
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
ESCOLA DE ENGENHARIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

**Caracterização e estabilidade de micropartículas de antocianinas extraídas
do bagaço da produção do suco de jabuticaba**

- Dissertação de Mestrado -

Ana Cardinale Pereira Souza

Porto Alegre

2014

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
ESCOLA DE ENGENHARIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

**Caracterização e estabilidade de micropartículas de antocianinas extraídas
do bagaço da produção do suco de jabuticaba**

Ana Cardinale Pereira Souza

Dissertação de Mestrado apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Engenharia.

Orientadora:

Prof.^a Dr.^a Ligia Damasceno Ferreira Marczak

Co-orientadora:

Prof.^a Dr.^a Poliana Deyse Gurak

Porto Alegre

2014

AGRADECIMENTOS

Às minhas orientadoras Ligia Damasceno Ferreira Marczak e Poliana Deyse Gurak pela atenção, confiança, apoio e orientação no desenvolvimento desse trabalho e principalmente pela amizade.

A todos os colegas do Laboratório de Tecnologia e Processamento de Alimentos (LATEPA) e do Laboratório de Separação por Membranas (LASEM) pela convivência e pelos momentos de alegria durante a execução dos experimentos, em especial a Jordana e a Naira pela ajuda nos momentos de dúvidas.

Ao Diego Giordano, bolsista de iniciação científica e aluno de graduação, pela paciência e pelo auxílio importante na execução dos experimentos.

Aos funcionários do DEQUI, em especial Caroline, Bruna e Patrício pelo auxílio e colaboração.

Ao Departamento de Engenharia da Química e ao Centro de Nanociências e Nanotecnologia pela utilização da estrutura física dos laboratórios.

Ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química e a Capes pelo suporte e financiamento.

Aos meus queridos amigos do mestrado Carolina, Dirléia, Gabriela, Henrique, Juliano Natasha, Luís Fernando e Santiago pela parceria em todos os momentos e devido à convivência diária tornaram-se minha família.

Aos meus queridos amigos Pablo, Luciano, Cristiano, Zorzi e Thaís pela paciência e apoio.

Aos meus pais, pelo carinho, incentivo e apoio incondicional na escolha da minha carreira profissional que compreenderam minha ausência nesses últimos 10 meses e à minha irmã, Naira, pela amizade.

E a todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

Muito obrigada!

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
ESCOLA DE ENGENHARIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação *Caracterização e estabilidade de micropartículas de antocianinas extraídas do bagaço da produção do suco de jaboticaba*, elaborada por Ana Cardinale Pereira Souza, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Engenharia.

Comissão Examinadora:

Prof.^a Dr.^a Louise Emy Kurozawa

Prof.^a Dr.^a Simone Hickmann Flores

Dr.^a Naira Poerner Rodrigues

Resumo

A busca de fontes alternativas de pigmentos naturais tem estimulado o desenvolvimento de pesquisas com diferentes frutos e resíduos tropicais. No presente trabalho, optou-se por estudar o aproveitamento do bagaço gerado na produção de suco de jabuticaba. A jabuticaba é uma fruta rica em antocianinas, um pigmento natural que, além da capacidade de conferir cor, também possui atividades benéficas à saúde. No entanto, o seu uso como corante natural na indústria de alimentos como uma forma de substituir os corantes sintéticos é limitado pela sua instabilidade frente às condições de processamento e da presença de outros componentes. Uma alternativa para aumentar a estabilidade das antocianinas é através da técnica de microencapsulação no qual o ingrediente sensível é protegido dentro do material de revestimento. Assim, o presente estudo objetivou a produção, caracterização e a verificação da estabilidade dos pós obtidos por liofilização utilizando a maltodextrina, a pectina e a proteína isolada de soja como materiais de parede em diferentes proporções. Os pós foram caracterizados quanto ao teor de umidade, atividade de água, solubilidade, higroscopicidade, tamanho de partícula, morfologia, análise térmica e colorimétrica, teor de fenólicos totais, antocianinas monoméricas e atividade antioxidante com o radical ABTS. Os mesmos também foram avaliados quanto à estabilidade na presença da luz UV durante a estocagem e comparadas com o extrato de antocianinas liofilizado não microencapsulado. As antocianinas presentes no bagaço de jabuticaba foram extraídas com ultrassom utilizando a água acidificada com ácido cítrico (1 %). O extrato de antocianinas concentrado apresentou uma quantidade de antocianinas monoméricas de $510 \pm 0,09 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ de bagaço, um teor de fenólicos totais de $12.860 \pm 1,5 \text{ mg AGE} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ bagaço e uma atividade antioxidante de $39.590 \pm 1,25 \text{ } \mu\text{M TE} \cdot \text{g}^{-1}$ de bagaço todos expressos em base seca. Os pós produzidos por liofilização apresentaram estruturas irregulares amorfas sem estrutura cristalina com tamanho médio de partículas entre 311,66 – 419,74 μm com distribuição bimodal. Além disso, as amostras apresentaram baixos valores de umidade ($2,09 \pm 0,10$ a $4,15 \pm 0,32\%$), atividade de água ($0,053 \pm 0,003$ a $0,162 \pm 0,002$), higroscopicidade ($10,8 \pm 0,1$ a $14,2 \pm 0,3 \text{ g}/100\text{g}$) e baixa solubilidade em água ($10,9 \pm 0,1$ a $21,3 \pm 0,2 \%$), atributos desejáveis na obtenção de alimentos em pó. Com a análise térmica foi possível verificar que houve a microencapsulação das antocianinas com os diferentes materiais de revestimento testados devido à formação de novas transições endotérmicas, e ainda foi possível observar que os pós apresentaram uma estabilidade térmica até a temperatura de 130 °C. A fotoestabilidade dos pós liofilizados bem como do extrato de antocianinas liofilizado não microencapsulado armazenados por 90 dias mostraram que a degradação desse pigmento seguiu uma cinética de primeira ordem e os parâmetros cinéticos foram calculados. Para o extrato não microencapsulado os valores obtidos para a constante de degradação e tempo de meia-vida foram iguais a 0,0135 d^{-1} e 51 dias, respectivamente, correspondendo a uma redução de 77% de antocianinas monoméricas, 56 % de fenólicos totais e 43 % da capacidade antioxidante. Por outro lado, os materiais de parede protegeram o pigmento do efeito deletério da luz em mais de 90 % em relação ao teor de fenólicos totais, 80 % para a quantidade de antocianinas monoméricas, de modo que a atividade antioxidante foi mantida em 70 % durante o período de estocagem. Os valores da constante de degradação para todas as formulações variaram de 0,0022 a 0,0070 d^{-1} e os tempos de meia-vida variaram de 101 a 320 dias. Portanto, os resultados obtidos neste estudo demonstraram que a pectina e a proteína isolada de soja podem ser consideradas potenciais materiais de revestimento na microencapsulação de antocianinas a serem utilizados na indústria de alimentos.

Palavras-chave: bagaço de jabuticaba, antocianinas, microencapsulação, liofilização.

Abstract

The search for alternative sources of natural pigments has stimulated the development of research with different tropical fruits and their waste; in the present work, we chose to study the use of the bagasse generated in the production of jaboticaba juice was studied. Jaboticaba is a fruit rich in anthocyanins, a natural pigment, which besides the ability of providing color, also has beneficial health activities. However, its use as a natural colorant in the food industry, replacing the synthetic coloring agents is limited by their instability due to the process conditions and the presence of other components. An alternative to increase stability of anthocyanins is microencapsulation technique in which the sensitive ingredient is protected within the coating material. The present work aims the production, characterization and verification of the stability of the powders obtained by freeze-drying using maltodextrin, pectin and the isolate soy protein as wall materials in different proportions. The powders were analyzed for moisture content, water activity, solubility, hygroscopicity, particle size, morphology, thermal and colorimetric analysis, total phenolics content, total monomeric anthocyanin and capacity to scavenge the ABTS^{•+}. They were also evaluated for stability in the presence of UV light during storage and compared with the lyophilized extract of anthocyanins not microencapsulated. Anthocyanins were extracted from jaboticaba pomace with ultrasound using water acidified with citric acid (1%). The concentrated extract anthocyanins showed an amount of monomeric anthocyanins of $510 \pm 0.09 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ a content of total phenolics of $12.860 \pm 1.5 \text{ mg GAE} \cdot 100\text{g}^{-1}$ and antioxidant activity of $39,590 \pm 1.25 \text{ } \mu\text{M TE} \cdot \text{g}^{-1}$ pomace dry basis. In addition, the samples presented low moisture values (2.09 ± 0.10 to $4.15 \pm 0.32\%$), low water activity (0.053 ± 0.003 to 0.162 ± 0.002) and hygroscopicity ranging from 10.8 ± 0.1 to $14.2 \pm 0.3 \text{ g}/100\text{g}$ as well as low solubility in water (10.86 ± 0.1 to $21.28 \pm 0.2\%$) which are desirable attributes for food powder. Through the thermal analysis it was verified that the anthocyanins were effectively microencapsulated with the different coating materials tested due to the formation of new endothermic transitions; it was also observed that the powders showed a thermal stability up to $130 \text{ }^\circ\text{C}$. The photostability the powders and extract of anthocyanins lyophilized not microencapsulated stored for 90 days showed that this pigment degradation followed a first-order kinetics. For the extract not microencapsulated the values obtained of degradation and half-life were equal to 0.0135 d^{-1} and 51 days, respectively, corresponding to a 77 % reduction of monomeric anthocyanins, 56% total phenolics content and 43 % of antioxidant capacity. In contrast, the wall material protected the pigment against the deleterious effect of light in more than 90 % for total phenolic content and 80 % for the amount of monomeric anthocyanins, so the antioxidant activity remained at 70 % for the storage period. The rate constants according to a first-order reaction for all formulations ranged from 0.0022 to 0.0070 d^{-1} and the half-life times ranged from 101 to 320 days. Therefore, the results of this study showed that the pectin and the isolate soy protein can be potentially be used as coating materials in the microencapsulation of anthocyanins for use in the food industry.

