalmente e em triplicata, de acordo com a metodologia descrita no item 3.4. Os resultados são apresentados como a média aritmética  $\pm$  desvio padrão da média.

### **3.8 ANÁLISE RGB DE GELATINAS COLORIDAS COM PIGMENTOS NATURAIS NANOESTRUTURADOS E COM CORANTES ARTIFICIAIS**

Gelatinas foram produzidas com diferentes corantes artificiais disponíveis no mercado, sendo eles: (i) tartrazina 2% (E 102) (corante amarelo), (ii) tartrazina 2,7% (E 102) + azul brilhante 0,6% (E 133) (corante verde), (iii) ponceau 4R (E 124) + vermelho 40 (129) (corante vermelho) e (iv) bordeaux 1,4% (E 123) + azul brilhante 0,25% (E133) (corante roxo). Sendo assim, 1,2 µL de soluções-estoque dos corantes artificiais foram diluídos em 600 µL de água ultrapura - tipo I (Gehaka, Brasil) dentro de béqueres de 10 mL (J. Prolab, Brasil). Em seguida, 0,03 g de gelatina em pó (Vetec, Brasil) foi adicionado às soluções. As amostras foram agitadas manualmente por 30 s e colocadas em banho-maria a 37°C por 5 min.

Para a formulação de amostras de gelatinas coloridas naturalmente, 600 µL dos pigmentos naturais nanoestruturados foram adicionados, separadamente, em béqueres de 10 mL (J. Prolab, Brasil) contendo 0,03 g de gelatina em pó (Vetec, Brasil). As amostras foram agitadas manualmente por 30 s. Em seguida, foram colocadas em banho-maria a 37°C por 5 min.

Posteriormente, 250 µL das amostras de gelatinas coloridas naturalmente ou artificialmente foram inseridas, separadamente, em placas de poliestireno de 48 poços de fundo chato (Bio-Rad, EUA). Por fim, as amostras foram mantidas em refrigeração (2-8°C) durante 2 h e, em seguida, análises de seus perfis RGB foram realizadas, visando comparar os perfis de cor entre as gelatinas contendo os pigmentos naturais nanoestruturados com as que continham corantes artificiais. As amostras que apresentaram maior similaridade de cor foram submetidas a uma avaliação junto à população, a fim de mensurar a preferência de compra e/ou consumo entre essas amostras.

### **3.9 ESTUDO POPULACIONAL ACERCA DO PADRÃO DE CONSUMO DE CORANTES ARTIFICIAIS E NATURAIS PRESENTES EM ALIMENTOS, E AVALIAÇÃO DA PREFERÊNCIA DE COMPRA E/OU CONSUMO ENTRE AMOSTRAS DE GELATINAS**

Em decorrência das atuais mudanças nos padrões alimentares da população, uma pesquisa descritiva foi realizada com o intuito de auxiliar no maior entendimento acerca de como a população avalia a presença de corantes artificiais ou naturais em produtos alimentícios, bem como compreender o padrão de consumo dessas substâncias em alimentos. Ademais, visando validar os nanobiopigmentos desenvolvidos como futuros aditivos

alimentares naturais, amostras de gelatinas coloridas com os nanobiopigmentos e com corantes artificiais foram preparadas para compará-las quanto à preferência de compra e/ou consumo junto à população.

### **3.9.1 Coleta de dados**

A coleta dos dados ocorreu de forma estruturada mediante aplicação de um questionário virtual (*Google Forms*) composto por questões objetivas e de caráter pontual (Anexo I). O tempo estimado para o preenchimento dos formulários foi de 10-15 min. O questionário foi aplicado remotamente no período de junho a julho de 2021.

### **3.9.2 Amostragem e público-alvo**

A amostragem foi por conveniência. O critério de exclusão de participação no estudo ocorreu mediante a declaração de ausência de recursos tecnológicos necessários para o preenchimento do questionário, tais como *internet*, computadores, *tablets*, *smartphones*, entre outros, além da declaração do participante de não saber ler e/ou escrever, garantindo a realização da pesquisa junto a indivíduos com plena autonomia. Somente indivíduos maiores de idade foram recrutados, excluindo a participação de crianças e adolescentes.

Foram entrevistados 400 indivíduos de diferentes grupos populacionais em diversas regiões do Brasil, apresentando variados perfis socioeconômicos, hábitos alimentares, graus de escolaridade, idade e vivências.

### **3.9.3 Garantias éticas aos participantes da pesquisa**

O estudo conduzido junto à população foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília, tendo por número de identificação o código 4.630.250 (Anexo II). Todas as informações coletadas, bem como a integridade e dignidade dos participantes foram preservadas ao longo do estudo, conforme preconizam as Resoluções CNS n. 466, de 12 de dezembro de 2012 e CNS n. 510, de 07 de abril de 2016. O sigilo e a privacidade dos participantes foram mantidos durante todas as fases da pesquisa. Todas as informações, objetivos e instrumentos utilizados para fins de execução da presente proposta foram realizados em linguagem acessível, garantindo a clara manifestação de participação no estudo. Ademais, o participante poderia desistir de participar da pesquisa em qualquer momento sem nenhum prejuízo. Para dar início à pesquisa, foi

aplicado um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), em linguagem acessível, garantindo a clara manifestação de concordância na participação do estudo (Anexo III).

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesta seção, primeiramente serão apresentados os resultados experimentais obtidos durante os processos de extração dos pigmentos naturais, seguido das evidências encontradas ao longo das etapas de nanoestruturação. Por fim, serão apresentados os resultados oriundos do estudo populacional.

### 4.1 Extração variando a solução extrativa

As extrações realizadas a partir de diferentes soluções extrativas (água ultrapura, etanol 25% ou 96%) permitiram a obtenção de extratos de pigmentos naturais com perfis médios de cor variados, conforme observados na Tabela 2. É possível constatar que o etanol 96% mostrou ser o solvente mais adequado para a extração de pigmentos naturais provenientes dos resíduos de abóbora moranga (*Cucurbita maxima*), de cenoura (*Daucus carota* subsp *sativus*), de abóbora híbrida tetsukabuto (*Cucurbita maxima* x *Cucurbita moschata*), de chuchu (*Sechium edule* Sw) e de couve (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*). Em contrapartida, o etanol 25% provou ser uma alternativa mais promissora em comparação aos solventes água e etanol 96% para a extração do pigmento natural obtido das folhas externas de repolho roxo (*Brassica oleracea* L. var. *capitata* f. *rubra*). Resultado semelhante a esse pode ser encontrado em estudo realizado por Song *et al.* (2011), onde etanol 25% foi considerado o melhor solvente para a obtenção de pigmento natural a partir de repolho roxo, em comparação com água, acetona, éter de petróleo e etanol em maiores concentrações.

Ademais, é possível observar na Tabela 2 que tanto a água ultrapura quanto o etanol nas concentrações de 25% e 96% foram bons recursos extratores para a obtenção de pigmentos naturais a partir de cascas de beterraba (*Beta vulgaris* L.). Resultados semelhantes a esses podem ser encontrados em estudos realizados por Zin *et al.* (2020) e Kushwana *et al.* (2017), que demonstraram a eficiência dos solventes etanol e água na extração de pigmentos naturais obtidos de cascas e bagaços de beterrabas, respectivamente. Por fim, nenhum dos três solventes escolhidos provou ser eficiente na extração de pigmento natural em cascas de batata-doce (*Ipomoea batatas*).

Essas variações na eficiência de extração podem ser justificadas, principalmente, pela natureza química das potenciais classes de pigmentos naturais extraídas mediante o método extrativo proposto, sendo (i) antocianinas, presentes em folhas externas de repolho roxo e cascas de batata-doce; (ii) betalaínas, presentes em cascas de beterraba vermelha; (iii) carotenoides, presentes em cascas de abóbora moranga e de cenoura; e (iv) clorofilas,

presentes em talos de couve, em cascas de chuchu e de abóbora híbrida tetsukabuto, visto que a polaridade desses biocompostos varia em função do tipo de matriz vegetal em que se encontram (HUSSAIN; SADIQ; ZIA-UL-HAQ, 2018; JUNKKA *et al.*, 2017; SAINI; KEUM, 2018). Ademais, podem ocorrer interações entre esses pigmentos com carboidratos, proteínas, e outros componentes do alimento, interferindo, assim, no processo extrativo (ANDREO; JORGE, 2006).

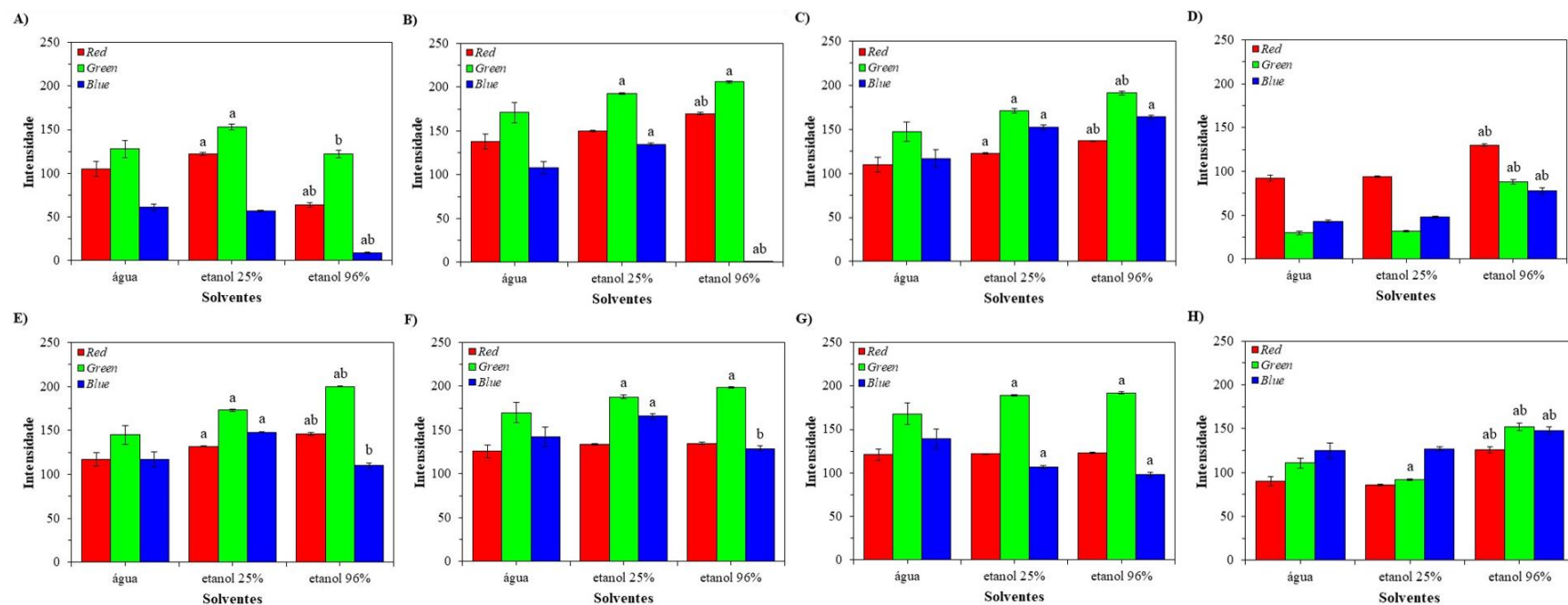


**Tabela 2** - Perfis médios de cor obtidos dos extratos contendo pigmentos naturais com água ultrapura, etanol 25% e etanol 96%. Os perfis de cor são apresentados como uma representação gráfica colorimétrica obtida pelo programa Microsoft Word 2010, a partir dos valores médios de RGB. Fonte: elaboração própria (2021).

Fonte vegetal	Resíduo	Cor (água ultrapura)	Cor (etanol 25%)	Cor (etanol 96%)
Abóbora ( <i>Cucurbita maxima</i> × <i>Cucurbita moschata</i> )	Cascas			
Abóbora ( <i>Cucurbita maxima</i> )	Cascas			
Batata-doce ( <i>Ipomoea batatas</i> )	Cascas			
Beterraba ( <i>Beta vulgaris</i> L.)	Cascas			
Cenoura ( <i>Daucus carota</i> subsp. <i>sativus</i> )	Cascas			
Chuchu ( <i>Sechium edule</i> Sw)	Cascas			
Couve ( <i>Brassica oleracea</i> L. var. <i>acephala</i> )	Talos			
Repolho roxo ( <i>Brassica oleracea</i> L. var. <i>capitata</i> f. <i>rubra</i> )	Folhas externas			

A Figura 9 mostra os perfis médios de cor RGB dos pigmentos naturais extraídos em diferentes solventes. É possível observar que a escolha da solução extrativa influenciou diretamente nas intensidades de vermelho, verde e azul. Por exemplo, a utilização dos solventes etanol 25% ou 96% em comparação com a água resultou na obtenção de pigmentos naturais com intensidades de verde mais pronunciados, sendo esses extraídos das cascas de abóbora moranga, de batata-doce, de cenoura, de chuchu e talos de couve. Ademais, houve diferença significativa ( $P < 0,05$ ) nos valores dos três canais de cor para os biopigmentos extraídos em etanol 96% a partir de cascas de beterraba e de folhas externas de repolho roxo, quando comparados com os perfis dos demais solventes sob as mesmas condições de extração. Apenas os biopigmentos extraídos em água ultrapura e etanol 25%, a partir de cascas de beterraba, apresentaram similaridades no perfil médio de cor RGB quando comparados entre si, indicando que tais solventes apresentam a mesma eficiência de extração a partir do método proposto.

A partir desses resultados, optou-se pelo uso de água ultrapura e etanol 25% para a extração dos pigmentos naturais presentes nas cascas de beterraba e folhas externas de repolho roxo, respectivamente. Já o etanol 96% foi o escolhido para a extração dos pigmentos naturais presentes nas cascas de abóbora moranga e abóbora híbrida tetsukabuto. Apesar de todos os resíduos apresentarem fitopigmentos de matizes e escalas tonais variadas, as folhas externas de repolho roxo e as cascas de abóbora moranga, de abóbora híbrida tetsukabuto e de beterraba foram consideradas fontes de maior potencial para dar prosseguimento ao estudo.



**Figura 9** - Valores médios ( $\pm$  desvio padrão da média) de RGB dos pigmentos naturais obtidos em diferentes soluções extrativas. **A)** pigmentos naturais extraídos de cascas de abóbora híbrida tetsukabuto; **B)** pigmentos naturais extraídos de cascas de abóbora moranga; **C)** pigmentos naturais extraídos de cascas de batata-doce; **D)** pigmentos naturais extraídos de cascas de beterraba; **E)** pigmentos naturais extraídos cascas de cenoura; **F)** pigmentos naturais extraídos de cascas de chuchu; **G)** pigmentos naturais extraídos de talos de couve; **H)** pigmentos naturais extraídos de folhas externas de repolho roxo. Em cada figura, colunas com letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas ao nível de 5% pelo Teste de Tukey, sendo “a” em relação a água e “b” em relação ao etanol 25% da cor correspondente. Fonte: elaboração própria (2021).

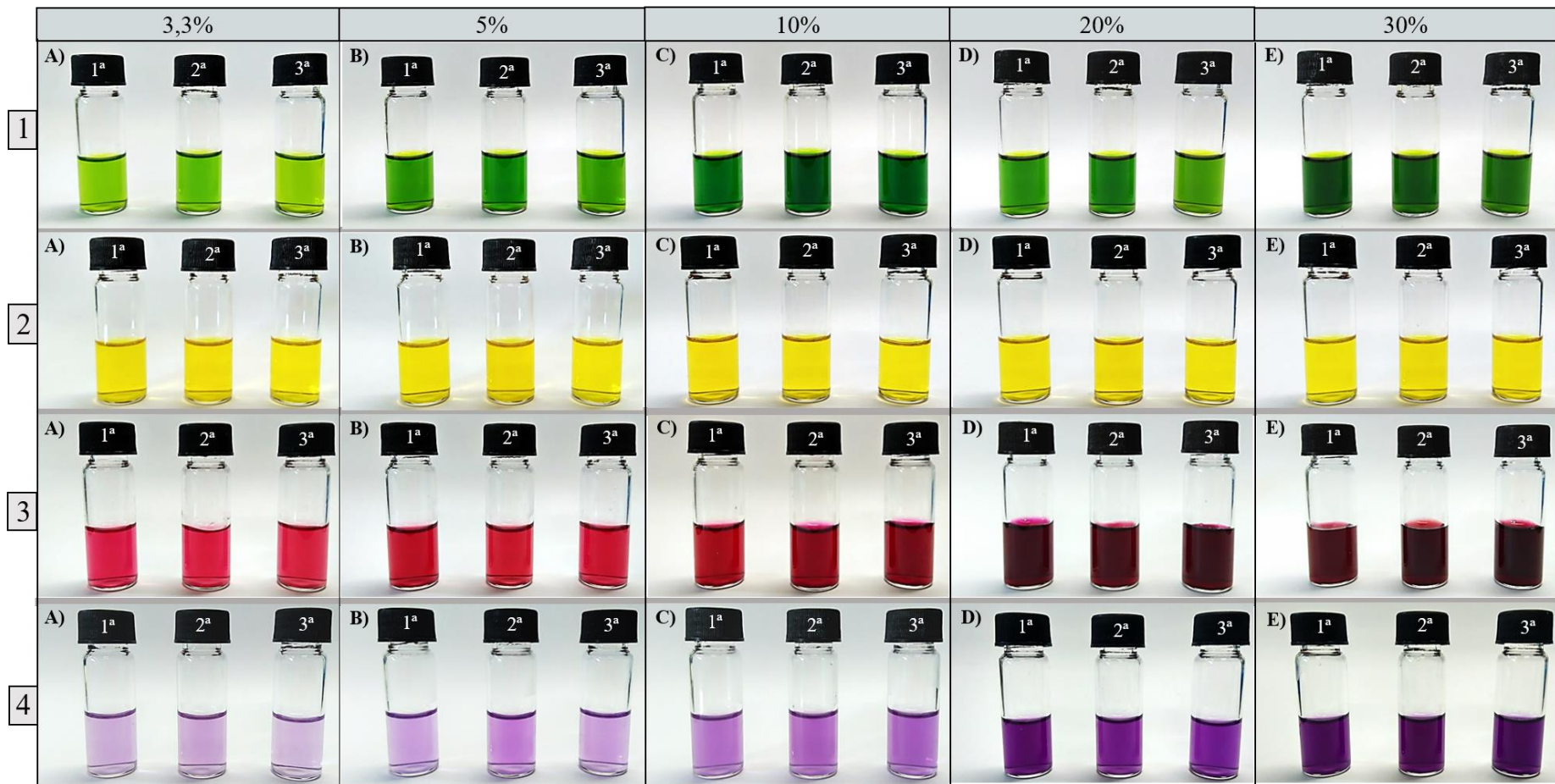
## 4.2 Extração variando as concentrações de resíduos

Estabelecidos os melhores resíduos vegetais e suas respectivas soluções extrativas, estudos variando as concentrações de resíduos foram adotadas a fim de avaliar a influência dessa variável sobre o perfil colorimétrico dos pigmentos naturais. Ressalta-se que o presente ensaio foi realizado em triplicata, a partir de um mesmo pool de material vegetal, para avaliar a repetibilidade das extrações, como observado na Figura 10. Já na Figura 11, é possível observar que as triplicatas dos extratos contendo os pigmentos naturais apresentaram perfis médios de cor RGB distintos, demonstrando que tal variável afeta consideravelmente o processo de extração.

