



INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA  
DA BAHIA – IFBA  
*CAMPUS VITÓRIA DA CONQUISTA*  
DIRETORIA ACADÊMICA - DAC  
COORDENAÇÃO DE LICENCIATURA EM QUÍMICA - CLIQUI

RICHARDSON ALVES SANTOS

**AVALIAÇÃO DA UTILIZAÇÃO DO EXTRATO DA PALHA DE  
ESPIGAS DO MILHO DA VARIEDADE PALHA ROXA COMO  
INDICADOR NATURAL ÁCIDO-BASE.**

Vitória da Conquista – BA

2023

RICHARDSON ALVES SANTOS

**AVALIAÇÃO DA UTILIZAÇÃO DO EXTRATO DA PALHA DE  
ESPIGAS DO MILHO DA VARIEDADE PALHA ROXA COMO  
INDICADOR NATURAL ÁCIDO-BASE.**

Trabalho de conclusão de curso apresentado à coordenação de Licenciatura em Química, como requisito para a obtenção do título de Licenciado em Química pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Bahia *campus* Vitória da Conquista.

Orientador: Professor Dr. Almir Ribeiro de Carvalho Júnior

Vitória da Conquista – BA

2023

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELO SISTEMA DE BIBLIOTECAS DO IFBA, COM  
OS DADOS FORNECIDOS PELO AUTOR

S237a Santos, Richardson Alves.

Avaliação da utilização do extrato da palha de espigas do milho da variedade Palha Roxa como indicador natural ácido-base/Richardson Alves Santos; orientador Almir Ribeiro de Carvalho Júnior -- Vitória da Conquista: IFBA, 2023.

46 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura em Química) -- Instituto Federal da Bahia, 2023.

1. Indicadores ácido-base natural. 2. antocianinas-extração. 3. Palha Roxa-milho. I. Carvalho Júnior, Almir Ribeiro de, orient. III. TÍTULO.

CDU:633

RICHARDSON ALVES SANTOS

**AVALIAÇÃO DA UTILIZAÇÃO DO EXTRATO DA PALHA DE  
ESPIGAS DO MILHO DA VARIEDADE PALHA ROXA COMO  
INDICADOR NATURAL ÁCIDO-BASE.**

Trabalho de Conclusão de graduação apresentado à coordenação de Licenciatura em Química, como requisito para a obtenção do título de Licenciado em Química pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Bahia campus Vitória da Conquista, sob orientação do Prof. Dr. Almir Ribeiro de Carvalho Júnior.

Aprovado em **29 de Junho de 2023**, pela Banca Examinadora constituída pelos professores:

*Almir Ribeiro de Carvalho Júnior*

---

Prof. Dr. Almir Ribeiro de Carvalho Júnior  
Orientador – IFBA *campus* Vitória da Conquista

*Alessandro Santos Santana*

---

Prof. Msc. Alessandro Santos Santana  
IFBA *campus* Vitória da Conquista

*Rossana Borges Cavalcante Vilar*

---

Prof. Dra. Rossana Borges Cavalcante Vilar  
IFBA *campus* Vitória da Conquista

## AGRADECIMENTOS

Gostaria de expressar meus mais sinceros agradecimentos a algumas pessoas que contribuíram significativamente para a conclusão deste curso. Esta jornada não teria sido possível sem o apoio, incentivo e carinho que recebi de vocês ao longo desses anos.

Primeiramente, gostaria de agradecer aos meus familiares, especialmente à minha mãe, dona Laudence; aos meus avós dona Laudice e Sr. Alziro; à minha irmã Estéfane; às minhas tias Tamires e Aldaíde, e também à minha sogra Marlúcia. Vocês foram verdadeiros pilares durante todo o processo, sempre me encorajando e oferecendo palavras de conforto e confiança. Seus conselhos foram essenciais para minha perseverança e dedicação em alcançar este objetivo. Cada abraço, palavra de incentivo e celebração nos momentos de sucesso tornaram esta trajetória ainda mais especial. Sou profundamente grato por ter vocês ao meu lado.

Um agradecimento especial aos muitos amigos e colegas que ganhei nessa jornada, sobretudo na turma de 2017 (Adriana, Bia, Lidiane, Graciele, Hemilly, Danilo, Hugo, Patrick, Livinho, Brunão, Aldevando, Thiago, Wilson, Iranildo, Tanure; Brad, Ícaro e Vini), sendo esses três últimos os melhores amigos que a vida me deu, com vocês vivenciei momentos de alegria, reflexão e aprendizado. Tenho certeza de que se faltasse um de vocês na minha vida, certamente não teria chegado tão longe.

Agradeço também aos meus professores, que dedicaram seu tempo e conhecimento para me guiar ao longo deste percurso acadêmico. Suas aulas inspiradoras, paciência e apoio individualizado foram fundamentais para meu crescimento como estudante e como pessoa. Neste espaço, vale destacar a atuação do professor Almir Ribeiro, que com suas orientações valiosas e feedbacks construtivos moldou minha compreensão da química e me incentivou a buscar sempre a excelência. Sou imensamente grato por ter tido a oportunidade de aprender com vocês.

E como não mencionar minha querida namorada? Ester, você tem sido uma fonte constante de apoio, amor e compreensão. Suas palavras de incentivo nos momentos de aflição e seu sorriso contagiante foram meu combustível para enfrentar os mais difíceis desafios. Sua presença em minha vida trouxe equilíbrio e motivação, e sou grato por compartilhar cada passo dessa jornada ao seu lado.

Por fim, agradeço ao IFBA por existir e oferecer cursos de alta qualidade, além de promover inúmeras políticas de assistência estudantil que garantiram minha permanência e a tão sonhada conclusão do curso. Àqueles que mencionei e a todos aqueles que, de alguma forma, estiveram presentes durante esta trajetória, meu mais profundo agradecimento, e como diria Carl Sagan:

*“Diante da vastidão do tempo e da imensidão do universo,  
é um imenso prazer para mim dividir um planeta e uma época com você”.*

SANTOS, Richardson Alves. **Avaliação da utilização do extrato da palha de espigas do milho da variedade palha roxa como indicador natural ácido-base.** Trabalho de conclusão de curso (Graduação) 46 f. 2023. Curso de Licenciatura em Química. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Bahia, Vitória da Conquista, 2023.

## RESUMO

Ao longo da história diferentes teorias foram formuladas para explicar os conceitos de ácido e base. No ensino de Química, a classificação mais difundida atualmente é atribuída a Arrhenius (1859-1927), e nela, ácidos são substâncias que em meio aquoso produzem íons  $H^+$  e bases são aquelas que produzem  $OH^-$ . Em soluções aquosas, a concentração de  $H^+$  pode ser expressa em unidades de pH (potencial hidrogeniônico) e essas unidades são organizadas em uma escala numérica que varia de 0 a 14. Além de equipamentos, existem substâncias químicas capazes de revelar por meio de reações se um composto tem o caráter ácido ou básico, são os chamados indicadores químicos de pH, podendo ser sintéticos ou naturais. Dentre as substâncias naturais que variam a coloração em função do pH, podemos citar as antocianinas, que podem ser encontradas em flores, folhas, frutos, caules e sementes, sendo responsáveis pelas seguintes cores: rosa; vermelho; roxo; azul e preto. A utilização da palha de espigas do milho da variedade Palha Roxa para a produção de indicadores químicos naturais se enquadra nos princípios da Química Verde, pois aproveita um resíduo agrícola, reduzindo a dependência de matérias-primas não renováveis e minimizando os impactos ambientais associados. Para a produção dos extratos da palha de milho, testou-se três solventes distintos: água destilada, etanol 96 °GL e etanol 50% acidificado (HCl 1%). Qualitativamente, o extrato feito com água destilada, pela técnica de decocção, apresentou cores mais nítidas na escala de pH. Nesta lógica, por utilizar um solvente renovável, atóxico e de fácil acesso, recomenda-se seu uso no contexto educacional. Desta forma, este trabalho contribui para o avanço do conhecimento na área de indicadores naturais e incentiva a continuidade de pesquisas relacionadas ao uso da palha de espigas do milho da variedade Palha Roxa como recurso sustentável em diversos contextos.

**Palavras-chaves:** Milho Palha Roxa; indicador natural; pH; extração; Química Verde.

SANTOS, Richardson Alves. **Avaliação da utilização do extrato da palha de espigas do milho da variedade palha roxa como indicador natural ácido-base.** Trabalho de conclusão de curso (Graduação) 46 f. 2023. Curso de Licenciatura em Química. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Bahia, Vitória da Conquista, 2023.

### **ABSTRACT**

Through history, different theories have been developed in order to explain acid base concepts. In chemistry education, it is attributed to Arrhenius (1859-1927) the most widespread theory. In this theory, substances which, in aqueous medium, produce cations  $H^+$  are classified as acids, whereas bases are substances which, in same condition, produce anions  $OH^-$ . In aqueous medium,  $H^+$  concentration can be expressed as units of pH (hydrogenic potential), with values ranging from 0 to 14. Besides equipment uses, there are substances capable of evaluate, by chemical reactions, if a compound shows acid or base character. These substances, natural or synthetic, are known as pH indicators. Among the natural compounds whose colors changes depending on pH values, anthocyanins are highlighted. This metabolite class is mainly found in flowers, leaves, fruits, barks, and seeds, usually, present the colors pink, red, purple, blue, and black. The use of corn cob straw of the “Palha Roxa” variety to produce natural pH indicator is in accordance with green chemistry principles since it represents the use of an agricultural residue and the decrease of non-renewable feedstocks dependence and its environmental impacts. Three different solvents were used for extract production: distilled water, ethanol 50 % (acidified with HCl 1 %), and ethanol 96 o GL. Qualitatively, aqueous extract, obtained by decoction, presented better results once it presented sharper colors in the pH scale. In this context, the use of water, a renewable, nontoxic, and accessible solvent, is recommend for educational purposes. Therefore, this work contributed to the advance in knowledges related to natural pH indicators area outstanding the need of future investigations concerning the use of corn cob straw of the “Palha Roxa” variety as sustainable resource.

**Keywords:** Corn “Palha Roxa”; natural indicator; pH; extraction; green chemistry.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

°C	Graus celsius
A.P	Antes do Presente
BAG Milho	Banco Ativo de Germoplasma de Milho do Brasil
CENARGEN	Centro Nacional de Recursos Genéticos
CONAB	Companhia Nacional de Abastecimento
C <sub>n</sub>	Número de Carbonos
Embrapa	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
g	Grama
GL	GayLussac
Gly	Glicolisação
HCl	Ácido Clorídrico
m/v	Massa/volume
mL	Mililitro
nm	Nanômetro
OH	Hidroxila
pH	Potencial Hidrogeniônico
SNSM	Sistema Nacional de Sementes e Mudas
UV-vis	Ultravioleta-visível

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Estrutura básica dos flavonoides.....	19
<b>Figura 2:</b> Estrutura do cátion Flavilium e principais antocianidinas. ....	20
<b>Figura 3:</b> Cores características das principais antocianidinas. ....	21
<b>Figura 4:</b> Estrutura das antocianinas em função do pH.....	22
<b>Figura 5:</b> Milho Comercial (A) x Milho Palha Roxa (B). ....	24
<b>Figura 6:</b> Fenótipo do milho Palha Roxa. ....	24
<b>Figura 7:</b> Primeiras sementes adquiridas do milho Palha Roxa. ....	25
<b>Figura 8:</b> 1º plantio de milho Palha Roxa. ....	26
<b>Figura 9:</b> 2º plantio de milho Palha Roxa.....	27
<b>Figura 10:</b> Processamento das palhas do milho Palha Roxa. ....	27
<b>Figura 11:</b> Extração com solução de etanol 50% acidificado (HCl 1%). ....	29
<b>Figura 12:</b> Extração com etanol 96°GL. ....	29
<b>Figura 13:</b> Extração com água destilada. ....	30
<b>Figura 14:</b> Mancha do extrato no pedaço de papel. ....	31
<b>Figura 15:</b> Mancha de referência (A) x mancha exposta a vapores de amônia (B). .	32
<b>Figura 16:</b> Mancha de referência (A) x macha exposta a vapores de HCl (B). ....	32
<b>Figura 17:</b> Espectrofotômetro. ....	33
<b>Figura 18:</b> Soluções com pH entre 0 e 14. ....	34
<b>Figura 19:</b> Teste do extrato feito com água destilada.....	34
<b>Figura 20:</b> Teste do extrato feito com etanol 96° GL. ....	35
<b>Figura 21:</b> Teste do extrato feito com etanol 50% acidificado (HCl 1%). ....	35
<b>Figura 22:</b> Escala de pH do extrato feito com água destilada. ....	39
<b>Figura 23:</b> Escala de pH do extrato feito com etanol 96° GL.....	40
<b>Figura 24:</b> Escala de pH do extrato feito com etanol 50% acidificado (HCl 1%). ....	40

## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro 1:</b> Classes de compostos fenólicos em plantas. ....	18
<b>Quadro 2:</b> Principais subclasses e características dos flavonoides. ....	19

## LISTA DE GRÁFICOS

**Gráfico 1:** Absorvância x comprimento de onda nas faixas de pH de 0 a 6. ....38

**Gráfico 2:** Absorvância x comprimento de onda nas faixas de pH de 7 a 14. ....38

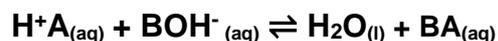
## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	14
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	16
2.1	OBJETIVO GERAL.....	16
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	16
<b>3</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	17
3.1	APROVEITAMENTO DE RESÍDUOS E PRODUÇÃO DE INDICADORES QUÍMICOS NATURAIS DE pH.....	17
3.2	CLASSES DE METABÓLITOS DAS ANTOCIANINAS .....	17
3.3	ESTRUTURA QUÍMICA DAS ANTOCIANIDINAS E ANTOCIANINAS .....	20
3.4	COMPORTAMENTO DAS ANTOCIANINAS FRENTE A VARIAÇÃO DE pH .	21
3.5	O MILHO PALHA ROXA COMO FONTE DE ANTOCIANINAS.....	23
<b>4</b>	<b>METODOLOGIA</b> .....	25
4.1	OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS DE MILHO.....	25
4.2	PLANTIO E COLHEITA DOS GRÃOS DE MILHO .....	25
4.3	PROCESSAMENTO E ESTOCAGEM DAS PALHAS DE MILHO.....	27
4.4	TÉCNICAS DE EXTRAÇÃO.....	28
4.4.1	Extração com solução de etanol 50% acidificada com ácido clorídrico (HCl) 1% .....	28
4.4.2	Extração com etanol 96° GL .....	29
4.4.3	Extração com água destilada .....	30
4.5	IDENTIFICAÇÃO DE ANTOCIANINAS .....	30
4.5.1	Identificação de antocianinas utilizando reação reversível em papel .....	31
4.5.2	Identificação de antocianinas utilizando espectrofotometria .....	32
4.6	TESTES DOS EXTRATOS EM DIFERENTES FAIXAS DE pH .....	33
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÕES</b> .....	36
5.1	OBTENÇÃO E PLANTIO DAS SEMENTES DE MILHO. ....	36
5.2	COLHEITA, PROCESSAMENTO E ESTOCAGEM DAS PALHAS. ....	36
5.3	TÉCNICAS DE EXTRAÇÃO.....	37
5.4	IDENTIFICAÇÃO DE ANTOCIANINAS .....	37
5.5	TESTES DOS EXTRATOS EM DIFERENTES FAIXAS DE pH .....	39
<b>6</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	42
<b>7</b>	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	43

## 1 INTRODUÇÃO

Ao longo da história, diferentes teorias foram formuladas para explicar os conceitos de ácido e base. Os livros-texto de Química do ensino médio no Brasil, abordam a evolução das teorias ácido-base, como um processo contínuo, linear e acumulativo. Normalmente, limitam-se aos cientistas cujas linhas de pesquisa tiveram continuidade durante o século XX, especificamente, Johannes Nicolaus Brønsted (1879-1947), Thomas Martin Lowry (1874-1936) e Gilbert Newton Lewis (1875-1946). Entretanto, achar que uma teoria está interligada com as demais, sendo uma a expansão da outra é um equívoco, tendo em vista que os cientistas possuíam divergências quanto ao tema (SOUZA; ARICÓ, 2017).

No ensino de Química, a classificação de ácidos e bases mais difundida atualmente é atribuída a Svante August Arrhenius (1859-1927), apesar de ele próprio nunca ter estabelecido uma definição do que era um ácido e uma base no sentido literal. Geralmente, os livros de Química mencionam que ácidos são substâncias que em meio aquoso produzem íons  $H^+$  e bases são aquelas que produzem  $OH^-$ . A neutralização é a reação entre estas duas espécies iônicas, produzindo um sal (HERBST, 2022). Em termos didáticos a expressão a seguir demonstra esse processo:



Além disso, S. A. Arrhenius acreditava que seu ponto de vista talvez não estivesse certo, sendo apenas uma hipótese útil de trabalho, já que naquele período as ideias eram discutidas no campo filosófico e era “impossível discernir qual teoria era a mais adequada para explicar ampla e satisfatoriamente os fenômenos químicos estudados” (SOUZA; ARICÓ, 2017).

Em soluções aquosas, a concentração de  $H^+$  pode ser expressa em unidades de pH – potencial hidrogeniônico (LEE, 1999), onde:

$$pH = -\log[H^+]$$

Além de equipamentos, existem substâncias químicas capazes de revelar, por meio de reações, se um composto possui caráter ácido ou básico, são os chamados indicadores químicos de pH. A utilização de indicadores de pH é uma prática bem antiga que foi introduzida no século XVII por Robert Boyle. Ele preparou um extrato de violeta e observou que este tornava-se vermelho em solução ácida e verde em

solução alcalina. Além disso, percebeu que gotejando o extrato sobre uma folha de papel e, logo após, adicionando vinagre, o papel tornava-se vermelho. Assim foram obtidos os primeiros indicadores de pH em ambas as formas: solução e papel (TERCI; ROSSI, 2002).

Foi somente no início do século XX que uma explicação para esse fenômeno foi proposta, quando Willstätter e Robinson “relacionaram as antocianinas como sendo os pigmentos responsáveis pela coloração de diversas flores e que seus extratos apresentavam cores que variavam em função da acidez ou alcalinidade do meio” (TERCI; ROSSI, 2002).

As antocianinas são pigmentos naturais de plantas, solúveis em água e pertencentes à classe de compostos fenólicos conhecidos como flavonoides. Esses compostos, assim como indicadores de pH comerciais, possuem colorações diferentes para a sua forma ácida (HIn) e básica (In<sup>-</sup>) [...] (NUNES; JANSEN; QUINÁIA, 2002, p. 113).

A utilização desses extratos naturais indicadores de pH pode ser explorada didaticamente como uma importante ferramenta para fortalecer a articulação entre a teoria e a prática. O experimento didático privilegia o caráter investigativo, favorece a compreensão conceitual da disciplina e permite que os estudantes manipulem objetos e ideias, desta forma, possibilita aprender tanto com erros quanto com os acertos (FARIAS; BASAGLIA; ZIMMERMANN, 2009).

Neste trabalho é apresentado um estudo de avaliação do uso do extrato da palha de espigas do milho da variedade Palha Roxa, como indicador natural ácido-base. Os experimentos realizados são simples e de baixo custo, não sendo necessária a infraestrutura de um laboratório para replicação da maior parte das práticas. Além disso, conteúdos químicos importantes podem ser trabalhados de maneira contextualizada com as atividades experimentais descritas.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

➤ Avaliar a utilização dos extratos da palha de espigas do milho da variedade Palha Roxa como indicador natural ácido-base.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

➤ Preparar os extratos da palha das espigas de milho utilizando como solvente a água destilada, o etanol 96° GL e o etanol 50% acidificado (HCl 1%);

➤ Verificar a presença de antocianinas na amostra, por meio da reação reversível em papel e da espectrofotometria UV-vis;

➤ Testar os extratos em soluções com diferentes valores de pH;

➤ Criar as escalas de pH para os extratos analisados.

### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 APROVEITAMENTO DE RESÍDUOS E PRODUÇÃO DE INDICADORES QUÍMICOS NATURAIS DE pH

A Química Verde, também conhecida como Química Sustentável, é caracterizada pela criação, desenvolvimento e emprego de produtos e processos químicos com o objetivo de minimizar ou eliminar a utilização e a produção de substâncias prejudiciais. Nesse contexto, o aproveitamento de resíduos e a utilização de matérias-primas renováveis têm ganhado destaque, proporcionando avanços significativos em processos mais eficientes, seguros e sustentáveis (ALMEIDA *et al.* 2019).

A palha de milho, geralmente considerada um subproduto agrícola, é uma fonte abundante e renovável de biomassa. Dentre os componentes da palha de milho da variedade Palha Roxa, destacam-se as antocianinas, que são pigmentos naturais responsáveis pelas cores em plantas que vão desde as tonalidades claras; rosa e vermelha, até tonalidades escuras; roxa, azul e preta. Essas substâncias podem ser extraídas e utilizadas como indicadores de pH, oferecendo uma alternativa sustentável aos indicadores sintéticos (GAMARRA *et al.* 2009).

A utilização da palha de milho em estudo para a produção de indicadores químicos naturais se enquadra nesse conceito, pois aproveita um resíduo agrícola, reduzindo a dependência de matérias-primas não renováveis e minimizando os impactos ambientais associados.

#### 3.2 CLASSES DE METABÓLITOS DAS ANTOCIANINAS

Todos os organismos vivos necessitam sintetizar e converter muitos compostos orgânicos para viver, crescer e se reproduzir. Isto é possível graças a uma rede de reações químicas mediadas por enzimas, chamadas de vias metabólicas. Os organismos vivos variam muito em sua capacidade de sintetizar e transformar produtos químicos. No entanto, as vias para modificar e sintetizar carboidratos, proteínas, gorduras e ácidos nucleicos são essencialmente as mesmas em todos os seres vivos, exceto variações. Esses processos são chamados de metabolismo primário e os compostos envolvidos nessas vias são conhecidos como metabólitos primários (DEWICK, 2002).

Em contrapartida, existem metabolitos que são encontrados apenas em organismos ou grupos de organismos específicos e refletem a individualidade da espécie, são os chamados metabólitos secundários. Nas plantas, temos como exemplo os compostos fenólicos, que atuam por exemplo na produção de toxinas fornecendo defesa contra predadores, na liberação de atrativos/repelentes voláteis (perfumes e odores), ou como coloração para atrair ou alertar outras espécies (DEWICK, 2002).

Os compostos fenólicos compreendem estruturalmente um anel aromático, contendo um ou mais substituintes hidroxila, e variam de moléculas fenólicas simples a moléculas altamente polimerizadas (BALASUNDRAM; SUNDRAM; SAMMAN, 2006). Podem ser classificados segundo o tipo do esqueleto principal, conforme representado no quadro 1, em que C<sub>6</sub> corresponde ao anel aromático.

**Quadro 1:** Classes de compostos fenólicos em plantas.

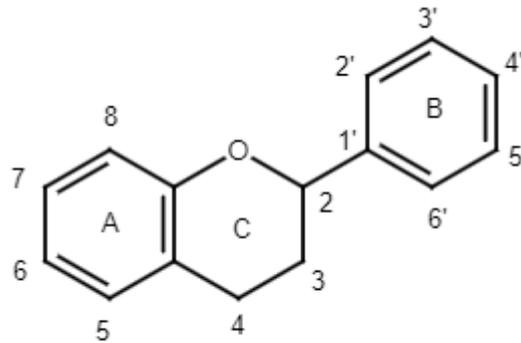
Classe	Estrutura
Fenólicos simples, benzoquinonas	C <sub>6</sub>
Ácidos hidroxibenzóicos	C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub>
Acetofenol, ácidos fenilacéticos	C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub>
Ácidos hidroxinâmicos, fenilpropanóides	C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub>
Nafitoquinonas	C <sub>6</sub> -C <sub>4</sub>
Xantonas	C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub> -C <sub>6</sub>
Estilbenos, antoquinonas	C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub> -C <sub>6</sub>
Flavonóides, isoflavonóides	C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub>
Lignanas, neolignanas	(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>
Biflavonóides	(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> ) <sub>2</sub>
Ligninas	(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> ) <sub>n</sub>
Taninos Condensados	(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> ) <sub>n</sub>

Fonte: Carvalho (2022).

