

Artigo

Aplicação do Extrato De Amêndoa de Cacau (*Theobroma Cacao. L*) como um Novo Indicador em Titulações Ácido-Base**Costa, V. C.; Gramacho, R. S.; Santos, A. S.; Amorim, F. A. C****Rev. Virtual Quim.*, 2015, 7 (4), 1496-1507. Data de publicação na Web: 5 de junho de 2015<http://www.uff.br/rvq>**Application of the Extract of Cocoa Seed (*Theobroma Cacao. L*) As an New Indicator in Acid-Base Titrations**

Abstract: In this study we propose the use of a natural indicator obtained from the seeds of plant found abundantly in the southern of Bahia, Brazil, *Theobroma cacao L.* (cocoa). The extract containing the dyes from cocoa seed was applied as indicator in several acid/base titrations, and the results were compared with values obtained in potentiometric titrations and using phenolphthalein as an indicator of reference. The methodologies involving weak and strong acids were applied with chemistry graduate students of State University of Santa Cruz in Ilhéus, Bahia, Brazil.

Keywords: Natural indicator; Acid/base titration; Anthocyanins; Cocoa.

Resumo

Neste trabalho, foi proposto a utilização de um indicador natural obtido das sementes do *Theobroma cacao L.* (cacau) que é uma planta encontrada em abundância no sul da Bahia, Brasil. O extrato que contém os corantes a partir de sementes de cacau foi aplicado como indicador em titulações ácido / base, e os resultados foram comparados com os valores obtidos na titulação potenciométrica e utilizando a fenolftaleína como um indicador de referência. As metodologias que envolvem ácidos fracos e fortes foram aplicadas com os alunos de pós-graduação de Química da Universidade Estadual de Santa Cruz, em Ilhéus, Bahia, Brasil.

Palavras-chave: Indicador natural; Titulação ácido/base; Antocianinas; Cacau.

* Universidade Estadual de Santa Cruz, Departamento de Ciências Exatas e Tecnológicas, Rodovia Jorge Amado km 16, CEP 45662-900, Ilhéus-BA, Brasil.

✉ facamorim@uesc.br

DOI: [10.5935/1984-6835.20150081](https://doi.org/10.5935/1984-6835.20150081)

Aplicação do Extrato De Amêndoa de Cacau (*Theobroma Cacao. L*) como um Novo Indicador em Titulações Ácido-Base

Vinicius C. Costa, Reinaldo S. Gramacho, Antonio S. Santos, Fábio Alan C. Amorim*

Universidade Estadual de Santa Cruz, Departamento de Ciências Exatas e Tecnológicas,
Rodovia Jorge Amado km 16, CEP 45662-900, Ilhéus-BA, Brasil.

* facamorim@uesc.br

Recebido em 13 de março de 2015. Aceito para publicação em 3 de junho de 2015

1. Introdução

2. Experimental

2.1. Equipamentos

2.2. Reagentes e soluções

2.3. Obtenção do extrato bruto

2.4. Características espectrais do indicador

2.5. Sujeito da pesquisa

2.6. Titulação potenciométrica

2.7. Titulações de neutralização com o indicador de cacau

3. Resultados e discussão

3.1. Características espectrais do indicador

3.2. Titulação potenciométrica

3.3. Titulações de neutralização com o indicador de cacau

4. Conclusões

1. Introdução

As antocianinas (ATC) (do grego: *anthos* = flores; *kianos* = azul), pertencentes à classe dos flavonoides, são os pigmentos responsáveis pela coloração exibida por flores e frutos.¹⁻²³ Todas as ATC são derivadas da estrutura básica do cátion flavilium apresentado na Figura 1, deficiente em elétrons e, portanto, muito reativo.⁴

As ATC compõe um dos mais importantes grupos de pigmentos de origem vegetal e são encontradas em maior quantidade nas angiospermas.^{5,6} Atuam como filtro das radiações ultravioletas nas folhas e em certas espécies de plantas estão associadas com a resistência aos patógenos e atuam melhorando e regulando a fotossíntese.⁷ As funções desempenhadas pelas ATC nas plantas são variadas: antioxidantes, proteção à ação da luz, mecanismo de defesa e função biológica. As cores vivas e intensas que elas

produzem têm um papel importante em vários mecanismos reprodutores das plantas, tais como a polinização e a dispersão de sementes. As ATC podem ser encontradas em alimentos industrializados, na qual são empregadas como corantes naturais e

também apresentam propriedades farmacológicas, sendo utilizadas para fins terapêuticos.^{8,9} Já foram comprovados cientificamente seus efeitos anticarcinogênico,^{10,11} antioxidante,¹²⁻¹⁴ e antiviral.¹⁵