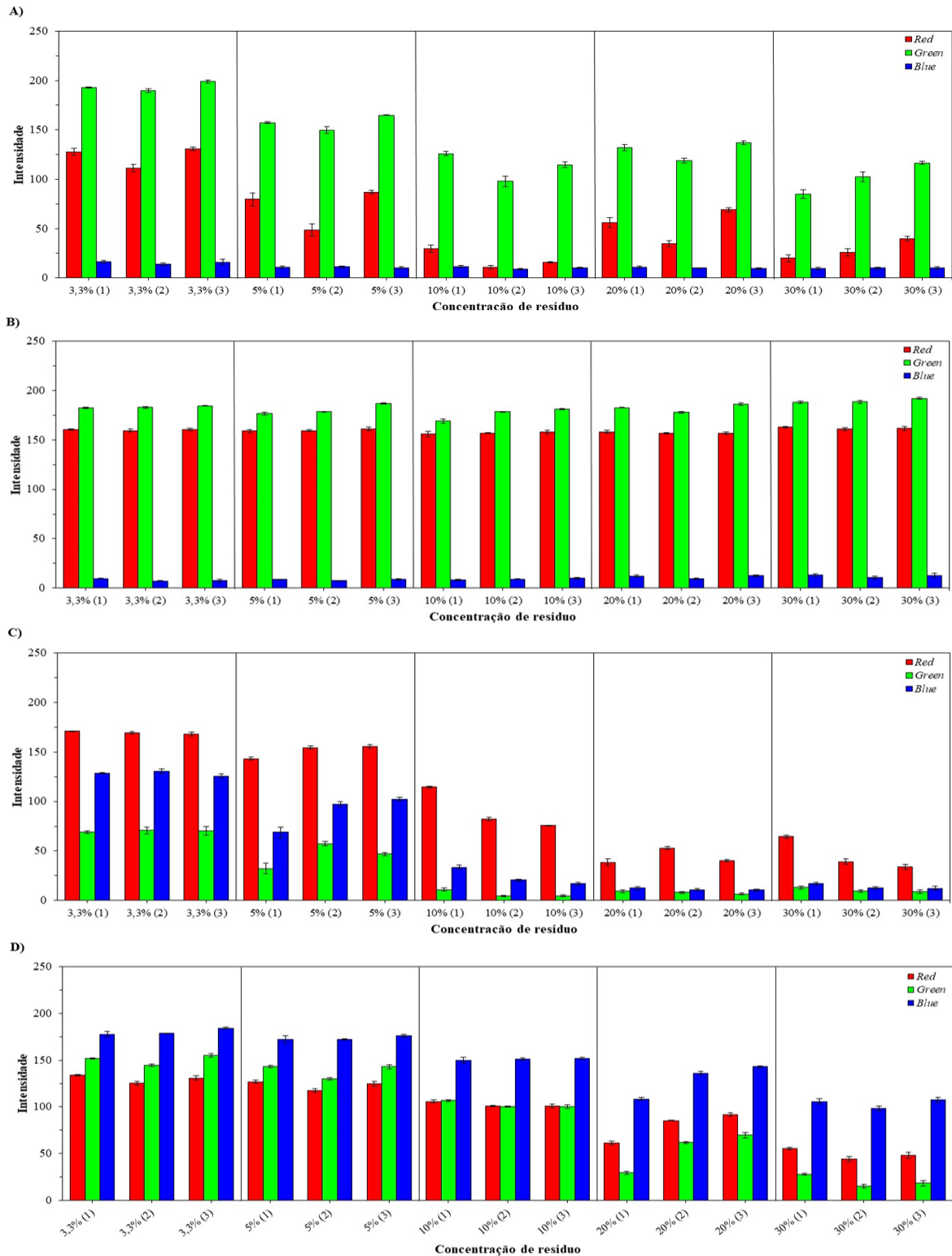
A partir da análise do CV em relação aos valores médios de RGB entre as triplicatas (Tabela 3), nota-se que as triplicatas dos pigmentos naturais extraídos de cascas de abóbora híbrida tetsukabuto (*Cucurbita maxima* × *Cucurbita moschata*) apresentam altas variações na intensidade de vermelho para as concentrações de 10%, 20% e 30% de resíduo. Já as triplicatas dos pigmentos naturais extraídos de cascas de abóbora moranga (*Cucurbita maxima*) apresentaram variações pequenas nas intensidades de vermelho e verde em todas as concentrações estudadas, apenas uma variação média foi observada na intensidade de azul entre as triplicatas para as concentrações de 3,3%, 20% e 30%. Ademais, é possível observar que os pigmentos naturais extraídos de cascas de beterraba (*Beta vulgaris* L.) apresentaram uma maior heterogeneidade nos padrões de cor entre as concentrações de 5%, 10%, 20% e 30%. Por fim, foram observadas pequenas variações nas intensidades de vermelho, verde e azul entre as triplicatas nas concentrações de 3,3%, 5% e 10%, para os pigmentos extraídos de folhas externas de repolho roxo (*Brassica oleracea* L. var. *capitata* f. *rubra*).

Essa heterogeneidade do perfil de cor entre as triplicatas já era esperada, dado que por se tratar de recursos naturais o conteúdo total de metabólitos secundários produzidos por uma planta pode variar em função de diversos fatores, como: temperatura, umidade, luz, altitude, macro e micronutrientes presentes no solo, composição atmosférica, sazonalidade, genoma da planta, estímulos mecânicos, entre outros (GOBBO-NETO; LOPES, 2007). A fim de minimizar essa variabilidade colorimétrica entre triplicatas, testes de triagem e análises fitoquímicas podem ser realizados, visando identificar e padronizar os valores dos constituintes químicos de interesse. Ademais, processos de diluição e/ou concentração podem ser adotados para alcançar uma maior similaridade de cor e intensidade entre os pigmentos. Assim, a variabilidade de cor apresentada entre as triplicatas não se mostra como um desafio,

pelo contrário, se mostra como uma grande oportunidade para a ampliação de pigmentos naturais com cores diversificadas.



**Figura 10** - Triplicatas (1<sup>a</sup>, 2<sup>a</sup> e 3<sup>a</sup>) dos pigmentos naturais extraídos a partir de diferentes concentrações de resíduos (3,3%; 5%; 10%; 20 e 30%). **1 A-E)** pigmentos obtidos de cascas de abóbora híbrida tetsukabuto; **2 A-E)** pigmentos obtidos de cascas de abóbora moranga; **3 A-E)** pigmentos obtidos de cascas de beterraba; **4 A-E)** pigmentos obtidos de folhas externas de repolho roxo. O perfil colorimétrico exibido pelas amostras é resultante da incidência da própria luz do laboratório que apresenta uma temperatura de cor branca fria 5000K.  
 Fonte: elaboração própria (2021).



**Figura 11** - Valores médios ( $\pm$  desvio padrão da média) de RGB das triplicatas (1, 2 e 3) dos pigmentos naturais extraídos a partir de diferentes concentrações de resíduos (3,3%; 5%; 10%; 20% e 30%). **A)** pigmentos obtidos de cascas de abóbora híbrida tetsukabuto; **B)** pigmentos obtidos de cascas de abóbora moranga; **C)** pigmentos obtidos de cascas de beterraba; **D)** pigmentos obtidos de folhas externas de repolho roxo. Fonte: elaboração própria (2021).

**Tabela 3** - Coeficientes de variação (CV, %) dos valores médios de RGB entre as triplicatas, a partir da variação das concentrações de resíduos. Os valores de CV foram classificados de acordo com a classificação proposta por Pimentel-Gomes (1985).

Fonte: elaboração própria (2021).

Espécie	Resíduo	Concentração resíduo (%)	Solvente	CV R (%)	Classificação CV R	CV G (%)	Classificação CV G	CV B (%)	Classificação CV B
<i>Cucurbita maxima</i> × <i>Cucurbita moschata</i>	Casca	3,3	Etanol 96%	8,43	Baixo	2,41	Baixo	9,68	Baixo
		5		28,21	Alto	4,75	Baixo	3,71	Baixo
		10		51,11	Muito alto	12,51	Médio	13,50	Médio
		20		32,42	Muito alto	7,37	Baixo	7,16	Baixo
		30		35,27	Muito alto	15,66	Médio	2,21	Baixo
<i>Cucurbita maxima</i>	Casca	3,3	Etanol 96%	0,43	Baixo	0,56	Baixo	16,96	Médio
		5		0,72	Baixo	3,00	Baixo	8,66	Baixo
		10		0,69	Baixo	3,65	Baixo	8,31	Baixo
		20		0,55	Baixo	2,34	Baixo	13,39	Médio
		30		0,58	Baixo	1,20	Baixo	12,61	Médio
<i>Beta vulgaris</i> L.	Casca	3,3	Água ultrapura	0,85	Baixo	1,21	Baixo	1,83	Baixo
		5		4,50	Baixo	27,87	Alto	20,04	Alto
		10		22,99	Alto	52,25	Muito alto	36,03	Muito alto
		20		17,65	Médio	16,35	Médio	9,30	Baixo
		30		35,48	Muito alto	21,91	Alto	18,37	Médio
<i>Brassica oleracea</i> L. var. <i>capitata</i> f. <i>rubra</i>	Folhas externas	3,3	Etanol 25%	3,41	Baixo	3,61	Baixo	1,97	Baixo
		5		3,97	Baixo	5,36	Baixo	1,24	Baixo
		10		2,60	Baixo	3,42	Baixo	0,76	Baixo
		20		20,03	Alto	39,69	Muito alto	14,11	Médio
		30		11,52	Médio	32,36	Muito alto	4,66	Baixo



Em relação ao processo de extração, observou-se que o tratamento com banho de ultrassom seguido de agitação magnética provou ser uma técnica econômica e simples para a obtenção de pigmentos naturais, demonstrando ser uma alternativa com potencial para exploração até mesmo em escala industrial. A técnica de ultrassom é precisa, não destrutiva, eficiente e apresenta um curto tempo de operação (MCCLEMENTS, 1995). Maiores taxas de extração são comumente obtidas com o uso dessa tecnologia em função da formação de cavitações acústicas em meio líquido, gerando assim, uma maior penetração do solvente na matriz vegetal e liberação do conteúdo intracelular (CORBIN *et al.*, 2015). Sharma e Bhat (2021), por exemplo, realizaram extrações assistidas por ultrassom e micro-ondas para a obtenção de carotenoides a partir de cascas e polpas de abóboras (*Cucurbita maxima*), comparando-as posteriormente com método de extração convencional. A extração assistida por ultrassom provou ser uma técnica mais eficiente em comparação com as demais, devido aos maiores rendimentos alcançados.

Sendo assim, o emprego e desenvolvimento de novos processos tecnológicos ambientalmente amigáveis mostra-se emergente, dada às inúmeras vantagens que essas tecnologias apresentam em relação aos métodos extrativos convencionais, como: tempos de extração reduzidos, menor gasto de energia, redução no volume de solventes, entre outros (VERNÈS *et al.*, 2020). Ademais, tais processos podem ser combinados a outras estratégias a fim de otimizar a extração de compostos de interesse e com aquelas que aumentem a estabilidade, como as envolvendo nanotecnologia utilizadas nesse estudo.

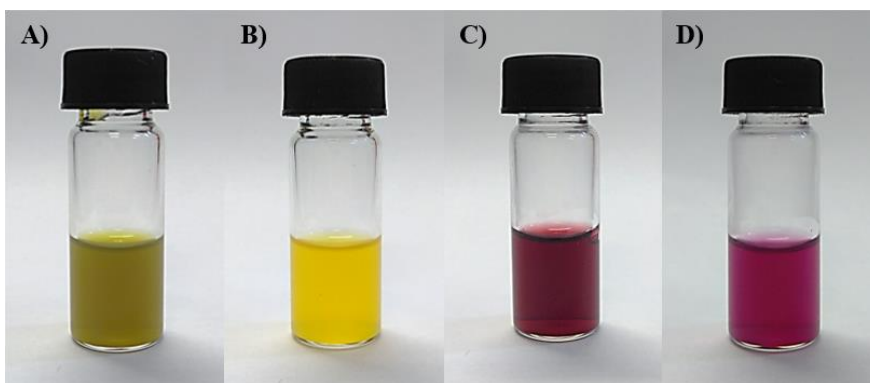
### **4.3 Análise macroscópica dos pigmentos naturais nanoestruturados**

As suspensões coloidais (micelas, lipossomas e nanopartículas poliméricas de quitosana) apresentaram aspectos semelhantes, como: aparência macroscópica homogênea, aspecto opaco e fluido. Ademais, as suspensões apresentaram colorações características dos pigmentos naturais utilizados para cada nanoformulação, com exceção das nanopartículas poliméricas de quitosana contendo o pigmento natural extraído das folhas externas de repolho roxo (NPQPFR) e dos lipossomas contendo o pigmento natural extraído das cascas de abóbora híbrida tetsukabuto (LPCA), os quais apresentaram uma coloração rosa-arroxeadada e verde-amarelada, respectivamente, conforme observado na Figura 12.

Essas variações colorimétricas podem ser explicadas pela interação da luz visível com os pigmentos naturais submetidos ao processo de nanoestruturação, dado que a presença de

partículas com diferentes tamanhos, formas e composições influenciam na absorção e emissão de luz em determinado comprimento de onda, o que pode explicar essa variação da percepção da cor.

Ademais, a alteração da cor violeta do pigmento natural (antocianina) presente nas folhas de repolho roxo para uma coloração rosa-arroxeadada após o processo de nanoestruturação é justificada pela presença de um ambiente ácido. Tal alteração de cor já era esperada, dado que tal pigmento natural é capaz de alterar sua estrutura molecular, prevalecendo a presença do cátion flavílico, em função de um pH mais baixo, como já demonstrado na literatura (DELGADO-VARGAS; JIMÉNEZ; PAREDES-LÓPEZ, 2000). Já o desvanecimento da cor verde vívida do pigmento natural clorofila, presente nas cascas de abóbora híbrida tetsukabuto, a uma coloração verde-amarelada após a nanoestruturação pode ter sido causada por sua degradação parcial ao longo do processo de rotaevaporação, visto que compostos naturais apresentam alta instabilidade frente a variações de temperatura (BOBBIO; BOBBIO, 1992). Assim, para minimizar essa alteração colorimétrica, temperaturas mais baixas devem ser adotadas na etapa de evaporação do solvente.



**Figura 12** - Pigmentos naturais nanoestruturados (nanobiopigmentos). **A)** lipossomas contendo pigmento natural extraído de cascas de abóbora híbrida tetsukabuto (LPCA); **B)** micelas contendo pigmento natural extraído de cascas de abóbora moranga (MPCA); **C)** lipossomas contendo pigmento natural extraído de cascas de beterraba (LPCB); **D)** nanopartículas poliméricas de quitosana contendo pigmento natural extraído de folhas externas de repolho roxo (NPQPFR). O perfil colorimétrico exibido pelas amostras é resultante da incidência da própria luz do laboratório que apresenta uma temperatura de cor branca fria 5000K.  
Fonte: autoria própria (2021).

#### **4.4 Determinação do diâmetro hidrodinâmico (DH), índice de polidispersividade (PdI) e potencial Zeta dos pigmentos naturais nanoestruturados**

O DH e o PdI dos nanossistemas produzidos foram quantificados pela metodologia de DLS. Essa técnica de caracterização físico-química permite avaliar a distribuição do tamanho (diâmetro) de partículas e moléculas em meio líquido. Em geral, o movimento das partículas (movimento browniano) faz com que a luz incidente seja espalhada com diferentes intensidades. É a partir da análise dessas flutuações de intensidade que o tamanho das partículas é determinado pela relação de Stokes-Einstein. Já o PdI oferece informações a respeito do grau de dispersividade da amostra, o qual pode variar de 0 a 1, sendo que valores próximos de 1 indicam uma amostra altamente polidispersa enquanto valores próximos de 0 sugerem uma amostra mais homogênea (monodispersa).

O potencial Zeta (PZ) de superfície das partículas foi determinado a partir de suas mobilidades eletroforéticas. Os valores de PZ, representados em mV, fornecem uma indicação da estabilidade coloidal da suspensão. Por exemplo, valores de PZ superiores a  $\pm 30$  mV são indicativos de dispersões coloidalmente estáveis; já valores de PZ inferiores a  $\pm 30$  mV sinalizam dispersões caracterizadas por apresentarem instabilidade coloidal (AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS, 1985).

Na Tabela 4, é possível observar o DH, PdI e PZ médios dos nanossistemas produzidos, a partir daqui atribuídos com o termo nanobiopigmentos, bem como de seus respectivos controles vazios. As amostras contendo os pigmentos naturais apresentaram diferentes tamanhos (DH), variando entre  $194,3 \pm 19,0$  nm e  $645,2 \pm 37,4$  nm. Os DHs médios exibidos pelos lipossomas ( $194,3 \pm 19,0$  nm para LPCA e  $273,0 \pm 37,6$  nm para LPCB) sugerem que sejam formas lipossomais constituídas por apenas uma bicamada fosfolipídica com um grande compartimento interno aquoso, denominadas LUV. Todavia, para a confirmação do número de lamelas faz-se necessário o uso de outras técnicas de análise morfológica, tais como ressonância magnética nuclear, termogravimetria ou microscopia eletrônica.

As micelas produzidas a partir do pigmento extraído de cascas de abóbora moranga (MPCA) apresentam um DH médio de  $645,2 \pm 37,4$  nm, indicando a formação de estruturas com diferentes dimensões daquelas já relatadas na literatura para o encapsulamento de pigmentos naturais (DE PAZ *et al.*, 2013). Essa variação pode ser explicada pelo fato de que o tamanho de uma micela é influenciado por vários fatores, como: estrutura química e concentração do

surfactante, presença de contra-íons, variações de temperatura ao longo do processo de formação micelar, entre outros (LINDMAN; WENNERSTRÖM, 1980). Já as nanopartículas poliméricas de quitosana (NPQPFR) apresentam um DH médio de  $228,8 \pm 40,7$  nm, demonstrando estarem dentro da faixa de tamanho típica dessas nanoestruturas (20 a 1000 nm) (SABLIOV; ASTETE, 2015).

Observou-se também uma heterogeneidade de tamanho para todos os nanossistemas desenvolvidos, uma vez que as amostras exibiram  $PdI \geq 0,478 \pm 0,043$  (LPCB). Esse valor elevado pode ser causado pela presença de aglomerados ou agregados. Uma alternativa para diminuir essa polidispersividade é a aplicação de métodos de separação por membrana como, por exemplo, por extrusão ou homogeneização de alta pressão. Contudo, tal etapa adicional oneraria o processo final para a obtenção dos nanobiopigmentos, o que poderia reduzir a viabilidade técnico-econômica do uso desses em escala industrial.