Keywords: jaboticaba pomace, anthocyanins, microencapsulation, freeze-drying

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Jabuticabeira (<i>Myrciaria cauliflora</i> Berg).	5
Figura 2. Fases de florescimento e de maturação da jabuticaba: (a) gemas no tronco; (b) botão floral fechado; (c) flores abertas; (d) início da frutificação; (e) amadurecimento do fruto; (e) fruto maduro.	7
Figura 3. Fluxograma esquemático das subdivisões dos compostos fenólicos.	13
Figura 4. Cátion flavílico. R5 e R7 = - H, - OH ou R1 = açúcares, R2 = - H ou açúcares.	14
Figura 5. Estrutura e cor das principais antocianidinas.	15
Figura 6. Comportamento da molécula de antocianina em diferentes valores de pHs.....	20
Figura 7. Modelos de micropartículas: (a) microcápsula simples, (b) microcápsula com dois materiais de parede e (c) microesfera com vários núcleos.	25
Figura 8. Estrutura porosa do alimento liofilizado.	28
Figura 9. Diagrama de fases da água.	28
Figura 10. Micropartículas de polifenóis preparadas com diferentes métodos físicos, químicos e físico-químicos.	30
Figura 11. Principais componentes estruturais da maltodextrina.	32
Figura 12. Estrutura química da pectina.	34
Figura 13. Diagrama de solubilidade da proteína isolada de soja em função do pH.....	37
Figura 14. Fotografia do aparato experimental de extração.	43
Figura 15. Representação de um sólido de cor no Espaço de Cor $L^*a^*b^*$	50
Figura 16. Fotomicrografias obtidas por MEV (x150) dos pós de antocianinas microencapsuladas com maltodextrina (F1), maltodextrina e pectina (F2), maltodextrina e proteína isolada de soja (F3) e mistura de maltodextrina, pectina e proteína isolada de soja (F4).	61
Figura 17. Termogramas obtidos por calorimetria diferencial de varredura: extrato de antocianina liofilizado (EAL); maltodextrina (MD); mistura física da maltodextrina com o extrato de antocianina liofilizado (MD-EAL) e micropartículas preparadas com maltodextrina (F1).	63

Figura 18. Termogramas obtidos por calorimetria diferencial de varredura: extrato de antocianina liofilizado (EAL); maltodextrina (MD); pectina (PC); mistura física do extrato de antocianina liofilizado com a maltodextrina e a pectina (MD-PC-EAL) e micropartículas preparadas com pectina e maltodextrina (F2).....	64
Figura 19. Termogramas obtidos por calorimetria diferencial de varredura: extrato de antocianina liofilizado (EAL); maltodextrina (MD); proteína isolada de soja (PIS); mistura física do extrato de antocianina liofilizado com a maltodextrina e proteína isolada de soja (MD-PIS-EAL) e micropartículas preparadas com proteína isolada de soja e maltodextrina (F3).....	65
Figura 20. Termogramas obtidos por calorimetria diferencial de varredura: extrato de antocianina liofilizado (EAL); maltodextrina (MD); pectina (PC); proteína isolada de soja (PIS); mistura física do extrato de antocianina liofilizado com a maltodextrina, pectina e proteína isolada de soja (MD-PC-PIS-EAL) e micropartículas preparadas maltodextrina, pectina e proteína isolada de soja (F4).....	66
Figura 21. Valores experimentais e preditos por um modelo cinético de primeira ordem referente à concentração de antocianinas do extrato liofilizado exposto à luz UV a temperatura ambiente.	69
Figura 22. Mudanças ocorridas no ângulo de tonalidade (h_{ab}) em função do tempo para os pós preparados com maltodextrina (F1A e F1B), pectina e maltodextrina (F2A e F2B), proteína isolada de soja e maltodextrina (F3A e F3B) e pectina, proteína isolada de soja e maltodextrina (F4A e F4B) armazenadas na presença de luz UV.	72
Figura 23. Mudanças ocorridas no chroma (C^*_{ab}) em função do tempo para os pós preparados com maltodextrina (F1A e F1B), pectina e maltodextrina (F2A e F2B), proteína isolada de soja e maltodextrina (F3A e F3B) e pectina, proteína isolada de soja e maltodextrina (F4A e F4B) armazenadas na presença de luz UV.....	72
Figura A.1. Distribuição granulométrica dos pós de antocianinas liofilizados preparados com maltodextrina (A), pectina e maltodextrina (B), proteína isolada de soja e maltodextrina (C) e pectina, proteína isolada de soja e maltodextrina (D).....	83
Figura A.2. Distribuição granulométrica dos pós de antocianinas liofilizados preparados com maltodextrina (A), pectina e maltodextrina (B), proteína isolada de soja e maltodextrina (C) e pectina, proteína isolada de soja e maltodextrina (D).....	85
Figura C.1. Curva de calibração utilizada para a determinação da concentração de compostos fenólicos.....	89
Figura C.1. Curva de calibração utilizada para a determinação da atividade antioxidante pelo radical ABTS ⁺	89
Figura D.1. Coloração dos pós preparados após 30 (i), 60 e 90 dias de exposição a luz UV.	103

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Principais espécies de jabuticabeiras com os respectivos nomes comuns e origens. .7	7
Tabela 2. Composição calórica e nutricional da jabuticaba (para cada 100 g de fruto fresco).11	11
Tabela 3. Propriedades benéficas à saúde da jabuticaba. 17	17
Tabela 4. Métodos físicos, químicos e físico-químicos utilizados para microencapsulação de compostos. 26	26
Tabela 5. Principais aminoácidos presentes na proteína isolada de soja. 35	35
Tabela 6. Microencapsulação de antocianinas provenientes de diversas fontes vegetais por atomização e liofilização. 38	38
Tabela 7. Formulações preparadas para a liofilização..... 44	44
Tabela 8. Umidade dos pós de antocianinas liofilizados (b.s)..... 54	54
Tabela 9. Atividade de água dos pós. 56	56
Tabela 10. Solubilidade em água (25 °C) dos pós de antocianinas. 57	57
Tabela 11. Higroscopicidade dos pós de antocianinas. 59	59
Tabela 12. Resultado da análise granulométrica dos pós de antocianinas liofilizados. 60	60
Tabela 13. Teores de fenólicos totais, antocianinas monoméricas e atividade antioxidante dos pós de antocianinas expostas à luz UV no tempo inicial e no tempo de 90 dias..... 68	68
Tabela 14. Mudanças ocorridas no parâmetro de cor L^* , a^* e b^* em função do tempo para os pós preparados com maltodextrina (F1A e F1B), pectina e maltodextrina (F2A e F2B), proteína isolada de soja e maltodextrina (F3A e F3B) e pectina, proteína isolada de soja e maltodextrina (F4A e F4B) armazenadas na presença de luz UV..... 71	71
Tabela 15. Mudanças ocorridas na diferença de cor total (ΔE^*_{ab}) em função do tempo (em dias) para os pós preparados com maltodextrina (F1A e F1B), pectina e maltodextrina (F2A e F2B), proteína isolada de soja e maltodextrina (F3A e F3B) e pectina, proteína isolada de soja e maltodextrina (F4A e F4B) armazenadas na presença de luz UV..... 73	73
Tabela 16. Resultados da regressão linear do parâmetro a^* utilizando modelo cinético de primeira ordem para os pós de antocianinas expostos a luz UV. 74	74

Tabela C.1. Propriedades térmicas e termodinâmicas do extrato concentrado, dos materiais de parede e das misturas físicas entre o extrato concentrado e os materiais de parede.91

Tabela C.2. Propriedades térmicas e termodinâmicas dos pós de antocianinas liofilizados.....91



Lista de siglas, abreviaturas e símbolos

AGE	ácido gálico equivalente
A	absorbância
a_w	atividade de água
a^*	parâmetro de cor
b^*	parâmetro de cor
b.u.	base úmida
b.s.	base seca
C_{ab}^*	cromaticidade (parâmetro de cor)
DE	dextrose equivalente
DSC	<i>Differential Scanning Calorimetry</i> (calorimetria diferencial de varredura)
$d_{0,1}$	diâmetro da partícula em 10% da distribuição dos volumes acumulados (μm)
$d_{0,5}$	diâmetro da partícula em 50% da distribuição dos volumes acumulados (μm)
$d_{0,9}$	diâmetro da partícula em 90% da distribuição dos volumes acumulados (μm)
h	altura (cm)
h_{ab}	ângulo de tonalidade
In	índio
k	constante de degradação ou velocidade de reação
L^*	parâmetro de cor (luminosidade)
m	massa (g)
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
PA	para análise
R^2	coeficiente de regressão
$t_{1/2}$	tempo de meia-vida
T	temperatura ($^{\circ}\text{C}$)

T_f	temperatura final do pico endotérmico ($^{\circ}\text{C}$)
T_p	temperatura do pico endotérmico ($^{\circ}\text{C}$)
T_0	temperatura do início do intervalo do pico endotérmico ($^{\circ}\text{C}$)

Símbolos gregos

ΔH	entalpia ($\text{J}\cdot\text{g}^{-1}$)
ΔE^*_{ab}	diferença total de cor
λ	comprimento de onda

SUMÁRIO

Capítulo 1 - Introdução	1
Capítulo 2 - Objetivos	3
2.1. Objetivo geral	3
2.2. Objetivos específicos	3
Capítulo 3 - Fundamentos Teóricos e Revisão Bibliográfica	5
3.1. Jabuticaba	5
3.1.1. Características da planta.....	5
3.1.2. Colheita, produção e comercialização	8
3.1.3. Aspectos nutricionais	10
3.2. Antocianinas	13
3.2.1. Definição e estrutura química	13
3.2.2. Propriedades antioxidantes	16
3.2.3. Estabilidade e fatores que influenciam na degradação das antocianinas	19
3.3. Microencapsulação	24
3.3.1 Princípios e objetivos	24
3.3.2. Técnicas de microencapsulação	26
3.3.1.1 Liofilização ou freeze drying.....	27
3.3.3. Materiais de revestimento	30
3.3.2.1. Maltodextrina.....	32
3.3.2.2. Pectina	34
3.3.2.3 Proteína isolada de soja	35
3.3.3. Microencapsulação de antocianinas	38
Capítulo 4 - Materiais e Métodos	42
4.1. Matéria-prima e reagentes	42
4.2. Extração com ultrassom das antocianinas do bagaço úmido	43
4.3. Obtenção dos pós de antocianinas	44
4.5. Análises de caracterização dos pós de antocianinas	45
4.5.1. Determinação do conteúdo de umidade	45
4.5.2. Determinação da atividade de água	45

4.5.3. Determinação da solubilidade	45
4.5.4. Determinação da higroscopicidade.....	45
4.5.5. Análise granulométrica.....	46
4.5.6. Microscopia eletrônica de varredura	46
4.5.7. Análise térmica	46
4.5.8. Análises quantitativas	47
4.5.8.1. <i>Determinação do teor de antocianinas monoméricas</i>	47
4.5.8.2. <i>Determinação do teor de fenólicos totais</i>	47
4.5.8.3. <i>Determinação da capacidade antioxidante com o radical ABTS</i>	48
4.5.9. Análise colorimétrica.....	49
4.5.10. Fotoestabilidade das micropartículas.....	51
4.5.11. Análise estatística	51
Capítulo 5 - Resultados e Discussão	53
5.1. Caracterização do extrato de antocianinas concentrado	53
5.2. Caracterização dos pós de antocianinas liofilizados	54
5.2.1. Determinação do conteúdo de umidade.....	54
5.3.2. Determinação da atividade de água	56
5.3.3. Determinação da solubilidade	57
5.3.4. Determinação da higroscopicidade.....	58
5.3.5. Análise granulométrica.....	60
5.3.6. Microscopia eletrônica de varredura	61
5.3.7. Análise térmica	62
5.3.8. Fotoestabilidade dos pós de antocianinas liofilizados.....	67
5.3.9. Análise colorimétrica.....	70
Conclusões	76
Sugestões para Trabalhos Futuros.....	77
Referências Bibliográficas	79
Apêndice A	95
Apêndice B	101
Apêndice C	103
Apêndice D	105

Capítulo 1 - Introdução

A jabuticaba é uma fruta nativa brasileira cultivada em grande parte do país e muito apreciada por apresentar características sensoriais interessantes tanto para o consumo *in natura* como para o processamento de sucos, fermentados, licores, vinagres e geleias. Essa fruta tropical é rica em antocianinas que são responsáveis pela coloração escura da casca do fruto. O processamento da jabuticaba gera uma grande quantidade de resíduos denominado bagaço constituído principalmente de cascas e sementes representando cerca de 50 % do total da fruta sendo normalmente descartada. Além da função corante, o interesse pelas antocianinas se intensificou devido seus possíveis benefícios à saúde relacionados com sua capacidade antioxidante. Desta forma, essa parcela da fruta, muitas vezes considerada um resíduo, apresenta potencial de ser utilizada na extração comercial de pigmentos antociânicos assim como no desenvolvimento de produtos alimentícios.