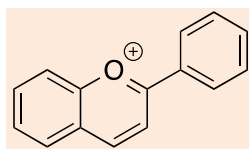


Figura 1. Estrutura básica do cátion flavilium

As diferentes cores exibidas pelos vegetais que contêm ATC dependem da influência de diversos fatores, como a presença de outros pigmentos, a presença de quelatos com cátions metálicos e o pH do fluido da célula vegetal. A utilização das ATC como indicadores naturais de pH em determinações analíticas e quantitativas é possível devido à sua propriedade de apresentar cores diferentes dependendo do pH do meio reacional.^{16,17}

Os indicadores ácido-base ou indicadores de pH são substâncias orgânicas fracamente ácidas (indicadores ácidos) ou fracamente básicas (indicadores básicos) que apresentam cores diferentes para suas formas protonadas e desprotonadas; isto significa que mudam de cor em função do pH do meio onde estão.¹⁸ O uso dos indicadores naturais foi introduzido no século XVII por Robert Boyle. Este cientista preparou um licor de violeta, gotejou-o sobre um papel branco e, em seguida, adicionou algumas gotas de vinagre. Após este procedimento, observou que o papel tornou-se vermelho. Além disso, constatou que em soluções básicas, o papel impregnado com o extrato de violetas tornava-se verde.¹⁹ Boyle definiu ácido como qualquer substância que torna vermelho os extratos de plantas. Depois de Boyle, surgiram várias definições teóricas sobre ácidos e bases, como as de Arrhenius, Brønsted-Lowry, Lewis, Usanovich, Lux-Flood e Pearson.¹⁶

Algumas das vantagens que podem ser

apontadas em relação à utilização de indicadores naturais, em substituição aos indicadores convencionais, incluem o fato dos indicadores naturais estarem disponíveis em tecidos vegetais de várias espécies de plantas facilmente encontradas na natureza. Além disso, por serem naturalmente encontrados no meio ambiente, esses corantes causam menor impacto ambiental quando descartados. Quimicamente, o fato de serem consideravelmente solúveis em água facilita a preparação do indicador na forma de solução e acelera sua decomposição no meio ambiente.⁴

O uso de corantes naturais no ensino de química tem sido proposto frequentemente. As principais vantagens estão relacionadas ao despertar do interesse dos estudantes para o conteúdo abordado, devido à coloração natural das espécies químicas contidas nos tecidos vegetais e suas mudanças de cor em função do pH.²⁰⁻²³ Some-se a isto o fato de usar algo presente no cotidiano dos estudantes para esta finalidade, ligando a química ao seu dia-a-dia. A relação entre as substâncias químicas e suas cores para o ensino de alguns conteúdos de Química, tais como funções inorgânicas, reações químicas, equilíbrio iônico e pH, é um tema que vem sendo explorado por vários professores de Química em nosso país, e muitos desses pesquisadores utilizaram plantas comuns de suas regiões ou até mesmo legumes para produzir formas alternativas de se verificar o pH de diferentes soluções.²⁴

Nesse contexto vários autores, têm se preocupado em explorar o potencial desses corantes para o ensino de química. Uma das iniciativas foi desenvolvida pelo Grupo de Pesquisa em Educação Química (GEPEQ-USP) que apresentou uma proposta empregando extrato de repolho roxo como indicador de pH.²⁵ Couto e colaboradores (1998)²⁶ propuseram o uso de pigmentos extraídos de flores no ensino de Química. Nesta mesma linha, Gouveia-Matos,²⁷ realizou um estudo que trata da mudança das cores de extratos de flores e do repolho roxo. Soares e Cavalheiro,²⁸ destacaram a aplicação de extratos brutos de flores e casca de feijão preto em aulas experimentais de volumetria ácido-base. Terci e Rossi,¹⁶ relataram as escalas de cores para diferentes pHs a partir dos extratos de amora, jabuticaba, jambolão e uva. Cuchinski e colaboradores (2010)²⁹ investigou o comportamento do extrato aquoso e alcoólico da beterraba como um indicador ácido-base. Em trabalho posterior, Cortes e colaboradores (2007)²⁰ estudaram titulações espectrofotométricas de sistemas ácido-base, utilizando extrato de flores contendo antocianinas. Guimaraes e colaboradores (2012)⁴ também estudaram diferentes extratos vegetais para aplicação em titulação ácido-base e identificação via cromatografia líquida e Espectrometria de massa.

Nesse sentido procuramos desenvolver nosso estudo com um fruto típico das regiões sudeste e sul do Estado da Bahia, onde a pesquisa foi desenvolvida. Assim, avaliou-se o potencial do extrato de amêndoa de cacau (*Theobroma cacao L.*) em estudo de sistemas ácido-base. Levando em consideração a disponibilidade do objeto de estudo na região, espera-se dessa forma despertar nos alunos o interesse pela pesquisa regional e demonstrar a aplicabilidade do material didático produzido no estudo de titulações ácido-base, verificando sua eficiência frente a indicadores convencionais.