Os nanossistemas desenvolvidos apresentaram diferentes estabilidades coloidais, conforme indicada pelo potencial Zeta. As NPQPFR apresentaram instabilidade incipiente ( $24,4 \pm 1,0$ ), indicando que tal nanossistema não apresenta forças repulsivas necessárias para evitar a agregação das nanopartículas em função do tempo. Uma alternativa para aumentar a estabilidade desse nanossistema seria o emprego de um processo de secagem, como a liofilização ou nebulização, haja vista que operações de secagem já foram relatados como ótimas alternativas para retardar ou evitar alterações físico-químicas de sistemas nanoestruturados (ALI; LAMPRECHT, 2017, FREITAS; MÜLLER, 1998). Já as LPCB, MPCA e LPCA apresentaram estabilidade moderada ( $-35,9 \pm 0,9$ ), boa ( $-45,0 \pm 0,7$ ) e excelente ( $-63,6 \pm 0,1$ ), respectivamente.

Os lipossomas apresentaram PZ negativo, o qual pode ser atribuído aos constituintes presentes no nanossistema, dado que lecitinas são responsáveis por fornecerem um potencial negativo à interface da partícula (SCHAFFAZICK *et al.*, 2003). Achados semelhantes a esses podem ser observados, por exemplo, em estudo realizado Amjadi *et al* (2018) que formularam nanocarreadores lipossomais que apresentaram carga negativa ( $-19,05 \pm 1,65$  mV), a partir de pigmento natural presente em extrato de beterraba vermelha. As micelas também apresentaram carga negativa, o qual pode ser atribuído à natureza dos constituintes presentes na formulação (lipídios), bem como do meio em que eles se encontram (LINDMAN; WENNERSTRÖM, 1980). Já as nanopartículas poliméricas apresentaram PZ positivo, o qual pode ser conferido pelo grupamento amino presente na quitosana.

Ademais, é possível notar que as micelas produzidas a partir do pigmento extraído de cascas de abóbora moranga (MPCA) e os lipossomas contendo pigmento natural obtido de cascas de abóbora híbrida tetsukabuto (LPCA) apresentaram tamanhos médios menores e uma maior estabilidade em comparação com seus controles (CM-vazio e CL-vazio, respectivamente). Ao comparar as NPQPFR com seu respectivo controle (CNPQ-vazio), nota-se que a presença do pigmento natural obtido a partir de folhas externas de repolho roxo possibilitou a formação de partículas com tamanhos médios menores e uma distribuição de tamanho mais homogêneo. Por fim, a presença do pigmento natural extraído a partir de cascas de beterraba resultou na formação de lipossomas com tamanhos maiores e mais monodispersos em comparação com seu respectivo controle (CL-vazio). Esse aumento do tamanho do nanossistema pode ser explicado pelo fato de betalaínas (principal grupo de pigmentos presentes em cascas de beterraba) serem moléculas relativamente grandes, o que pode explicar o crescimento particulado observado.

**Tabela 4** - DH, PdI e PZ médios ( $\pm$  desvio padrão da média) dos nanossistemas produzidos com os extratos contendo pigmentos naturais extraídos a partir de diferentes resíduos vegetais e de seus respectivos controles vazios.

Fonte: elaboração própria (2021)

<b>Amostras</b>	<b>DH Z-Average (nm)</b>	<b>PdI</b>	<b>PZ (mV)</b>
<b>CM-vazio</b>	604,1 $\pm$ 329,7	0,520 $\pm$ 0,039	-7,5 $\pm$ 1,8
<b>MPCA</b>	645,2 $\pm$ 37,4	0,802 $\pm$ 0,076	-45,0 $\pm$ 0,7
<b>CL-vazio</b>	255,8 $\pm$ 44,4	0,524 $\pm$ 0,132	-46,3 $\pm$ 1,0
<b>LPCA</b>	194,3 $\pm$ 19,0	0,752 $\pm$ 0,009	-63,6 $\pm$ 0,1
<b>LPCB</b>	273,0 $\pm$ 37,6	0,478 $\pm$ 0,043	-35,9 $\pm$ 0,9
<b>CNPQ-vazio</b>	1022,7 $\pm$ 66,9	0,861 $\pm$ 0,046	43,3 $\pm$ 8,3
<b>NPQPFR</b>	228,8 $\pm$ 40,7	0,482 $\pm$ 0,060	24,4 $\pm$ 1,0

#### 4.5 Avaliação da estabilidade de cor em função do tempo de armazenamento

As Figuras 13 e 14 mostram os resultados de intensidade de vermelho, verde e azul dos pigmentos naturais e dos nanossistemas produzidos ao longo do tempo de armazenamento, respectivamente. É possível notar variações significativas ( $P < 0,05$ ) nos perfis colorimétricos dos pigmentos naturais extraídos de resíduos vegetais, bem como dos nanossistemas desenvolvidos. Contudo, uma variação RGB mais acentuada foi observada principalmente nos pigmentos extraídos de cascas de abóbora híbrida tetsukabuto e de beterraba, uma vez que seus perfis de cor alteraram a cada semana (Figura 13A e 13C).

O pigmento natural extraído das cascas de abóbora híbrida *tetsukabuto* apresentou mudanças significativas ( $P < 0,05$ ) na intensidade de vermelho ao longo dos 26 dias, indicando que tal cor mostra-se instável mesmo em condições de armazenamento favoráveis à estabilidade colorimétrica. (Figura 13A). Ademais, no 26º dia de armazenamento, o biopigmento apresentou diferença significativa nos valores das cores vermelha, verde e azul em comparação com as análises realizadas nos intervalos de tempo anteriores. Também foram observadas variações significativas no perfil colorimétrico do LPCA, como mostrado na Figura 14A. Contudo, é possível notar que a partir do 16º dia de armazenamento, variações nos valores de R, G e B não são significativas, sinalizando estabilidade de cor desse nanossistema desenvolvido.

Já em relação ao pigmento natural obtido das cascas de abóbora moranga, é possível observar diferença de cor somente a partir do 26º dia de armazenamento, uma vez que não foram observadas alterações significativas nas intensidades de R, G e B entre o 2º, 9º e 16º dia (Figura 13B). Já em relação às micelas contendo o pigmento extraído do mesmo resíduo vegetal (MPCA), observou-se uma diferença significativa na cor verde no 9º, 16º e 26º dia de armazenamento em comparação com o 2º dia, bem como na cor vermelha no 9º dia em comparação com o 2º dia (Figura 14B). Todavia, o perfil de cor RGB do pigmento nanoestruturado (MPCA) não apresentou diferença significativa entre o 9º, 16º e 26º dia de armazenamento, indicando estabilidade colorimétrica.

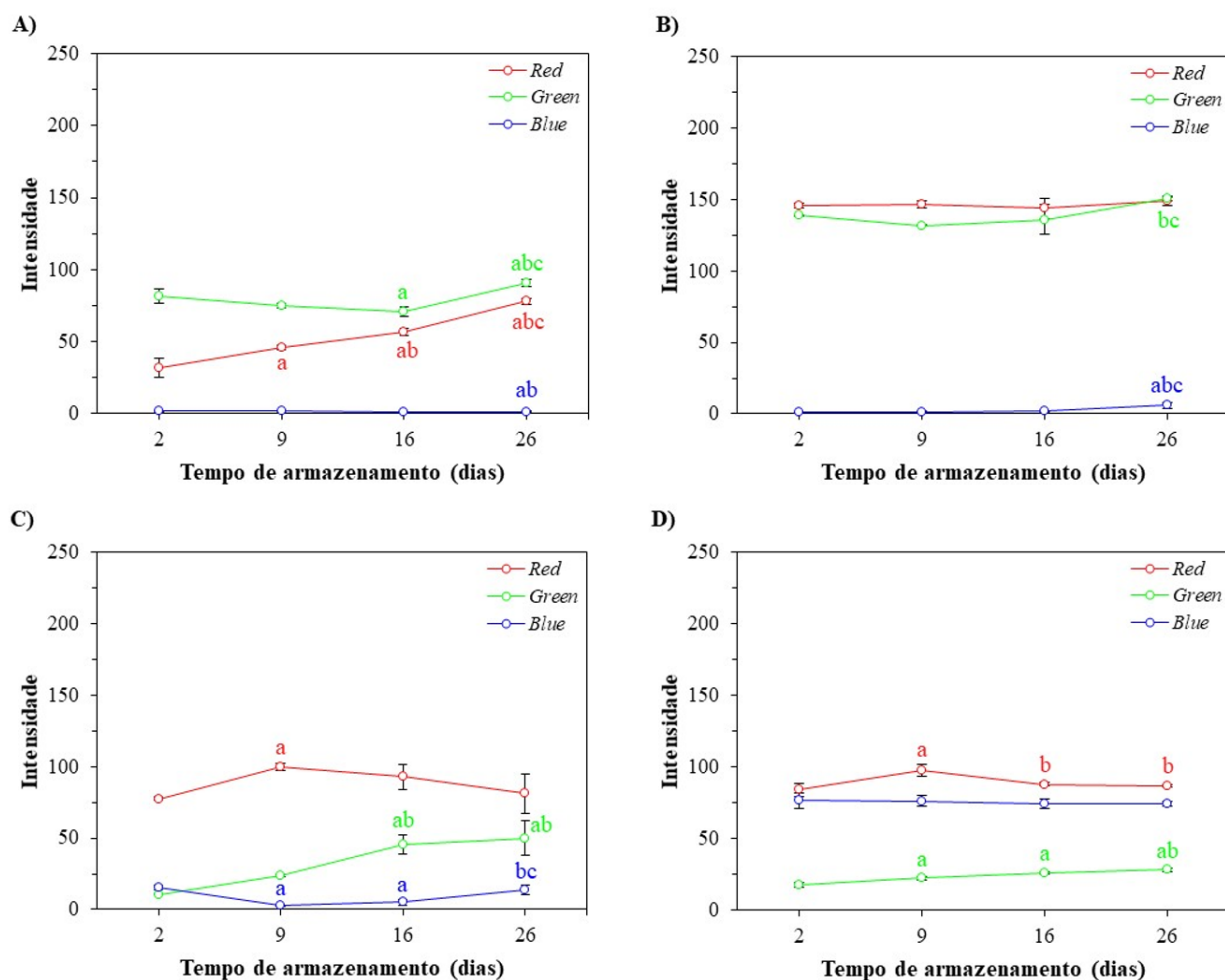
Em relação ao pigmento natural extraído das cascas de beterraba, é possível notar variações significativas nas intensidades de verde e azul ao longo do tempo, sinalizando alterações de perfil colorimétrico, como mostradas na Figura 13C. Ademais, nota-se que o presente biopigmento apresenta um rápido processo de degradação, visto que uma mudança total de sua coloração pode ser observada a partir do 16º dia de armazenamento, como visto na Tabela 5. Já em relação ao biopigmento nanoestruturado (LPCB), nota-se uma mudança significativa nas intensidades de vermelho, verde e azul a partir do 9º dia de armazenamento, como visto na Figura 14C. Contudo, as variações observadas não afetaram drasticamente a percepção visual de sua cor, tendo em vista que tal nanossistema ainda apresenta coloração avermelhada ao longo do tempo, como visto na Tabela 5.

Em relação ao pigmento natural obtido das folhas externas de repolho roxo, não foram observadas mudanças significativas na intensidade de azul, como demonstrado na Figura 13D. Por outro lado, verificam-se diferenças significativas nas intensidades de vermelho e verde,

principalmente nos primeiros nove dias. Ressalta-se que tais variações não foram mais observadas após o 16º dia de armazenamento. Resultados similares são encontrados no biopigmento nanoestruturado (NPQPFR), dado que não foram observadas mudanças significativas nas intensidades de R, G e B entre o 16º e o 26º dia de armazenamento, sinalizando estabilidade de cor (Figura 14D).

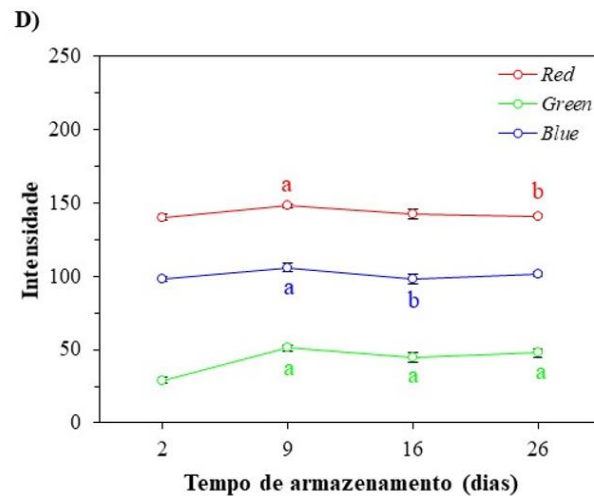
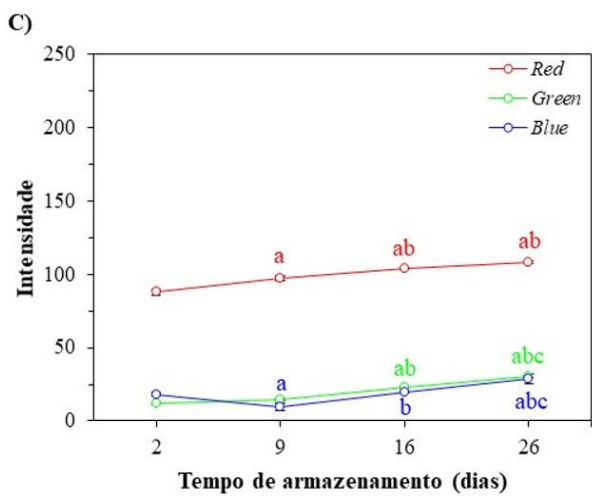
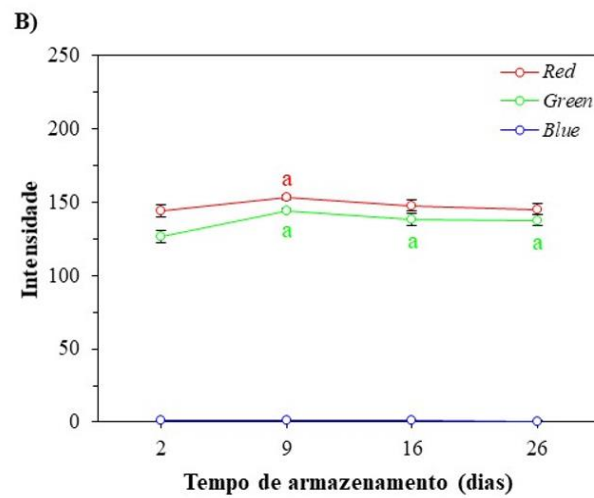
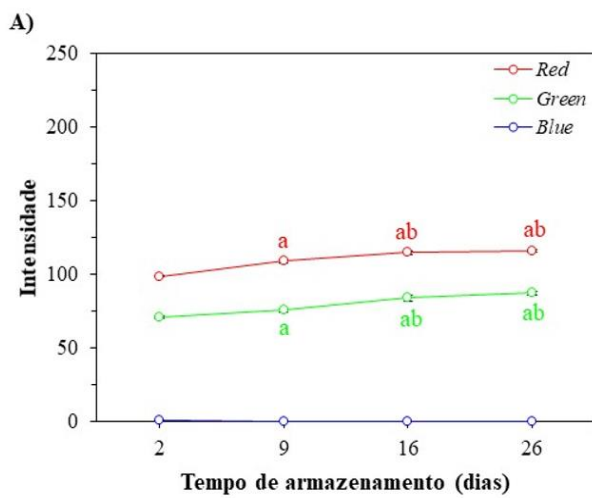
As maiores variações observadas para os nanossistemas LPCB e NPQPFR podem ter sido causadas pelo alto teor de água, dado que tais biopigmentos são passíveis de sofrer degradação por ataque nucleofílico devido à presença desse solvente, resultando em mudanças de intensidade de cor (SCHIOZER; BARATA, 2013). Dessa forma, estratégias tecnológicas voltadas para a remoção de água, como liofilização e *spray drying*, mostram-se boas alternativas para garantir uma maior estabilidade colorimétrica. De Souza *et al.* (2015), por exemplo, utilizaram técnicas de *spray drying* e liofilização para avaliar seus efeitos nas propriedades físico-químicas e estabilidade da cor de pigmentos obtidos de subprodutos de uva Bordo. Amostras submetidas a tais processos apresentaram uma maior preservação da cor em comparação ao extrato líquido.

Apesar dos nanossistemas apresentarem variações de cor ao longo do tempo, essas variações foram menores quando comparadas àquelas observadas para os pigmentos naturais, sinalizando a nanoencapsulação de tais biocompostos e indicando que o processo de nanoestruturação empregado conferiu maior proteção aos biopigmentos, em especial àqueles extraídos das cascas de abóbora moranga e de abóbora híbrida *tetsukabuto*, uma vez que mudanças colorimétricas não foram mais observadas a partir do 9º e 16º dia de armazenamento, respectivamente. Ademais, verificou-se uma rápida degradação do biopigmento extraído de cascas de beterraba a partir do 16º dia de armazenamento, fenômeno não observado para o biopigmento nanoestruturado (LPCB). Por fim, observou-se a formação de precipitados ao longo do tempo de armazenamento nas amostras contendo pigmentos naturais obtidos a partir de resíduos de abóbora moranga, de abóbora híbrida *tetsukabuto* e de beterraba (Figura 15), sinalizando processo de degradação de tais biocompostos. Todavia, tal fenômeno não foi observado nas amostras nanoestruturadas, sendo esse mais um indicativo de nanoencapsulação.



**Figura 13** - Valores médios ( $\pm$  desvio padrão da média) de RGB dos pigmentos naturais ao longo do tempo de armazenamento. **A)** pigmento obtido das cascas de abóbora híbrida tetsukabuto; **B)** pigmento obtido das cascas de abóbora moranga; **C)** pigmento obtido das cascas de beterraba; **D)** pigmento obtido das folhas externas de repolho roxo. Em cada figura, letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas ao nível de 5% pelo Teste de Tukey, sendo “a” em relação a 2 dias, “b” em relação a 9 dias e “c” em relação a 16 dias. Fonte: elaboração própria (2021).





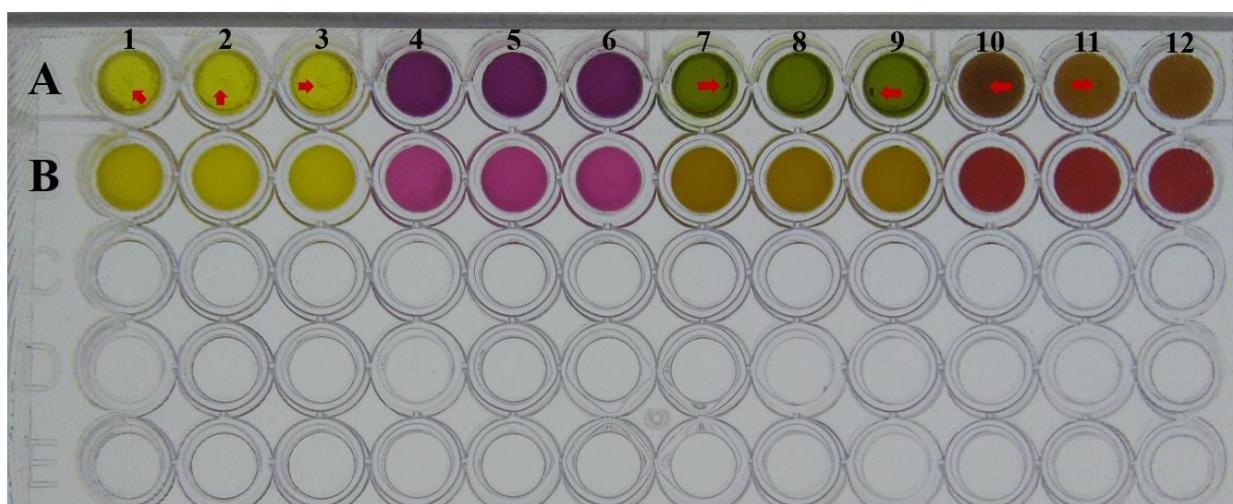
**Figura 14** - Valores médios ( $\pm$  desvio padrão da média) de RGB dos nanossistemas ao longo do tempo de armazenamento. **A)** LPCA; **B)** MPCA; **C)** LPCB; **D)** NPQPFR. Em cada figura, letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas ao nível de 5% pelo Teste de Tukey, sendo “a” em relação a 2 dias, “b” em relação a 9 dias e “c” em relação a 16 dias.