A obtenção de corantes a partir de fontes naturais e sua correlação com propriedades funcionais em alimentos tem sido o interesse de inúmeras pesquisas nas últimas décadas em decorrência das exigências do mercado consumidor e de restrições impostas pela Organização Mundial da Saúde (OMS) e de outras instituições frente à toxicidade dos corantes sintéticos. O uso de antocianinas como corante é indicado para alimentos não submetidos a temperaturas elevadas durante o processamento e embalados de forma que a exposição à luz, ao oxigênio e à umidade seja minimizada. Para contornar esse tipo de problema, os extratos provenientes de frutas são tipicamente aplicados na forma de pó ou líquidos microencapsulados.

A microencapsulação é uma técnica relativamente recente, que tem a função de proteger o material microencapsulado de fatores que possam causar a sua deterioração. Ela

favorece o aumento da vida útil, da manutenção do *flavor* (sabor e aroma) e da cor, além de reduzir a volatilidade, a higroscopicidade e a reatividade, aumentando a estabilidade do produto em condições adversas e mascarando sabores indesejáveis. O processo de microencapsulação pode ser realizado por várias técnicas, dentre elas a liofilização, que corresponde a uma tecnologia de secagem baseada na desidratação via sublimação do produto congelado.

Na microencapsulação de antocianinas extraídas de diferentes fontes vegetais, são encontrados diversos estudos utilizando principalmente com a goma arábica e a maltodextrina como material de revestimento, porém, em virtude da fácil aquisição e do baixo custo, a maltodextrina é mais utilizada. No entanto, tem-se observado um crescente interesse pelo uso de proteínas vegetais como material de parede como uma alternativa de substituir as proteínas sintéticas e de origem animal. Estes polímeros naturais apresentam boa solubilidade, capacidade de formação de emulsões, estabilidade de espuma, dando-lhes as características adequadas para utilização como materiais de revestimento.

Portanto, é pertinente ressaltar a importância de novas pesquisas empregando outros materiais de revestimento como, por exemplo, a proteína isolada de soja e a pectina. Outro aspecto importante corresponde aos poucos trabalhos encontrados na literatura referente à microencapsulação das antocianinas extraídas dos subprodutos emergentes gerados com o processamento da jabuticaba.

Capítulo 2 - Objetivos

2.1. Objetivo geral

O objetivo geral desse trabalho é caracterizar e avaliar a estabilidade de micropartículas de antocianinas produzidas com maltodextrina, proteína isolada de soja e pectina como material de parede em diferentes proporções pela técnica de liofilização. Adicionalmente, neste projeto, pretende-se criar alternativas para o aproveitamento dos resíduos oriundos do processamento do suco de jabuticaba por meio da obtenção de um corante natural com propriedades antioxidantes. Para tanto, tem-se os seguintes objetivos específicos:

2.2. Objetivos específicos

- extrair as antocianinas do bagaço de jabuticaba utilizando como solvente uma solução aquosa de ácido cítrico 1 %;
- microencapsular o extrato concentrado de antocianina com maltodextrina, proteína isolada de soja e pectina como materiais de parede;
- caracterizar as micropartículas produzidas com maltodextrina, proteína isolada de soja e pectina quanto ao teor de umidade, atividade de água, solubilidade, higroscopicidade, tamanho de partícula, estrutura morfológica, análise térmica e colorimétrica, teor de fenólicos totais, antocianinas monoméricas e atividade antioxidante com captura do radical ABTS^{•+};

- avaliar a fotossensibilidade (exposição à luz UV) das antocianinas com os diferentes materiais de revestimento utilizados durante um período de armazenamento.

Capítulo 3 - Fundamentos Teóricos e Revisão Bibliográfica

3.1. Jabuticaba

3.1.1. Características da planta

A jabuticabeira (*Myrciaria cauliflora* Berg) (Figura 1) é uma árvore frutífera brasileira nativa da região centro sul da Mata Atlântica pertencente botanicamente à Família *Myrtaceae* e ao Gênero *Myrciaria* ou *Myrcia*. Essa planta é conhecida há mais de 400 anos e o nome jabuticaba tem origem indígena, denominada pelos Tupis de Iapoti'kaba cujo significado é “fruto em botão” em uma referência à sua forma (Mattos, 1983; Sobral, 1985). Por ser uma planta de clima tropical e subtropical úmido, a distribuição geográfica das jabuticabeiras ocorre no Brasil - desde o Estado do Pará até o Rio Grande do Sul - na Bolívia, no Paraguai e na Argentina assim como na América Central e no sul da Flórida (Balerdi, Rafie e Crane, 2006; Jham, Fernandes e Garcia, 2007). Contudo, é nos estados de São Paulo, Rio de Janeiro, Minas Gerais e Espírito Santo que ocorrem as maiores produções (Ascheri, Ascheri e Carvalho, 2006; Citadin, Danner e Sasso, 2010).

Figura 1. Jabuticabeira (*Myrciaria cauliflora* Berg).



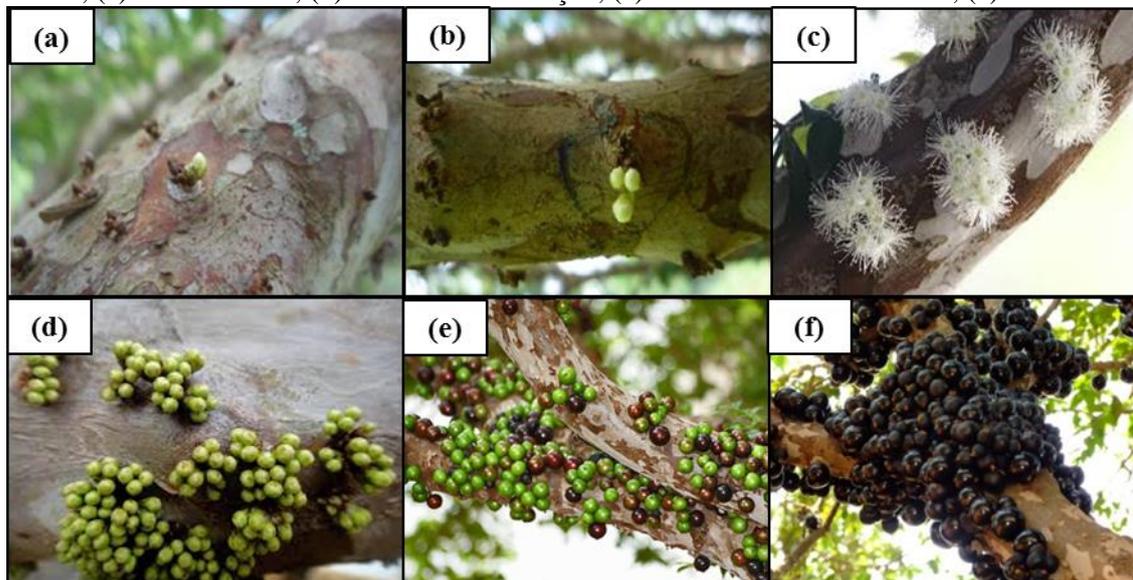
Fonte: Antunes *et al.* (2004).

Essa planta frutífera desenvolve-se bem em regiões onde as temperaturas médias anuais são em torno de 20 a 30 °C requerendo uma pluviosidade mínima de 1000 mm/ano bem distribuídas, a umidade relativa do ar deve estar entre 75 a 80 % e uma luminosidade de 2000 horas/luz/ano. Embora seja adaptável a diversos tipos de solos, o cultivo deve ser feito, preferencialmente em solos sílico-argilosos profundos, drenados, férteis e ricos em matéria orgânica. Além disso, os solos devem apresentar uma boa umidade durante o período da floração e frutificação, o pH em torno de 6,5 a 7,0 e a altitude dos terrenos de cultivo devem ser inferiores a 600 m. O crescimento da planta é vagaroso, podendo levar de oito a quinze anos para o início de sua produção. Em regiões secas o cultivo da jabuticabeira é feito por meio de um processo de irrigação adequado (Mattos, 1983).

As jabuticabeiras são árvores de porte médio a grande com copa variada apresentando uma altura de 6 a 9 metros dependendo da espécie e uma fase produtiva de 30 a 50 anos. Suas folhas de coloração verde escuro são opostas, elípticas e incompletas com bainha ausente e pecíolo presente; a lâmina foliar exibe um comprimento entre 2,4 e 4,3 cm e uma largura de 0,6 a 1,6 cm (Donadio, 2000). As flores são pequenas e brancas nas quais são produzidas individualmente e em grupos diretamente sobre a casca ao longo dos troncos. O período de florescência ocorre duas vezes ao ano, de julho a agosto e de novembro a dezembro, e sua frutificação é abundante, cobrindo de frutos o tronco, os galhos, e ocasionalmente, até as raízes descobertas; seus ramos são delgados, cilíndricos e glabros (Benza, 1980; Andersen e Andersen, 1998).

A jabuticaba é uma baga subglobosa lisa: sua coloração varia do verde ao violeta escuro dependendo da maturação, apresenta de 1,6 a 2,2 cm de diâmetro e com a presença de 1 a 4 sementes. A casca é frágil, a polpa é doce com leve acidez, de ótimo sabor e de cor branca a translúcida. O período de amadurecimento dos frutos ocorre entre três a quatro semanas após o florescimento estendendo-se nos meses mais frios. Como a jabuticaba é um fruto não climatérico, a colheita deve ser realizada quando o fruto está maduro. O ponto de maturação é observado de acordo com a cor do fruto e varia conforme a espécie. Sua elevada produtividade pode proporcionar de duas a quatro safras anuais normalmente influenciadas pela maior disponibilidade de água; no entanto, as jabuticabas depois de colhidas apresentam uma vida útil de três dias corroborando posteriormente para uma comercialização limitada (Mattos, 1983; Donadio, 2000; Boari Lima *et al.*, 2008; Daiuto, 2009). As fases de florescimento e de maturação da jabuticaba são ilustradas na Figura 2.

Figura 2. Fases de florescimento e de maturação da jabuticaba: (a) gemas no tronco; (b) botão floral fechado; (c) flores abertas; (d) início da frutificação; (e) amadurecimento do fruto; (f) fruto maduro.



Fonte: Coletti (2012).

São conhecidas nove espécies de jabuticabeiras (Tabela 1), sendo que uma está extinta, cinco são encontradas apenas em alguns centros de pesquisa e somente três apresentam disseminação natural e em cultivos no Brasil (Citadin, Danner e Sasso, 2010).

Tabela 1. Principais espécies de jabuticabeiras com os respectivos nomes comuns e origens.

Espécies	Nomes comuns	Origem e/ou ocorrência	Diâmetro do fruto (cm)	Coloração do fruto
<i>Myrciaria jaboticaba</i> (Vell) Berg	Sabará	Brasil, Paraguai e Argentina	2,0 - 3,0	Roxo escuro
<i>Myrciaria cauliflora</i> (DC) Berg	Paulista, Assu ou Pnhema	Brasil	2,0 - 3,5	Roxo escuro
<i>Myrciaria coronata</i> Mattos	Coroadá ou Coroa	São Paulo	2,5 - 3,5	Roxo
<i>Myrciaria oblongata</i> Mattos	Azedá	São Paulo	2,5 - 3,0	Roxo escuro
<i>Myrciaria spirito santensis</i> Mattos	-	Espírito Santo	2,2 - 2,8	Roxo
<i>Myrciaria grandifolia</i> Mattos	Graúda	Minas Gerais	1,5 - 2,5	Roxo escuro
<i>Myrciaria trunciflora</i> (Berg) Mattos	Cabinho	Brasil (MG e RS), Paraguai e Argentina	1,8 - 2,5	Roxo escuro
<i>Myrciaria aureana</i> Mattos	Branca	São Paulo	1,0 - 2,5	Verde
<i>Myrciaria phitrantha</i> (Kiaersk) Mattos	Costada	São Paulo	1,5 - 2,5	Avermelhada

Fontes: Mattos (1983) e Wu *et al.* (2013).

