



Análise de corantes naturais com potencial utilização na indústria alimentar e têxtil: Avaliação dos procedimentos de extração

Estefânia Raquel Silva Alves

Orientadora Interna

Doutora Ofélia Anjos

Orientadora Externa

Doutora Eugénia Gallardo

Relatório de Estágio apresentado à Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Castelo Branco para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Licenciado em Biotecnologia Alimentar, realizada sob a orientação científica da Professora Doutora Ofélia Anjos, do Instituto Politécnico de Castelo Branco e da Professora Doutora Eugénia Gallardo da Universidade da Beira Interior.

Novembro de 2020

Agradecimentos

A realização deste trabalho não seria possível sem a colaboração e empenho de várias pessoas. É-me agora possível agradecer a quem de mais perto ou de mais longe, me ajudou quer em termos científicos, quer na parte afetiva.

O meu primeiro agradecimento tem de ir forçosamente para a minha coordenadora de estágio, Professora Doutora Ofélia Anjos, que me proporcionou esta oportunidade e sempre se mostrou disponível, durante este período.

Agradeço de igual forma, à Professora Doutora Eugénia Gallardo da Universidade da Beira Interior pela orientação, disponibilidade, apoio, otimismo, confiança e compreensão.

Às minhas colegas de laboratório, Ema e Carina, que sempre se mostraram disponíveis quando mais precisei e pela boa energia que transmitiram ao longo do estágio.

Ao Tiago Rosado pela paciência, compreensão e pela sua simpatia que muito contribuíram para a minha aprendizagem e boa disposição.

E por fim, quero dedicar um grande agradecimento à minha irmã Diana, por ter ouvido as minhas preocupações e anseios, pelas palavras reconfortantes que me deu e por nunca ter duvidado das minhas capacidades. Sem dúvida que a minha irmã, foi uma das pessoas que mais me motivou a fazer sempre melhor.

Muito obrigada por tudo!

Resumo

Nos últimos anos, tem-se verificado uma maior consciência dos consumidores perante a saúde e sustentabilidade ambiental. Estes fatores, levaram indústrias como a alimentar e têxtil, a procurar soluções para acompanhar esta mudança de hábitos. Um dos pontos para alcançar estes objetivos, é a diminuição da utilização de químicos como plásticos, tintas, corantes artificiais, entre outros.

Os corantes naturais podem ser utilizados na indústria alimentar para tornarem o alimento mais apelativo, e também para beneficiar alguns aspetos relacionados com a saúde do consumidor. Outra indústria onde se tem vindo a aumentar o uso de corantes naturais, é na indústria têxtil, utilizando esses compostos para tingimento têxtil.

Dentro deste contexto, o presente trabalho tem como objetivo principal avaliar os procedimentos de extração de corantes naturais. Neste trabalho são investigados procedimentos de extração para os corantes alizarina, apigenina, cumarina, luteolina e lucidina. Para isso, a partir de plantas como a *Rubia tinctorum*, *Reseda luteola* e *Sorghum vulgare*, foram avaliados diferentes procedimentos de extração a fim de maximizar este processo. Os parâmetros em estudo foram tempo de extração (6-24h), percentagem de água na extração (0-100%), agitação (sim/não), temperatura (30-80 °C) e ácido cítrico (sim/não). A quantidade de amostra utilizada foi de 25 g. Adicionalmente foi desenvolvido um método cromatográfico com recurso à cromatografia líquida acoplada a um detetor de *diode array* para a determinação de cada um dos compostos em estudo. As melhores condições para a extração da alizarina e lucidina foram as seguintes: extração a 30 °C, durante 24 horas, com agitação, e 0% de água. Sob estas condições às concentrações obtidas para a alizarina e lucidina foram de 33,50 µg e 371,80 µg /20 mg de extrato respetivamente. Relativamente à extração da apigenina, as melhores condições foram realizar uma extração a 30 °C, durante 24 horas, com agitação, 0% de água e sem ácido cítrico. Com estas condições foi possível obter uma concentração de 119,08 µg de apigenina/20 mg de extrato. No caso da cumarina, as melhores condições foram a 30 °C, durante 24 horas, sem agitação, com 100% de água e sem ácido cítrico. Nestas condições a concentração de cumarina foi de 19,09 µg de cumarina/20 mg de extrato. Por fim, para a luteolina as melhores condições para a extração foram: 30 °C, durante 6 horas, sem agitação, e 0% de água, sendo que a concentração obtida foi de 544,07 µg de luteolina/20 mg de extrato.