Fonte: elaboração própria (2021).

**Tabela 5** - Perfis médios de cor dos extratos contendo pigmentos naturais e dos nanossistemas (nanobiopigmentos) ao longo do tempo de armazenamento. Os perfis de cor são apresentados como uma representação gráfica colorimétrica obtida pelo programa Microsoft Word 2010, a partir dos valores médios de RGB.

Fonte: elaboração própria (2021).

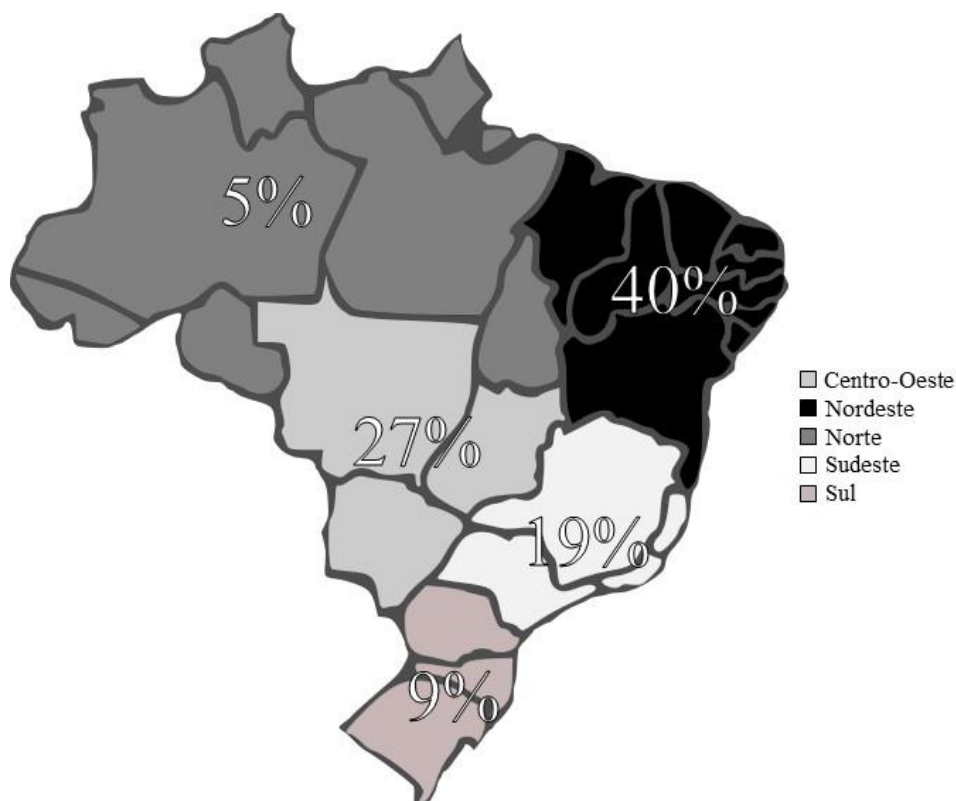
Amostra	Cor (2 dias)	Cor (9 dias)	Cor (16 dias)	Cor (26 dias)
Pigmento extraído das cascas de abóbora híbrida				
Pigmento extraído das cascas de abóbora moranga				
Pigmento extraído das cascas de beterraba				
Pigmento extraído das folhas externas de repolho roxo				
LPCA				
MPCA				
LPCB				
NPQPFR				



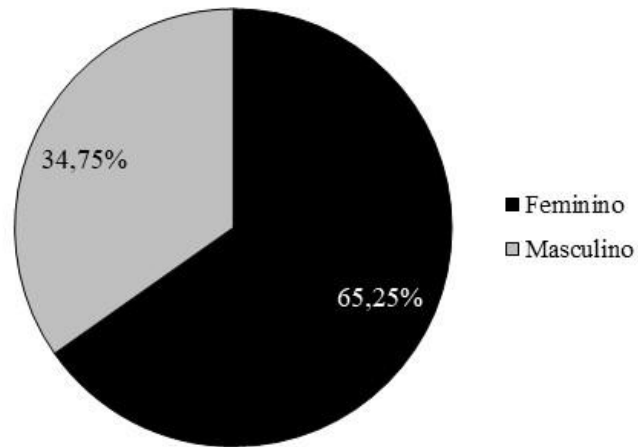
**Figura 15** - Formação de precipitados nos extratos contendo pigmentos naturais (fileira A) em comparação aos nanobiopigmentos (fileira B). Fotografia do 26º dia de armazenamento. As leituras para análise RGB foram realizadas em triplicata para cada amostra contendo pigmentos naturais, bem como para os nanobiopigmentos desenvolvidos. **1, 2, 3 A)** pigmento obtido das cascas de abóbora moranga; **4, 5, 6 A)** pigmento obtido das folhas externas de repolho roxo; **7, 8, 9 A)** pigmento obtido das cascas de abóbora híbrida tetsukabuto; **10, 11, 12 A)** pigmento obtido das cascas de beterraba; **1, 2, 3 B)** MPCA; **4, 5, 6 B)** NPQPFR; **7, 8, 9 B)** LPCA; **10, 11, 12 B)** LPCB.

#### 4.6 Avaliação do padrão de consumo de corantes artificiais e naturais presentes em alimentos

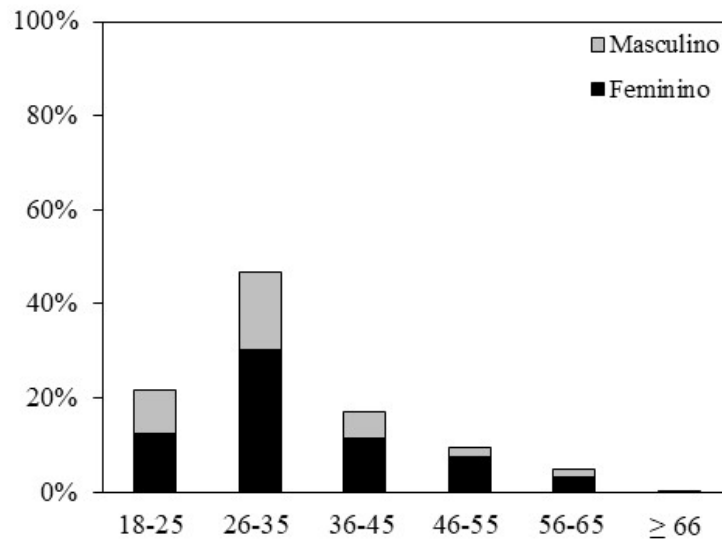
Foram entrevistados grupos populacionais apresentando diferentes hábitos alimentares, graus de escolaridade, faixas etárias e vivências, sendo esses residentes em todas as regiões do Brasil (Figura 16). Dos 400 participantes da pesquisa, 65,25% são do sexo feminino e 34,75% são do sexo masculino (Figura 17). A idade da população estudada variou de 18 a 66 anos ou mais, todavia a amostra caracterizou-se, como mostrado na Figura 18, por predominância de jovens com idades entre 18 e 35 anos. Quanto ao nível de escolaridade, 10,75% dos entrevistados possuem ensino superior incompleto e 15,25% possuem ensino superior completo. Ademais, 71,5% dos entrevistados possuem pós-graduações incompletas/completas do tipo *stricto sensu* e/ou *lato sensu*, ressaltando-se que apenas 0,25% do total alegou possuir ensino médio incompleto e 2,25% declararam possuir ensino médio completo (Figura 19).



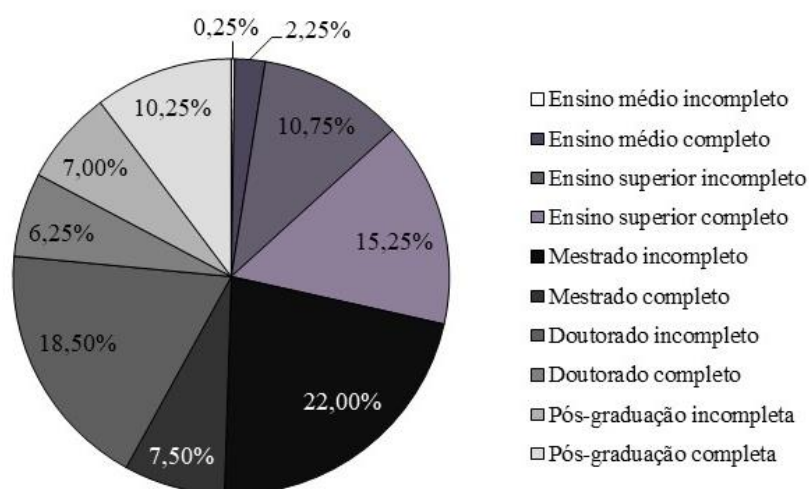
**Figura 16** - Percentual da população participante do estudo em cada região do Brasil.  
Fonte: elaboração própria (2021).



**Figura 17** - Perfil do sexo da população participante do estudo.  
 Fonte: elaboração própria (2021).



**Figura 18** - Perfil de faixas etárias em função do sexo da população participante do estudo.  
 Fonte: elaboração própria (2021).

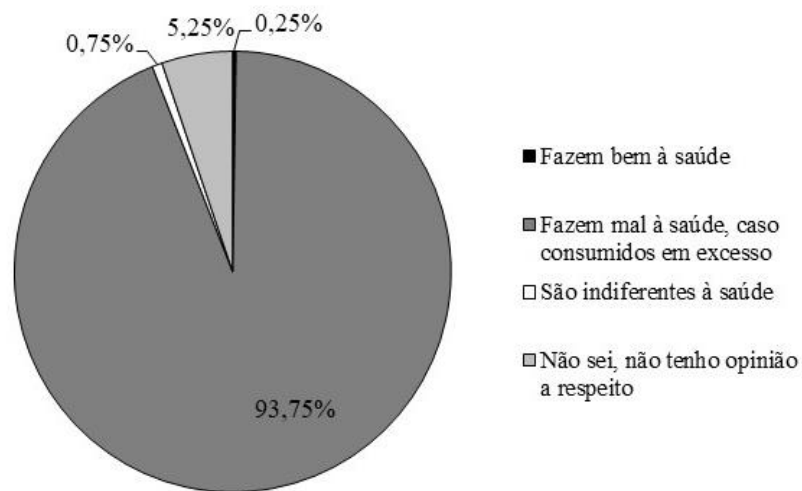


**Figura 19** - Nível de instrução da população participante do estudo.  
Fonte: elaboração própria (2021).

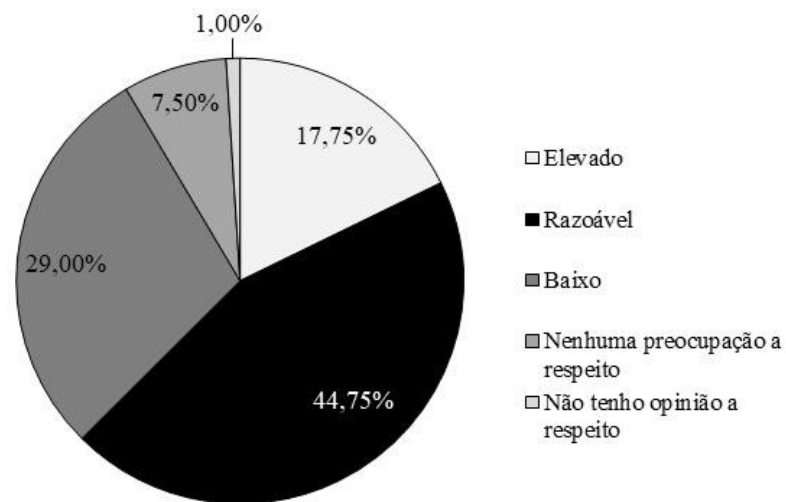
Em relação a possíveis fontes de risco, 93,75% dos informantes acreditam que corantes artificiais fazem mal à saúde, caso consumidos em excesso (Figura 20) e 62,5% declararam possuir um nível de preocupação elevado e/ou razoável quanto à presença desses aditivos em alimentos (Figura 21). Resultados semelhantes a esses podem ser observados em estudos australianos conduzidos por Buchler, Smith e Lawrence (2010) e Williams, Stirling e Keynes (2004), onde aditivos alimentares, em especial os de origem artificial, foram relatados como potenciais perigos alimentares pela população.

Apesar do presente exposto, a preocupação não chega a ser um fator de grande influência no que se refere à frequência de consumo de produtos alimentícios aditivados com tais substâncias sintéticas, visto que 57% relataram consumir tais produtos diariamente e/ou semanalmente (Figura 22), sendo sorvetes (18,18%); refrigerantes (16,48%); biscoitos (13,21%); e balas, jujubas e gelatinas (12,07%) os alimentos de maior consumo (Figura 23). Uma possível causa que justifique tal resultado é o fato de que apesar do conhecimento acerca dos riscos potenciais associados ao consumo excessivo de alimentos aditivados com corantes artificiais, a população participante do estudo não chega a ter medo e/ou aversão de tais produtos.

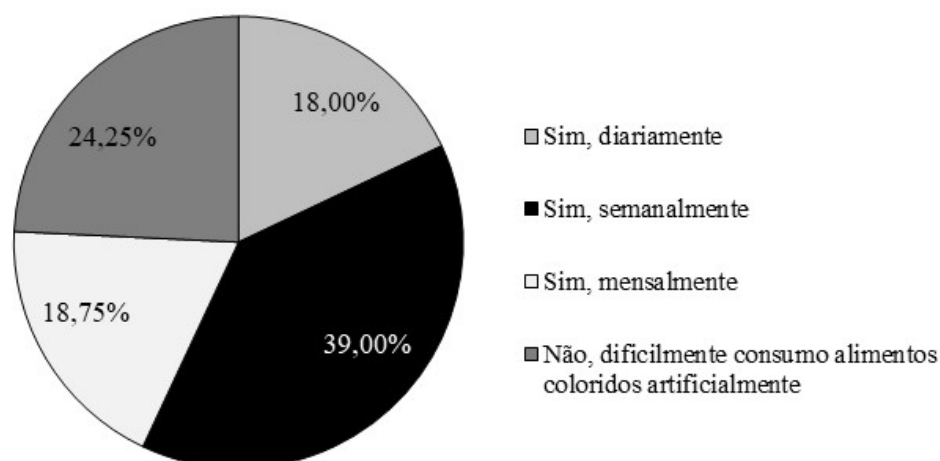
Resultado semelhante a esse pode ser observado em estudo realizado no Reino Unido por Kirk *et al.* (2002), onde foram observados que o alto nível de conscientização da população com relação aos perigos associados ao consumo de determinados alimentos não foi acompanhado por mudanças de seus padrões alimentares.



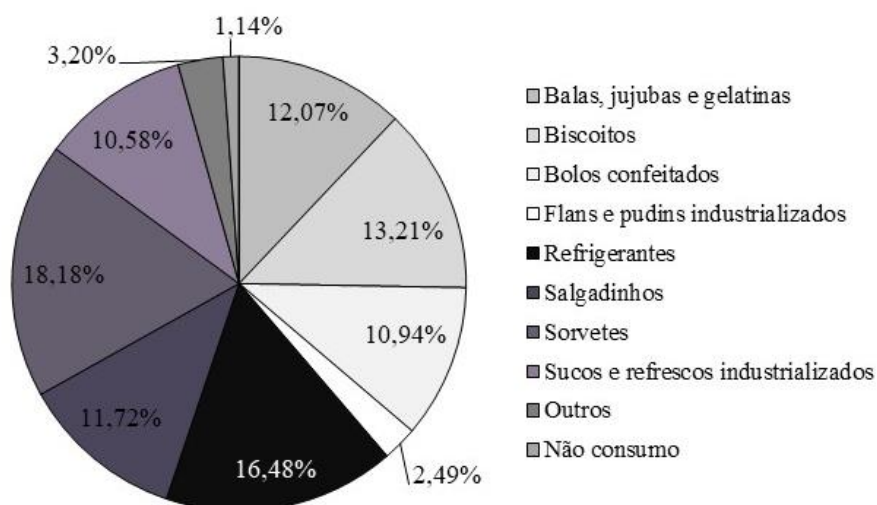
**Figura 20** - Opinião da população participante do estudo sobre corantes artificiais para a saúde.  
 Fonte: elaboração própria (2021).



**Figura 21** - Nível de preocupação da população participante do estudo quanto à presença de corantes artificiais adicionados em alimentos.  
 Fonte: elaboração própria (2021).

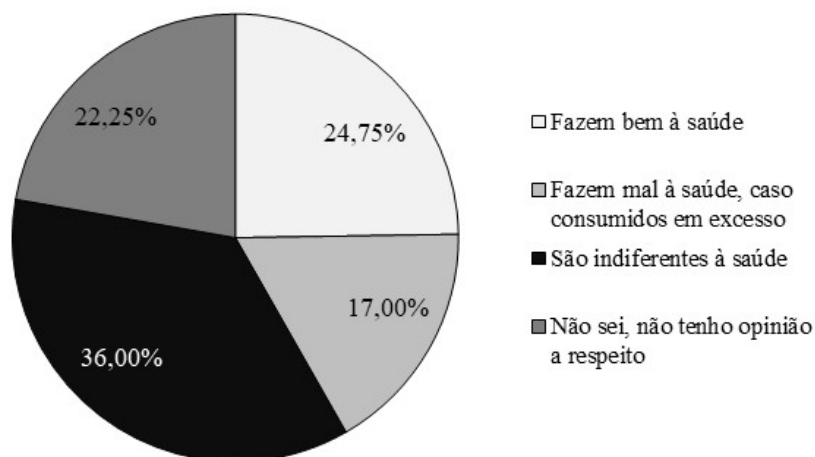


**Figura 22** - Frequência de consumo de alimentos com corantes artificiais/coloridos artificialmente pela população do estudo.  
 Fonte: elaboração própria (2021).