Dentre as espécies citadas anteriormente, as espécies *Myrciaria cauliflora* (DC) Berg – jabuticaba Paulista, Pnhema ou Assu – e *Myrciaria jaboticaba* (Vell) Berg - jabuticaba

Sabará – destacam-se por produzirem frutos apropriados tanto para a indústria quanto para o consumo *in natura*. A variedade Paulista é de grande porte com ramos terminais e achatados, as folhas apresentam pecíolos de 3 mm de comprimento, frutos globosos de coloração negra e graúdos com maturação tardia e distinguem-se por apresentar alta capacidade de produção com frutos sendo mais indicada para a fabricação de geleias, doces e licores. A variedade Sabará por sua vez, é uma árvore de 6 a 9 m de altura com ramos terminais finos e cilíndricos, as folhas com pecíolo de 1,5 a 2 mm de comprimento e ciliadas quando novas, os frutos são subglobosos ou globosos negros e lisos. Cabe ressaltar que apesar do seu pequeno porte essa espécie produz frutos pequenos e doces constituindo a variedade mais apreciada e cultivada em pomares comerciais (Gomes, 1972; Borges e Melo, 2013)

A espécie *Myrciaria trunciflora* (Berg) Mattos conhecida popularmente como jabuticaba de cabinho ocorre principalmente nos Estados de Minas Gerais, Espírito Santo e Rio Grande do Sul e também no Paraguai e na Argentina; apresenta árvores com altura de 8 m, os ramos são cilíndricos, as folhas escuras com pecíolos de aproximadamente 3 mm de comprimento e os frutos constituídos por bagas globosas negras. A jabuticaba branca – *Myrciaria aureana* Mattos – é uma variedade de porte médio com frutos grandes de coloração verde claro sendo encontrada no Estado de São Paulo (Borges e Melo, 2013).

Há grande variabilidade entre as espécies de jabuticaba quanto ao formato da planta e a qualidade dos seus frutos. Diversos trabalhos conduzidos com esta frutífera têm constatado diferenças nas características estudadas como tamanho e massa fresca dos frutos, rendimento, germinação das sementes, dentre outras (Mendonça, 2000; Pereira *et al.*, 2000; Andrade e Martins, 2003). Essa variabilidade é importante para a continuidade da espécie, e notadamente promissora ao melhoramento genético (Ramalho, Santos e Pinto, 2000; Cruz, 2005).

3.1.2. Colheita, produção e comercialização

O potencial econômico de comercialização da jabuticaba é grande em função de suas características sensoriais para consumo *in natura* e o seu cultivo tem despertado um grande interesse entre os produtores rurais de diversas regiões brasileiras devido a sua alta produtividade e o aproveitamento de seus frutos nas mais diversas formas. Somado ao consumo *in natura*, a jabuticaba pode ser utilizada no processamento de suco, fermentado, vinagre, licor, aguardente e geleia; o extrato obtido dos frutos por sua vez, tem sido utilizado como corante natural em vinhos e vinagres. Os frutos podem ser aproveitados também pela

indústria farmacêutica e alimentícia em virtude do seu alto teor de substâncias antioxidantes. Além disso, a jabuticabeira tem sido utilizada como planta ornamental de jardins e o seu tronco por ser resistente é destinado ao preparo de vigas, esteios e dormentes (Danner *et al.*; Barros, Finger e Magalhães, 1996; Donadio, 2000; Danner *et al.*, 2008).

No Brasil, a comercialização destes frutos tem se expandido a cada ano. Em 2011, entre os meses de janeiro a julho foram comercializadas 291 toneladas de jabuticabas na Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais de São Paulo (CEAGESP) com preço variando de R\$ 8,93 a R\$ 17,11 por kg do fruto (Agrafnp, 2012). A produção de jabuticaba apresenta uma sazonalidade bem definida, entretanto, a amplitude de variação dos índices de produção é bastante alta (455 %), indicando extrema instabilidade na oferta desse produto. Baseando-se apenas nos índices disponíveis de variação de quantidade de mercado, a maior produção ocorre nos meses de setembro e outubro (Oliveira, 2003).

Em algumas regiões do país, as jabuticabas de plantas nativas são comercializadas principalmente na forma *in natura* às margens de rodovias por famílias carentes. Essa atividade informal reveste-se de importância econômico-social, pois proporciona renda adicional a essas famílias durante o período de colheita. Conforme define o Código Florestal Brasileiro, essa fruteira poderá reconstituir a reserva legal da propriedade e ser explorada economicamente como alternativa de renda na agricultura familiar (Citadin, Danner e Sasso, 2010).

Apesar da sua popularidade e sua venda garantida quando produzida para o consumo *in natura*, a jabuticaba apresenta um período de comercialização muito curto devida a sua perecibilidade ocasionada pela alta quantidade de umidade, açúcares fermentáveis e fragilidade da casca que proporciona uma rápida alteração da aparência em apenas dois a três dias após a colheita. O uso de tecnologias em pós-colheita que visem à diminuição do metabolismo dos frutos, objetivando a redução da aceleração do amadurecimento e, conseqüentemente, o prolongamento da conservação, é fundamental para o sucesso comercial das jabuticabas (Corrêa, Pinto e Ono; 2007).

Segundo Gonçalves, Trevisan e Corrêa (2004) a colheita deve ser cuidadosa e os frutos devem ser colocados em recipientes pequenos como forma de evitar danificações e por ser altamente perecível, a comercialização das jabuticabas deverá ocorrer de preferência no mesmo dia. Duarte *et al.* (1997) avaliaram o comportamento dos frutos de jabuticabeira

parcialmente maduros e totalmente maduros quando armazenados com e sem uso de cera e filme plástico nas temperaturas de 6, 12 e 24 °C. Os pesquisadores constataram que os frutos parcialmente maduros não completaram a maturação durante o armazenamento. Para os frutos maduros, a melhor temperatura de armazenamento foi de 12 °C por um período de três semanas, em bandejas plásticas cobertos com cera. Nessas condições, os frutos podem então ser comercializados na temperatura ambiente após dois dias.

Vale ressaltar que durante o processamento da jabuticaba são gerados 60 % de subproduto denominado de bagaço constituído principalmente de cascas e sementes que normalmente são descartados (Gurak *et al.*, 2014). Todavia, esses resíduos são excelentes fontes de ingredientes funcionais como as antocianinas que além das propriedades antioxidantes corroboram para seu aproveitamento como corante natural na indústria de alimentos agregando de certa forma valor à matéria-prima.

Apesar deste reconhecido potencial, a literatura é bastante limitada em número de referências a esta fruteira. Da mesma forma, a produção comercial é pequena e limitada a determinadas regiões, sendo ainda considerada uma planta frutífera de pomares caseiros (Donadio, 2000) Algumas empresas de grande porte apresentam interesse no fruto, contudo tornam-se restringidas devido à falta de matéria prima uniforme e ausência de informações sobre o processamento industrial (Kanesiro, 2002).

3.1.3. Aspectos nutricionais

A composição nutricional de diferentes cultivares de jabuticaba é apresentada na Tabela 2, e dentre as frutíferas tropicais, destaca-se pelo elevado valor nutricional constituindo uma fonte considerável de carboidratos, fibras alimentares, sais minerais, aminoácidos, vitaminas e compostos fenólicos; é uma boa fonte de minerais como o cálcio, o ferro e especialmente potássio e fósforo com concentrações de 13,2 – 280,00 e 9,20 – 39,00 mg em 100 g de fruto fresco, respectivamente. A jabuticaba contém níveis expressivos de alguns aminoácidos como a lisina e o triptofano, enquanto que as vitaminas B1 e B2 são encontradas em menores quantidades.

Tabela 2. Composição calórica e nutricional da jabuticaba (para cada 100 g de fruto fresco).

Composição calórica e nutricional	Valores
Calorias	31 - 58 unidades
Água	83,6 - 87,1 g
Proteínas	0,11 - 1,04 g
Lipídeos	< 0,01 g
Carboidratos	6,73 - 15,3 g
Cinzas	0,2 - 0,4 g
Cálcio	6,30 - 38,00 mg
Fósforo	9,20 - 39,00 mg
Ferro	0,49 - 1,60 mg
Potássio	13,2 - 280,00 mg
Vitamina B1	0,04 mg
Vitamina B2	0,09 mg
Niacina	0,50 - 1,3 mg
Fibras	0,08 - 2,80mg
Triptofano	1,0 mg
Lisina	7,0 mg
Ácido ascórbico	17,7 - 238 mg
Antocianinas totais	58,1 - 315 mg
Fenólicos totais	440,0 - 460,9 mg
Carotenoides totais	0,32 - 1,00 mg

Fontes: Wu *et al.* (2013), IBGE (2011), Sanitária (2011), Rufino *et al.* (2010), Lorenzi *et al.* (2000) e Assis *et al.* (2009) (adaptado).

Em alguns estudos foi encontrada uma grande variedade de compostos fenólicos na jabuticaba e mais principalmente na casca incluindo compostos fenólicos, antocianinas, flavonoides não antociânicos, os taninos galotaninos e elagitaninos, depsídeos (ésteres com duas ou mais unidades de ácidos hidroxibenzoicos), dentre outros, totalizando em 32 compostos fenólicos isolados ou detectados (Einbond *et al.*, 2004; Reynertson, Wallace, Adachi, Gil, Yang, Basile, *et al.*, 2006; Plagemann *et al.*, 2012; Wu, Long e Kennelly, 2013). De acordo com a Tabela 2, para 100 g de jabuticaba fresca foram encontradas quantidades de ácido ascórbico, polifenóis totais e carotenoides de 17,7 - 238 mg, 440,0 – 460,9 mg e 0,32 – 1,00 mg, respectivamente. A concentração de antocianinas ficou na faixa de 58,1 – 315 mg sendo que a maior quantidade desses pigmentos naturais estão localizados nas cascas, valor este próximo ao encontrado nas cascas de uva (332 mg/ 100 g de fruto) (Rufino *et al.*, 2010; Santos, Veggi e Meireles, 2010; Wu, Long e Kennelly, 2013).

Lima *et al.* (2011) determinaram a composição de açúcares, ácidos orgânicos e minerais no fruto inteiro e nas frações (casca, polpa e semente) dos genótipos de jaboticabeira Paulista (*Myrciaria cauliflora*) e Sabará (*Myrciaria jaboticaba*), assim como a composição do óleo das cascas e das sementes. Estes autores observaram que os frutos inteiros dos dois genótipos apresentaram elevados teores de açúcares totais, destacando-se a frutose, seguida de glicose e sacarose; no entanto, a polpa e a casca da jaboticaba Paulista exibiram os maiores teores de açúcares totais e redutores. Ainda, foram encontrados cinco tipos de ácidos orgânicos, no fruto e nas frações dos dois genótipos de jaboticaba em ordem quantitativa: ácido cítrico > ácido succínico > ácido málico > ácido oxálico > ácido acético. Os resultados revelam também que o fruto inteiro assim como as frações liofilizadas, podem ser consideradas uma fonte alternativa de minerais, especialmente de ferro, potássio, magnésio, manganês, fósforo, cálcio e cobre. Para ambos os genótipos o óleo extraído das sementes da jaboticaba possui a mesma constituição química do óleo obtido a partir da sua casca, e ainda, características semelhantes ao óleo de semente de uva corroborando assim para sua utilização em produtos como cosméticos e óleos comestíveis.