2. Experimental

2.1. Equipamentos

Para as medidas de pH das soluções de trabalho foi utilizado um pHmetro HANNA, modelo pH 21 (Vila Formosa, Brasil), com resolução de 0,01 unidade de pH que foi calibrado com soluções tampão padrão da marca Hanna (pH 4,0 e 10,0). Também foi utilizado um rota evaporador Fisaton modelo 802 A (Lauro de Freitas, Brasil) para a eliminação do solvente. A obtenção dos espectros de absorção molecular em diferentes valores de pH foi realizado utilizando um Espectrofotômetro de absorção molecular no UV-Vis da marca Thermo Fischer Scientific, modelo Aquamate-Plus (EUA) e cubeta de quartzo com caminho ótico de 10 mm.

2.2. Reagentes e soluções

Água deionizada foi utilizada no preparo das soluções. Todos os reagentes foram de grau analítico (P.A.). As soluções de ácido clorídrico (HCl) e hidróxido de sódio (NaOH) fornecidos pela Merk, foram preparadas, em concentrações próximas de 0,1 mol L⁻¹ e foram utilizadas nas titulações. O hidrogenoftalato de potássio (Sigma-Aldrich) foi usado como padrão primário na padronização da solução de NaOH. Também foram preparadas soluções de HCl e NaOH em diferentes valores de pH, que foram utilizadas nas medidas de absorção molecular na região do visível. Diariamente, antes de iniciar os experimentos, determinava-se o pH destas soluções empregando-se eletrodo de vidro e o pHmetro. O vinagre de álcool foi utilizado para a determinação de ácido acético em vinagre e foi obtido em um mercado local.

2.3. Obtenção do Extrato Bruto

As amêndoas de cacau foram adquiridas junto ao Centro de Pesquisas do Cacau (CEPEC), setor da Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira (CEPLAC), localizada na rodovia Jorge Amado km 20, Ilhéus, região Sudeste da Bahia. Os extratos podem ser preparados com as amêndoas recentemente retiradas do fruto ou se forem congeladas. Para obtenção do extrato bruto foram utilizadas três amêndoas que foram trituradas num grau com pistilo e maceradas por 10 minutos imersas em cerca de 150,0 mL de álcool etílico a 90 % (v/v). Em seguida, o extrato foi filtrado, evaporado em evaporador rotatório até obtenção de um líquido viscoso com aproximadamente 15,00 mL, que foi acondicionado em frasco de vidro ambarado conservado em geladeira, com temperatura controlada para aproximadamente 10°C. Dependendo da disponibilidade do tempo, os estudantes podem preparar o extrato bruto antes do experimento ou, alternativamente, uma equipe instrutora pode prepará-lo e fornecê-lo para os estudantes no início da aula.

2.4. Características espectrais do indicador

Os espectros das soluções contendo o corante foram obtidos na região do visível em diferentes valores de pH, para determinação dos comprimentos de onda de máxima absorção e para avaliar as mudanças espectrais em função do pH. Para obter os espectros de absorção preparou-se uma solução contendo 3 gotas de extrato bruto dissolvidos em 10,00 mL de água deionizada. Foram preparadas 10,00 mL de cada solução de trabalho em pH 2,0; 5,0; 6,0; 7,0; 8,0 e 10,0; adicionando-se 1,0 mL da solução indicadora. Os espectros foram obtidos na região entre 400 nm e 700 nm.

2.5. Sujeito da pesquisa

As atividades abaixo descritas foram aplicadas pelos alunos nas aulas experimentais do componente curricular Química Analítica Quantitativa do curso de Licenciatura em Química da Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC). Os alunos trabalharam sob a supervisão dos autores e do docente responsável. Procurou-se intervir o mínimo possível nos resultados obtidos, respeitando a habilidade e os conhecimentos dos alunos. Antes da prática foi feita uma preleção (aproximadamente 20 minutos) sobre o procedimento de titulação, indicadores, seu uso e propriedades, e discutiu-se a análise e interpretação dos dados obtidos.

2.6. Titulação potenciométrica

Inicialmente, com uma pipeta volumétrica, transferiu-se 20,00 mL de solução de HCl 0,1 mol L⁻¹ para um béquer de 250,0 mL. Adicionou-se 3 gotas da solução indicadora e o sistema foi agitado com auxílio de agitador magnético. Em seguida, o ácido foi titulado com solução padronizada de NaOH 0,1 mol L⁻¹. Durante a adição do titulante anotou-se a cor e o pH do sistema e a titulação foi realizada em triplicata com o indicador proposto e com a fenolftaleína.

2.7. Títulações de neutralização com o indicador de cacau

A solução de NaOH 0,1 mol L⁻¹ foi padronizada usando-se hidrogenoftalato de potássio como padrão primário, o qual foi previamente seco em estufa a 110 °C por duas horas. As títulações foram efetuadas usando-se aproximadamente 0,3000 g de padrão primário acrescido de 20,00 mL de água e 3 gotas da solução indicadora do extrato de amêndoa de cacau. As títulações foram realizadas em triplicata e o mesmo procedimento foi realizado para a determinação do teor de ácido acético em

vinagre de álcool. Todos os experimentos também foram realizados com a fenolfetaleína, para efeito de comparação.