A classe dos flavonoides representa o maior e mais amplo grupo de compostos fenólicos. A maioria das substâncias desse grupo, possui massa moleculares relativamente baixos e são solúveis de acordo com sua polaridade e estrutura química (BRAVO, 1998). São encontrados nas partes aéreas das plantas de diferentes ecossistemas. Quimicamente, estão ligados a açúcares como glicosídeos e são bastante estáveis, pois resistem a oxidação, altas temperaturas e variações de acidez (SILVA *et al.*, 2015).

A estrutura básica destes compostos, consiste em 15 átomos de carbono, arranjados em dois anéis aromáticos [A e B], e interligados a uma estrutura heterocíclica central [anel C] (DORNAS *et al.*, 2007), conforme pode ser visualizado na Figura 1.

**Figura 1:** Estrutura básica dos flavonoides.



Fonte: Bravo (1998).

Existem diferentes tipos de flavonoides, e essa diversidade é fruto de pequenas modificações químicas na estrutura básica destes compostos, a partir de processos como: hidrogenações, hidroxilações, metilações, malonilações, sulfatações e glicosilações (MACHADO *et al.*, 2008). As principais classes e características dos flavonoides estão descritas no Quadro 2.

**Quadro 2:** Principais subclasses e características dos flavonoides.

Subclasses de Flavonoides	Ligação do anel B ao anel C	Grupos Funcionais no anel C	Exemplos	Presença nos alimentos
<b>Flavonóis</b>	2	3 - Hidroxi 4 - Oxo	Quercetina Mircetina Rutina Campferol	Vegetais, maioria dos frutos
<b>Flavonas</b>	2	4 - Oxo	Luteolina Apigenina	Especiarias, cereais, frutos
<b>Flavanonas</b>	2	4 - Oxo	Hesperidina Naringenina	Frutos cítricos
<b>Flavanas</b>	2	3 - Hidroxi	Catequina Epicatequina Teaflavina	Chás, uva e vinho tinto
<b>Isoflavonoides</b>	3	4 - Oxo	Daidzeína Genisteína	Maioria dos legumes
<b>Antocianidinas</b>	2	3 - Hidroxi	Cianidina Delfinidina Peonidina	Frutos vermelhos

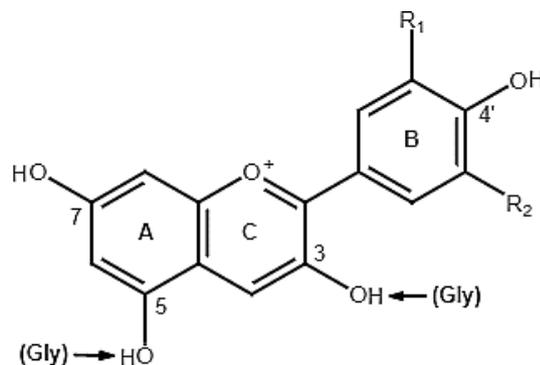
Fonte: Flambó (2013).

Dentre os flavonoides, as antocianidinas são o grupo mais comum e abundante. Seus produtos glicosilados, as antocianinas, são pigmentos naturais solúveis em água, que podem ser encontrados em flores, folhas, frutos, caules e sementes de muitas plantas (TAN *et al.*, 2022). Além disso, são responsáveis pelas cores vermelha, azul e roxa desses tecidos vegetais (SILVA *et al.*, 2016). Nas plantas, as antocianinas protegem contra a ação da luz, são antioxidantes, atuam no mecanismo de defesa e nas funções biológicas. Suas cores vivas e intensas são importantes em vários mecanismos reprodutores, como a polinização e a dispersão de sementes (LOPES *et al.*, 2007).

### 3.3 ESTRUTURA QUÍMICA DAS ANTOCIANIDINAS E ANTOCIANINAS

Derivadas do cátion *flavilium*, as antocianidinas possuem grupos hidroxila adicionais nas posições 3, 5, 7 e 4' (Figura 2). Quando as antocianidinas sofrem glicosilação (Gly) elas dão origem as antocianinas. A glicosilação refere-se às reações nas quais as hidroxilas (OH) das antocianidinas são parcial ou totalmente substituídas por açúcares, sendo os mais comuns: glicose; galactose; arabinose; xilose; ramnose ou dissacarídeos formados por esses açúcares. Em teoria, todas as OH das antocianidinas podem ser glicosiladas, no entanto, com algumas exceções, são sempre glicosiladas no C<sub>3</sub>-OH, ou C<sub>3</sub> e C<sub>5</sub>-OH (ZHAO *et al.*, 2014; MARÇO; POPPI & SCARMINIO, 2008).

**Figura 2:** Estrutura do cátion Flavilium e principais antocianidinas.



Pelargonidina:	R <sub>1</sub> = H	R <sub>2</sub> = H
Cianidina:	R <sub>1</sub> = OH	R <sub>2</sub> = H
Delfinidina:	R <sub>1</sub> = OH	R <sub>2</sub> = OH
Peonidina:	R <sub>1</sub> = OCH <sub>3</sub>	R <sub>2</sub> = H
Petunidina:	R <sub>1</sub> = OCH <sub>3</sub>	R <sub>2</sub> = OH
Malvidina:	R <sub>1</sub> = OCH <sub>3</sub>	R <sub>2</sub> = OCH <sub>3</sub>

Fonte: Silva et al. (2016); Tan et al. (2022).

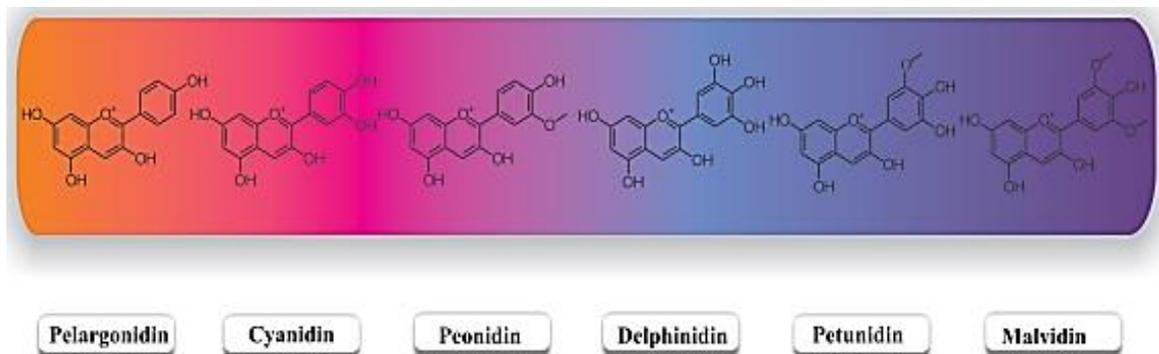
Existem seis antocianidinas comuns: Pelargonidina; Cianidina; Delfinidina; Peonidina; Petunidina e Malvidina. Todas as antocianinas conhecidas são derivadas de uma dessas seis estruturas básicas e diferem apenas no número de substituintes hidroxila e/ou metoxi no anel B (SILVA *et al.*, 2016).

As antocianinas possuem insaturações e grupos facilmente oxidáveis, o que leva a suas propriedades extremamente instáveis. Fatores externos, como pH, temperatura e concentração de O<sub>2</sub>, afetam a degradação das antocianinas. Além disso, fatores estruturais, como número e posição dos grupos hidroxila; grau de glicosilação, metilação e acilação, também afetam a estabilidade das antocianinas (TAN *et al.*, 2022).

### 3.4 COMPORTAMENTO DAS ANTOCIANINAS FRENTE A VARIAÇÃO DE pH

A cor das antocianidinas difere com o número de hidroxilas ligadas em suas moléculas, especialmente aquelas contidas no anel B do cátion *flavilium*, como demonstra a figura 3 (ANANGA *et al.*, 2013).

**Figura 3:** Cores características das principais antocianidinas.



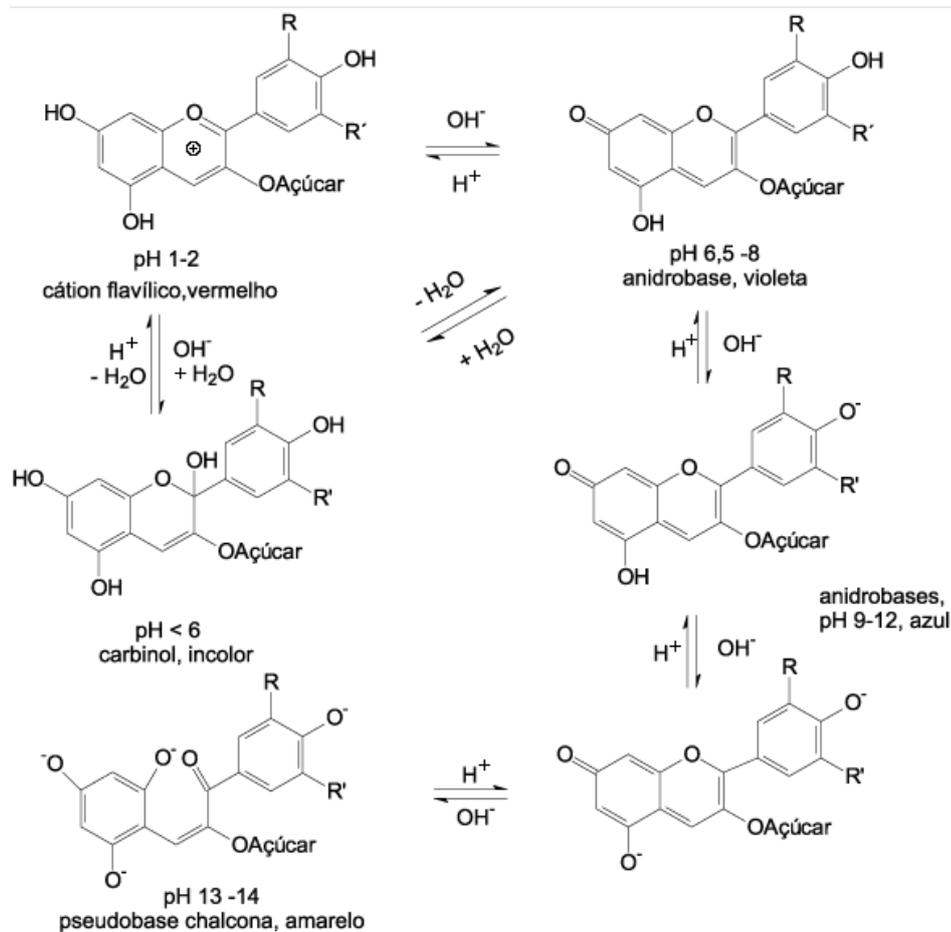
Fonte: Ananga *et al.* (2013).

Já as antocianinas, quando em solução, apresentam diferentes estruturas e cores em função do pH do meio, podendo ser usadas como indicadores ácido-base (MAZZINI, 2020). A figura 4 ilustra as diferentes estruturas das antocianinas em função do pH. Em meio ácido, pH < 3, a estrutura básica da antocianina representada pelo cátion flavilium, apresenta coloração vermelha. À medida que o pH aumenta em torno de 6, o cátion perde um próton e sofre hidratação, dando origem a pseudobase ou carbinol que é incolor. Para pH > 6, o cátion perde prótons, formando a anidrobases de cor violeta, que em seguida, em pH > 9 assume a cor azul. Além disso, para valores

de pH acima de 12, ocorre a quebra do anel de pirano e a formação das chalconas de coloração amarela (ALBARICI; PESSOA; FORIM, 2006).