No estudo de Alezandro *et al.* (2013) foi avaliada a influência do grau de maturação sobre a composição química e a capacidade antioxidante *in vitro* do fruto inteiro e da fração (casca, polpa e semente) de duas espécies de jaboticabas mais comercializadas, a Sabará (*Myrciaria jaboticaba*) e a Paulista (*Myrciaria cauliflora*). Os frutos foram cultivados em uma fazenda localizada na cidade de Jaboticabal no estado de São Paulo nas mesmas condições de solo, clima e temperatura; o amadurecimento ocorreu na própria frutífera e a colheita foi feita no mesmo tempo. Os resultados mostraram que ambas as espécies apresentaram composições centesimais e minerais comparáveis e fontes ricas em potássio, manganês e cobre. Por outro lado, a capacidade antioxidante da jaboticaba Sabará foi 20 % maior do que a variedade Paulista e entre as frações, as sementes apresentaram uma capacidade antioxidante maior seguido da casca e da polpa. O teor de fenólicos totais mais baixos na polpa está relacionado com várias modificações químicas e enzimáticas que ocorrem durante o processo de amadurecimento dos frutos tais como a hidrólise de glicosídeos pela glicosidases, a oxidação de fenóis pela polifenoloxidase e a polimerização de fenóis livres (Robards *et al.*, 1999). Nos testes *in vitro* as enzimas α -amilase e α -glicosidase foram inibidas com mais sucesso por frações da jaboticaba totalmente madura em virtude da maior concentração de antocianinas nesta fase.

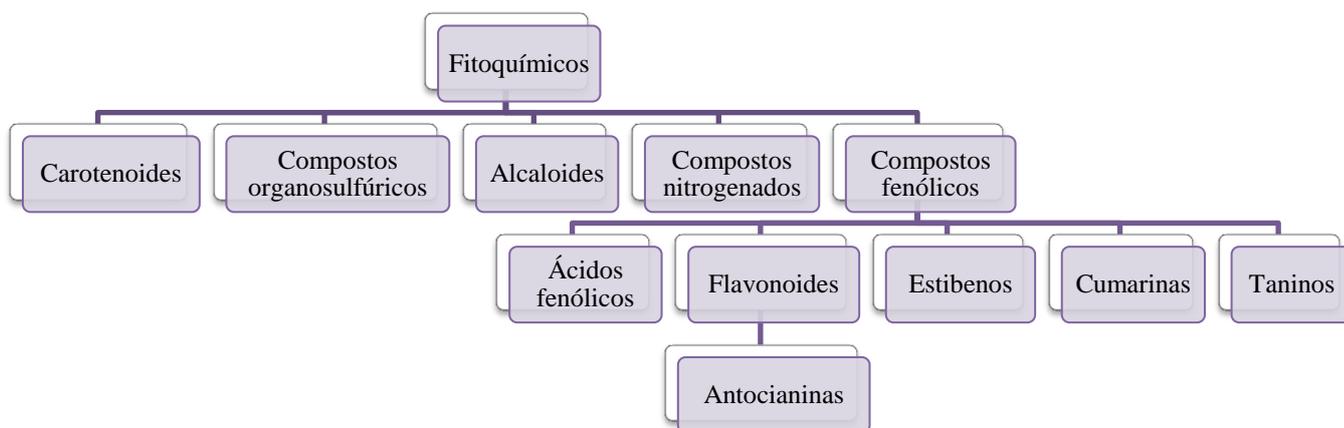
Essas características qualitativas e quantitativas geralmente são influenciadas por condições edafoclimáticas e fatores relacionados com tratos culturais, manuseio na colheita e pós-colheita, e que variam em função do destino do fruto e das exigências do mercado consumidor (Fagundes e Yamanishi, 2001).

3.2. Antocianinas

3.2.1. Definição e estrutura química

Os compostos fenólicos compreendem um grande grupo de substâncias orgânicas divididos em cinco subgrupos: ácidos fenólicos, flavonoides, estibenos, cumarinas e taninos. Os flavonoides são um subgrupo bastante importante do qual fazem parte as antocianinas, conforme a Figura 3.

Figura 3. Fluxograma esquemático das subdivisões dos compostos fenólicos.

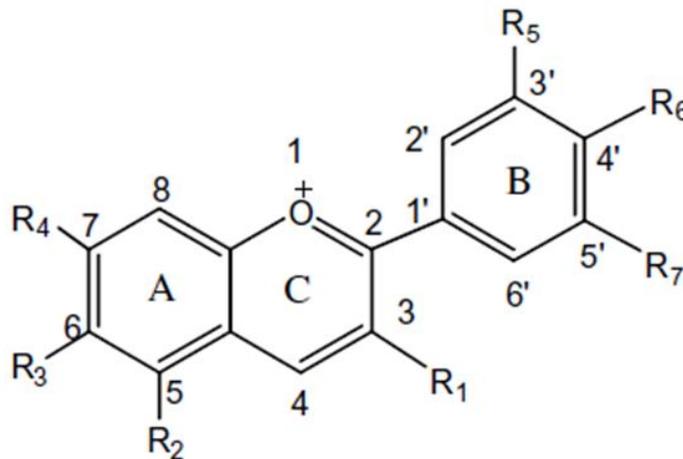


Fonte: Liu (2004)(adaptado).

As antocianinas (do grego *anthos* = flor e *kianos* = azul) compreendem um vasto grupo de pigmentos hidrossolúveis naturais responsáveis pela coloração azul, roxa e todas as tonalidades de vermelho encontradas em flores, frutos, cereais, folhas, caules e raízes de plantas (Markakis, 1982). Além dos atributos de cor, as antocianinas são responsáveis por desempenhar funções variadas nas plantas, dentre elas: proteção à ação das radiações ultravioletas nas folhas, mecanismo de defesa contra patógenos e função biológica. As cores vivas e intensas que elas produzem têm um papel importante em vários mecanismos reprodutores dos vegetais, tais como a polinização e a dispersão de sementes (Böhm, 1994).

Quimicamente, as antocianinas são compostos fenólicos pertencentes ao grupo dos flavonoides caracterizados pelo núcleo flavílio - cátion 2-fenilbenzopirílio - que consiste de dois anéis aromáticos unidos por uma unidade de três carbonos e condensada por um oxigênio. A Figura 3 apresenta a estrutura básica de uma molécula de antocianina, o 2-fenilbenzenopirílio do sal flavílico, constituída por dois ou três grupos funcionais: uma aglicona (antocianidina), um grupo de açúcares e, frequentemente, um grupo de ácidos orgânicos (Francis, 1989). As antocianinas são provenientes de ligações mono e diglicosídicas das antocianidinas. As principais diferenças entre as antocianinas estão no número de hidroxilas ou metoxilas presentes, no tipo, número e posições que estão ligados os açúcares e, ainda, nos tipos e números de ácidos alifáticos ou aromáticos que podem estar ligados aos açúcares da molécula (Medicine, 2003; Fennema, Damoradan e Kirk, 2010). Os açúcares mais comumente ligados a esses compostos são glicose, ramnose, xilose, galactose, arabinose e frutose, podendo ocorrer como mono, di e triglicosídeos, glicosilados diretamente na aglicona. Essa ligação ocorre geralmente no carbono 3; se existe mais de um açúcar na molécula ele podem estar ligado ao carbono 5 e mais raramente ao carbono 7. Os açúcares, conforme citado anteriormente, podem ou não, estar acilados pelos ácidos aromáticos: *p*-cumárico, ferúlico, caféico, *p*-hidroxibenzóico, gálico e sinápico; ou pelos ácidos alifáticos: malônico, acético, succínico, oxálico e málico. Na maioria dos casos, os ácidos estão ligados aos açúcares do carbono de número três (Markakis, 1982; Francis, 1989; Andersen e Jordheim, 2006a; O.M. e M, 2006; Fennema, Damoradan e Kirk, 2010; Francis, Janeiro-Junho de 2006).

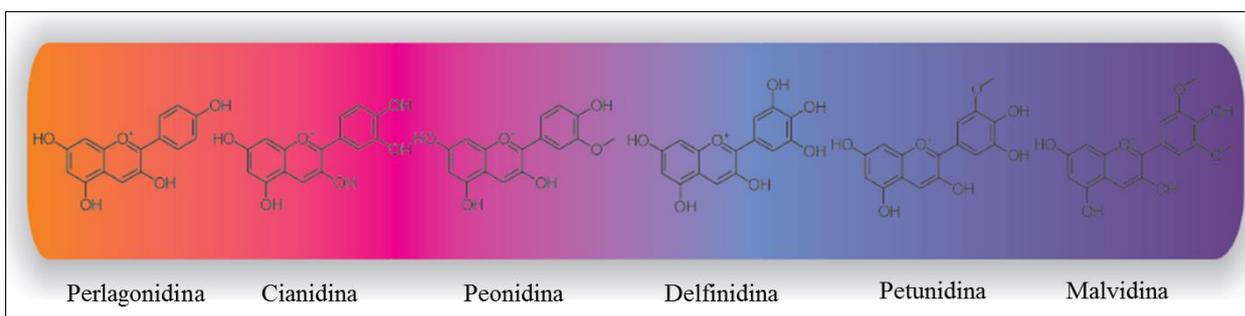
Figura 4. Cátion flavílico. R5 e R7 = - H, - OH ou R1 = açúcares, R2 = - H ou açúcares.



Fonte: Castañeda-Ovando *et al.* (2009)

Na literatura são relatados mais de 500 tipos de antocianinas (Andersen e Jordheim, 2006b) e 31 diferentes antocianidinas (Kong *et al.*, 2003; Rein, 2005; Andersen e Jordheim, 2006a; O.M. e M, 2006; Castañeda-Ovando *et al.*, 2009; Cavalcanti, Santos e Meireles, 2011). A hidrólise dos açúcares ligados à molécula faz com que as antocianinas se tornem antocianidinas, fazendo com que sejam obtidos esses compostos separadamente (T, D e Margolis; Markakis, 1982; Bravo, 1998; Da Costa, Horton e Margolis, 2000; Shahidi e Naczk, 2004). Na natureza existem 19 antocianidinas e apenas seis - pelargonidina, cianidina, delphinidina, peonidina, petunidina e malvidina - são encontradas em alimentos (Francis, 2000). As seis antocianidinas estão representadas na Figura 5 e diferem entre si pelas substituições do anel B da Figura 4, onde é possível observar que a cor está relacionada com o número de substituições – hidroxilas e metoxilas – nas posições R5 e R7; o aumento de substituições promove a mudança na coloração modificando de laranja para violeta (Fennema, Damoradan e Kirk, 2010; Anthony *et al.*, 2013).

Figura 5. Estrutura e cor das principais antocianidinas.



Fonte: Anthony *et al.* (2013)

A cor das antocianinas ou das antocianidinas resulta da excitação de uma molécula pela luz visível. A facilidade com a qual uma molécula é excitada depende da mobilidade eletrônica de sua estrutura. O sistema de ligações duplas conjugadas, presentes nas antocianinas e nas antocianidinas, é facilmente excitada sendo sua presença essencial para a cor. O aumento da tonalidade resulta de uma mudança batocrômica, ou seja, a banda de absorção da luz na faixa de espectro visível muda de um comprimento de onda menor para um maior. Os efeitos batocrômicos podem ser causados por grupos auxocromos, que não têm propriedades de cromóforo por si só, mas causam aumento da tonalidade quando ligados à molécula por serem doadores de elétrons, em antocianidinas e antocianinas eles são os grupos metoxila e hidroxila. A presença de grupos metoxi leva a uma maior mudança batocrômica

que os grupos hidroxila, devido à sua grande capacidade de doar elétrons, o que explica a variação de cor indicada na Figura 5 (Fennema, Damoradan e Kirk, 2010).