3. Resultados e discussão

O uso dos corantes naturais em cursos de química geral e de química analítica podem enriquecer sobremaneira a discussão, aproveitando a curiosidade e o interesse despertado nos estudantes pelo uso de indicadores alternativos. A atenção dos estudantes para o trabalho experimental também fica aguçada pela expectativa em relação aos resultados, com excelente efeito sobre o entendimento dos procedimentos experimentais e os conceitos abordados.

3.1. Características espectrais do indicador

O fenômeno de absorção de radiação por uma substância pode também, ser demonstrado pela utilização de extratos de vegetais com cor característica. A modificação da cor de extratos vegetais em função da alteração do pH do meio pode ser associada à modificação dos espectros desses extratos. Ou seja, relacionar a cor do extrato numa solução em determinado pH com as bandas de maior absorção da referida solução. Deve-se lembrar de que a banda de maior absorção é correspondente a cor que a solução absorve, porém, a cor que enxergamos é a respectiva cor complementar. A Figura 2 apresenta as diferentes cores do extrato em soluções com valores diferentes de pH.

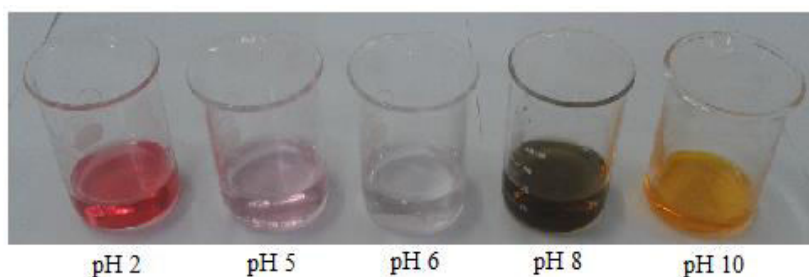


Figura 2. Variação na cor do extrato de amêndoas de cacau em soluções aquosas com diferentes valores de pH

Pode-se observar, na Figura 3, que o comprimento de onda do máximo de absorção (λ_{\max}) se desloca com a variação do pH. Quimicamente, os deslocamentos do λ_{\max} de absorção estão relacionados com as diferenças nas estruturas das antocianinas provocadas pela mudança na acidez do meio, resultando em espectros de absorção diferentes. Assim, observa-se que em meio ácido destaca-se a coloração vermelha em pH

2,0, passando a rósea em pH 5,0 e diminuindo o valor de absorvância na região de comprimentos de onda entre 500 nm e 550 nm, onde há o predomínio da estrutura catiônica. Aumentando-se o pH, a cor muda para verde-amarelado em pH 8,0 com λ_{\max} entre 430 nm e 440 nm. Em valores de pH mais elevados observa-se a formação de chalcona de coloração amarela com λ_{\max} entre 415 nm e 430 nm.

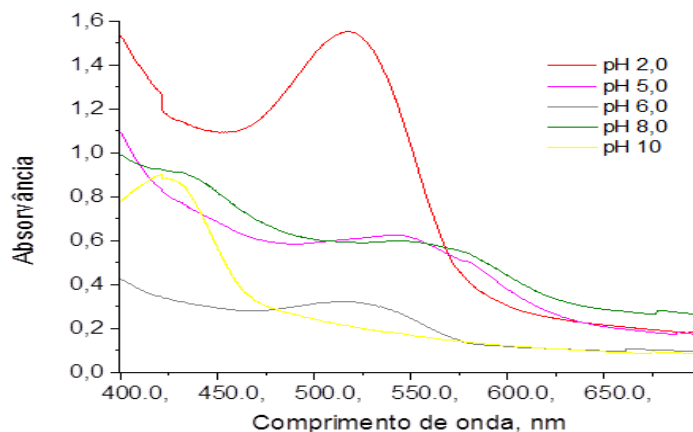


Figura 3. Espectros de absorção do extrato de amêndoas de cacau em soluções aquosas com diferentes valores de pH

Estas observações condizem para as antocianinas (3- β -galactosil- e 3- α -arabinosil-cianidina) encontradas na amêndoa de cacau por serem formadas por apenas uma aglicona (cianidina) o que pode justificar as diferenças encontradas em relação às cores e valores de pH.³⁰ Baseados

neste fato, podemos afirmar que os dados encontrados são semelhantes com os relatos da literatura em que, o comportamento para as antocianinas em função da variação do pH ocorre de acordo com o mecanismo descrito na Figura 4.