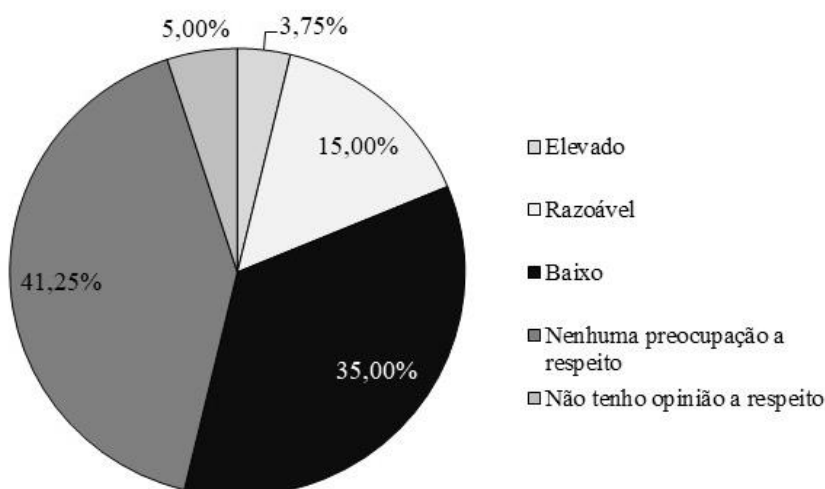


**Figura 23** - Principais alimentos consumidos pela população participante do estudo que contém corantes artificiais em sua composição.  
 Fonte: elaboração própria (2021).

Já em relação a opinião sobre corantes naturais para com a saúde, a grande maioria dos respondentes não os considera como potenciais fontes de risco, visto que 60,75% acreditam que tais substâncias fazem bem e/ou são indiferentes à saúde, como mostrado na Figura 24. Tal resultado é corroborado com o observado em relação ao nível de preocupação com a presença de tais substâncias em alimentos, haja vista que 41,25% dos participantes não possuem nenhum nível de preocupação e 35% apresentam baixa preocupação a respeito (Figura 25).



**Figura 24** - Opinião da população participante do estudo sobre corantes naturais para a saúde. Fonte: elaboração própria (2021).



**Figura 25** - Nível de preocupação da população participante do estudo quanto à presença de corantes naturais adicionados em alimentos.

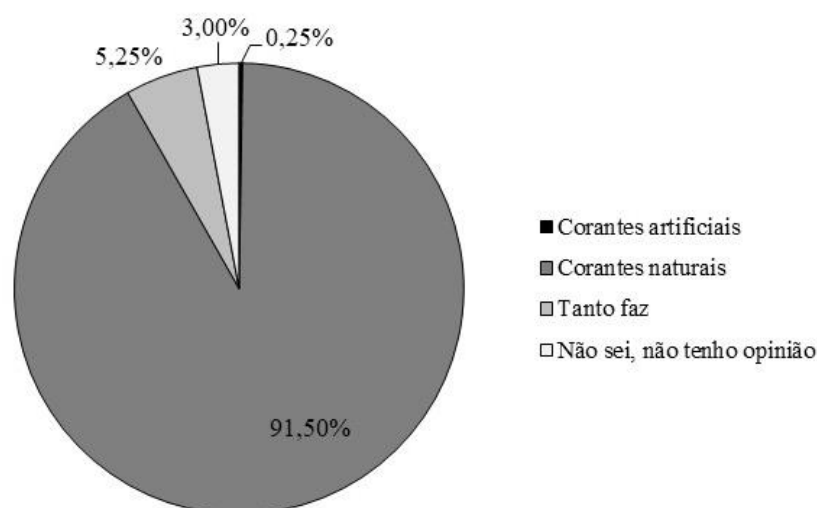
Fonte: elaboração própria (2021).

A percepção de risco é multidimensional, dado que pode ser influenciada por diversos fatores, como valores e crenças (FISCHHOFF, 1995). Nesse sentido, a diferença de potencial percepção de danos à saúde observada, em relação a ambos os corantes, pode ser justificada por vivências individuais passadas, medos, reflexões, crenças, confiabilidade na indústria de alimentos entre outros. Ademais, os meios de comunicação, como jornais, telejornais, mídias sociais, entre outros, são atuantes na percepção de risco do consumidor, uma vez que as informações advindas dessas fontes podem influenciar, em determinadas circunstâncias, as



opiniões e atitudes dos indivíduos (FISCHHOFF, 1995). Na Holanda, por exemplo, especialistas em alimentos indicaram que informações negativas sobre aditivos alimentares em mídias sociais são uma das principais causas de percepção de alto risco (VAN GUNST; ROODENBURG, 2019). Apesar desses inúmeros fatores envolvidos na percepção de risco, ressalta-se que tal estudo não avalia os principais aspectos associados à percepção de risco relatada pela população participante do estudo. Dessa forma, estudos exploratórios complementares poderão contribuir futuramente para a melhor compreensão desses fatores.

Quanto ao consumo de corantes nos alimentos, 91,5% dos entrevistados alegaram uma preferência pelo consumo de corantes naturais em relação aos artificiais, como observado na Figura 26. Esse resultado reflete bem a tendência de saudabilidade, nos padrões alimentares, do consumidor brasileiro. Resultado semelhante a esse, pode ser observado em estudo realizado por Marinho *et al.* (2007), onde foram observadas mudanças nas práticas alimentares, de populações do Distrito Federal, como consequência de uma maior preocupação com a saúde. Padrões de consumo e escolhas alimentares do consumidor são diretamente influenciados por fatores psicológicos, sociais, demográficos, econômicos e tecnológicos (MOR; SETHIA, 2013). Isso posto, salienta-se a importância da constante identificação e monitoramento desses indicadores, por parte da indústria, para o sucesso de estratégias de inovação.

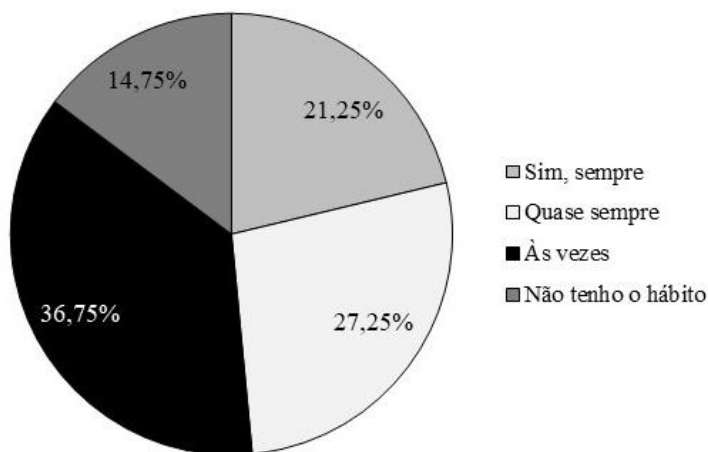


**Figura 26** - Preferência da população participante do estudo em relação ao consumo entre corantes artificiais e naturais.

Fonte: elaboração própria (2021).

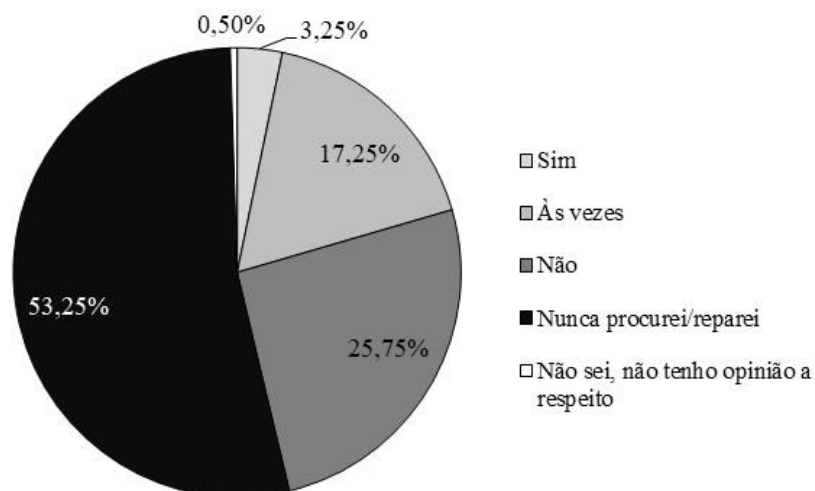
Em relação ao hábito de leitura de rótulos alimentares, 48,5% afirmaram que leem sempre e/ou quase sempre os rótulos durante a compra e/ou consumo de um produto alimentício, ressaltando-se que apenas 14,75% não possuem tal hábito, como mostrado na Figura 27. A partir desse resultado, é possível notar que consumidores estão cada vez mais conscientes em relação ao que consomem, visto que a informação é considerada fator chave para tomada de decisões positivas durante a compra e/ou consumo de um produto ou serviço (MOR; SETHIA, 2013). Não à toa, os elaboradores de políticas públicas no Brasil e na América Latina têm debatido intensamente o tema. Exemplo disso é a discussão e aprovação da nova Instrução Normativa (IN) 75/2020 sobre rotulagem nutricional na Anvisa, que objetivou melhorar a legibilidade das informações nutricionais contidas nos rótulos, permitindo a adoção de escolhas mais conscientes por parte do consumidor (BRASIL, 2020).

Esse hábito de leitura de rótulos alimentares pelos participantes do estudo é também observado em outros países. Em um estudo indiano realizado por Saha *et al.* (2013), com a participação de 316 adolescentes de 10 a 19 anos de idade, 88% afirmaram ler rótulos de alimentos, dos quais 50% informaram ler sempre e 31% alegaram ler às vezes. Já em um estudo realizado por Jackey, Cotugna e Orsega-Smith (2017) em Delaware, com a participação de 100 indivíduos adultos, 33% e 26% dos entrevistados tinham o hábito de ler sempre ou frequentemente o Painel de informações nutricionais nas embalagens dos alimentos e 76% afirmaram ler os rótulos presentes na frente das embalagens.



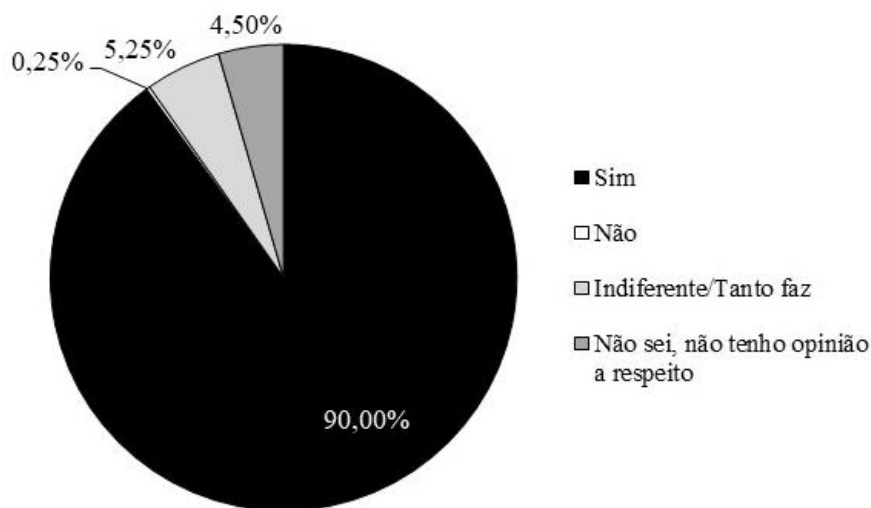
**Figura 27** - Hábito de leitura de rótulos de alimentos da população participante do estudo. Fonte: elaboração própria (2021).

Quanto à facilidade em encontrar alimentos aditivados com corantes naturais, 53,25% dos participantes do estudo nunca procuraram ou repararam em tais produtos. Em contrapartida, mais de ¼ dos entrevistados informou que não os encontra facilmente em estabelecimentos comerciais (mercado), como observado na Figura 28. Quando questionados se gostariam que houvesse mais opções de produtos alimentícios com a adição de corantes naturais/coloridos naturalmente, 90% demonstraram interesse (Figura 29). Esse resultado traz informações relevantes para o segmento agro alimentício, visto que poderá orientar novos estudos pautados na criação e/ou reformulação de linhas de pesquisa, visando o desenvolvimento de produtos que atendam às demandas mercadológicas emergentes oriundas de mudanças nos padrões de consumo.



**Figura 28** - Facilidade da população participante do estudo em encontrar produtos alimentícios no mercado com a adição de corantes naturais (coloridos naturalmente).

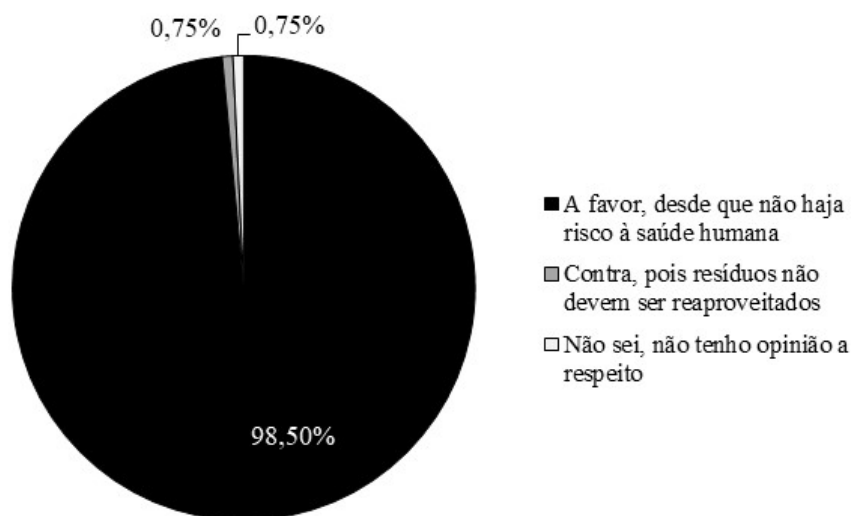
Fonte: elaboração própria (2021).



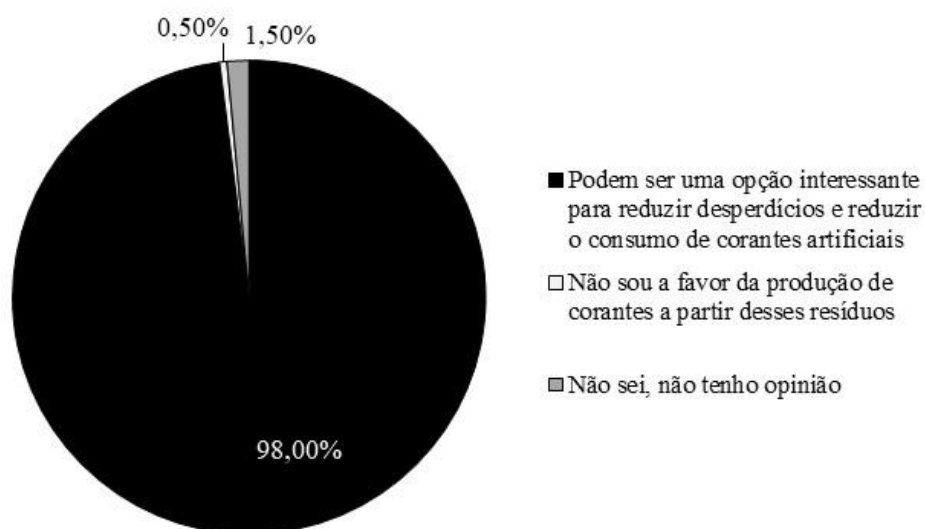
**Figura 29** - Opinião da população participante do estudo sobre a possibilidade de haver mais opções de produtos alimentícios no mercado com a adição de corantes naturais/coloridos naturalmente.

Fonte: elaboração própria (2021).

Em relação ao uso de resíduos vegetais e seus subprodutos para o desenvolvimento de novos produtos, 98,5% dos entrevistados são favoráveis, desde que não haja riscos à saúde humana, como visto na Figura 30. Adicionalmente, 98% acreditam que essas fontes naturais podem ser uma opção interessante para a produção de corantes naturais, visto que poderão contribuir para a redução de desperdícios, bem como o consumo de corantes artificiais, ressaltando-se que apenas 0,5% não são a favor da produção de corantes a partir desses resíduos e 1,5% não tem opinião a respeito (Figura 31). A boa aceitação quanto ao reuso dessas matérias-primas, em especial no setor agroalimentar, é também observada em um estudo realizado por Coderoni e Perito (2020), com a participação de 477 indivíduos italianos. Dos entrevistados, 56% estariam dispostos a comprar um produto alimentício feito com resíduos/subprodutos e 69% demonstraram intenção de compra, caso fosse útil ao meio ambiente. Ademais, 68% acreditavam que tais produtos alimentícios poderiam trazer benefícios ambientais e 43% alegaram que esses poderiam trazer benefícios para a saúde.



**Figura 30** - Opinião da população participante do estudo em relação ao reaproveitamento de resíduos vegetais para o desenvolvimento de novos produtos.  
 Fonte: elaboração própria (2021).



**Figura 31** - Opinião da população participante do estudo em relação ao reaproveitamento de resíduos vegetais para a produção de corantes naturais.  
 Fonte: elaboração própria (2021).

A boa aceitação observada quanto ao emprego de resíduos vegetais e seus subprodutos por parte da população brasileira participante do estudo, pode influenciar positivamente no processo de decisão da indústria alimentícia quanto à elaboração de produtos de valor agregado, considerando-se que uma resposta negativa, por parte dos consumidores, poderia ser fator determinante no estágio inicial de desenvolvimento. Ademais, é oportuno ressaltar que novas estratégias de desenvolvimento de produtos com resíduos/subprodutos vegetais devem estar

associadas a uma boa comunicação, haja vista que informações imprecisas e profusas em relação à segurança e benefícios que essas podem trazer à sociedade podem gerar aversões a esses novos alimentos, bem como aos processos tecnológicos empregados. Dessa forma, informações concisas e objetivas associadas a uma boa comunicação são essenciais para aumentar as chances de aceitação a novas tecnologias e produtos por parte da população (BRUHN, 2007).

#### 4.7 Preferência de compra e/ou de consumo entre amostras de gelatinas

Com o intuito de validar os nanobiopigmentos desenvolvidos como corantes naturais e futuros substitutos de compostos artificiais, um estudo conduzido junto à população foi realizado a fim de avaliar o comportamento desse público em uma situação de compra e/ou consumo de produtos alimentícios aditivados com tais substâncias. Dessa forma, para a realização do presente estudo, foram primeiramente selecionadas as gelatinas com corantes artificiais que mostraram maior similaridade colorimétrica (RGB) em relação àquelas contendo os pigmentos naturais nanoestruturados (Tabela 6). Sendo assim, gelatinas com corante artificial amarelo (tartrazina) foram comparadas àquelas contendo LPCA e MPCA, e amostras com os corantes artificiais vermelho (ponceau 4R + vermelho 40) e roxo (bordeaux + azul brilhante) foram comparadas àquelas possuindo LPCB e NPQPFR, respectivamente.

**Tabela 6** - Perfil médio de cor das amostras de gelatinas coloridas com corantes artificiais e com os nanobiopigmentos. Os perfis de cor são apresentados como uma representação gráfica colorimétrica obtida pelo programa Microsoft Word 2010, a partir dos valores médios de RGB.  
Fonte: elaboração própria (2021).