Palavras chave

Extração; Corantes naturais; Plantas Tintureiras; UHPLC-DAD.

Abstract

In recent years, the consumers' awareness towards health and environmental sustainability has increased. These factors have led industries, such as food and textiles, to find solutions to accompany these habits change. One of the points to achieve these objectives is the decrease in the use of chemicals such as plastics, paints and artificial dyes, among others.

Natural dyes can be used in the food industry to make food more appealing, and also to benefit some aspects related to the consumer's health. Another industry where the use of natural dyes has been increasing is in the textile industry, in which these compounds are used for textile dyeing.

Within this context, the present work has as main objective to evaluate the procedures of extraction of natural dyes. In this work, the extraction procedures for the dyes alizarin, apigenin, coumarin, luteolin and lucidin are investigated. For this, plants such as *Rubia tinctorum*, *Reseda luteola* and *Sorghum vulgare* have been used to analyse the artificial dyes in different extraction procedures, in order to optimize the process. The parameters under study were extraction time (6-24 h), percentage of water in the extraction (0-100%), agitation (yes/no), temperature (30-80 °C) and citric acid (yes/no). The amount of sample used was 25 g.

In addition, a chromatographic method was developed using liquid chromatography coupled to a diode array detector to determine each of the compounds under study. The best conditions for the extraction of alizarin and lucidin were as follows: extraction at 30 °C, for 24 hours, with agitation, and 0% water. Under these conditions the concentrations obtained for alizarin and lucidin were 33.50 µg and 371.80 µg/20 mg of extract respectively. Regarding the extraction of apigenin, the best extraction conditions were 30 °C, for 24 hours, with agitation, 0% water and without citric acid. With these conditions it was possible to obtain a concentration of 119.08 µg/20 mg of extract. In the case of coumarin, the best conditions were 30 °C, for 24 hours, without stirring, with 100% water and without citric acid. Under these conditions, coumarin concentration was 19.09 µg/20 mg of extract. Finally, for luteolin, the best conditions for extraction were: 30 °C, for 6 hours, without stirring, and 0% water, with a concentration of 544.07 µg/20mg of extract.

Keywords

Extraction; Natural dyes; Dyeing plants; UHPLC-DAD.

Índice Geral

1.	Introdução	1
2.	Plantas Tintureiras	3
2.1.	<i>Rubia tinctorum</i>	3
2.2.	<i>Reseda luteola</i> L.	5
2.3.	<i>Sorghum vulgare</i>	5
3.	Corantes de origem vegetal	7
3.1.	Alizarina	7
3.2.	Apigenina	8
3.3.	Cumarina.....	9
3.4.	Luteolina	10
3.5.	Lucidina	11
4.	Parte Experimental.....	12
4.1.	Material.....	12
4.2.	Reagentes	13
4.3.	Sistema cromatográfico e de detecção	13
4.4.	Análise da luteolina	13
4.4.1.	Método de preparação dos extratos.....	13
4.4.2.	Condições cromatográficas	14
4.4.3.	Identificação da luteolina.....	15
4.4.4.	Linearidade	15
4.5.	Análise da lucidina e alizarina	17
4.5.1.	Método de preparação dos extratos.....	17
4.5.2.	Condições cromatográficas	18
4.5.3.	Identificação da lucidina e alizarina	18
4.5.4.	Linearidade	19
4.6.	Análise da cumarina e apigenina	20
4.6.1.	Método de preparação dos extratos.....	20
4.6.2.	Condições cromatográficas	21
4.6.3.	Identificação da cumarina e apigenina	21
4.6.4.	Linearidade	22
4.7.	Tratamento de dados.....	24
5.	Resultados e Discussão.....	26
5.1.	Luteolina	26
5.2.	Lucidina e alizarina	28
5.3.	Cumarina e Apigenina	31
6.	Conclusão	36
7.	Referências Bibliográficas	37