Uma característica importante das antocianinas é que, em razão de sua estrutura ressonante (deslocalização eletrônica), elas são capazes de absorver radiação do espectro ultravioleta até o visível (ARRUDA *et al.*, 2019). Em moléculas orgânicas, como as antocianinas, os sistemas conjugados que absorvem energia na faixa do visível são chamados de cromóforos, e fatores como a variação de pH e presença de grupos auxocromos que alteram o comprimento de onda absorvido pelos cromóforos, são responsáveis pela variedade de cores das antocianinas (MARTINS; SUCUPIRA; SUAREZ, 2015). O aumento de pH do meio, reduz o número de ligações duplas, deslocando os máximos de absorção para menores comprimentos de onda, ocasionando a perda de coloração da solução (SILVA *et al.*, 2019).

**Figura 4:** Estrutura das antocianinas em função do pH.



Fonte: Campos (2006).

### 3.5 O MILHO PALHA ROXA COMO FONTE DE ANTOCIANINAS

O milho (*Zea mays L.*) é uma planta doméstica, originária do México, que evoluiu sob influência humana, de uma ou mais variedades de teosinto selvagem a aproximadamente 9.000 anos [A. P.] (KISTLER *et al.*, 2018). O Brasil é o terceiro maior produtor de milho no mundo, com uma produção estimada em 124,67 milhões de toneladas na safra 2022/23, segundo dados da Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB, 2023).

Dentre as espécies cultivadas, o milho possui uma das maiores variabilidades genéticas conhecidas, tendo aproximadamente 400 raças identificadas no mundo, e milhares de variedades dentro de cada raça (ELTETO, 2019), sendo que todas as variedades de milho existentes pertencem a espécie *Zea mays L.* (MAGALHÃES; SOUZA, 2015). No Banco Ativo de Germoplasma de Milho do Brasil (BAG Milho), plataforma mantida pelo Centro Nacional de Recursos Genéticos (CENARGEN) da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), e contida no Portal Alelo Recursos Genéticos, constam cerca de 4.080 variedades de milho cadastradas.

Nos últimos anos, constata-se uma predominância da utilização de variedades de milho híbridas ou transgênicas por parte dos produtores no Brasil, devido ao melhor custo-benefício (FILHO; BORGHI, 2018), o que põe em risco a variabilidade genética das variedades locais/crioulas. (JUNIOR *et al.*, 2015).

Segundo a Lei nº 10.711 de 5 de agosto de 2003, que dispõe sobre o Sistema Nacional de Sementes e Mudas (SNSM), variedade local, tradicional ou crioula é toda “[...] variedade desenvolvida, adaptada ou produzida por agricultores familiares, assentados da reforma agrária ou indígenas, com características fenotípicas bem determinadas e reconhecidas pelas respectivas comunidades [...]” (BRASIL, 2003).

Uma dessas variedades crioulas é o milho Palha Roxa. Diferentemente do milho comercial que apresenta a palha das espigas na cor verde, o milho Palha Roxa tem suas palhas na cor roxa, como mostra a figura 5.

**Figura 5:** Milho Comercial (A) x Milho Palha Roxa (B).



As famílias agricultoras atribuem nomes locais às variedades de milho que cultivam, estes nomes estão geralmente relacionados a origem, características estéticas e usos de cada uma. A mesma variedade pode receber nomes locais distintos quando são cultivadas por diferentes famílias. Este é o caso do milho Palha Roxa, também conhecido como “Cana Roxa” ou “Macabu” (ELTETO, 2019). Apesar de possuir a palha roxa, os grãos dessa variedade de milho apresentam cor amarela (Figura 6), assim como os milhos comerciais.

**Figura 6:** Fenótipo do milho Palha Roxa.



Sabe-se que a cor roxa é um forte indício da presença de antocianinas em uma planta. Desta forma, este trabalho visa avaliar a utilização do extrato da palha das espigas do milho Palha Roxa como indicador natural ácido-base, tendo em vista que esta parte da planta é geralmente descartada após a colheita.

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS DE MILHO

As primeiras sementes de milho da variedade Palha Roxa (Figura 7) foram adquiridas no “Sítio da Vovó Lúcia” localizado na cidade de Gonzaga - MG em 02/07/2021, através da plataforma Shopee. Nesta propriedade são produzidos e comercializados diversos gêneros alimentícios da agricultura familiar, e de acordo a Sra. Lúcia, em registro de vídeo em seu canal no Youtube, o milho da variedade Palha Roxa é cultivado há várias gerações por sua família.

A aquisição desta variedade de milho por parte do autor foi fruto do seu desejo de cultivar milho não transgênico no sítio de sua família, no povoado Vereda, localizado na zona rural de Vitória da Conquista – BA. Ao realizar a colheita da primeira lavoura, o autor observou que suas mãos haviam ficado manchadas de roxo, cor característica das espigas do milho Palha Roxa. Diante disso, o autor supôs que a coloração poderia estar relacionada com a presença de antocianinas, surgindo assim a ideia de utilização do extrato das palhas das espigas como indicador natural de pH.

**Figura 7:** Primeiras sementes adquiridas do milho Palha Roxa.



### 4.2 PLANTIO E COLHEITA DOS GRÃOS DE MILHO

O plantio do milho ocorreu em dois momentos distintos. No primeiro destes (29/09/2021), as sementes compradas foram plantadas com o intuito de aumentar a

quantidade de sementes em estoque e verificar se de fato as amostras adquiridas correspondiam ao milho palha roxa, tendo em vista que foram adquiridas pela internet. O local escolhido para o plantio foi um canteiro no quintal da casa da Sra. Aldaide Souza Santos (tia do autor), no bairro Cidade Modelo, na cidade de Vitória da Conquista – BA, por apresentar o solo fértil.

O canteiro foi capinado e adubado (A), posteriormente foram plantadas 80 sementes distribuídas igualmente em 16 covas (B). A colheita ocorreu aproximadamente dois meses depois no dia 25/11/2021 (C), e algumas etapas deste processo podem ser visualizadas na figura 8 a seguir.

**Figura 8:** 1º plantio de milho Palha Roxa.



O segundo plantio ocorreu no dia 12/02/2022, e teve a finalidade de produzir algumas palhas das espigas para a realização deste trabalho. O local escolhido foi o mesmo, desta forma, o canteiro foi novamente capinado e adubado (A), entretanto, desta vez foram plantadas 100 sementes igualmente distribuídas em 25 covas (B). A colheita também ocorreu cerca de dois meses depois, no dia 17/04/2022 (C e D) e algumas etapas do cultivo podem ser observadas na figura 9 a seguir.

**Figura 9:** 2º plantio de milho Palha Roxa.



#### 4.3 PROCESSAMENTO E ESTOCAGEM DAS PALHAS DE MILHO

Após colher as espigas de milho, algumas palhas foram retiradas e deixadas secar em sol pleno por cerca de uma semana, para evitar a proliferação de microrganismos. Posteriormente, as palhas secas foram cortadas em pequenos pedaços e trituradas com o auxílio do liquidificador até obter-se um pó, que em seguida foi acondicionado em um pote de vidro com tampa, revestido em papel alumínio e filme plástico, para ser armazenado na geladeira. Esses cuidados foram tomados a fim de evitar que a amostra sofresse degradações causadas pela exposição a luz ou ar. A figura 10 abaixo demonstra este processo.

**Figura 10:** Processamento das palhas do milho Palha Roxa.



#### 4.4 TÉCNICAS DE EXTRAÇÃO

A qualidade e a composição final dos extratos de produtos naturais são diretamente influenciadas pela técnica de extração utilizada na obtenção desses produtos. O procedimento de extração é determinado pela classe de compostos que se deseja extrair e pelos objetivos da análise, que podem ser quantitativos ou qualitativos (OLIVEIRA, 2010).

Nesta perspectiva, foram realizadas três extrações distintas, duas utilizando a técnica da extração por maceração que consiste na imersão da amostra em um solvente, por um período determinado, podendo haver agitação ocasional e variação de temperatura (JACQUES, 2005) e uma utilizando a técnica da extração por decocção que é quando a amostra é imersa em um líquido extrator, geralmente água, sob aquecimento, durante 20-30 minutos (TOMASI, 2021).

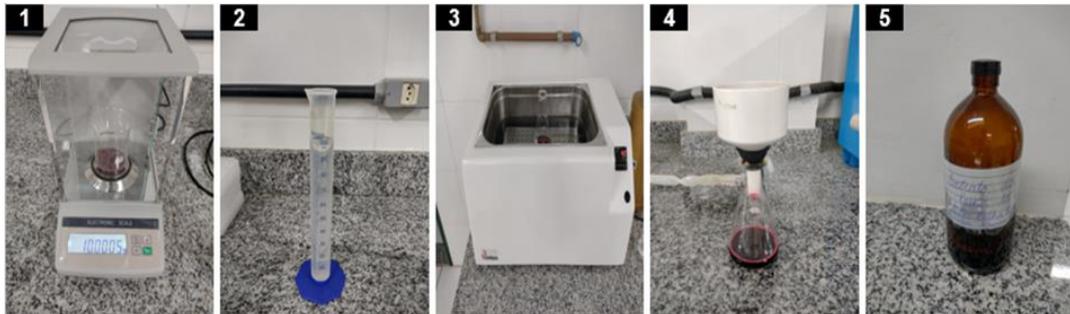
##### **4.4.1 Extração com solução de etanol 50% acidificada com ácido clorídrico (HCl) 1%**

Esta foi a primeira extração por maceração e o solvente utilizado foi o álcool etílico 50% acidificado (HCl 1%), tendo em vista que Patil *et al.* (2009) e Chandrasekhar *et al.* (2012) demonstraram em seus trabalhos que essa combinação de etanol acidificado é a mais eficiente na extração de antocianinas. O planejamento experimental adotado surgiu de uma adaptação das condições propostas por Hentz (2015), que mostraram maior rendimento na extração de antocianinas, estas foram: 10g de amostra seca para 100 mL de solução extratora a 40°C por 2 horas.

Inicialmente foram pesados, utilizando uma balança analítica, aproximadamente 10g do triturado de palha de milho em um Becker de 250 mL (1). Posteriormente, mediu-se em uma proveta 100 mL da solução contendo etanol 50% acidificado (HCl 1%) (2). Logo após, o solvente e o triturado foram transferidos para um Erlenmeyer de 250 mL, misturados e colocados no banho térmico na temperatura de 40°C por 2 horas (3). O recipiente era agitado manualmente a cada 10 minutos. Após as duas horas de extração, a mistura foi filtrada em um sistema contendo funil de Buchner, papel de filtro e bomba de vácuo (4). Em seguida, foi medido o pH do extrato com o auxílio de um pHmetro e constatado o valor de 1,66. Logo após, o extrato foi transferido para um frasco de vidro âmbar, etiquetado e acondicionado na

geladeira para conservação e utilização nas etapas seguintes (5). A figura 11 ilustra algumas etapas deste processo.

**Figura 11:** Extração com solução de etanol 50% acidificado (HCl 1%).

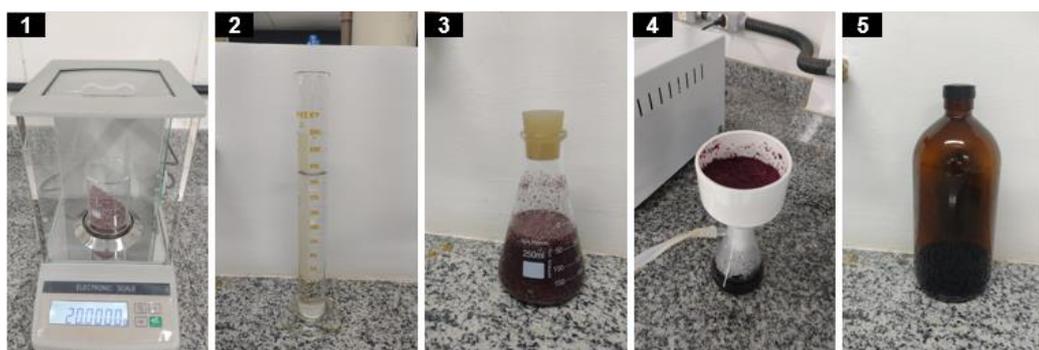


#### 4.4.2 Extração com etanol 96° GL

Esta foi a segunda extração por maceração, entretanto, foi realizada de forma exaustiva em um período de 5 dias. O solvente utilizado foi o etanol 96° GL e a proporção amostra/solvente foi a mesma da técnica anterior 1:10 (m/v).