Gelatina	R'	G'	B'	Cor
Corante artificial tartrazina (amarelo)	161	171	62	
Corante artificial tartrazina + azul brilhante (verde)	76	164	10	
Corante artificial ponceau 4R + vermelho 40 (vermelho)	191	107	121	
Corante artificial bordeaux + azul brilhante (roxo)	167	144	173	
MPCA	158	160	8	
LPCA	142	131	1	
LPCB	153	48	33	
NPQPFR	167	113	152	

Para avaliar a preferência de compra e/ou consumo entre as gelatinas coloridas artificialmente em relação àquelas coloridas com os nanobiopigmentos, todas as amostras foram codificadas com 3 dígitos aleatórios, conforme visto na Tabela 7.

**Tabela 7** - Codificação das amostras de gelatinas coloridas com corantes artificiais e com os nanobiopigmentos.

Fonte: elaboração própria (2021).

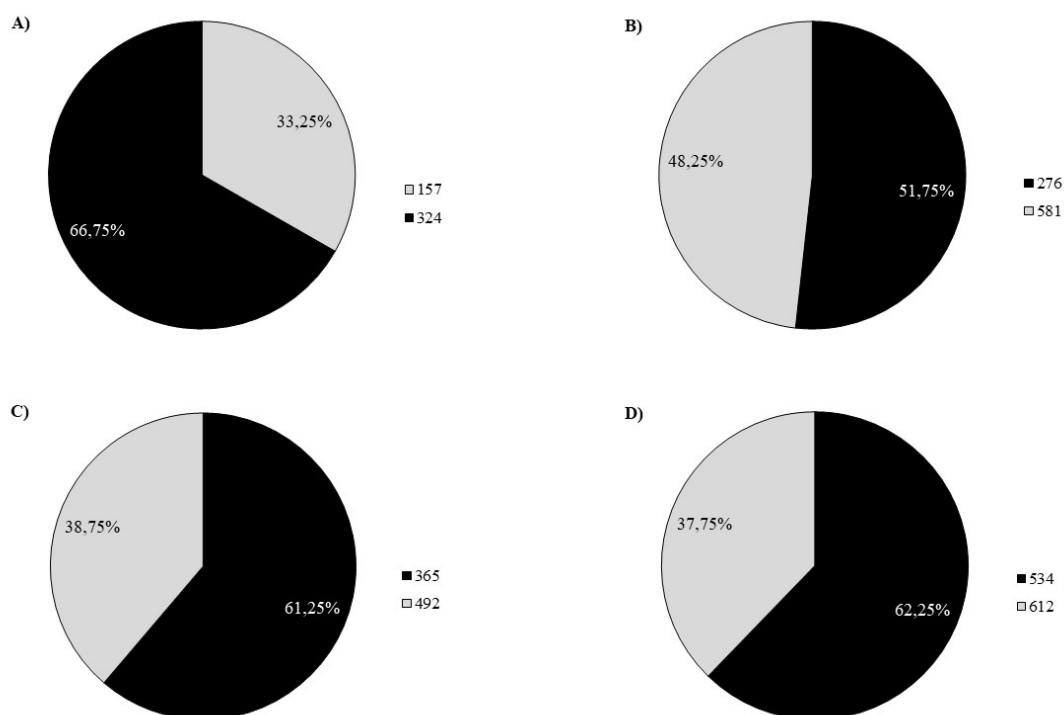
<b>Gelatina</b>	<b>Codificação</b>
Corante artificial tartrazina (amarelo)	276 e 612
Corante artificial ponceau 4R + vermelho 40 (vermelho)	157
Corante artificial bordeaux + azul brilhante (roxo)	492
MPCA	534
LPCA	581
LPCB	324
NPQPFR	365

As apresentações ocorreram de forma simultânea, sendo 1 amostra colorida artificialmente e 1 amostra colorida naturalmente com os nanobiopigmentos. A preferência de compra e/ou consumo foi realizada de forma visual (mediante apresentação de fotos), considerando a aparência como atributo de decisão, conforme visto no Anexo I. Foram recrutados voluntários que consumiam ou não gelatinas.

A Figura 32 mostra o percentual da preferência de compra e/ou consumo da população entre as amostras de gelatinas. É possível observar que as amostras de gelatinas coloridas com LPCB, NPQPFR e MPCA (códigos 324, 365 e 534, respectivamente) tiveram maior predileção de compra e/ou consumo, por parte da população, comparadas àquelas com corantes artificiais, conforme observado nas Figuras 32A, 32B e 32C. Apenas a gelatina contendo corante artificial tartrazina (código 276) apresentou maior preferência em relação àquela com LPCA (código 581), (Figura 32B).

Ademais, é possível notar que a amostra colorida naturalmente com LPCB (código 324) foi a que apresentou maior aceitação dentre todas. Por fim, constatou-se que as amostras coloridas com NPQPFR (código 365) e MPCA (código 534) apresentaram predileções

semelhantes quando comparadas com as coloridas artificialmente (61,25% e 62,25%, respectivamente), como mostrado nas Figuras 32C e 32D.



**Figura 32** - Preferência de compra e/ou consumo entre amostras de gelatinas com corantes artificiais e aditivadas com os pigmentos naturais nanoestruturados. **A)** 157 - gelatina com corante ponceau 4R + vermelho 40, 324 - gelatina com LPCB; **B)** 276 - gelatina com corante tartrazina, 581 - gelatina com LPCA; **C)** 365 - gelatina com NPQPFR, 492 - gelatina com corante bordeaux + azul brilhante; **D)** 534 - gelatina com MPCA, 612 - gelatina com corante tartrazina. Fonte: elaboração própria (2021).

A partir desses resultados, resíduos vegetais e seus subprodutos tornam-se recursos naturais com potencial para substituir corantes artificiais. Ademais, a boa aceitação observada para as amostras coloridas com os nanobiopigmentos é um sinal positivo de que o produto minimamente viável (MVP) desenvolvido soluciona o problema para o qual foi criado. Além disso, melhorias poderão ser adotadas com base no presente resultado, a fim de aumentar a aceitabilidade dos nanobiopigmentos e superar as expectativas dos consumidores, aumentando as chances de sucesso e aderência, futuramente, no mercado.

Essa estratégia de aplicação de entrevistas com potenciais consumidores é uma ferramenta simples, econômica e de extrema importância para a validação de uma nova ideia, dado que a



partir do entendimento do comportamento do público-alvo é possível comprovar se uma boa ideia corresponde, de fato, a um produto que atenda aos interesses e demandas reais do mercado (RIES, 2012). É por meio de feedbacks do público consumidor, que será possível avaliar se o projeto deverá seguir adiante ou não, maximizando o gerenciamento de tempo e recursos financeiros. Ademais, é somente a partir dessa troca de informações com o ambiente externo que possíveis falhas são identificadas e aprimoramentos podem ser realizados no produto final a partir do estabelecimento de métricas, antes de seu lançamento no mercado, e como o modelo de negócio será direcionado. Logo, ao pensar no desenvolvimento de um produto e/ou serviço, faz-se necessário, primeiramente, estudar o mercado a fim de entender a real necessidade do consumidor/cliente. Em seguida, a partir do problema identificado, uma proposta de valor é criada e um protótipo básico da solução principal é desenvolvido (MVP) para que potenciais interessados possam entender o produto/serviço. A partir desse processo, é possível mensurar a receptividade dos clientes e realizar melhorias antes de efetivar um lançamento no mercado (RIES, 2012). Logo, a utilização dessa metodologia possibilita encontrar recursos para reduzir gastos, otimizar processos e obter uma maior interação com o público-alvo. Com isso, maiores chances de sucesso podem ser alcançadas.

É oportuno destacar que tais resultados apresentados poderão divergir de estudos a serem realizados em outros países ou regiões do mundo, dado que razões sociais, culturais, históricas e/ou religiosas atuam sobre as atitudes do consumidor em relação aos alimentos (POPA; POPA, 2011). Ademais, deve-se considerar que ao longo do estudo de avaliação da predileção de compra e/ou consumo entre as amostras de gelatinas, termos relacionados à nanotecnologia não foram mencionados à população, fatores esses que podem influenciar o comportamento alimentar ou de compra dos consumidores, sendo assim, passíveis de serem investigados futuramente.

## 5. CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS

Resíduos vegetais (como cascas, talos e folhas) são ótimas alternativas para a obtenção de pigmentos naturais com perfis de cor variados, sendo folhas externas de repolho roxo (*Brassica oleracea* L. var. *capitata* f. *rubra*) e cascas de abóbora moranga (*Cucurbita maxima*), de abóbora híbrida tetsukabuto (*Cucurbita maxima* × *Cucurbita moschata*) e de beterraba (*Beta vulgaris* L.) as fontes de maior potencial para a produção de corantes naturais, dados os achados apresentados ao longo da presente dissertação.

O método de banho de ultrassom seguido de agitação magnética provou ser uma técnica simples e econômica, demonstrando ser um processo tecnológico com potencial de exploração, em escala industrial, para a obtenção de pigmentos naturais a partir de fontes diversas. Importante notar que esse método, além das qualidades já apontadas, requer um baixo consumo de energia, destacando-se como um processo eco amigável. Ademais, os solventes água, etanol 25% e etanol 96% provaram serem bons recursos extratores de pigmentos naturais, indicando que tais soluções extrativas podem ser alternativas promissoras ao uso de solventes orgânicos potencialmente nocivos ao meio ambiente e a saúde humana.

Em relação à nanoestruturação, lipossomas, micelas e nanopartículas poliméricas de quitosana foram capazes de minimizar a rápida degradação de pigmentos naturais ao longo do tempo de armazenamento avaliado. Ademais, tais nanossistemas, quando incorporados em gelatinas, apresentaram perfis de cores RGB mais próximos das amostras contendo os corantes artificiais tartrazina (amarelo), ponceau 4R + vermelho 40 (vermelho) e bordeaux + azul brilhante (roxo). Ao avaliar a preferência de compra e/ou consumo dessas amostras, constatou-se que as gelatinas coloridas naturalmente com LPCB, MPCA e NPQPFRR tiveram uma maior predileção em comparação àquelas aditivadas com corantes artificiais.

Para avaliar a possível implementação desses pigmentos naturais nanoestruturados (nanobiopigmentos) no setor industrial de alimentos, bem como em outras áreas, ressalta-se que estudos de caracterização de composição química, testes de solubilidade, testes de toxicidade e avaliações de reatividade química com componentes presentes em matrizes alimentares ainda precisam ser explorados em estudos futuros. Além disso, testes de estabilidade conduzidos sob variações de pH e temperatura elevada podem ser realizados, além de uma avaliação mais prolongada em relação ao tempo de prateleira (armazenamento).

Com relação ao perfil de consumo e percepção de risco de corantes artificiais e naturais presentes em alimentos, constatou-se que a grande maioria dos entrevistados acredita que corantes artificiais fazem mal à saúde, caso consumidos em excesso, e mais da metade declarou possuir um nível de preocupação elevado e/ou razoável quanto à presença desses compostos em alimentos. Apesar disso, constatou-se que tal fator não tem grande influência na frequência de consumo de produtos alimentícios com corantes sintéticos. Com relação à percepção do impacto de corantes naturais para a saúde, a grande maioria não os considera como potenciais fontes de risco e gostaria que houvesse mais opções de produtos alimentícios no mercado com a adição desses. Ademais, vê-se uma maior tendência de padrões alimentares mais saudáveis pela população. Ressalta-se que a avaliação da percepção de risco em relação ao consumo de alimentos com nanotecnologias ainda precisa ser investigada em estudos futuros.

Espera-se que os resultados obtidos nessa dissertação possibilitem o aprimoramento das estratégias tecnológicas para o aumento da estabilidade de pigmentos naturais provenientes de resíduos vegetais, sobretudo mediante o uso de nanotecnologia. Com isso, seria possível a produção de potenciais substitutos estáveis, econômicos e tecnologicamente viáveis de corantes artificiais. No âmbito industrial, almeja-se que os resultados alcançados contribuam para a exploração de novas fontes para a produção de corantes naturais, visando a atender a atual demanda do mercado por produtos mais saudáveis.

## 6. REFERÊNCIAS

ABCSEM. Associação Brasileira do Comércio de Sementes e Mudas. Dados do setor. Disponível em: <<http://www.abcsem.com.br/dados-dosetor>>. Acesso em: 20 mar. 2020.

AKBARZADEH, A. *et al.* Liposome: classification, preparation, and applications. **Nanoscale research letters**, v. 8, n. 1, p. 1-9, 2013.

ALI, M. E.; LAMPRECHT, A. Spray freeze drying as an alternative technique for lyophilization of polymeric and lipid-based nanoparticles. **International journal of pharmaceutics**, v. 516, n. 1-2, p. 170-177, 2017.

ALI, O-H. *et al.* Effect of different extraction methods on stability of anthocyanins extracted from red onion peels (*Allium cepa*) and its uses as food colorants. **Bulletin of the National Nutrition Institute of the Arab Republic of Egypt**, v. 47, n. 2, p. 1-24, 2016.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIAL. Zeta Potential of colloids in water and waste water. ASTM standard D. p. 4182-4187. 1985.

AMJADI, S. *et al.* Improvement in the stability of betanin by liposomal nanocarriers: Its application in gummy candy as a food model. **Food Chemistry**, v. 256, p. 156-162, 2018.

ANDREO, D; JORGE, N. Antioxidantes naturais: técnicas de extração. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 24, n. 2, p. 319-336, 2006.

AZEREDO, H. M. C. Encapsulação: aplicação à tecnologia de alimentos. **Alimentos e Nutrição**, v. 16, n. 1, p. 89-95, 2005.

BALASUBRAMANIAN, P. *et al.* One-step green synthesis of colloidal gold nanoparticles: a potential electrocatalyst towards high sensitive electrochemical detection of methyl parathion in food samples. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 87, p. 83-90, 2018.

BARRETT, K. E. *et al.* **Fisiologia médica de Ganong**. 24. ed. Porto Alegre: AMGH, 2013.

BATISTA, C. M.; CARVALHO, C. M. B.; MAGALHÃES, N. S. S. Lipossomas e suas aplicações terapêuticas: Estado da arte. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 43, p. 167-179, 2007.

BAYARRI, S. *et al.* Influence of color perception of sweetness and fruit flavor of fruit drink. **Food Science and Technology International**, v. 7, n. 5, p. 399-404, 2001.

BOBBIO, P. A.; BOBBIO, F. O. **Química do processamento de alimentos**. 3. ed. São Paulo: Varela, 1992.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Instrução Normativa - IN nº 75, de 8 de outubro de 2020. Estabelece os requisitos técnicos para declaração da rotulagem nutricional nos alimentos embalados. **Diário Oficial da União**, Brasília, out. 2020. Disponível em:

[http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/3882585/IN\\_75\\_2020\\_COMP.pdf/e89784b5-ed18-4bdd-a4d4-139724a56d4d](http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/3882585/IN_75_2020_COMP.pdf/e89784b5-ed18-4bdd-a4d4-139724a56d4d).

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 03, de 15 de janeiro de 2007. Dispõe sobre o uso de aditivos alimentares, estabelecendo suas funções e seus limites máximos para a categoria de alimentos: gelados comestíveis. **Diário Oficial da União**, Brasília, jan. 2007. Disponível em: <

[http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/%281%29RDC\\_03\\_2007\\_COMP.pdf/56ca086e-5ae6-4b4b-b227-288a40138051](http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/%281%29RDC_03_2007_COMP.pdf/56ca086e-5ae6-4b4b-b227-288a40138051)>. Acesso em: 28/04/2020.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 04, de 15 de janeiro de 2007. Dispõe sobre o uso de aditivos alimentares, estabelecendo suas funções e seus limites máximos para a categoria de alimentos: molhos e condimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, jan. 2007. Disponível em: <

[http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/%283%29RDC\\_04\\_2007\\_COMP.pdf/db18b718-db42-4dda-b7f7-e27b66c64325](http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/%283%29RDC_04_2007_COMP.pdf/db18b718-db42-4dda-b7f7-e27b66c64325)>. Acesso em: 28/04/2020.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 285, de 21 de maio de 2019. Dispõe sobre a proibição do uso de aditivos alimentares contendo alumínio em diversas categorias de alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, mai. 2019. Disponível em: <

[http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/5141616/%281%29RDC\\_285\\_2019\\_.pdf/41dbaa17-5b22-4d78-9100-2793a003e8c5](http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/5141616/%281%29RDC_285_2019_.pdf/41dbaa17-5b22-4d78-9100-2793a003e8c5)>. Acesso em: 28/04/2020.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 387, de 5 de agosto de 1999. Dispõe sobre o uso de aditivos alimentares, estabelecendo suas funções e seus limites máximos para a categoria de alimentos: balas, confeitos, bombons e similares. **Diário Oficial da União**, Brasília, ago. 1999. Disponível em:

<[http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/RES\\_387\\_1999\\_COMP.pdf/217a7741-2e1b-41b9-9dfc-9948750bc457](http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/RES_387_1999_COMP.pdf/217a7741-2e1b-41b9-9dfc-9948750bc457)>. Acesso em: 28/04/2020.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 388, de 5 de agosto de 1999. Dispõe sobre o uso de aditivos alimentares, estabelecendo suas funções e seus limites máximos para a categoria de alimentos: sobremesas. **Diário Oficial da União**, Brasília, ago. 1999. Disponível em: <

[http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/RES\\_388\\_1999\\_COMP.pdf/6bb3e017-b7c6-4c78-af51-d13ff01fb118](http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/RES_388_1999_COMP.pdf/6bb3e017-b7c6-4c78-af51-d13ff01fb118)>. Acesso em: 28/04/2020.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 60, de 5 de setembro de 2007. Dispõe sobre o uso de aditivos alimentares, estabelecendo suas funções e seus limites máximos para a categoria de alimentos: cereais e produtos de ou a base de cereais. **Diário Oficial da União**, Brasília, set. 2007. Disponível em: <

[http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/RDC\\_60\\_2007\\_COMP.pdf/4b7e9abd-387b-4093-b6e9-74f2f3b0c8f7](http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/RDC_60_2007_COMP.pdf/4b7e9abd-387b-4093-b6e9-74f2f3b0c8f7)>. Acesso em: 28/04/2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos. Resolução nº 44, de 25 de novembro de 1977. Dispõe sobre as condições gerais de elaboração,

classificação, apresentação, designação, composição e fatores essenciais de qualidade dos corantes empregados na produção de alimentos (e bebidas). **Diário Oficial da União**, Brasília, fev. 1978. Disponível em: <[http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/391619/RESOLUCAO\\_CNNPA\\_44\\_1977.pdf/b8d43a0d-5c1b-4be1-ba69-67f69cf55446](http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/391619/RESOLUCAO_CNNPA_44_1977.pdf/b8d43a0d-5c1b-4be1-ba69-67f69cf55446)>. Acesso em: 20/01/2020.

BRUHN, Christine M. Enhancing consumer acceptance of new processing technologies. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 8, n. 4, p. 555-558, 2007.

BUCHLER, S., SMITH, K., LAWRENCE, G. Food risks, old and new demographic characteristics and perceptions of food additives, regulation and contamination in Australia. **Journal of Sociology**, v. 46, n. 4, p. 353–374, 2010.

CAROCHO, M. *et al.* Adding molecules to Food, pros and cons: a review of synthetic and natural food additives. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 13, p. 377-399, 2014.

CHEDEA, V. S. *et al.* Patterns of carotenoid pigments extracted from two orange peel wastes (Valencia and Navel var.). **Journal of Food Biochemistry**, v. 34, n. 1, p. 101-110, 2010.