As antocianinas relatadas com maior frequência em frutos e vegetais são: cianidina-3-o-glicosídeo, delphinidina-3-o-glicosídeo, malvidina-3-o-glicosídeo, perlagonidina-3-o-glicosídeo e petunidina-3-o-glicosídeo. Na jabuticaba, cinco antocianinas foram isoladas e identificadas, entretanto, a cianidina-3-o-glicosídeo e a delphinidina-3-o-glicosídeo são as majoritárias e presentes em maior quantidade nas cascas do fruto. Os primeiros relatos de identificação de antocianinas em jabuticaba datam de 1972 onde a peonidina e a peonidina-3-o-glicosídeo foram purificadas e separadas através da cromatografia em camada delgada (Trevisan, Bobbio e Bobbio; 1972). A cianidina-3-o-glicosídeo foi isolada e identificada por cromatografia líquida de alta eficiência a partir do extrato metanólico do fruto inteiro (Einbond *et al.*, 2004), enquanto que a delphinidina-3-o-glicosídeo presente na casca e na polpa foi identificada e quantificada por espectrofotometria (Terci, 2004; Meireles, 2009; Rufino *et al.*, 2010; Rufino *et al.*, 2011).

Reynertson *et al.* (2006) quantificaram os teores de cianidina-3-o-glicosídeo e de delphinidina-3-o-glicosídeo e os valores obtidos foram de 433 mg e 81 mg em 100 g de fruto seco, respectivamente. Por outro lado, Leite-Legatti *et al.* (2012) mostraram que a casca da jabuticaba possui de 4,5 a 7,8 vezes mais antocianinas do que a quantidade reportada por Reynertson *et al.* (2006). As quantidades de cianidina-3-o-glicosídeo e a delphinidina-3-o-glicosídeo foram de 1963,57 e 635,75 mg/g de base seca.

Resultados semelhantes foram encontrados por Lima *et al.* (2011) a partir do extrato etanólico da jabuticaba inteira e das suas frações (casca, polpa e semente). Os pesquisadores concluíram que as cascas são ricas fontes de pigmentos antociânicos contendo teores de antocianinas 2,5 vezes superior ao do fruto inteiro, sendo a cianidina-3-o-glicosídeo antocianina majoritária seguida pela delphinidina-3-o-glicosídeo.

3.2.2. Propriedades antioxidantes

Em decorrência da adstringência apresentada pela casca da jabuticaba, tradicionalmente é utilizada contra a diarreia e irritações na pele e tem indicações na medicina popular no tratamento de problemas respiratórios - asma, hemoptise e inflamação crônica das amígdalas – e inflamação dos intestinos (Morton, 1987; Souza-Moreira, 2010). As folhas da

jabuticaba também têm sido usadas pela população local da região semiárida do Nordeste para tratar a diarreia (De Albuquerque *et al.*, 2007).

As propriedades medicinais dos metabólitos da jabuticaba foi objeto de uma revisão realizada por Wu, Long e Kennelly *et al.* (2013) especialmente no que se refere a capacidade antioxidante e anti-inflamatória, e ao potencial para o tratamento de doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC). A Tabela 3 resume os principais estudos publicados nos últimos oito anos.

Tabela 3. Propriedades benéficas à saúde da jabuticaba.

Atividade	Fonte	Ensaio	Referências*
Tratamento DPOC (mecanismo anti-inflamatório)	2-o-(3,4-dihidroxi-benzoílo)-2,4,6-ácido trihidroxifenilacético	<i>In vitro</i>	(1)
	Jaboticabin	<i>In vitro</i>	(1)
	Ácido elárgico	<i>In vitro</i>	(2)
Antiproliferativo	Delfinidina-3-o-glicosídeo	<i>In vitro</i>	(1)
	Cianidina-3-o-glicosídeo	<i>In vitro</i>	(1)
	Extrato metanólico	<i>In vitro</i>	(3)
	Extrato etanólico	<i>In vivo</i>	(3)
Citotoxicidade	2-o-(3,4-dihidroxi-benzoílo)-2,4,6-ácido trihidroxifenilacético	<i>In vitro</i>	(1)
	Jaboticabin	<i>In vitro</i>	(1)
	Antocianinas	<i>In vivo</i>	(4)
Anti-câncer	Casca de jabuticaba	<i>In vivo</i>	(3)
Antimutagênica	Extrato etanólico	<i>In vivo</i>	(5)
Antibacteriana	Extrato da folha	<i>In vivo</i>	(6)
	Extrato da folha	<i>In vivo</i>	(7)
	Extrato da folha	<i>In vivo</i>	(8)
Anti-diarreia	Extrato da folha e fruto	<i>In vitro/in vivo</i>	(7)
Antiobesidade	Casca liofilizada	<i>In vivo</i>	(9)
Resistência à insulina	Casca liofilizada	<i>In vivo</i>	(9)
Prevenção do diabetes	Extrato da fruto	<i>In vivo</i>	(10)
	Antocianinas	<i>In vitro/in vivo</i>	(4)
Efeito protetor contra dano hepático	Antocianinas	<i>In vivo</i>	(4)
Efeito protetor contra a degradação de colagênio	Antocianinas	<i>In vivo</i>	(4)
Propriedades de regeneração celular	Antocianinas	<i>In vivo</i>	(4)

Benefício no desempenho cognitivo	Antocianinas	<i>In vivo</i>	(4)
-----------------------------------	--------------	----------------	-----

Fonte: Wu, Long e Kennelly (2013). * (1) Reynertson *et al.* (2006); (2) Dastmalchi (2012); (3) Leite-Legatti *et al.* (2012); (4) Santos, Veggi e Meireles (2010); (5) Haminiuk *et al.* (2012); (6) Macedo-Costa, Pereira e Higino (2008); (7) Souza-Moreira *et al.* (2010); (8) De Oliveira (2011); (9) Lenquiste *et al.* (2012); (10) Alezandro, Lajolo e Genovese (2010)

Os estudos de Reynertson *et al.* (2006) e Dastmalchi *et al.* (2012) centralizaram no potencial da jabuticaba no tratamento da DPOC, uma doença pulmonar complexa caracterizada pela obstrução irreversível das vias aéreas devido à inflamação crônica, como por exemplo, a bronquiolite obstrutiva crônica e a enfisema pulmonar. No primeiro estudo apresentado na Tabela 3, a cianidina-3-o-glicosídeo da jabuticaba foi capaz de inibir a produção de IL-8 em células epiteliais das vias aéreas em 65 %, enquanto que em células epiteliais tratadas com extrato de fumaça do cigarro a inibição foi de em 36 %. Para a delphinidina-3-o-glicosídeo, houve uma redução de 96 % da produção de IL-8 em células tratadas com o extrato da fumaça do cigarro. No segundo estudo, Dastmalchi *et al.* (2012) mostraram que o ácido elárgico presente no fruto da *Myrciaria vexator* conhecida como falsa jabuticaba, ou jabuticaba azul, possui também um potencial inibidor do MMP-1em células epiteliais das vias áreas tratadas com o extrato da fumaça do cigarro. A partir desses resultados, os pesquisadores concluíram que os compostos antioxidantes presentes em frutos são promissores e podem reduzir a inflamação causada pela exposição à fumaça do cigarro.

O crescente interesse pelas antocianinas tem se intensificado devido aos possíveis benefícios à saúde relacionados com sua capacidade antioxidante. Diversos estudos têm demonstrado que o consumo diário de substâncias antioxidantes, pode produzir uma ação protetora efetiva contra os processos oxidativos que naturalmente ocorrem no organismo (Kurosumi *et al.*, 2007). Além disso, esses compostos estão incluídos na categoria de inibidores de radicais livres e apresentam uma grande gama de efeitos biológicos incluindo ações antioxidantes, antiviral, antimicrobiana, antitumoral e atividade antibacteriana (Haminiuk *et al.*, 2012).

Evidências científicas demonstram o potencial antioxidante das antocianinas no tratamento e prevenção de câncer, diabetes, doenças cardiovasculares, doenças neurológicas, inibição da agregação plaquetária, proteção endoteliais, entre outras patologias (Comoglio *et al.*, 1990; Youdim, 2002; Konczak e Zhang, 2004). Além disto, outros estudos demonstram que as antocianinas oferecem benefícios à pele, vasos sanguíneos, problemas circulatórios, feridas externas e internas, edemas, artrites e artroses (Fachinello, 2008; Santos *et al.*, 2008).

Os principais mecanismos de ação antioxidante dos compostos fenólicos, como as antocianinas, são a remoção e inativação dos radicais livres e a quelatação dos íons metálicos. Estes compostos impedem a oxidação de diversas moléculas pela doação de um hidrogênio aos radicais livres interrompendo a reação em cadeia (Bravo, 1998). Os radicais fenoxi, produtos desta reação, são relativamente estáveis, mas podem ainda reagir com outros radicais livres (Bravo, 1998). Em relação ao mecanismo de ação por quelatação, o par de elétrons não compartilhado presentes na estrutura molecular das antocianinas é responsável pela complexação de íons metálicos como, por exemplo, o ferro e o cobre que catalisam as reações de oxidação lipídica (Madhujith e Shahidi, 2009).

Por este motivo, as indústrias de alimentos e de medicamentos estão cada vez mais interessadas em frutos e vegetais com um elevado teor de antocianinas ativo para a fabricação de suplementos com fins preventivos e terapêuticos.