Inicialmente, foram pesados, utilizando uma balança analítica, 20g do triturado de palha de milho em um Becker de 250 mL (1). Posteriormente, mediu-se em uma proveta 200 mL do etanol 96° GL (2). Logo após, o solvente e o triturado foram transferidos para um Erlenmeyer de 250 mL e misturados (3). O recipiente foi vedado com uma rolha de silicone e colocado em repouso dentro de um armário, durante 5 dias. Após esse período, a mistura foi filtrada em um sistema contendo funil de Buchner, papel de filtro e bomba de vácuo (4). Em seguida, foi medido o pH do extrato com o auxílio de um pHmetro e constatado o valor de 4,63. Logo após, o extrato foi transferido para um frasco de vidro âmbar, etiquetado e acondicionado na geladeira para conservação e utilização nas etapas seguintes (5). A figura 12 ilustra algumas etapas deste processo.

**Figura 12:** Extração com etanol 96°GL.

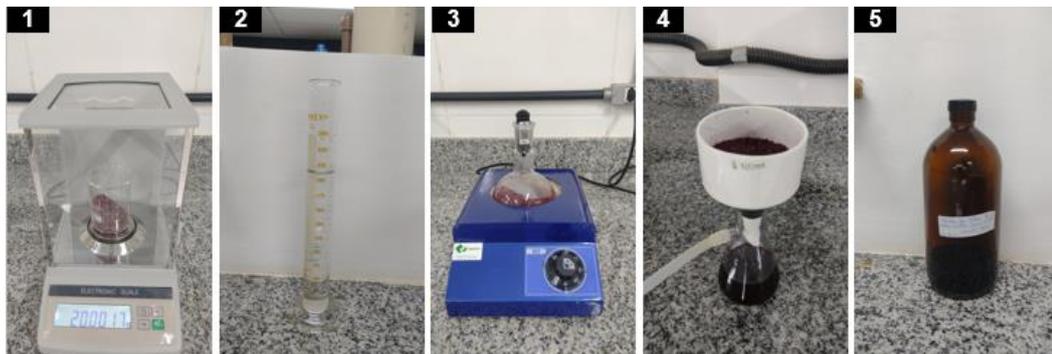


#### 4.4.3 Extração com água destilada

Nesta extração empregou-se a técnica de extração por decocção, utilizando a água destilada como solvente. Como nos procedimentos anteriores a proporção amostra/solvente foi de 1:10 (m/v), sendo realizada durante 2 horas a temperatura de 40°C.

Inicialmente foram pesados, utilizando uma balança analítica, aproximadamente 20g do triturado de palha de milho em um Becker de 250 mL (1). Posteriormente, mediu-se em uma proveta 200 mL de água destilada (2). Logo após, o solvente e o triturado foram transferidos para um balão de fundo redondo de 500 mL e misturados. O recipiente foi colocado em uma manta térmica e a temperatura foi regulada em 40°C, sendo monitorada constantemente com um termômetro (3). Após 2 horas, a mistura foi filtrada em um sistema contendo funil de Buchner, papel de filtro e bomba de vácuo (4). Em seguida, foi medido o pH do extrato com o auxílio de um pHmetro e constatado o valor de 4,76. Logo após, o extrato foi transferido para um frasco de vidro âmbar, etiquetado e acondicionado na geladeira para conservação e utilização nas etapas seguintes (5). A figura 13 ilustra algumas etapas deste processo.

**Figura 13:** Extração com água destilada.



#### 4.5 IDENTIFICAÇÃO DE ANTOCIANINAS

Para identificação da presença de antocianinas nos extratos, foram utilizados dois procedimentos analíticos, a reação reversível em papel e a espectrofotometria no ultravioleta-visível (UV-vis).

A reação reversível em papel, baseia-se na propriedade apresentada pelas antocianinas de variar a coloração de forma reversível em função do pH, e consiste em gotear uma alíquota do extrato em um pedaço de papel, expondo o meio a gases de natureza alcalina e posteriormente ácida. Caso a mancha retorne a cor inicial após

o procedimento, significa que existem antocianinas no extrato (MARÇO; POPPI, 2008).

A espectrofotometria (UV-vis) é outra técnica amplamente empregada para verificar a presença de antocianinas em extratos vegetais. Nela é medido a absorção da luz por uma substância em função do comprimento de onda (FILHO et al., 2010). As antocianinas, apresentam duas bandas distintas de absorção quando em meio ácido: uma banda menos intensa na faixa de 260 a 280 nm e outra mais intensa na faixa de 465 a 550 nm (SILVA, 2015). Vale ressaltar que ambas as técnicas se limitam a verificar a presença de antocianinas na amostra, não sendo capazes de identificar antocianinas individuais.

#### 4.5.1 Identificação de antocianinas utilizando reação reversível em papel

Para realização desta técnica foram necessários dois pequenos papéis de filtro, recortados em formato retangular. Em ambos, utilizando uma pipeta Pasteur aplicou-se uma gota do extrato, um exemplo deste procedimento pode ser observado na figura 14 abaixo.

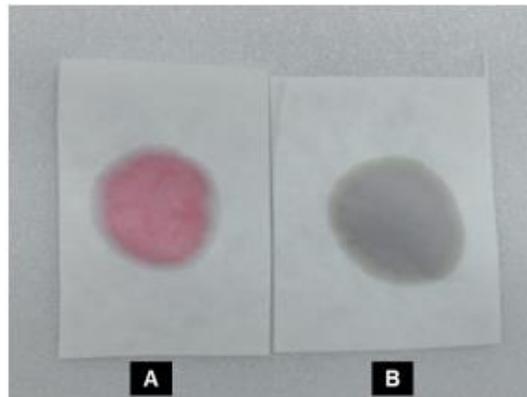
**Figura 14:** Mancha do extrato no pedaço de papel.



Um dos papéis contendo a mancha do extrato será a referência para a análise (A) e o outro será exposto às transformações químicas (B). A comparação entre a mancha de referência e aquela utilizada nas reações, possibilitará a validação da técnica.

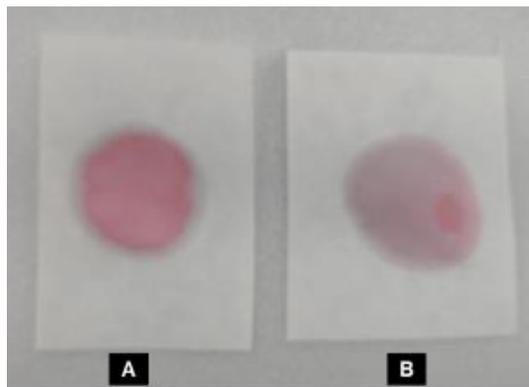
Segurou-se o segundo papel (B) com uma pinça e o levou até a capela de exaustão, expondo-o a vapores de amônia. Este procedimento resultou em um escurecimento da mancha como demonstra a figura 15.

**Figura 15:** Mancha de referência (A) x mancha exposta a vapores de amônia (B).



Logo após, o segundo papel (B) foi novamente levado à capela de exaustão, entretanto, desta vez foi exposto a vapores de ácido clorídrico, fazendo com que a cor original retornasse como demonstra a figura 16.

**Figura 16:** Mancha de referência (A) x mancha exposta a vapores de HCl (B).



#### 4.5.2 Identificação de antocianinas utilizando espectrofotometria

Para realização desta técnica, foram necessários 15 tubos de ensaio contendo soluções com pH de 0 a 14, que foram misturadas com o extrato aquoso de palha de milho. A proporção da mistura foi de 0,5 mL de extrato para 5 mL de solução. Entretanto, essa mistura mostrou-se muito concentrada para este tipo de análise, sendo necessário realizar uma diluição 1:10. Desta forma, foram coletadas as alíquotas de 1 mL de cada tubo de ensaio e misturadas com 9 mL de água destilada em 15 novos tubos de ensaio.

Posteriormente, iniciou-se a análise das amostras utilizando o espectrofotômetro da marca Instrutherm (figura 17). As análises foram feitas de forma

individual em cada uma das soluções da faixa de pH, e a varredura dos comprimentos de onda foi realizada manualmente no intervalo de 400 a 700 nm.

**Figura 17:** Espectrofotômetro.

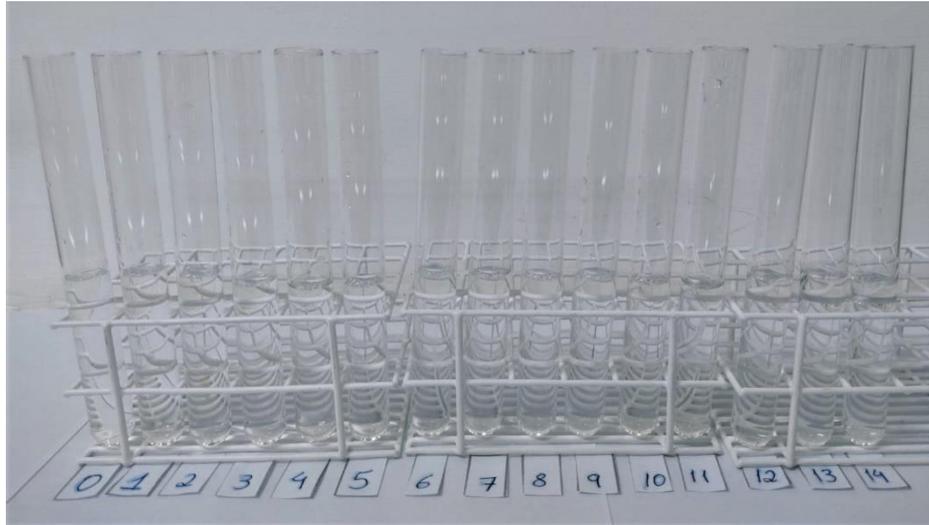


O procedimento de análise consistia em colocar água destilada em uma cubeta de quartzo para representar o branco, alinhando-a ao feixe de luz do comprimento de onda desejado, para calibrar o branco em 100% de transmitância. Em seguida, outra cubeta contendo a amostra desejada era exposta ao mesmo feixe de luz e a medida de absorvância era registrada para posterior construção dos gráficos. Esse procedimento foi repetido diversas vezes, variando os comprimentos de onda em 50 nm por análise até realizar a varredura do intervalo de 400 a 700 nm em cada uma das soluções com pH distintos.

#### 4.6 TESTES DOS EXTRATOS EM DIFERENTES FAIXAS DE pH

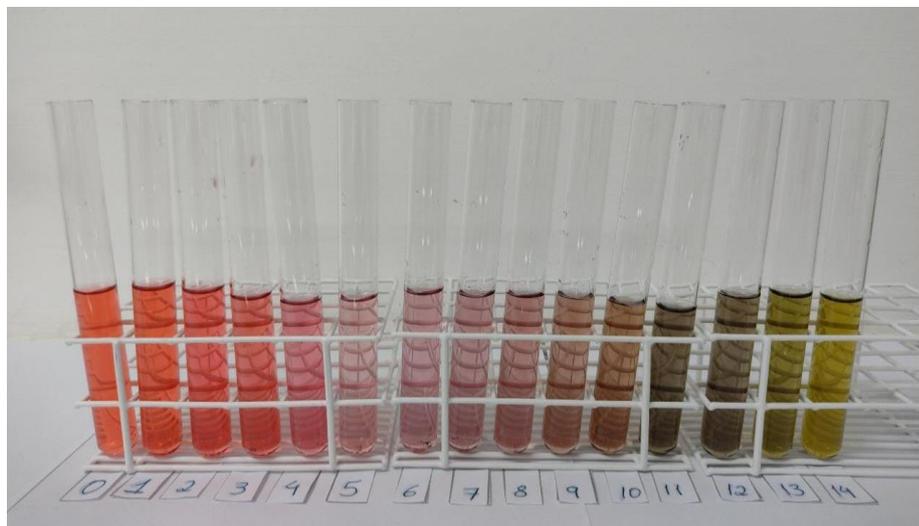
Para a realização dos testes, optou-se em fazer uma adaptação no planejamento experimental de Terci e Rossi (2002). Dessa forma, foram escolhidas 15 soluções incolores com valores de pH entre 0 e 14. As soluções foram organizadas em ordem crescente de pH em tubos de ensaio contendo 10 mL de solução cada, como pode ser observado na figura 18. O sistema foi montado em triplicata, tendo em vista que os testes foram realizados com três extratos distintos: extrato em água destilada, extrato em etanol 96° GL e extrato em etanol 50% acidificado (HCl 1%).