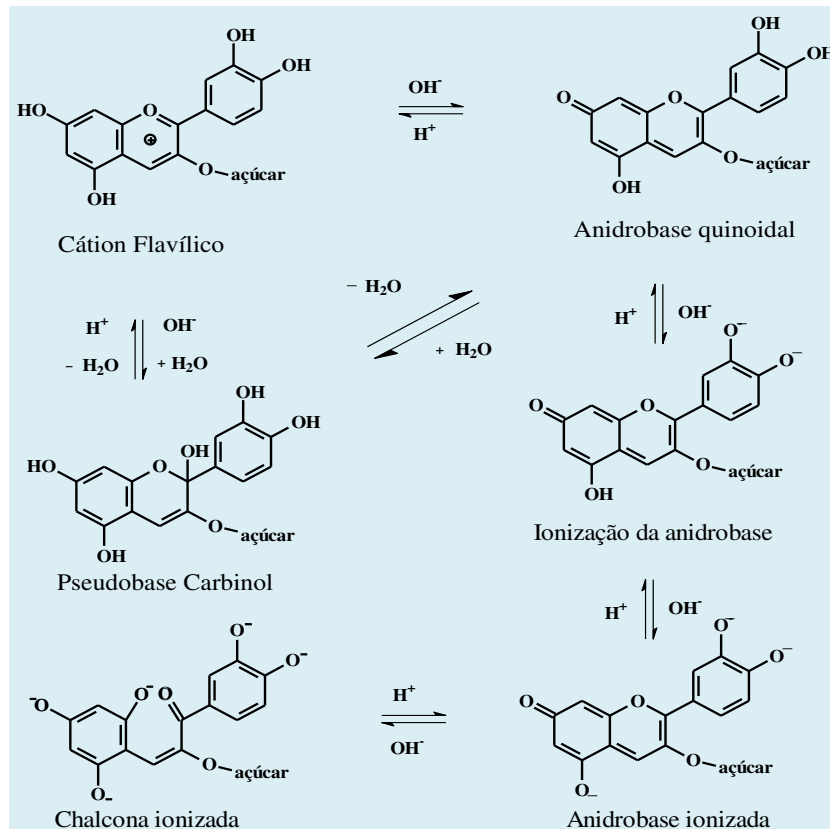


Figura 4. Possíveis transformações estruturais das antocianinas da amêndoa do cacau em meio aquoso em função do pH (adaptado de MARÇO, 2008)³¹

3.2. Titulação potenciométrica

Um aspecto importante a ser abordado esta relacionado com o tipo de titulação ácido-base no qual o indicador pode ser utilizado. Quando um indicador possui intervalo de pH para mudança de coloração localizado na região ligeiramente ácida ou neutra na escala de pH ($5 < \text{pH} < 7$), o uso desse indicador é recomendado nas titulações de base fraca por ácido forte, pois o ponto final nesse tipo de titulação ocorre em pH ligeiramente ácido à neutro; quando o indicador possui o intervalo de pH para a mudança de coloração localizado na região ligeiramente básica ($7 < \text{pH} < 9$), o uso desse indicador é recomendado nas titulações de ácido forte por base forte e nas titulações de ácido fraco por base forte, pois neste ultimo, o ponto final da titulação acontece em um pH ligeiramente alcalino.⁴

A partir dos resultados obtidos nas titulações potenciométricas, é possível avaliar o valor de pH no ponto de equivalência, o volume necessário da solução de NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ para a neutralização, e o ponto de

viragem. Os resultados consistiram em determinar o ponto exato em que o HCl e o NaOH, ambos $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, encontraram-se presentes em quantidades equivalentes, determinando assim o ponto de equivalência.

A curva de titulação obtida experimentalmente é apresentada na Figura 5. Aplicando-se o método de derivadas é possível identificar o volume exato de NaOH no ponto de equivalência da titulação. Conforme apresentado na Figura 5 e 6, o ponto de equivalência da titulação é atingido em um volume médio de 19,30 mL da solução de NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Visualmente, o ponto de viragem do indicador é atingido num volume médio de 19,60 mL do titulante, em pH 7,4 (Figura 7), o que representa uma diferença de 0,40 mL entre o valor obtido pela titulação potenciométrica e pelo titulação visual usando o indicador. Essa diferença equivale a um erro relativo de + 2,1 %, valor muito baixo e considerado aceitável. Assim, o indicador proposto pode ser aplicado em titulação cuja região de viragem ocorre em valores de pH ligeiramente básico ($7 < \text{pH} < 9$).