3.2.3. Estabilidade e fatores que influenciam na degradação das antocianinas

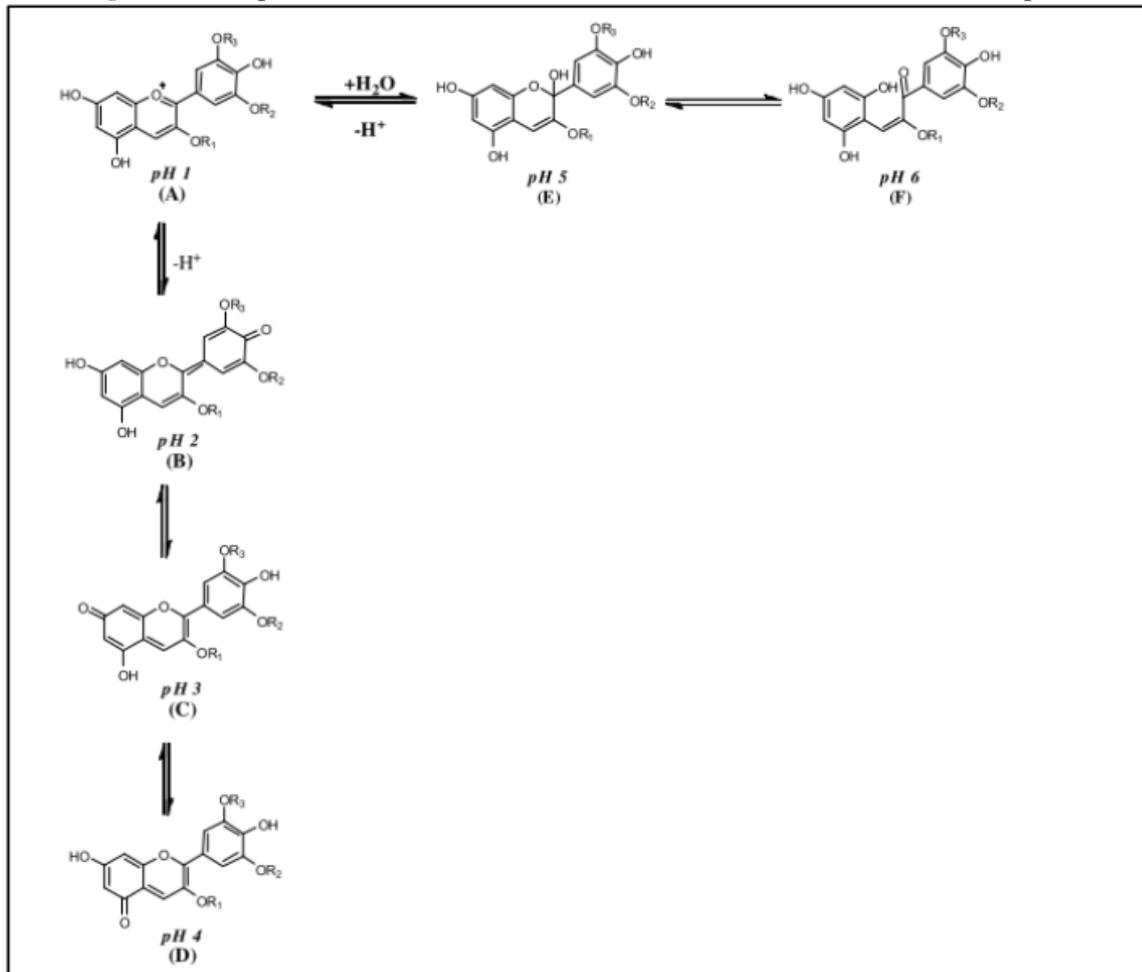
As antocianinas presentes em alimentos são degradadas durante o processamento e armazenamento e conseqüentemente, a cor e as propriedades antioxidantes do produto contendo esses fitoquímicos, bem como sua aceitação sensorial, são impactadas negativamente (Skrede, E. e W., 2000; Skrede, Wrolstad e Durst, 2000; Wu, Long e Kennelly, 2013). A estabilidade das antocianinas é influenciada pela sua estrutura química, concentração, tipo de solvente e presença de enzimas, íons metálicos, ácido ascórbico, dióxido de enxofre (SO₂), açúcares, pH do meio e copigmentos; também por fatores externos como a temperatura, a luz e o oxigênio (Francis, 1989; Castañeda-Ovando *et al.*, 2009; Fennema, Damoradan e Kirk, 2010; Wu, Long e Kennelly, 2013). A seguir serão abordados os principais fatores que influenciam a estabilidade das antocianinas.

Em relação à estrutura, observa-se que a presença de hidroxilas nas posições R5 e R7 (ver Figura 3), por exemplo, diminui a estabilidade, enquanto que a presença do grupo metoxila aumenta a estabilidade; isto se deve ao bloqueio de grupos reativos de hidroxila. A presença de açúcares na estrutura é outro fator que aumenta a estabilidade do composto fitoquímico sendo as antocianinas mais estáveis do que as antocianidinas (Iacobucci e Sweeny, 1983; Fennema, Damoradan e Kirk, 2010). O mecanismo de influência de cada tipo de açúcar ainda não foi completamente elucidado. A presença de ácidos ligados aos açúcares

da molécula confere estabilidade ainda maior a esses fitoquímico, principalmente quando existem duas ou mais acilações na estrutura (Fennema, Damoradan e Kirk, 2010).

A cor e a estabilidade das antocianinas são fortemente influenciadas pelo pH da solução sendo mais estáveis em soluções ácidas (Rein, 2005). De acordo com o pH da solução, as antocianinas podem apresentar diferentes conformações que estão apresentadas na Figura 6.

Figura 6. Comportamento da molécula de antocianina em diferentes valores de pHs.



Fonte: Yúfera (1998).

Pode-se observar que em pH 1, o cátion flavílio é a estrutura química predominante e mais estável sendo responsável pela coloração roxa e vermelha (Figura 6 A). Em pH entre 2 e 4, são predominantes as conformações quinonóides azuis (Figura 6 B-D), enquanto que no pH entre 5 e 6 são observadas as estruturas químicas carbinol ou pseudobase e a chalcona ambas incolores. Em pH acima de 7 as antocianinas podem se degradar em aldeídos, ácidos fenólicos

ou diquetonas, dependendo dos seus substituintes (Jackman, 1987; Castañeda-Ovando *et al.*, 2009).

A temperatura possui grande influência na degradação das antocianinas. O mecanismo de degradação das antocianinas com a temperatura ainda não foi completamente esclarecido, todavia, três vias têm sido sugeridas, apesar de a degradação térmica ser dependente do tipo de antocianina e temperatura submetida. Com o aumento do tempo de aquecimento ocorre o deslocamento de equilíbrio no sentido de formação das chalconas, resultando em um decréscimo das formas coloridas (Mazza e Brouillard, 1987; Furtado *et al.*, 1993; Yúfera, 1998; Fennema, Damoradan e Kirk, 2010). Por meio do aquecimento, o cátion flavílio pode ser transformado primeiramente em base quinoidal, depois, em vários intermediários e, finalmente, em derivados da cumarinas e em compostos correspondente ao anel B. Outra via de degradação é a transformação do cátion flavílio em base carbinol incolor, em seguida em chalcona e, finalmente, em produtos da degradação de coloração marrom. A terceira via relatada apresenta um mecanismo semelhante, exceto pelo fato de que os produtos da degradação da chalcona surgem pela primeira vez (Adams, 1973; Piffaut, 1994; Seeram, 2008).

Um dos trabalhos mais recentes que estudou a degradação de antocianinas via aquecimento foi realizado por Patras *et al.* (2010). Esses autores relataram que a degradação térmica das antocianinas foi causada principalmente por: oxidação, clivagem das ligações duplas conjugadas e/ou reações avançadas de oxidação que resultam na formação de diferentes espécies dependentes das condições de aquecimento. Os principais compostos formados foram ácido protocatecuico, floroglucina e o ácido 4-hidroxibenzoico. Além deste estudo muitos autores demonstraram a influência da temperatura sobre a estabilidade das antocianinas presentes, por exemplo, no suco de jabuticaba (Mercali *et al.*, 2015), na polpa de mirtilo (Sarkis *et al.*, 2013), em amoras (Kara e Erçelebi, 2013), suco de amora (Jimenez, 2010; Jimenez *et al.*, 2010) dentre outras fontes, confirmando, mais uma vez, que o aquecimento apresenta um efeito negativo sobre o teor de antocianinas.

Em relação às enzimas, as glicosidases e a polifenoloxidase têm sido implicadas na descoloração das antocianinas e são denominadas de antocianases. As glicosidases hidrolisam as ligações covalentes glicosídicas, resultando em açúcares e aglicona (antocianidinas) que são mais susceptíveis a degradação (Rein, 2005; Fennema, Damoradan e Kirk, 2010; Cavalcanti, Santos e Meireles, 2011).

As enzimas polifenoloxidase e peroxidase são indicadas como as causadoras do escurecimento enzimático em tecidos vegetais; entretanto, nos frutos, a polifenoloxidase desempenha um papel mais significativo (Vamos-Vigyazo, 1981). Apesar da peroxidase se encontrar na grande maioria dos tecidos vegetais, para oxidação de compostos fenólicos, essa enzima necessita da presença de peróxido de hidrogênio; o baixo nível desse composto nos frutos, entretanto, limita a sua ação (Nicolas *et al.*, 1994).

As polifenoloxidase agem na presença de o-difenois e oxigênio, oxidando as antocianinas. A primeira etapa do mecanismo consiste na oxidação enzimática do o-difenol em o-benzoquinona pela ação da polifenoloxidase que, por sua vez, reage com as antocianinas por um mecanismo não enzimático formando antocianinas oxidadas e produtos de condensação marrons (Fennema, Damoradan e Kirk, 2010)

Além dos fatores descritos nos parágrafos acima, outros fatores também estão relacionados com a degradação de antocianinas, entre eles: o oxigênio, a luz, o ácido ascórbico e a copigmentação. O oxigênio pode acelerar a degradação de antocianinas através de um mecanismo oxidativo direto e/ou pela ação de enzimas oxidativas, como a polifenoloxidase. Ademais, a presença do oxigênio em conjunto com elevadas temperaturas são os dois fatores que mais influenciam na degradação das antocianinas presentes em frutos (Kalt, 2000; Kalt, McDonald e Donner, 2000; Cavalcanti, Santos e Meireles, 2011)

A respeito da luz, diversos estudos demonstraram que as antocianinas substituídas no grupo hidroxílico do C-5 são mais susceptíveis à decomposição fotoquímica do que as antocianinas não substituídas nessa posição, sendo estas suscetíveis ao ataque nucleofílico nas posições C-2 e/ou C-4 (Figura 4) (Iacobucci e Sweeny, 1983; Fennema, Damoradan e Kirk, 2010). Os estudos de Furtado *et al.* (1993) verificaram que, com a ação da luz, formaram-se chalconas, além dos demais produtos de degradação observados com a ação da temperatura. No entanto, ainda deve ser levada em conta uma terceira reação, que ocorre apenas mediante influência da luz; nessa reação o cátion flavílico forma diretamente os produtos finais da degradação. O mecanismo de formação direta destes compostos ainda não foi completamente elucidado.

O mecanismo de degradação das antocianinas na presença de ácido ascórbico foi proposto por Jurd (1972) e Poesi-Langston e Wrolstad (1981) caracterizado pela condensação direta do ácido ascórbico no C-4 da molécula de antocianina (Figura 4) resultando na perda de

ambos os compostos. Em outro mecanismo, o ácido ascórbico induz a degradação de antocianinas resultante da ação indireta do peróxido de hidrogênio formado a partir da oxidação do ácido ascórbico (Iacobucci e Sweeny, 1983). Portanto, tanto o ácido ascórbico quanto os produtos de sua degradação são responsáveis pelo aumento da taxa de degradação das antocianinas (Wilska-Jeszka, 2007) o que foi também observado por Pacheco-Palencia *et al.* (2007), onde a adição do ácido ascórbico no suco de açaí clarificado acelerou a degradação das antocianinas quando armazenado em diferentes temperaturas.

O fenômeno no qual pigmentos, compostos orgânicos incolores ou íons metálicos formam ligações moleculares ou associações complexas, gerando uma mudança ou incremento da intensidade da cor é conhecido como copigmentação. A copigmentação intermolecular foi observada pela primeira vez por Willstätter e Zollinger em 1916 que observaram uma alteração da coloração vermelha da antocianina (malvidina-3-glicosídeo) presente em uvas para a coloração azul em decorrência da ação do ácido gálico e de taninos (Trevisan, Bobbio e Bobbio; 1972; Rein, 2005; Bobbio e Mercadante, 2008; Bobbio *et al.*, 2008; Cavalcanti, Santos e Meireles, 2011). As antocianinas podem ser estabilizadas por reações de copigmentação intramolecular e intermoleculares e dentre os compostos que podem atuar como copigmentos estão flavonoides, alcaloides, aminoácidos e nucleotídeos; além disto, as antocianinas podem atuar como copigmentos de outras antocianinas (Bridle e Timberlake, 1997; Boulton, 2001).

Cabe ressaltar que esse mecanismo é afetado por diversos fatores como o pH, o tipo e a concentração de antocianinas, a concentração dos pigmentos, a temperatura e a presença de metais (Mazza e Brouillard, 1987). A ocorrência da coloração roxa e da azul em flores e frutos pode ser atribuída, principalmente, à estabilização da base quinoidal por copigmentação (Asen, Stewart e Norris, 1972; Scheffeldt e Hrazdina, 1978; Rein, 2005).