**Figura 18:** Soluções com pH entre 0 e 14.



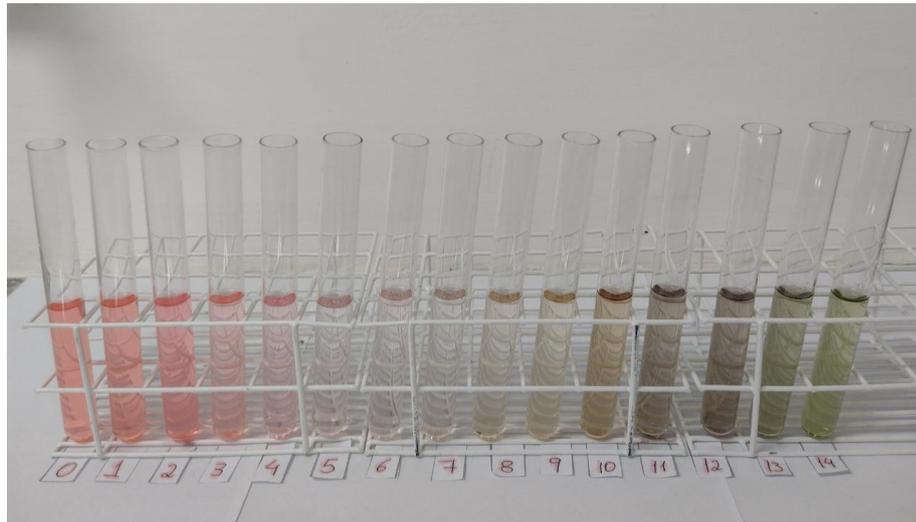
O primeiro extrato a ser testado foi aquele que utilizou água destilada como solvente. De forma individual, foi adicionado 0,5 mL de extrato em cada tubo de ensaio e homogeneizado com agitador vórtex. As cores encontradas podem ser visualizadas na figura 19 a seguir.

**Figura 19:** Teste do extrato feito com água destilada.



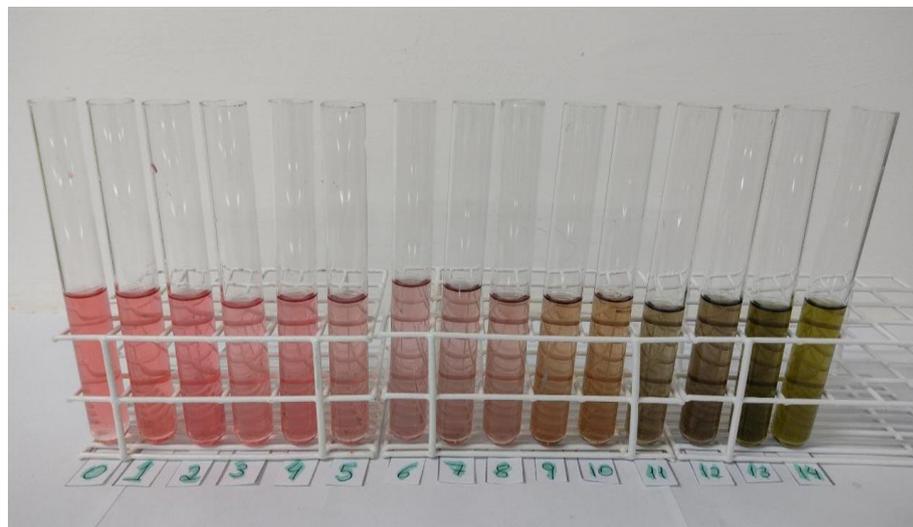
O segundo extrato a ser testado foi aquele que utilizou etanol 96° GL como solvente. Seguindo os mesmos passos do teste anterior foram adicionados 0,5 mL do extrato em cada tubo de ensaio e homogeneizado com agitador vórtex. Resultando nas cores apresentadas na figura 20 a seguir.

**Figura 20:** Teste do extrato feito com etanol 96° GL.



O terceiro e último extrato a ser testado foi aquele que utilizou como solvente o etanol 50% acidificado (HCl 1%). Os procedimentos experimentais também foram os mesmos adotados anteriormente, desta forma, adicionou-se 0,5 mL de extrato nos tubos de ensaio e os homogeneizou por agitação vórtex, dando origem às cores demonstradas na figura 21 a seguir.

**Figura 21:** Teste do extrato feito com etanol 50% acidificado (HCl 1%).



## 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1 OBTENÇÃO E PLANTIO DAS SEMENTES DE MILHO.

Apesar de terem vindo do estado de Minas Gerais, a obtenção das sementes de milho da variedade Palha Roxa ocorreu de forma tranquila, pois foram compradas pela internet e entregues no endereço do autor. O custo total para adquirir 250g naquela época foi de R\$ 14,99, tendo em vista que a plataforma Shopee frequentemente concede cupons de frete grátis para compras em seu site.

Já o plantio das sementes foi um processo mais trabalhoso, tendo em vista que foi necessário realizar a limpeza e preparação do solo, além disso, durante o período de cultivo era necessário manter a lavoura livre de ervas daninhas, sendo feita limpezas frequentes e também realizando irrigação para garantir o desenvolvimento das plantas.

### 5.2 COLHEITA, PROCESSAMENTO E ESTOCAGEM DAS PALHAS.

A colheita das espigas ocorreu cerca de 2 meses após o plantio, e apesar de levar um longo período, a experiência de cultivar um alimento e acompanhar as etapas do seu crescimento foi extremamente gratificante. Uma parte dos grãos foi seca e armazenada para preservar amostras do material genético, os demais foram consumidos. Algumas palhas, ao invés de serem descartadas, foram separadas para servirem de matéria prima na produção do extrato indicador natural ácido-base. Neste processo, foram necessárias a utilização de poucas espigas de milho, já que uma única espiga é revestida por várias camadas de palha.

O processamento das palhas foi uma etapa muito importante, na qual, as palhas foram secas, trituradas e guardadas. O processo foi simples e de baixo custo, já que a secagem foi feita utilizando o calor do sol, a trituração foi realizada utilizando um liquidificador doméstico e a armazenagem foi feita em um recipiente de vidro, fechado, revestido em papel alumínio e filme plástico, e guardado na geladeira. Essas medidas foram fundamentais na conservação da amostra, pois evitaram degradação das antocianinas causada pela exposição a luz; a temperaturas elevadas; ao oxigênio; e a fungos e bactérias.

### 5.3 TÉCNICAS DE EXTRAÇÃO

As três técnicas empregadas para extração das antocianinas neste trabalho: Extração com solução de etanol 50% acidificada (HCl 1%); Extração com etanol 96° GL e Extração com água destilada, mostraram-se eficientes. Tendo em vista que os solventes utilizados em cada uma delas era incolor, foi possível evidenciar que os extratos apresentavam cor roxa intensa após o procedimento de extração (etapa 4 das figuras 11, 12 e 13), demonstrando que foram capazes de desprender as antocianinas responsáveis pela coloração da amostra.

Os solventes utilizados possuem pouca (etanol) ou nenhuma (água) toxicidade, são de fácil acesso e baixo custo. Os procedimentos experimentais são simples, rápidos e facilmente reproduzíveis ou adaptáveis, não sendo necessária a utilização de equipamentos sofisticados ou a infraestrutura de um laboratório de Química. Além disso, foi necessário pequenas quantidades de solvente e amostra para se realizar uma extração.

### 5.4 IDENTIFICAÇÃO DE ANTOCIANINAS

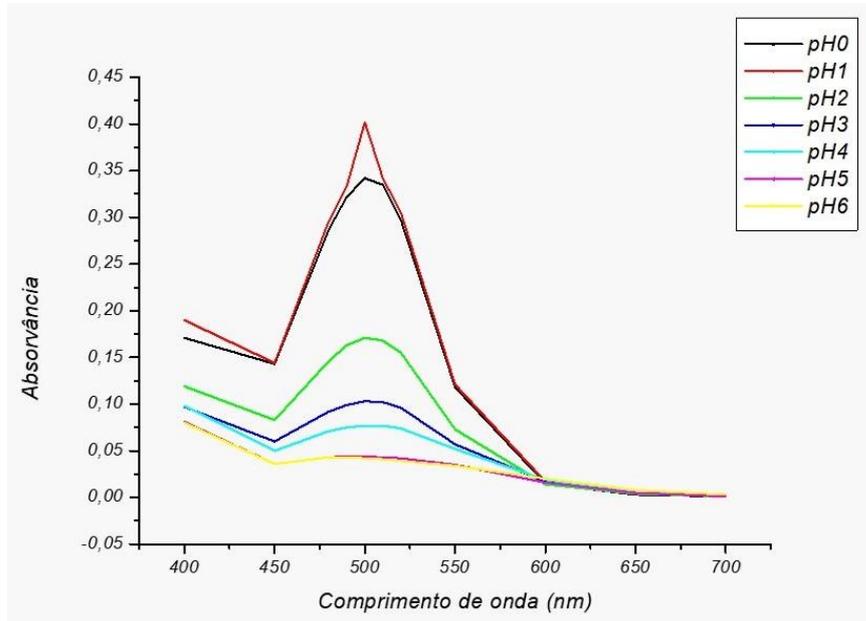
A detecção da presença das antocianinas em extratos vegetais pode ser realizada por meio de diversas técnicas a depender dos objetivos da análise. Tendo em vista que o objetivo desse trabalho é analisar a utilização do extrato das palhas das espigas do milho da variedade Palha Roxa como indicador natural ácido-base, foi importante se certificar de que as substâncias responsáveis pela variação de cor são de fato as antocianinas, já que na natureza existem outros compostos com coloração semelhante, como por exemplo as betacianinas que dão cor as beterrabas.

A técnica da reação reversível em papel, mostrou ser um procedimento eficaz, simples e rápido. Tendo em vista que a cor da mancha B voltou a ser rosa como a cor da mancha de referência A (figura 16), ficou constatado a presença de antocianinas na amostra do extrato. Entretanto, vale destacar que a aplicação desta técnica requer alguns cuidados como a utilização de capela exaustora, para evitar acidentes com os vapores nocivos à saúde.

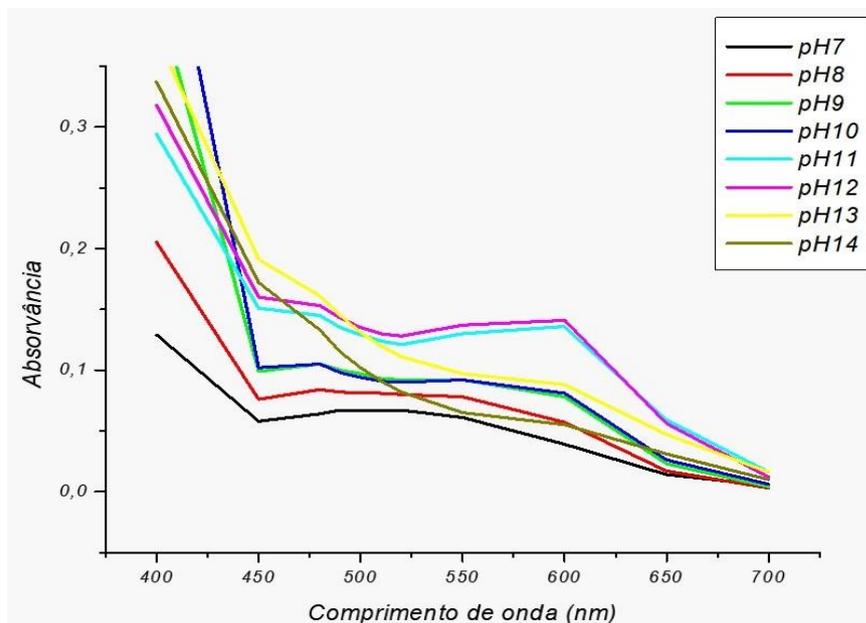
Outra técnica, desta vez mais sofisticada, que também se mostrou extremamente eficaz foi a espectrofotometria (UV-vis). Com os dados coletados nas análises de cada solução de pH distinto nos comprimentos de onda de 400 a 700 nm, foi possível plotar

no software Orange, com o auxílio do Prof. Almir Ribeiro de Carvalho Júnior, os gráficos 1 e 2 a seguir.