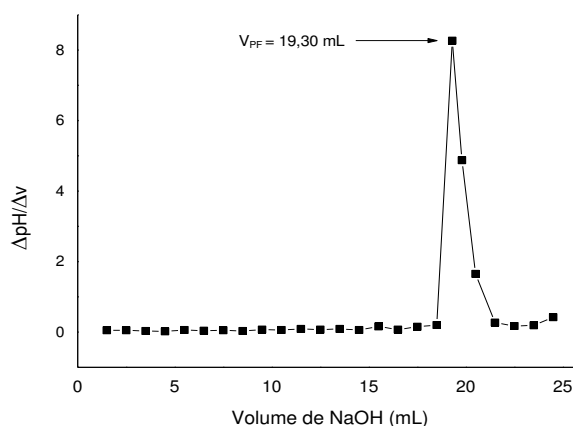


Figura 5. Derivada primeira da titulação

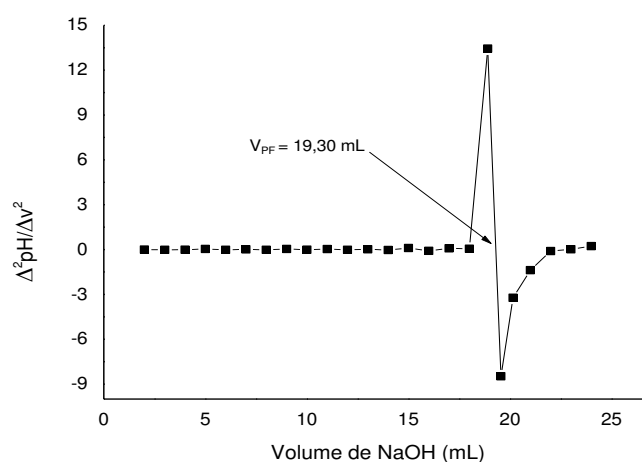


Figura 6. Derivada segunda da titulação

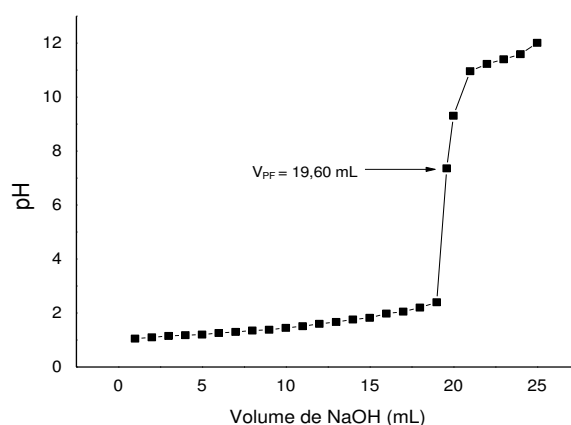


Figura 7. Curva de titulação de NaOH x HCl 0,1 mol L⁻¹

Um fato interessante observado durante a titulação potenciométrica foi que, o indicador utilizado apresentou diminuição da intensidade da coloração vermelha, à medida que o pH do meio aumentava em função da adição de base, até deixar o sistema incolor em pH 6,0. Com a adição de mais solução alcalina o sistema assumia a tonalidade verde clara, indicando ter sido atingido o ponto de viragem, sugerindo predomínio da forma alcalina em relação à forma ácida do indicador, o que ocorreu em pH acima de 7,0. Depois que o ponto final da titulação é atingido e a adição da solução básica continuava, a coloração assumiu uma tonalidade amarela-esverdeada até o

predomínio da coloração amarelada. Com a permanência do extrato em meio básico, a cor amarela fica irreversível, indicando que o corante já perdeu a sua função de indicador, decorrente da formação de chalcona cuja estrutura se forma pela abertura do anel.¹⁵

3.3 Titulações de neutralização com indicador de cacau

O indicador proposto foi aplicado na padronização de solução de NaOH 0,1 mol L⁻¹ e para a determinação do teor de ácido acético em vinagre comercial, pois, de acordo

com as características espectrais, da titulação potenciométrica e da variação na coloração, o indicador de extrato de amêndoa de cacau apresenta mudança brusca de coloração localizado na região de pH ligeiramente básica ($7 < \text{pH} < 9$), sendo útil em titulações envolvendo ácidos fracos ou fortes com bases fortes. As Tabelas 1 e 2 apresentam os resultados obtidos nas padronizações

realizadas com o indicador proposto e com a fenolftaleína. A avaliação pelo teste *t* pareado demonstra que os valores obtidos com os indicadores não apresentam diferença estatisticamente significativa pois, os valores de *t* calculados (0,63; 0,53; 0,91) para os resultados obtidos são menores que o valor de *t* tabelado (4,30) a um nível de 95 % de confiança.

Tabela 1. Padronização da solução de NaOH 0,1 mol L⁻¹ com hidrogenoftalato de potássio

Replicata	Fenolftaleína		Extrato de amêndoa de cacau	
	Volume gasto (mL)	Conc. encontrada (mol L ⁻¹)	Volume gasto (mL)	Conc. encontrada (mol L ⁻¹)
Replicata 1	22,20	0,1107	22,30	0,1097
Replicata 2	22,10	0,1091	22,45	0,1093
Replicata 3	22,30	0,1055	22,20	0,1107
Média	22,20	0,1084 ± 0,0026*	22,31	0,1099 ± 0,0007*

*Média ± desvio padrão para n=3

Tabela 2. Determinação do teor de ácido acético em vinagre pela titulação com NaOH 0,1 mol L⁻¹

Replicata	Fenolftaleína		Extrato de amêndoa de cacau	
	Volume gasto (mL)	Conc. encontrada (% m/v)	Volume gasto (mL)	Conc. Encontrada (% m/v)
Replicata 1	14,75	4,75	14,95	4,88
Replicata 2	14,80	4,77	14,95	4,88
Replicata 3	14,75	4,75	14,85	4,85
Média	14,76	4,75 ± 0,0115*	14,91	4,87 ± 0,1173

*Média ± desvio padrão para n=3.