CHEN, X. Y. *et al.* Black Rice Anthocyanins Suppress Metastasis of Breast Cancer Cells by Targeting RAS/RAF/MAPK Pathway. **BioMed Research International**, p. 1-11, 2015.

CHI, J. *et al.* Preparation of nanoliposomal carriers to improve the stability of anthocyanins. **LWT**, v. 109, p. 101-107, 2019.

CLARK, J.; MACQUARRIE, D. **Handbook of Green Chemistry and Technology**. 1. ed. Blackwell Science, 2002.

CLYDESDALE, F. M. Color as a factor in food choice. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 33, n. 1, p. 83-101, 1993.

CLYDESDALE, F. M. Color perception and food quality. **Journal of Food Quality**, v. 14, n. 1, p. 61-74, 1991.

CODERONI, S.; PERITO, M. A. Sustainable consumption in the circular economy. An analysis of consumers' purchase intentions for waste-to-value food. **Journal of Cleaner Production**, v. 252, p. 119870, 2020.

CONSTANT, P. B. L.; STRINGHETA, P. C.; SANDI, D. Corantes alimentícios. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 20, n. 2, p. 203–220, 2002.

CORBIN, C. *et al.* Development and validation of an efficient ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from flax (*Linum usitatissimum L.*) seeds. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 26, p.176-185, 2015.

DALTIN, D. **Tensoativos: química, propriedades e aplicações**. Editora Blucher, 2011.

DE MEJIA, E. G. *et al.* The colors of health: chemistry, bioactivity, and market demand for colorful foods and natural food sources of colorants. **Annual Review of Food Science and Technology**, v. 11, n. 1, p. 1-38, 2020.

DE PAZ, E. *et al.* Production of water-soluble  $\beta$ -carotene micellar formulations by novel emulsion techniques. **Chemical Engineering and Processing: Process Intensification**, v. 74, p. 90-96, 2013.

DE SOUZA, V. B. *et al.* Effect of spray drying on the physicochemical properties and color stability of the powdered pigment obtained from vinification byproducts of the Bordo grape (*Vitis labrusca*). **Food and Bioproducts Processing**, v. 93, p. 39-50, 2015.

DELGADO-VARGAS, F.; JIMÉNEZ, A. R.; PAREDES-LÓPEZ, O. Natural pigments: carotenoids, anthocyanins, and betalains—characteristics, biosynthesis, processing, and stability. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 40, n. 3, p. 173-289, 2000.

DERRIEN, M. *et al.* Optimization of a green process for the extraction of lutein and chlorophyll from spinach by-products using response surface methodology (RSM). **LWT-Food Science and Technology**, v. 79, p. 170-177, 2017.

FAO. Perdas e desperdícios de alimentos na América Latina e no Caribe, 2017. Disponível em: <<http://www.fao.org/brasil/noticias/detail-events/en/c/1053836/>>. Acesso em: 20 mar. 2020.

FARGES, F. *et al.* Speciation and weathering of copper in “copper red ruby” medieval flashed glasses from the Tours cathedral (XIII century). **Applied Geochemistry**, v. 21, n. 10, p. 1715-1731, 2006.

FEITOSA-SANTANA, C. Espaço de cores. **Psicologia USP**, v. 17, n. 4, p. 35-62, 2006.

FERNANDES, F. A. N. *et al.* Ultrasound-assisted extraction of anthocyanins and phenolics from jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) peel: kinetics and mathematical modeling. **Journal of Food Science and Technology**, 2020. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04270-3>.

FONT-I-FURNOLS, M.; GUERRERO, L. Consumer preference, behavior and perception about meat and meat products: An overview. **Meat science**, v. 98, n. 3, p. 361-371, 2014.

FORD, A.; ROBERTS, A. **Colour space conversions**. Londres: Westminster University, 1998.

FREITAS, C.; MÜLLER, R. H. Spray-drying of solid lipid nanoparticles (SLNTM). **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 46, n. 2, p. 145-151, 1998.

GASPAR, A. **Compreendendo a Física**. 2. ed. São Paulo: Ática, 2013.

- GENGATHARAN, A.; DYKES, G. A.; CHOO, W. S. Betalains: Natural plant pigments with potential application in functional foods. **Food Science and Technology**, v. 64, n. 2, p. 645-649, 2015.
- GHORBANZADE, T. *et al.* Nano-encapsulation of fish oil in nano-liposomes and its application in fortification of yogurt. **Food Chemistry**, v. 216, n. 1, p. 146-152, 2017.
- GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química nova**, v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007.
- GODDARD, W. A. *et al.* **Handbook of nanoscience, engineering, and technology**. 2. ed. Nova York: CRC Press, 2007.
- GUIMARÃES, L. **A cor como informação**. 3. ed. São Paulo: Annablume, 2004.
- HALL, K. D. *et al.* The progressive increase of food waste in America and its environmental impact. **Plos ONE**, v. 4, n. 11, 2009.
- HE, B. *et al.* Loading of anthocyanins on chitosan nanoparticles influences anthocyanin degradation in gastrointestinal fluids and stability in a beverage. **Food Chemistry**, v. 221, p. 1671-1677, 2017.
- HORNYAK, G. L. *et al.* **Introduction to Nanoscience and Nanotechnology**. 1. ed. Nova York: CRC Press, 2008.
- HUSSAIN, E. A.; SADIQ, Z.; ZIA-UL-HAQ, M. Analysis of Betalains. **Betalains: Biomolecular Aspects**. Springer, p. 139-164, 2018.
- IBRAHEEM, N. A. *et al.* Understanding color models: A review. **Journal of Science and Technology**, v. 2, n. 3, p. 265-275, 2012.
- IMRAM, N. The role of visual cues in consumer perception and acceptance of a food product. **Nutrition & Food Science**, v. 99, n. 5, p. 224-230, 1999.
- ISHAD, P. M.; CHEZIAN, R. M. Various colour spaces and colour space conversion algorithms. **Journal of Global Research in Computer Science**, v. 4, n. 1, p. 44-48, 2013.
- JACKEY, B. A.; COTUGNA, N.; ORSEGA-SMITH, E. Food label knowledge, usage and attitudes of older adults. **Journal of nutrition in gerontology and geriatrics**, v. 36, n. 1, p. 31-47, 2017.
- JUNKA, N. *et al.* Comparative study of organic solvents and extraction conditions on colour and antioxidant capacity in red cabbage. **International Food Research Journal**, v. 24, n. 2, p. 518, 2017.



- KAYS, S. J. Preharvest factors affecting appearance. **Postharvest Biology and Technology**, v. 15, n. 3, p. 233-247, 1999.
- KIM, G. *et al.* A microfluidic nano-biosensor for the detection of pathogenic *Salmonella*. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 67, p. 243-247, 2015.
- KIRK, S. F. L. Public perception of a range of potential food risks in the United Kingdom. **Appetite**, v. 38, p. 189-197, 2002.
- KUEHNI, R. G.; SCHWARZ, A. **Color ordered: a survey of color systems from antiquity to the present**. Oxford University Press, 2008.
- KUSHWAHA, R. *et al.* Optimization of different variable for eco-friendly extraction of betalains and phytochemicals from beetroot pomace. **Waste Biomass Valorization**, p. 9-17, 2017.
- LEE, B. -B., RAVINDRA, P., CHAN, E.-S. Size and shape of calcium alginate beads produced by extrusion dripping. **Chemical Engineering & Technology**, v.36, n. 10, p. 1627-1642, 2013.
- LEUNG, M. H. M. *et al.* Encapsulation of curcumin in cationic micelles suppresses alkaline hydrolysis. **Langmuir**, v. 24, n. 11, p. 5672-5675, 2008.
- LI, D. *et al.* Purified anthocyanin supplementation reduces dyslipidemia, enhances antioxidant capacity, and prevents insulin resistance in diabetic patients. **The Journal of Nutrition**, v. 145, n. 4, p. 742-748, 2015.
- LINDMAN, B., WENNERSTRÖM, H. Micelles. **Micelles**, p. 1-83, 1980.
- LINDSAY, S. M. **Introduction to nanoscience**. 1. ed. Oxford: OUP Oxford, 2009.
- MA, Y. *et al.* Development and optimization of dynamic gelatin/chitosan nanoparticles incorporated with blueberry anthocyanins for milk freshness monitoring. **Carbohydrate Polymers**, v. 247, p. 116738, 2020.
- MARCHETTO, A. M. P. *et al.* Avaliação das partes desperdiçadas de alimentos no setor de hortifrutí visando seu reaproveitamento. **Revista Simbio-Logias**. v. 1, n. 2, 2008.
- MARCONE, G. P. S. Nanotecnologia e nanociência: aspectos gerais, aplicações e perspectivas no contexto do Brasil. **Perspectivas da Ciência e Tecnologia**. v. 7, n. 2, 2015.
- MARINHO, M. C. S. *et al.* Práticas e mudanças no comportamento alimentar na população de Brasília, Distrito Federal, Brasil. **Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil**, v. 7, 251-261, 2007.
- MARKAKIS, P. **Anthocyanins as food colors**. 1. ed. Nova York: Academic Press, 1982.

MARTINS, C. R.; FARIAS, R. M. Produção de alimentos x desperdícios: tipos, causas e como reduzir perdas na produção agrícola - revisão. **Revista da Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia**, v. 9, n. 1, p. 83-93, 2002.

MCCLEMENTS, D. J. Advances in the application of ultrasound in food analysis and processing. **Trends In Food Science and Technology**, v. 6, n. 9, p. 293-299, 1995.

MELLO, F. R. *et al.* Antioxidant properties, quantification and stability of betalains from pitaya (*Hylocereus undatus*) peel. **Ciência Rural**, v. 45, p. 323-328, 2014.

MIRAFZALI, Z.; THOMPSON, C. S.; TALLUA, K. Application of liposomes in the food industry. In: **Microencapsulation in the food industry**. Academic Press, 2014. p. 139-150.

MOR, K; SETHIA, S. Factors that influence household and individual food consumption: A review of research and related literature. **Management Insight**, v. 9, n. 2, p. 14-17, 2013.

MULINACCI, N. *et al.* Stabilisation of natural anthocyanins by micellar systems. **International journal of pharmaceutics**, v. 216, n. 1-2, p. 23-31, 2001.

PIMENTEL-GOMES, F. Curso de Estatística Experimental. Piracicaba: ESALQ, 1985.

POPA, M.E.; POPA, A. Consumer behavior: determinants and trends in novel food choice. In: **Novel technologies in food science**. Springer, New York, NY, 2012. p. 137-156.

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

PRINCIPATO, L. Food waste at consumer level: A comprehensive literature review, 2018.

PRITCHARD, D. H. U. S. Color television fundamentals: a review. **SMPTE Journal**, v. 86, n. 11, p. 819-828, 1977.

RAMESH, M.; MUTHURAMAN, A. Flavoring and coloring agents: Health risks and potential problems. In: GRUMEZESCU, A. M.; HOLBAN, A.M. **Natural and artificial flavoring agents and food dyes**. 1. ed. Waltham: Academic Press, 2018. cap. 1, p. 1-28.

RAVANFAR, R. *et al.* Preservation of anthocyanins in solid lipid nanoparticles: Optimization of a microemulsion dilution method using the Plackett–Burman and Box–Behnken designs. **Food Chemistry**, v. 199, n. 15, p. 573–580, 2016.

RECHNER, A. R.; KRONER, C. Anthocyanins and colonic metabolites of dietary polyphenols inhibit platelet function. **Thrombosis Research**, v. 116, n. 4, p. 327-334, 2005.

REDCORN, R.; FATEMI, S.; ENGELBERTH, A. S. Comparing end-use potential for industrial food-waste sources. **Engineering**, v. 4, n. 3, p. 371-380, 2018.

REIS, C. P. *et al.* Nanoencapsulation I. Methods for preparation of drug-loaded polymeric nanoparticles. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, v. 2, n. 1, p. 8-21, 2006.

RIES, E. **A startup enxuta: como os empreendedores atuais utilizam a inovação contínua para criar empresas extremamente bem-sucedidas**. 1. ed. São Paulo: Leya, 2012.

RISK, E. M.; EL-KADY, A.T.; EL-BIALY A. R. Characterization of carotenoids (lyco-red) extracted from tomato peels and its uses as natural colorants and antioxidants of ice cream. **Annals of Agricultural Science**, v. 59, n. 1, p. 53-61, 2014.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Update on natural food pigments - A mini-review on carotenoids, anthocyanins, and betalains. **Food Research International**, 2018.

SABLIOV, C. M.; ASTETE, C. E. Polymeric nanoparticles for food applications. **Nanotechnology and functional foods: Effective delivery of bioactive ingredients**, p. 272, 2015.

SAHA, S. *et al.* Knowledge and practices of using food label information among adolescents attending schools in Kolkata, India. **Journal of nutrition education and behavior**, v. 45, n. 6, p. 773-779, 2013.

SAINI, R. K.; KEUM, Y-S. Carotenoid extraction methods: A review of recent developments. **Food chemistry**, v. 240, p. 90-103, 2018.

SARWAR, M. S. *et al.* Preparation and characterization of PVA/nanocellulose/Ag nanocomposite films for antimicrobial food packaging. **Carbohydrate Polymers**, v. 184, n. 1, p. 453-464, 2018.

SATO, G. S. *et al.* Tendência de mercado para corantes na indústria de alimentos. **Agricultura em São Paulo**, v. 39, n. 1, p. 1-50, 1992.

SCHAFFAZICK, S. R. *et al.* Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos. **Química nova**, v. 26, p. 726-737, 2003.

SCHIOZER, A. L., Barata, L. E. S. Estabilidade de corantes e pigmentos de origem vegetal. 2013.

SHAILESH, S. *et al.* Liposomes: a review. **J Pharm Res**, v. 2, n. 7, p. 1163-67, 2009.

SHARMA, M.; BHAT, R. Extraction of carotenoids from pumpkin peel and pulp: Comparison between innovative green extraction technologies (ultrasonic and microwave-assisted extractions using corn oil). **Foods**, v. 10, n. 4, p. 787, 2021.

SILVA, M. C. *et al.* Use of jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) depulping residue to produce a natural pigment powder with functional properties. **LWT - Food Science and Technology**, v. 55, n. 1, p. 203-209, 2014.

SILVEIRA, L.M. **Introdução à teoria da cor**. 2. ed. Curitiba: UTFPR, 2015.

SONG, X. Q.; YE, Lin; YANG, X. B. Comparative study of three methods for extraction of purple cabbage pigment. **Food Sci**, v. 32, p. 74-77, 2011.

SOPPIMATH, K. S. *et al.* Biodegradable polymeric nanoparticles as drug delivery devices. **Journal of controlled release**, v. 70, n. 1-2, p. 1-20, 2001.

TAN, C. *et al.* Liposomes as delivery systems for carotenoids: comparative studies of loading ability, storage stability and in vitro release. **Food & function**, v. 5, n. 6, p. 1232-1240, 2014.

TORTORA, G. J.; DERRICKSON, B. **Corpo humano: fundamentos de fisiologia e anatomia**. 10. ed. Porto Alegre: ArtMed, 2017.

VAN GUNST, A.; ROODENBURG, A. J. C. Consumer distrust about e-numbers: a qualitative study among food experts. **Foods**, v. 8, n. 5, p. 178, 2019.

VERNÈS, L. *et al.* Ultrasound and microwave as green tools for solid-liquid extraction. In: **Liquid-phase extraction**. Elsevier, 2020. p. 355-374.

WALSH, L. M. *et al.* Color preference and food choice among children. **The Journal of Psychology**, v. 124, n. 6, p. 645-653, 1990.

WAND, N. I. Assessment of chemical factors in relation to child hyperactivity. **Journal of Nutritional & Environmental Medicine**, v. 7, n. 4, p. 333-342, 1997.

WENNERSTRÖM, H.; LINDMAN, B. Micelles. Physical chemistry of surfactant association. **Physics Reports**, v. 52, n. 1, p. 1-86, 1979.

WILLIAMS, P., STIRLING, E., KEYNES, N. Food fears: A national survey on the attitudes of Australian adults about the safety and quality of food. **Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition**, v. 13, n. 1, p. 32-39, 2004.

WU, D.; SUN, D. W. Colour measurements by computer vision for food quality control - a review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 29, n. 1, p. 5-20, 2013.

ZANONI, M. V. B.; YANAMAKA, H. **Corantes: caracterização química, toxicológica, métodos de detecção e tratamentos**. 1. ed. São Paulo: UNESP, 2016.

ZIN, M. M.; MÁRKI, E.; BÁNVÖLGYI, Sz. Conventional extraction of betalain compounds from beetroot peels with aqueous ethanol solvent. **Acta Alimentaria**, v. 49, n. 2, p. 163-169, 2020.

## 7. ANEXOS

### ANEXO I QUESTIONÁRIO

**Nome completo:**

**Idade:** ( ) 18-25 anos ( ) 26-35 anos ( ) 36-45 anos ( ) 46-55 anos ( ) 56-65 anos ( ) acima de 66 anos

**Sexo:** ( ) Feminino ( ) Masculino ( ) Outro ( ) Prefiro não responder

**Onde mora (estado):**

**Profissão ou Curso (se estudante):**

**Nível de instrução:** ( ) Ensino fundamental incompleto ( ) Ensino fundamental completo

( ) Ensino médio incompleto ( ) Ensino médio completo ( ) Ensino superior incompleto

( ) Ensino superior completo ( ) Pós-graduação incompleta ( ) Pós-graduação completa

( ) Mestrado incompleto ( ) Mestrado completo ( ) Doutorado incompleto ( ) Doutorado incompleto ( ) Outro

**1. Você possui o hábito de consumir alimentos com corantes artificiais/coloridos artificialmente (ex: sucos industrializados, biscoitos recheados, salgadinhos, refrigerantes, gelatinas, sorvetes, chicletes, etc.)?**

( ) Sim, diariamente

( ) Sim, semanalmente

( ) Sim, mensalmente

( ) Não, dificilmente consumo alimentos coloridos artificialmente

( ) Não sei, não tenho opinião a respeito

**2. Qual a sua opinião sobre corantes artificiais para a saúde?**

( ) Fazem mal à saúde, caso consumidos em excesso

( ) São indiferentes à saúde

( ) Fazem bem à saúde

( ) Não sei, não tenho opinião a respeito

**3. Qual a sua opinião sobre corantes naturais para a saúde?**

( ) Fazem mal à saúde, caso consumidos em excesso

( ) São indiferentes à saúde

( ) Fazem bem à saúde

Não sei, não tenho opinião a respeito

**4.** Em relação a ambos os corantes, tendo a opção, qual deles você prefere consumir em alimentos?

Corantes artificiais

Corantes naturais

Tanto faz

Não sei, não tenho opinião

**5.** Cascas de frutas, de legumes, de verduras, etc., são amplamente desperdiçadas no Brasil. Qual a sua opinião sobre o reaproveitamento desses resíduos para desenvolver novos produtos?

A favor, desde que não haja risco à saúde humana

Contra, pois resíduos não devem ser reaproveitados

Não sei, não tenho opinião a respeito

**6.** Qual a sua opinião sobre a produção de corantes naturais a partir de cascas de frutas, de legumes, de verduras, etc.?