**Gráfico 1:** Absorvância x comprimento de onda nas faixas de pH de 0 a 6.



**Gráfico 2:** Absorvância x comprimento de onda nas faixas de pH de 7 a 14.



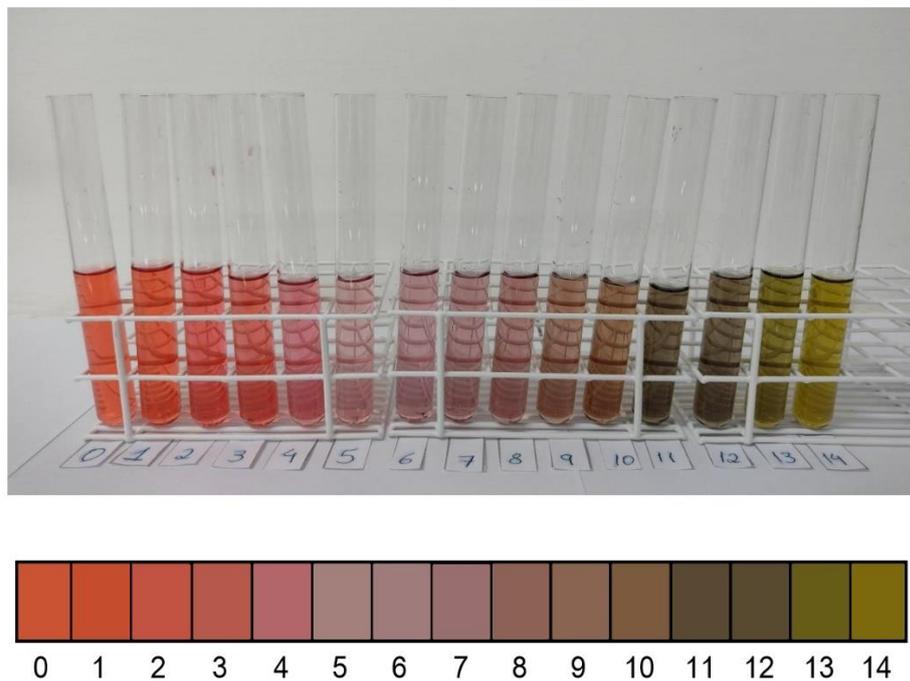
A partir do gráfico 1, em meio ácido, foi possível observar os máximos de absorção na região de 500 nm. Já no gráfico 2, com o aumento do pH, observa-se o surgimento de uma nova banda na região de 600 nm. Isso pode ser explicado pela presença do

cátion *flavilium* e da base quinoidal respectivamente, sendo essas espécies, as únicas coloridas em solução aquosa. (SILVA, 2015). Esse comportamento gráfico comprova a presença de antocianinas no extrato analisado.

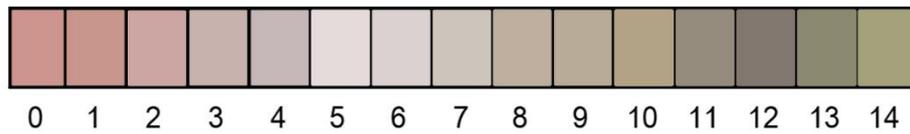
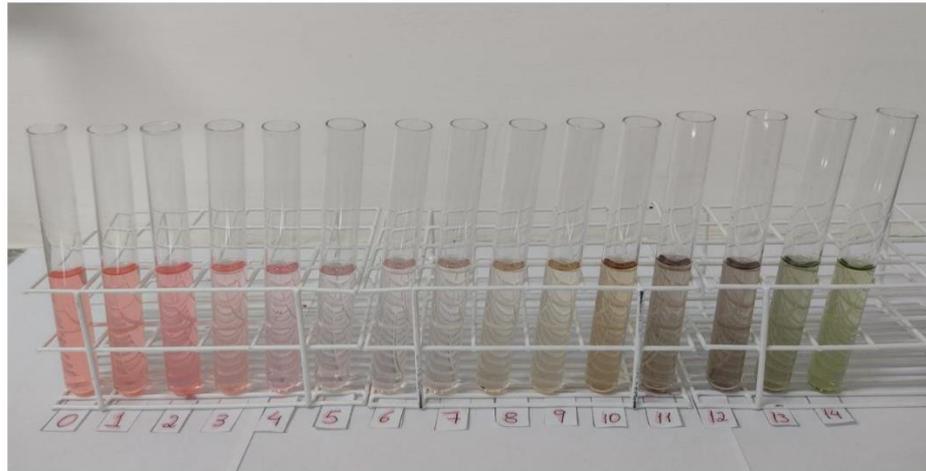
### 5.5 TESTES DOS EXTRATOS EM DIFERENTES FAIXAS DE pH

Um dos critérios iniciais deste procedimento, foi escolher apenas soluções incolores para construir a faixa de pH. Tendo em vista, que o extrato já possuía coloração própria, foi importante que as soluções não tivessem cores, para que as cores resultantes da mistura extrato-solução fossem sempre as mesmas naquelas condições, podendo assim elaborar uma escala de pH padrão. Após os testes de cada um dos extratos, foi possível desenvolver três escalas de pH distintas como demonstram as figuras 22, 23 e 24.

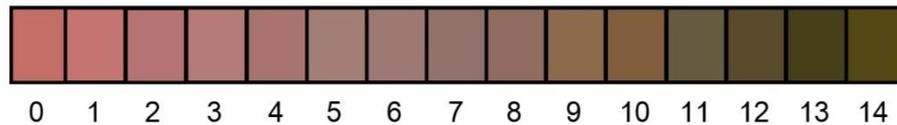
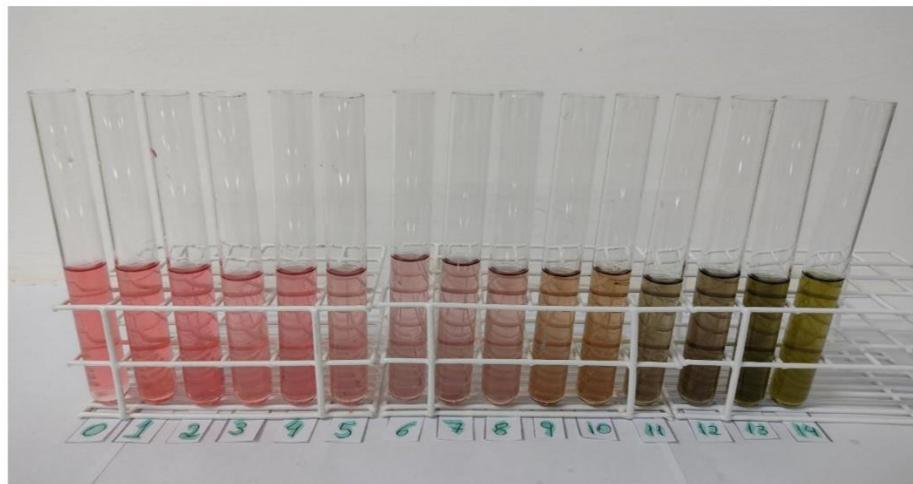
**Figura 22:** Escala de pH do extrato feito com água destilada.



**Figura 23:** Escala de pH do extrato feito com etanol 96° GL.



**Figura 24:** Escala de pH do extrato feito com etanol 50% acidificado (HCl 1%).



Apesar de os extratos terem sido feitos da mesma amostra, foram encontradas três escalas diferentes. Isso pode ser explicado pela forma, como os extratos foram feitos, utilizando solventes e técnicas distintas. Além disso, o pH de cada extrato foi

diferente, o que pode ter influenciado nas cores finais. Visualmente, a escala que apresentou cores mais intensas e definidas foi aquela que utilizou o extrato feito com água destilada (figura 21). Este resultado mostra-se interessante, tendo em vista que na literatura o extrato que apresentaria maior concentração de antocianinas seria o do etanol 50% acidificada (HCl 1%), porém visualmente não apresentou as melhores cores na escala.

Em ambas as escalas no meio ácido,  $\text{pH} < 3$ , pode-se observar a coloração avermelhada. Isso pode ser explicado, pois a estrutura básica das antocianinas (cátion *flavilium*) apresenta essa cor nesses valores de pH. Conforme o pH aumenta em torno de 6, o cátion perderá um próton e sofrerá hidratação, originando o carbinol que é incolor, explicando os tons mais claros da escala. Para  $\text{pH} > 6$ , o cátion perderá prótons, formando a anidrobases de cor violeta, que posteriormente, em  $\text{pH} > 9$  assumirá a cor azul, explicando a mistura de cores nesse intervalo. Além disso, para valores de pH acima de 12, ocorre a quebra do anel de pirano e a formação das chalconas de coloração amarela (ALBARICI; PESSOA; FORIM, 2006).

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho se insere no contexto da química verde, uma abordagem que busca desenvolver processos químicos sustentáveis, com menor impacto ambiental e maior eficiência. A química verde enfatiza a utilização de recursos renováveis, a redução do consumo de substâncias tóxicas e a minimização da geração de resíduos. Nesta lógica, com essa pesquisa foi possível obter resultados relevantes que contribuem para a compreensão e aplicação dos extratos da palha de espigas do milho da variedade Palha Roxa como indicador natural ácido-base.

No decorrer deste trabalho, foram alcançados os objetivos específicos estabelecidos. Primeiramente, os extratos da palha das espigas de milho foram preparados utilizando diferentes solventes, como água destilada, etanol 96° GL e etanol 50% acidificado (HCl 1%). Em seguida, foram realizadas análises para verificar a presença de antocianinas nos extratos, utilizando a reação reversível em papel e a espectrofotometria UV-vis. Esses métodos permitiram confirmar a presença desses compostos nos extratos da palha de espigas de milho, evidenciando seu potencial como indicador natural.

Outro objetivo específico foi testar os extratos em soluções com diferentes valores de pH. Esses testes revelaram a capacidade dos extratos em apresentar diferentes tonalidades de cor, dependendo do pH da solução. Essa resposta visual fornece informações sobre a acidez ou basicidade da solução, tornando os extratos da palha de espigas de milho uma alternativa viável aos indicadores sintéticos convencionais.

Além disso, foram criadas escalas de pH para os extratos analisados, possibilitando uma referência visual na determinação do pH das soluções. Diante dos resultados obtidos, conclui-se qualitativamente que o extrato feito com água destilada como solvente e pela técnica de decocção, apresentou cores mais nítidas na escala de pH. Nesta lógica, por utilizar um solvente renovável, atóxico e de fácil acesso, recomenda-se seu uso no contexto educacional.

Por fim, este trabalho contribui para o avanço do conhecimento na área de indicadores naturais e incentiva a continuidade de pesquisas relacionadas ao uso da palha de espigas do milho da variedade Palha Roxa como recurso sustentável em diversos contextos. A aplicação desses indicadores naturais não apenas reduz a dependência de produtos químicos sintéticos, mas também aproveita um recurso local, que geralmente é considerada um subproduto agrícola sem valor comercial.

## 7 REFERÊNCIAS

ALBARICI, T. R.; PESSOA, J. D. C.; FORIM, M. R. **Efeito das variações de pH e temperatura sobre as antocianinas na polpa de açaí – estudos espectrométricos e cromatográficos**. EMBRAPA. Comunicado Técnico 78, São Carlos – SP, 2006. ISSN 1517-4786.