4. Conclusões

Tendo em vista os resultados obtidos, pode-se concluir que o extrato bruto obtido da amêndoa de cacau apresenta potencialidade didática para demonstração do comportamento de substâncias naturais como indicadores em titulações ácido-base e para a determinação de ácido acético em vinagre. Dessa forma, o indicador de cacau surge como uma alternativa na substituição

de alguns dos indicadores convencionais tradicionalmente utilizados, principalmente pela sua disponibilidade na região de Ilhéus-BA, onde a pesquisa foi realizada. Além disso, a utilização de indicadores naturais esta em consonância com os princípios da química verde, no qual se sugere o consumo de menos reagentes químicos sintéticos e a geração de resíduos menos perigosos.

As atividades experimentais deste trabalho podem ser empregadas didaticamente para favorecer a articulação

entre teoria e prática no ensino superior, valorizando a pesquisa individual e coletiva, atendendo as Diretrizes Curriculares para os Cursos de Graduação e como um tema interdisciplinar no ensino médio, atendendo as recomendações dos Parâmetros Curriculares Nacionais. A interdisciplinaridade deste experimento consiste desde os procedimentos da química analítica e orgânica, até conceitos de biologia (classificação botânica) e geografia (tipo de clima e solo para o cultivo destas espécies), relacionando uma grande quantidade de informações relevantes aos alunos de um modo interessante, atraente e contextualizado.

Referências Bibliográficas

- ¹ Vergara, C.; von Baer, D.; Hermosín, R. A.; Hirschfeld, M. A.; Castillo, N.; Mardones, C. Anthocyanins that confer characteristic color to red copihue flowers (*Lapageria Rosea*). *Journal of the Chilean Chemical Society* **2009**, *54*, 194. [CrossRef]
- ² Ovando, A. C.; Hernandez, M. L. P.; Hernandez, M. E. P.; Rodriguez, J. A. R.; Vidal, C. A. G. Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chemistry* **2009**, *113*, 859. [CrossRef]
- ³ Ficco, D. B. M.; Mastrangelo, A. M.; Trono, D.; Grazia, M.; Borrelli, G. M.; de Vita, P.; Fares, C.; Beleggia, R.; Platani, C.; Papa, R. The colours of durum wheat: a review. *Crop & Pasture Science* **2014**, *65*, 1. [CrossRef]
- ⁴ Guimarães, W.; Alves, M. I. R.; Filho, N. R. A. Antocianinas em extratos vegetais: aplicação em titulação ácido-base e identificação via cromatografia líquida/espectrometria de massas. *Química nova* **2012**, *35*, 1673. [CrossRef]
- ⁵ Harbone, J. B. *Phytochemical methods - a guide to modern techniques of plant analysis*, Chapman and Hall: London, 1973.
- ⁶ Bribble, P.; Timberlake, C. F. Anthocyanins as natural food colours – selected aspects. *Food Chemistry* **1997**, *58*, 103. [CrossRef]
- ⁷ Mazza, G.; Brouillard, R. Recent developments in the stabilization of anthocyanins in food products. *Food Chemistry* **1987**, *25*, 207. [CrossRef]
- ⁸ de Lima, V. L. A. G.; Mélo, E. A.; Lima, D. E. S. Efeito da luz e da temperatura de congelamento sobre a estabilidade das antocianinas da pitanga roxa. *Ciência e Tecnologia de Alimentos* **2005**, *25*, 92. [Crossref]
- ⁹ Lopes, T. J.; Xavier, M. F.; Quadri, M. G. N.; Quadri, M. B. Antocianinas: Uma breve revisão das características estruturais e da estabilidade. *Revista Brasileira de Agrociências* **2007**, *13*, 291. [Link]
- ¹⁰ Nichenametla, S. N.; Taruscio, T. G. Barney, D. L.; Exon, J. H. A review of the effects and mechanisms of polyphenolics in cancer. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **2006**, *46*, 161. [CrossRef]
- ¹¹ Lule, S. U.; Xia, W. Food Phenolics, Pros and Cons: A Review. *Food Reviews International* **2005**, *21*, 367. [CrossRef]
- ¹² Konczak, I.; Zhang, W. Anthocyanins - More Than Nature's Colours. *Journal of Biomedicine and Biotechnology* **2004**, *5*, 239. [CrossRef]
- ¹³ Ribeiro, L. O.; Mendes, M. F.; Pereira, C. S. S. Avaliação da Composição Centesimal, Mineral e Teor de Antocianinas da Polpa de Juçá (Euterpe Edulis Martius). *Revista Eletrônica TECCEN* **2011**, *4*, 5. [Link]
- ¹⁴ Ribeiro, L. O.; Mendes, M. F.; Pereira, C. S. S. Desenvolvimento de um logurte Sabor Juçá (Euterpe edulis Martius): Avaliação Físico-química e Sensorial. *Revista Eletrônica TECCEN* **2012**, *4*, 5. [Link]
- ¹⁵ Kapadia, G. J.; Balasubramanian, V.; Tokuda, H.; Iwashima, A.; Nishinob, H. Inhibition of 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate induced Epstein-Barr virus early antigen activation by natural colorants. *Cancer Letters* **1997**, *115*, 173. [CrossRef]
- ¹⁶ Terci, D. B. L.; Rossi, A. V. Indicadores naturais de pH: usar papel ou solução? *Química Nova* **2002**, *25*, 684. [CrossRef]
- ¹⁷ Vizeu, M. D.; Guimarães, P. I. C.; Merçon, F. Corantes Naturais: extração e emprego como indicadores de pH. *Química Nova na Escola* **2003**, *17*, 27. [CrossRef]
- ¹⁸ Ross, E. Em Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry; Elvers, B.; Hawkins, S.;