Índice de Figuras

Figura 1 - Rubia tinctorum.....	3
Figura 2 - Reseda luteola L.	5
Figura 3 - Sorghum vulgare.....	6
Figura 4 - Alizarina em pó.....	7
Figura 5 - Apigenina em pó e folhas	8
Figura 6 - Cumarina em pó.....	9
Figura 7 - Representação da filtração das amostras.....	14
Figura 8 - Cromatograma relativo à luteolina à concentração de 40 µg/mL.	15
Figura 10 - Curva de calibração da luteolina.....	16
Figura 9 - Curva de calibração da luteolina.....	16
Figura 11 - Cromatograma relativo à lucidina e alizarina à concentração de 10 µg/mL.	18
Figura 12 - Curva de calibração da lucidina.....	19
Figura 13 - Curva de calibração da alizarina	19
Figura 14 - Cromatograma relativo à cumarina e apigenina à concentração de 6,25 µg/mL.	21
Figura 15 - Linearidade para a cumarina.....	23
Figura 16 - Linearidade para a apigenina.	23
Figura 18 - Curva de calibração da apigenina entre 0,39-100,00 µg/mL	23
Figura 17 - Curva de calibração da cumarina entre 0,78-100,00 µg/mL.....	23
Figura 19 - Resultados do DOE dos fatores influenciáveis do processo de extração da luteolina.....	27
Figura 20 - Resultado do DOE dos principais efeitos dos fatores no processo de extração da luteolina.	27
Figura 21 - Resultados do DOE dos fatores influenciáveis do processo de extração da lucidina.....	29
Figura 22 - Resultado do DOE dos principais efeitos dos fatores no processo de extração da lucidina.	29
Figura 23 - Resultados do DOE dos fatores influenciáveis do processo de extração da alizarina.....	30
Figura 24 - Resultado do DOE dos principais efeitos dos fatores no processo de extração da alizarina.	30
Figura 25 - Resultados do DOE dos fatores influenciáveis do processo de extração da cumarina.....	33
Figura 26 - Resultado do DOE dos principais efeitos dos fatores no processo de extração da cumarina.....	33
Figura 27 - Resultados do DOE dos fatores influenciáveis do processo de extração da apigenina.	34
Figura 28 - Resultado do DOE dos principais efeitos dos fatores no processo de extração da apigenina.....	34

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Características e propriedades da Alizarina.....	8
Tabela 2 - Características e Propriedades da apigenina.....	9
Tabela 3 - Características e propriedades da cumarina	10
Tabela 4 - Propriedades da luteolina	11
Tabela 5 - Concentrações usadas para curva de calibração do composto luteolina	15
Tabela 6 - Bias obtidos nos calibradores da curva de calibração da luteolina.	17
Tabela 7 - Concentrações usadas para curva de calibração dos copostos lucidina e alizarina.....	19
Tabela 8 - Bias obtidos nos calibradores da curva de calibração da lucidina e luteolina.....	20
Tabela 9 - Concentrações usadas para curva de calibração dos compostos apigenina e cumarina.	22
Tabela 10 - Dados para a ponderação da linearidade	23
Tabela 11 - Dados para a ponderação da linearidade	23
Tabela 12 - Bias obtidos nos calibradores da curva de calibração da cumarina..	24
Tabela 13 - Bias obtidos nos calibradores da curva de calibração da apigenina.	24
Tabela 14 - Matriz experimental para a Rubia tinctorum.....	26
Tabela 15 - Resultados relativos ao processo de extração das raízes da Rubia tinctorum nas condições ótimas de extração.....	28
Tabela 16 - Matriz experimental para a Reseda luteola.....	28
Tabela 17 - Resultados relativos ao processo de extração das partes aéreas da Reseda luteola nas condições ótimas de extração.....	31
Tabela 18 - Matriz experimental para o Sorghum vulgare.....	32
Tabela 19 - Resultados relativos ao processo de extração das partes aéreas do Sorghum vulgare nas condições ótimas de extração.	35