ALMEIDA, Q. A. R.; SILVA, B. B.; SILVA, G. A. L.; GOMES, S. S.; GOMES, T. N. C. **Química Verde nos cursos de Licenciatura em Química do Brasil: Mapeamento e importância na prática docente**. Amazônia, Revista de Educação em Ciências e Matemática, v.15, n. 34, p.178-18, 2019. ISSN 2317-5125

ANANGA, A.; GEORGIEV, V.; OCHIENG, J.; PHILLS, B.; TSOLOVA, V. Production of Anthocyanins in Grape Cell Cultures: A Potential Source of Raw Material for Pharmaceutical, Food, and Cosmetical Industries. In: POLJUHA, D.; SLADONJA, B. **The Mediterranean Genetic Code – Grapevine and olive**. Tallahassee, FL: InTech, 2013. cap. 11. Disponível em: <http://cdn.intechopen.com/pdfs-wm/44143.pdf>. DOI: 10.5772/54592

ARRUDA, M. R. E.; BARBOSA, E. K. S.; DA SILVA, C. F.; VINHAS, G. M. Avaliação de extratos de antocianinas como indicadores de pH obtidos por diferentes métodos. **Brazilian Journal of Food Research**. Campo Mourão, v. 10, n. 3, p. 87-100, 2019. ISSN 2448-3184.

BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food Chemistry**, v. 99, n. 1, p. 191–203, 2006.

BRASIL. Lei Nº 10.711 de 05 de agosto de 2003. **Dispõe sobre o Sistema Nacional de Sementes e Mudanças e dá outras providências**. Brasília, DF: Diário Oficial da União, 2003.

BRAVO, L. Polyphenols: Chemistry, Dietary Sources, Metabolism, and Nutritional Significance. **Nutrition Reviews**, v. 56, n. 11, p. 317-333. 1998.

CAMPOS, D. D. P. **Extração, Purificação e Isolamento de Antocianinas de Jambolão (*Syzygium cumini*) e Avaliação dos seus Efeitos Biológicos**. 109f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 2006.

CARVALHO, L. C. F. **Compostos fenólicos simples e heterosídicos**. Prof.Dr.Luis Carlos Figueira de Carvalho. Disponível em: <https://profluiscarloscarvalho.comunidades.net/compostos-fenolicos>. Acesso em 20 de setembro de 2022.

CHANDRASEKHAR, J.; MADHUSUDHAN, M.C.; RAGHAVARAO, K. S. M. S. Extraction of anthocyanins from red cabbage and purification using adsorption. **Food and Bioproducts Processing**. Mysore (Índia), v. 90, p. 615-623, 2012. DOI:<http://dx.doi.org/10.1016/j.fbp.2012.07.004>

CONAB. **Conjunturas da Agropecuária**. CONAB, 2023. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/analises-do-mercado-agropecuario-e-extrativista/analises-do-mercado/historico-de-conjunturas-de-milho/item/20163-milho-conjuntura-semanal-13-03-2023>. Acesso em 16 de março de 2023.

DEWICK, P. M. **Medicinal natural products: a biosynthetic approach**. 2nd ed. John Wiley & Sons Ltd, 2002. ISBN 0471496405 (cased) – ISBN 047149641 3 (pbk.)

DORNAS, W. C; OLIVEIRA T. T; RODRIGUES-DAS-DORES, R. G; SANTOS, A. F; NAGEM, T. J. Flavonóides: potencial terapêutico no estresse oxidativo. **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.**, v. 28, n.3, p. 241- 249, 2007. ISSN 1808-4532

ELTETO, Y. M. **As sementes crioulas e as estratégias de conservação da agrobiodiversidade**. UFV. Viçosa – MG, 2019.

FARIAS, C. S.; BASAGLIA, A. M.; ZIMMERMANN, A. **A importância das atividades experimentais no Ensino de Química**. 1º CPEQUI – 1º Congresso Paranaense de Educação Em Química, Londrina, 2009.

FILHO, I. A. P.; BORGHI, E. **Sementes de Milho no Brasil – A Dominância dos Transgênicos**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2018. ISSN 1518-4277; 223.

FILHO, H. B.; KRUG, F. G.; ZAGATTO, E. A. G.; ROCHA, F. R. P. **Espectrofotometria no ultravioleta e visível**. USP. Centro de Energia Nuclear na Agricultura, 2010.

FLAMBÓ, D. F. A. L. P. **Atividades Biológicas dos Flavonóides: Atividade Antimicrobiana**. UFP. Porto, 2013. Disponível em: <https://bdigital.ufp.pt/bitstream/10284/3979/1/Projeto%20final.pdf>. Acesso em 25 de setembro de 2022.

GAMARRA, F. M. C.; LEME, G. C.; TAMBOURGI, E. B.; BITTENCOURT, E.; **Extração de corantes de milho (Zea mays L.)**. Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, 2009. ISSN 0101-2061

HENTZ, R. **Otimização da Extração de Antocianinas da Casca da Jabuticaba (Myrciaria cauliflora) e Avaliação da Capacidade Antioxidante**. 80f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Erechim, RS, 2015.

HERBST, M. A definição ácido-base de Arrhenius dos livros-textos de química: a história de um obstáculo epistemológico e suas consequências para o ensino-aprendizagem. **História da Ciência e Ensino**. V. 25, p. 19-30, 2022.

JACQUES, R. A. **Caracterização Química da Erva Mate (Ilex paraguariensis): Aplicação de Diferentes Processos de Extração e influência das Condições de Plantio sobre a Composição Química**. 158f. Dissertação (Doutorado em Química) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, RS, 2005.

JUNIOR, B. B. A.; MELO, A. E.; MATIAS, J. N. R.; FONTES, M. A. **Avaliação de variedades crioulas de milho para produção orgânica no semiárido potiguar.** HOLOS, Ano 31, v. 3, 2015. DOI: 10.15628/holos.2015.2277

KISTLER, L.; MAEZUMI, S. Y.; DE SOUZA, J. G.; PRZELOMSKA, N. A. S.; COSTA, F. M.; SMITH, O.; LOISELLE, H.; RAMOS-MADRIGAL, J.; WALES, N.; RIBEIRO, E. R.; MORRISON, R. R.; GRIMALDO, C.; PROUS, A. P.; ARRIAZA, B.; GILBERT, M. T. P.; FREITAS, F. O.; ALLABY, R. G. **Multiproxy evidence highlights a complex evolutionary legacy of maize in South America.** Science 362, p. 1309-1313, 2018. DOI: 10.1126/science.aav0207

LEE, J. D. **Química Inorgânica não tão concisa.** 5. ed. São Paulo: Edgard Blucher, 1999.

LOPES, T. J.; XAVIER, M. S.; QUADRI, M. G. N.; QUADRI, M. B. Antocianinas: uma breve revisão das características estruturais e da estabilidade. **R. Bras. Agrocência**, Pelotas, v. 13, n. 3, p. 291-297, 2007.

MACHADO, H.; NAGEM, T. J.; PETERS, V. M.; FONSECA, C. S.; OLIVEIRA, T. T. Flavonóides e seu potencial terapêutico. **Boletim do Centro de Biologia da Reprodução**, Juiz de Fora, v. 27, n. 1/2, p. 33-39, 2008.

MAGALHÃES, P. C.; DE SOUZA, T. C. **Cultivo do Milho:** Ecofisiologia. EMBRAPA MILHO E SORGO, 2015. Disponível em: [https://www.spo.cnptia.embrapa.br/conteudo?p\\_p\\_id=conteudoportlet\\_WAR\\_sistema\\_sdeproducao16\\_1ga1ceportlet&p\\_p\\_lifecycle=0&p\\_p\\_state=normal&p\\_p\\_mode=view&p\\_p\\_col\\_id=column-1&p\\_p\\_col\\_count=1&p\\_r\\_p\\_-76293187\\_sistemaProducaoId=7905&p\\_r\\_p\\_-996514994\\_topicId=8662](https://www.spo.cnptia.embrapa.br/conteudo?p_p_id=conteudoportlet_WAR_sistema_sdeproducao16_1ga1ceportlet&p_p_lifecycle=0&p_p_state=normal&p_p_mode=view&p_p_col_id=column-1&p_p_col_count=1&p_r_p_-76293187_sistemaProducaoId=7905&p_r_p_-996514994_topicId=8662). Acesso em 20 de março de 2023.

MARÇO, P. H.; POPPI, R. J.; SCARMINIO, I. S. Procedimentos analíticos para identificação de antocianinas em extratos naturais. **Química Nova**, v. 31, n. 5, p. 1218-1223, 2008.

MARTINS, G. B. C.; SUCUPIRA, R. R.; SUAREZ, P. A. Z. A Química e as cores. **Revista Virtual de Química**, v. 7, n. 4, p. 1508-1534, 2015. ISSN 1984-6835

MAZZINI, L. F. M. **Avaliação espectroquímica do ambiente químico de antocianinas naturais.** UFV. Dissertação de Mestrado. Viçosa-MG, 2020.

NUNES, C. N.; JANSEN, A. B.; QUINÁIA, S. P. Otimização da extração de antocianinas presentes no feijão preto e impregnação do extrato em matriz polimérica natural para uso como indicador de pH. **Química Nova**, v. 45, n. 1, p. 113–120, 2022.

OLIVEIRA, D. A. **Caracterização fitoquímica e biológica de extratos obtidos de bagaço de uva (Vitis vinifera) das variedades Merlot e Syrah.** 103f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, 2010.

PATIL, G.; MADHUSUDHAN, M. C.; BABU, B. R.; RAGHAVARAO, K. S. M. S. Extraction, dealcoholization and concentration of anthocyanin from red radish. **Chemical Engineering and Processing: Process Intensification**. Mysore (Índia), v. 48, p. 364-369, 2009. DOI:10.1016/j.cep.2008.05.006

PORTAL ALELO. **Banco Ativo de Germoplasma de Milho (BAG Milho)**. EMBRAPA. Disponível em: <https://av.cenargen.embrapa.br/avconsulta/Passaporte/detalhesBanco.do?idb=73#re> torno. Acesso em 16 de março de 2023.

SILVA, C. P. **Complexos de Inclusão de Antocianinas e Análogos Sintéticos de Antocianinas**. 80f. Dissertação (Mestrado em Ciências – Química) – Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, 2015.

SILVA, C. F.; FREITAS, V. W. C.; DE ARRUDA, N. C. G.; BARBOSA, E. K. S.; DE ARRUDA, M. R. E.; VINHAS, G. M. Avaliação do uso de extratos de antocianinas obtidos a partir de uvas Isabel como indicadores de pH. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**. v. 13, n. 2, p. 2932-2946, 2019. ISSN 1981-3686.

SILVA, L. R.; MARTINS, L. V.; CALOU, L. B. F.; DE DEUS, M. S. M.; FERREIRA, P. M. P.; PERON, A. P. **Flavonóides**: constituição química, ações medicinais e potencial. *Acta Toxicol. Argent*, p.36-43, 2015.

SILVA, V. O.; FREITAS, A. A.; MAÇANITA, A. L.; QUINA, F. H. Chemistry and photochemistry of natural plant pigments: the anthocyanins. **Journal of Physical Organic Chemistry**, v. 29, n. 11, p. 594–599, 1 nov. 2016.

SOUZA, F. M.; ARICÓ, E. M. Teorias ácido-base no século XX e uma análise reflexiva do trabalho científico. **Educacion Quimica**, v. 28, n. 4, p. 211–216, 1 out. 2017.

TAN, J.; HAN, Y.; HAN, B.; QI, X.; CAI, X.; GE, S.; XUE, H. Extraction and purification of anthocyanins: A review. **Journal of Agriculture and Food Research**, v. 8, 1 jun. 2022.

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

TOMASI, M. L. M. **Aspectos relacionados ao desenvolvimento de um medicamento fitoterápico: preparação e avaliação biológica de extrato seco padronizado de erva mate (Ilex paraguariensis St. Hil.)**. UFSC, 2021.

ZHAO, C. L.; CHEN, Z. J.; BAI, X. S.; DING, C.; LONG, T. J.; WEI, F. G. Structure-activity relationships of anthocyanidin glycosylation. **Mols Divers**, 2014.