- Ravenscroft, M.; Schulz, G., eds.; VCR: New York 1989, 127.
- ¹⁹ Eamon, W. New light on Robert Boyle and the discovery of colour indicators. *Ambix* **1980**, *27*, 204. [[CrossRef](#)]
- ²⁰ Cortes, M. S.; Ramos, L. A.; Cavalheiro, E. T. G. Titulações espectrofotométricas de sistemas ácido-base utilizando extrato de flores contendo antocianinas. *Química Nova* **2007**, *30*, 1014. [[CrossRef](#)]
- ²¹ Garber, K. C. A.; Odendaal, A. Y.; Carlson, E. E. Plant Pigment Identification: A Classroom and Outreach Activity. *Journal of Chemical Education* **2013**, *90*, 755. [[CrossRef](#)]
- ²² Damasceno, D.; Oliveira, C. J.; Pinto, P. G.; Lemes, G. G.; Leite, V. C. Aplicação de extrato de açaí no ensino de Química. Disponível em: <http://www.prp.ueg.br/06v1/conteudo/pesquisa/inic.../aplicacao_extrato.pdf>. Acesso em: 15 janeiro 2015.
- ²³ Dias, A. M.; Ferreira, M. L. S. Supermarket Column Chromatography of Leaf Pigments Revisited: Simple and Ecofriendly Separation of Plant Carotenoids, Chlorophylls, and Flavonoids from Green and Red Leaves. *Journal of Chemical Education* **2015**, *92*, 189. [[CrossRef](#)]
- ²⁴ Mota, T. C.; Cleophas, M.G. Proposta para o Ensino de Química Utilizando a Planta *Pterodon abruptus* (Moric.) Benth. como Indicador Natural de pH. *Revista Virtual de Química* **2014**, *6*, 1353. [[CrossRef](#)]
- ²⁵ GEPEQ . Estudando o equilíbrio ácido-base *Química Nova na Escola* **1995**, *1*, 32. [[Link](#)]
- ²⁶ Couto. A.B.; Ramos, L.A.; Cavalheiro, E. T. G. Aplicação de pigmentos de flores no ensino de química. *Química Nova* **1998**, *21*, 221. [[CrossRef](#)]
- ²⁷ Gouveia-Matos, J. A. M. Mudança nas cores dos extratos de flores e do repolho roxo. *Química Nova na Escola* **1999**, *10*, 6. [[Link](#)]
- ²⁸ Soares, M. H. F. B.; Cavalheiro, E. T. G. Aplicação de extratos brutos de flores de quaresmeira e azaléia e da casca de feijão preto em volumetria ácido-base. Um experimento para cursos de análise quantitativa. *Química Nova* **2001**, *24*, 408. [[CrossRef](#)]
- ²⁹ Cuchinski, A. S.; Caetano, J.; Dragunski, D. C. Extração do corante da beterraba (*Beta vulgaris*) para utilização como indicador ácido-base. *Eclética Química* **2010**, *35*, 133. [[Link](#)]
- ³⁰ Niemenak, N.; Rohsius, C.; Elewers, S.; Ndoumou, D. O.; Lieberei, R. J. Comparative study of different cocoa (*Theobroma cacao* L.) clones in terms of their phenolics and anthocyanins contents. *Journal of Food Composition and Analysis* **2006**, *19*, 612. [[CrossRef](#)]
- ³¹ Março, P. H.; Poppi, R. J.; Scarminio, I. S. Procedimentos analíticos para identificação de antocianinas presentes em extratos Naturais. *Química Nova* **2008**, *31*, 1218. [[CrossRef](#)]