Podem ser uma opção interessante para reduzir desperdícios e reduzir o consumo de corantes artificiais

Não sou a favor da produção de corantes a partir desses resíduos

Não sei, não tenho opinião

**7.** Quais as formas mais comuns de você consumir alimentos coloridos artificialmente (poderá marcar mais de uma opção):

Balas, jujubas e gelatinas

Biscoitos

Salgadinhos

Refrigerantes

Sucos e refrescos industrializados

Bolos confeitados

Flans e pudins industrializados

Sorvetes

Outros

Não consumo

Não tenho opinião a respeito

**08.** Qual o seu nível de preocupação quanto à presença de corantes artificiais adicionados nos alimentos?

- Elevado
- Razoável
- Baixo
- Nenhuma preocupação a respeito
- Não tenho opinião a respeito

**09.** Qual o seu nível de preocupação quanto à presença de corantes naturais adicionados nos alimentos?

- Elevado
- Razoável
- Baixo
- Nenhuma preocupação a respeito
- Não tenho opinião a respeito

**10.** Você tem o hábito de ler os rótulos dos alimentos?

- Sim, sempre
- Quase sempre
- Às vezes
- Não tenho o hábito

**11.** Atualmente, você consegue encontrar com facilidade produtos alimentícios no mercado com a adição de corantes naturais (coloridos naturalmente)?

- Sim
- Às vezes
- Não
- Nunca procurei/reparei
- Não sei, não tenho opinião a respeito

**12.** Você gostaria que houvesse mais opções de produtos alimentícios no mercado com a adição de corantes naturais (coloridos naturalmente)?

- Sim
- Não
- Indiferente/Tanto faz

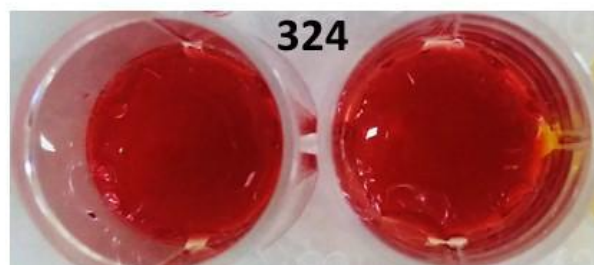
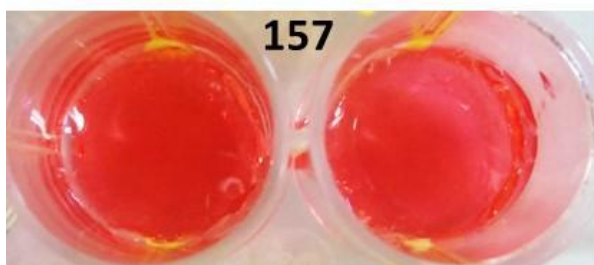
( ) Não sei, não tenho opinião a respeito

### **Avaliação da preferência de compra e/ou consumo de amostras de gelatinas**

1. Logo abaixo, encontram-se amostras de gelatina codificadas. Qual dessas gelatinas você compraria e/ou optaria para o consumo levando em consideração a aparência?

( ) 157

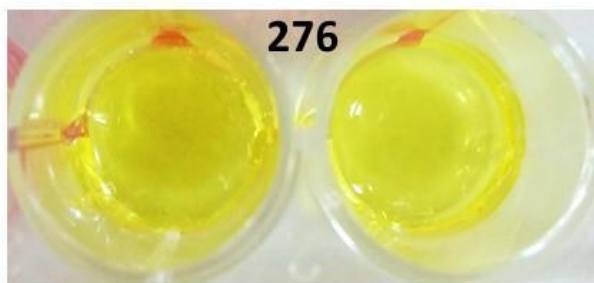
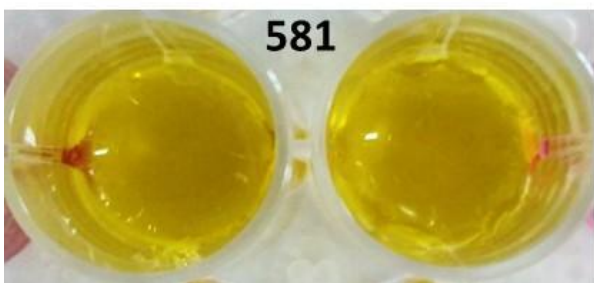
( ) 324



2. Logo abaixo, encontram-se amostras de gelatina codificadas. Qual dessas gelatinas você compraria e/ou optaria para o consumo levando em consideração a aparência?

( ) 581

( ) 276

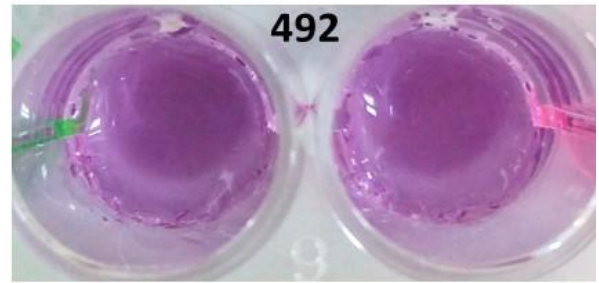
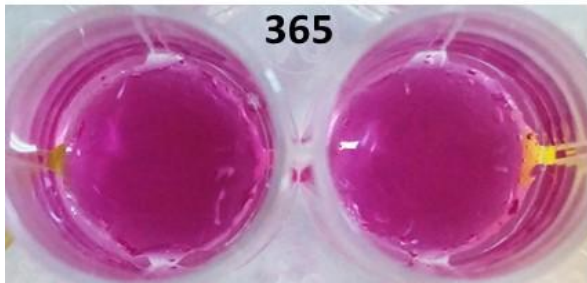


3. Logo abaixo, encontram-se amostras de gelatina codificadas. Qual dessas gelatinas você compraria e/ou optaria para o consumo levando em consideração a aparência?

( ) 365

( ) 492

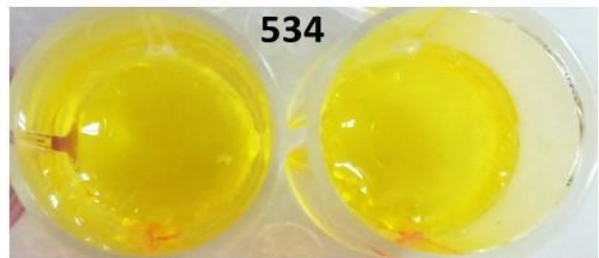
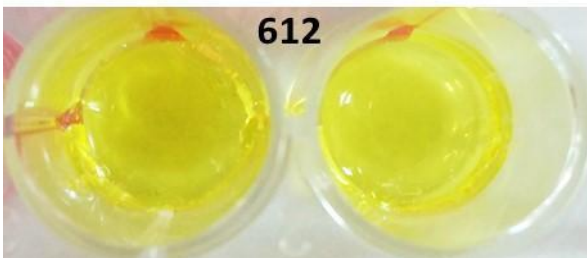




4. Logo abaixo, encontram-se amostras de gelatina codificadas. Qual dessas gelatinas você compraria e/ou optaria para o consumo levando em consideração a aparência?

( ) 612

( ) 534



## ANEXO II

# PARECER CONSUBSTANCIADO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

UNB - FACULDADE DE  
CIÊNCIAS DA SAÚDE DA  
UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Titulo da Pesquisa:** Síntese de nanossistemas à base de biopigmentos extraídos de resíduos de matrizes vegetais e suas aplicações na impressão tridimensional de alimentos

**Pesquisador:** VICTORIA BAGGI DE MENDONCA LAURIA

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 43059321.1.0000.0030

**Instituição Proponente:** Programa de Pós-Graduação em Nanociência e Nanotecnologia

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 4.630.250

#### Apresentação do Projeto:

Conforme documento "Projeto\_Comite\_de\_Etica\_em\_Pesquisa\_nv\_18\_mar\_2021.pdf", postado em 18/03/2021:

Resumo: "A aceitação de um alimento pelo ser humano está diretamente relacionada à sua cor, em virtude de esta ser o primeiro atributo sensorial posto em julgamento. Por essa razão, a indústria alimentícia faz uso crescente de corantes artificiais em seus produtos. Todavia, devido às mudanças nos hábitos alimentares da população, bem como à sua maior conscientização em relação aos malefícios que tais compostos sintéticos podem causar à saúde, pesquisas para a extração e utilização de pigmentos naturais estão sendo desenvolvidas. Nesse contexto, o emprego de resíduos alimentares mostra-se promissor, dado que são recursos vegetais comumente desprezados pelo homem e encontram-se disponíveis abundantemente em diversos setores. Dessa forma, o presente projeto tem como objetivo desenvolver sistemas nanoestruturados, por estratégias de química verde, mediante a utilização de biopigmentos extraídos de resíduos de matrizes vegetais, avaliando-os quanto à aplicabilidade para o desenvolvimento de novos insumos alimentares. Ademais, o presente trabalho visa avaliar, junto à diferentes grupos populacionais do país, a percepção de risco e o padrão de consumo de corantes artificiais e naturais presentes em alimentos, além de investigar a preferência e a aceitação de cor de pigmentos naturais obtidos a partir de cascas de frutas, legumes e verduras. Para a realização deste último, serão realizadas

**Endereço:** Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília - Campus Darcy Ribeiro  
**Bairro:** Asa Norte **CEP:** 70.910-900  
**UF:** DF **Município:** BRASÍLIA  
**Telefone:** (61)3107-1947 **E-mail:** cepfsunb@gmail.com

Continuação do Parecer: 4.630.250

realizadas na plataforma

ANÁLISE: A adequação encontra-se em "Cronograma\_nv\_18\_mar\_2021.pdf". PENDÊNCIA ATENDIDA

Todas as pendências foram atendidas.

Não há óbices éticos para a realização do presente protocolo de pesquisa.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

Conforme Resolução CNS 466/2012, itens X.1.- 3.b. e XI.2.d, e Resolução CNS 510/2016, Art. 28, inc. V, os pesquisadores responsáveis deverão apresentar relatórios parcial semestral e final do projeto de pesquisa, contados a partir da data de aprovação do protocolo de pesquisa.

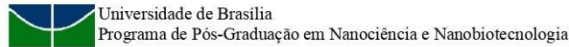
**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1692826.pdf	28/03/2021 09:22:16		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_nv_28_mar_2021.pdf	28/03/2021 09:20:53	VICTORIA BAGGI DE MENDONCA LAURIA	Aceito
Outros	Carta_de_respostas_as_pendencias_apontadas.pdf	18/03/2021 12:22:12	VICTORIA BAGGI DE MENDONCA	Aceito
Cronograma	Cronograma_nv_18_mar_2021.pdf	18/03/2021 12:21:03	VICTORIA BAGGI DE MENDONCA	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Comite_de_Etica_em_Pesquisa_nv_18_mar_2021.pdf	18/03/2021 12:19:58	VICTORIA BAGGI DE MENDONCA LAURIA	Aceito
Outros	Questionarios.pdf	02/02/2021 13:37:24	VICTORIA BAGGI DE MENDONCA	Aceito
Outros	Carta_de_encaminhamento_de_projeto.pdf	02/02/2021 13:34:11	VICTORIA BAGGI DE MENDONCA	Aceito
Outros	carta_de_encaminhamento_de_projeto.docx	02/02/2021 13:33:27	VICTORIA BAGGI DE MENDONCA	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Termo_de_responsabilidade_e_compromisso_do_pesquisador_responsavel.pdf	02/02/2021 13:30:41	VICTORIA BAGGI DE MENDONCA LAURIA	Aceito
Outros	Curriculo_pesquisador_professor_orientador.pdf	02/02/2021 13:29:29	VICTORIA BAGGI DE MENDONCA	Aceito
Outros	Curriculo_pesquisador_responsavel.pdf	02/02/2021 13:28:36	VICTORIA BAGGI DE MENDONCA	Aceito

**Endereço:** Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília - Campus Darcy Ribeiro  
**Bairro:** Asa Norte **CEP:** 70.910-900  
**UF:** DF **Município:** BRASÍLIA  
**Telefone:** (61)3107-1947 **E-mail:** cepfsunb@gmail.com

## ANEXO III

### TCLE



#### *Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TCLE*

Convidamos o(a) Senhor(a) a participar voluntariamente do projeto de pesquisa “Síntese de nanossistemas à base de biopigmentos extraídos de resíduos de matrizes vegetais e suas aplicações na impressão tridimensional de alimentos”, sob a responsabilidade da pesquisadora Victoria Baggi. O projeto diz respeito à elaboração de estruturas em escala nanométrica (ou seja, estruturas que não podem ser analisadas a olho nu) de pigmentos naturais obtidos a partir de cascas de frutas, legumes e verduras, e sua aplicação na elaboração de novos alimentos.

Um dos objetivos desta pesquisa é avaliar a percepção e o padrão de consumo de corantes artificiais e naturais presentes nos alimentos, bem como entender a aceitação e preferência de cor de diferentes subgrupos populacionais aos pigmentos naturais extraídos de resíduos vegetais (cascas de frutas, legumes e verduras). Essa pesquisa é muito importante, pois poderá contribuir de forma expressiva nas áreas de engenharia e tecnologia de alimentos, incentivando a elaboração de estratégias voltadas para o desenvolvimento de novos alimentos, atendendo as exigências e preferências dos consumidores.

O(a) senhor(a) receberá todos os esclarecimentos necessários no decorrer da pesquisa e lhe asseguramos que seu nome não aparecerá, sendo mantido o mais rigoroso sigilo pela omissão total de quaisquer informações que permitam identificá-lo(a).

A sua participação se dará por meio de entrevistas através de questionários eletrônicos, na plataforma *Google Forms*, com um tempo estimado de 10 a 15 min para a sua realização. O(a) senhor(a) responderá perguntas abertas (que resultam em respostas completas), fechadas (formadas por opções de resposta já preenchidas para o(a) senhor(a) escolher), de imagens (formadas por opções de resposta em formato de imagem para o(a) senhor(a) escolher) e de múltipla escolha (formadas por opções de resposta já preenchidas para o(a) senhor(a) escolher mais de uma opção).

Embora não haja riscos a sua integridade física decorrentes de sua participação na pesquisa, pode haver dano psicológico no caso de alguma questão lhe causar algum tipo de desconforto ou constrangimento. Por isso, é importante que você tenha inteiro conhecimento de como se dará a sua participação, bem como o propósito da pesquisa. Se o(a) senhor(a) aceitar participar, estará contribuindo para aumentar o conhecimento de como a população avalia a presença de corantes artificiais e naturais nos alimentos, bem como seu consumo, e permitir mensurar a aceitação e preferência de cor de diferentes subgrupos populacionais aos pigmentos naturais extraídos de resíduos de matrizes vegetais, e assim ser possível desenvolver alimentos que atendam às exigências dos consumidores.

O(a) Senhor(a) pode se recusar a responder (ou participar de qualquer procedimento) qualquer questão que lhe traga constrangimento, podendo desistir de participar da pesquisa em qualquer momento sem nenhum prejuízo para o(a) senhor(a). Sua participação é voluntária, isto é, não há pagamento por sua colaboração. Mesmo não sendo previstas despesas relacionadas a sua participação na pesquisa, visto que o estudo se dará por meio de entrevistas online, asseguramos que cobriremos qualquer despesa que venha a surgir decorrente de sua participação.

Caso haja algum dano direto ou indireto decorrente de sua participação na pesquisa, o(a) senhor(a) deverá buscar ser indenizado, obedecendo-se as disposições legais vigentes no Brasil.

Os resultados da pesquisa serão divulgados no sítio eletrônico do Laboratório de Nanobiotecnologia, situado na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, vide <https://lnanoembrapa.wixsite.com/gruponanobiotec>. Ademais, os resultados da presente pesquisa poderão ser divulgados na forma de artigos científicos. Os dados e materiais serão utilizados somente para esta pesquisa e ficarão sob a guarda do pesquisador por um período de cinco anos, após isso serão destruídos.

Se o(a) Senhor(a) tiver qualquer dúvida em relação à pesquisa, por favor telefone para: Victoria Baggi, tel. (61) 98659-4560, disponível inclusive para ligação a cobrar. Se preferir, mande um e-mail para: [victoriabaggi@gmail.com](mailto:victoriabaggi@gmail.com)

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências da Saúde (CEP/FS) da Universidade de Brasília. O CEP é composto por profissionais de diferentes áreas cuja função é defender os interesses dos participantes da pesquisa em sua integridade e dignidade e contribuir no desenvolvimento da pesquisa dentro de padrões éticos.

---

Rubrica

1 de 2



Universidade de Brasília  
Programa de Pós-Graduação em Nanociência e Nanobiotecnologia

As dúvidas com relação à assinatura do TCLE ou os direitos do participante da pesquisa podem ser esclarecidas pelo telefone (61) 3107-1947 ou do e-mail [cepfs@umb.br](mailto:cepfs@umb.br) ou [cepfsunb@gmail.com](mailto:cepfsunb@gmail.com), horário de atendimento de 08:30hs às 11:30hs e de 13:00hs às 16:00hs, de segunda a sexta-feira. O CEP/FS se localiza na Faculdade de Ciências da Saúde, Campus Universitário Darcy Ribeiro, Universidade de Brasília, Asa Norte.

Caso concorde em participar, pedimos que clique na opção “Li e concordo com o termo para a participação na pesquisa”. É de suma importância que o(a) senhor(a) guarde em seus arquivos uma cópia do presente documento. Caso queira, uma cópia do termo assinado poderá ser enviada para o(a) senhor(a), via e-mail.

---

Nome e assinatura do Participante de Pesquisa

---

Nome e assinatura do Pesquisador Responsável

Brasília, \_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2021.

## ANEXO IV

### ATIVIDADES ACADÊMICAS REALIZADAS AO LONGO DO ESTUDO

Durante o desenvolvimento do presente estudo, foram apresentados quatro resumos na modalidade pôster em quatro eventos, dos quais três foram premiados:

- Desenvolvimento de insumos alimentares e síntese de nanossistema à base de biopigmentos de resíduos vegetais. Evento: XXIV Encontro do Talento Estudantil. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Ano: 2019. O presente trabalho foi premiado em 1º lugar na área temática Vegetal, nível pós-graduação.
- Extração verde de biopigmentos oriundos de resíduos alimentares e suas aplicações no desenvolvimento de nanossistema. Evento: I Congresso Digital de Nanobiotecnologia e Bioengenharia (I CDNB). Ano: 2020. O presente trabalho recebeu o destaque de menção honrosa na sessão de Nanobiotecnologia.
- Extração verde de biopigmentos de resíduos vegetais e suas aplicações no desenvolvimento de insumos alimentares. Evento: XXV Encontro do Talento Estudantil. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Ano: 2020.
- Produção de nanossistemas contendo biopigmentos obtidos de resíduos vegetais e suas aplicações como corantes naturais. Evento: II Congresso Digital de Nanobiotecnologia e Bioengenharia (I CDNB). Ano: 2021. O presente trabalho recebeu o destaque de menção honrosa na sessão de Nanobiotecnologia.

Ademais, foram redigidos, em conjunto com outros membros do Laboratório de Nanobiotecnologia (LNANO), dois capítulos de livros ainda não publicados. Por fim, foi redigido um artigo intitulado “*Gren extraction of natural colorants from vegetal residues and their colorimetric characterization*” que será submetido em uma revista científica.