Outros mecanismos de estabilização da cor são a complexação de metais e a condensação de antocianinas com catequinas e acetaldeídos (Mazza e Brouillard, 1987). Os grupos hidroxila presentes nos compostos fenólicos podem se ligar a metais livres e a complexação destes dois compostos pode levar a uma coloração mais azulada dos produtos. Zhang *et al.* (2015) verificaram a copigmentação da malvidina-3-o-glicosídeo (M3OG) com cinco cofatores hidroxibenzoicos representados pelo ácido p-hidroxibenzoico (APH), ácido protocatecuico (AP), ácido gálico (AG), ácido vanílico (AV) e o ácido sirínico (AS). Os resultados mostraram que o aumento da concentração destes cofatores proporcionou um

aumento da absorbância das soluções (hipercromia e deslocamento batocrômico) em consequência das fortes interações intermoleculares. O aumento da absorbância das soluções foi associado com as estruturas químicas dos cofatores hidroxibenzoicos e com a interação entre a malvidina-3-o-glicosídeo e os cofatores formando complexos mais estáveis: AS/M3OG > AV/M3OG > AG/M3OG > AP/M3OG > APH/M3OG. Os pesquisadores concluíram que o ácido sirínico teve um efeito de copigmentação maior do que os outros quatro ácidos fenólicos investigados.

O efeito da temperatura e da luz sobre a estabilidade das antocianinas da casca de uva copigmentada com isoquercitrina enzimaticamente modificada (IQEM) em diferentes pHs (3, 4 e 5) foi estudada por Yan *et al.* (2013). Para os ensaios térmicos na temperatura de 90 °C, as proporções de antocianinas e de IQEM foram de 2:1, 1:1, 1:2 (m/m), respectivamente, enquanto que para o estudo do efeito da luz sobre a estabilidade das antocianinas as concentrações de IQEM utilizadas foram 0,25, 0,5 e 1 %. Os resultados mostraram que a degradação térmica das antocianinas copigmentada com IQEM seguiu uma cinética de primeira ordem e que o tempo de meia-vida foi significativamente maior em virtude do aumento da concentração de IQEM ($p < 0,05$). Em relação ao efeito da luz, os autores observaram que a copigmentação proporcionou um aumento da estabilidade desses compostos devido aos menores valores ΔE^*_{ab} em todos os pHs avaliados, concluindo que IQEM foi um copigmento eficaz para a estabilização das antocianinas presentes na casca de uva.

Diante disso, é pertinente ressaltar que o uso das antocianinas como corante natural na indústria de alimentos como uma forma de substituir os corantes sintéticos é muito desejável, mas limitado pela sua instabilidade frente às condições de processamento. Uma alternativa para aumentar a estabilidade das antocianinas é aplicar a técnica de microencapsulação no qual o ingrediente sensível (antocianinas) é protegido dentro do material de revestimento evitando sua degradação e consequentemente a perda da sua atividade antioxidante e poder corante.

3.3. Microencapsulação

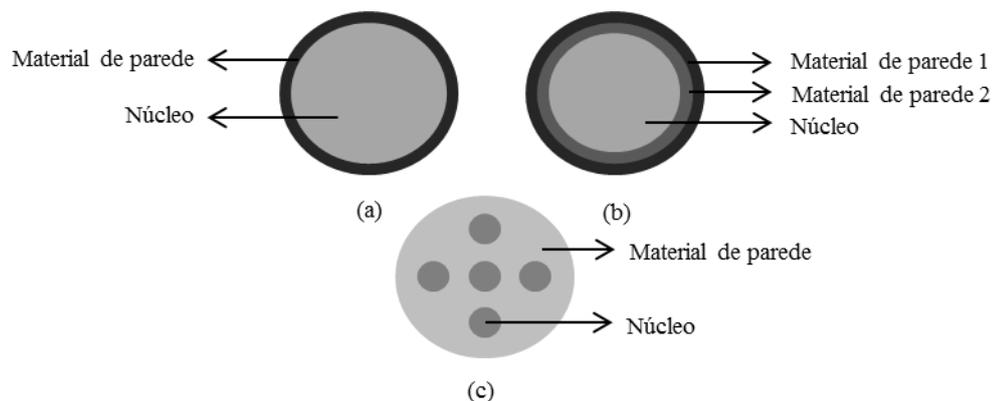
3.3.1 Princípios e objetivos

A microencapsulação consiste na tecnologia de empacotamento de um ingrediente ativo (sólidos, gotículas de líquido ou material gasoso) com finas camadas poliméricas

formando micropartículas, que podem liberar seu conteúdo sob velocidades e condições específicas (Sparks, 1981). O material microencapsulado pode ser referido como núcleo, fase interna ou recheio, enquanto que o microencapsulante pode ser chamado de concha, revestimento, material de parede ou membrana (Gharsallaoui *et al.*, 2007).

As micropartículas são divididas em dois grupos designados de microcápsulas e microesferas. As microcápsulas são caracterizadas por possuir um núcleo concentrado na região central, circundado por um filme definido e contínuo do material de parede. Além disso, as microcápsulas podem ter mais de um núcleo ou várias paredes para o mesmo núcleo. As microesferas diferem das microcápsulas pelo fato de constituírem um sistema matricial, no qual o polímero forma uma rede tridimensional onde o material a ser microencapsulado pode estar adsorvido, incorporado ou ligado covalentemente à matriz polimérica, formando sistemas de dissolução, dispersão ou sistemas porosos (Azeredo, 2005; Júnior, 2005). A Figura 7 apresenta alguns dos principais modelos de micropartículas.

Figura 7. Modelos de micropartículas: (a) microcápsula simples, (b) microcápsula com dois materiais de parede e (c) microesfera com vários núcleos.



A microencapsulação permite a criação de uma barreira física entre os núcleos e os materiais de parede e a proteção de ingredientes sensíveis – aroma, *flavor*, antioxidantes, óleos poli-insaturados, acidulantes, vitaminas, enzimas, microorganismos probióticos, fármacos dentre outros – contra a ação do meio externo. A indústria emprega esta técnica por inúmeras razões: reduzir a reatividade do material de núcleo com o ambiente; proteger contra condições ambientais adversas; proteger contra condições deletérias no trato intestinal; diminuir a velocidade de evaporação ou de transferência do recheio (fase interna) para o meio; facilitar a manipulação do material microencapsulado; promover liberação controlada; mascarar sabor e odor desagradáveis e promover a diluição homogênea do material microencapsulado em uma formulação alimentícia (Shahidi e Han, 1993).

3.3.2. Técnicas de microencapsulação

A escolha do método de microencapsulação para uma aplicação específica depende de uma série de fatores, tais como: tamanho de partículas requerido, propriedades físicas e químicas do núcleo e da parede, aplicação do produto final, mecanismos desejados de liberação, escala de produção e custo. Na preparação ou obtenção de micropartículas são conhecidos diversos métodos, os quais podem ser classificados em três categorias principais: métodos físicos, químicos e físico-químicos, conforme apresentado na Tabela 4.

Tabela 4. Métodos físicos, químicos e físico-químicos utilizados para microencapsulação de compostos.

Classificação dos métodos	Métodos de microencapsulação
Métodos físicos	Extrusão estacionária
	Bocal submerso
	Extrusão centrífuga
	Bocal vibrante
	<i>Spray drying</i>
	Disco rotativo
	<i>Pan coating</i>
	Suspensão por ar
	<i>Spray chilling e spray cooling</i>
	Leito fluidizado
	<i>Co-cristalização</i>
Métodos químicos	Liofilização
	Polimerização interfacial
	Inclusão molecular
Métodos físico-químicos	Polimerização <i>in situ</i>
	Coacervação simples
	Coacervação complexa
	Lipossomas
	Lipoesferas (<i>solid lipid nanoparticles e nanostructured lipid carries</i>)
	Evaporação do solvente

Fonte: Madene, Scher e Desobry (2006), Desai e Park (2005) e Shahidi e Han (1993).

Na indústria de alimentos, as técnicas mais empregadas no processo de microencapsulação incluem na categoria de métodos físicos a secagem por atomização (*spray drying*) e por liofilização (*freeze drying*). Enquanto que nas categorias de métodos químicos e físico-químicos prevalecem, respectivamente, as técnicas de polimerização interfacial, inclusão molecular e lipossomas (Shahidi e Han, 1993; Gouin, 2004; Desai e Jin Park, 2005).

A técnica de liofilização será apresentada e discutida com mais detalhes a seguir, pois é a técnica estudada no presente trabalho.

3.3.1.1 Liofilização ou *freeze drying*

O processo de microencapsulação pode ser realizado por meio da liofilização de uma suspensão de material de núcleo com um material de parede (Azeredo, 2005). A liofilização é um processo de desidratação de materiais congelados através da sublimação da água em condições de baixas pressões (vácuo) e temperatura, permitindo que as propriedades químicas e organolépticas de produtos alimentares, farmacêuticos e biológicos sejam mantidas (Martins, 2000). A liofilização permite minimizar mudanças que normalmente ocorrem durante a desidratação com aplicação de elevadas temperaturas, pois além de utilizar baixas temperaturas, os alimentos quando congelados têm menor possibilidade de romper ou distorcer sua estrutura enquanto perdem sua umidade (Potter e Hotchkiss, 1998).

No Brasil, até poucos anos, a liofilização era conhecida apenas em laboratórios farmacêuticos no preparo de medicamentos e antibióticos, de maneira a permitir a manutenção das suas atividades biológicas, mesmo quando armazenados em temperatura ambiente. Atualmente, essa técnica tem sido muito empregada na indústria de alimentos na desidratação de líquidos como café e secagem de frutos para preservar, principalmente o *flavor*, coloração e compostos fitoquímicos que são facilmente perdidos pelo método de secagem com uso de altas temperaturas e fluxo de ar, que é o método de secagem convencional (Potter e Hotchkiss, 1998)

As principais vantagens oferecidas pelo uso da técnica de liofilização são a manutenção do valor nutritivo e características sensoriais e redução de mudanças indesejáveis tais como desnaturação proteica, perda de compostos voláteis, formação de camadas impermeáveis, migração de sólidos solúveis para a superfície durante a secagem e dificuldade de reidratação (Martins, 2000; Marques, Silveira e Freire, 2006). Além disso, a textura dos

alimentos liofilizados é mantida, havendo pouco encolhimento e nenhuma formação de crosta na superfície. Com a estrutura porosa aberta, esquematicamente mostrada na Figura 8, se admite uma rápida e completa reidratação, porém ela é frágil e requer proteção contra danos mecânicos (Fellows, 2006). As principais desvantagens são os altos custos fixos e operacionais e o elevado tempo de processo (Marques, Silveira e Freire, 2006)

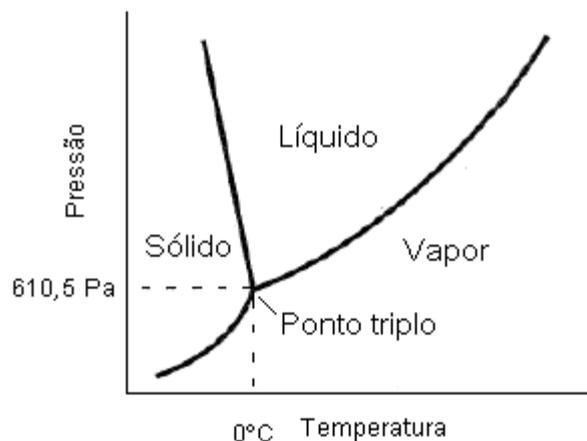
Figura 8. Estrutura porosa do alimento liofilizado.



Fonte: Fellows (2006).

O fundamento físico da liofilização é a coexistência dos três estados da água (sólido, líquido e gasoso) em determinadas condições de pressão e temperatura. Assim, em temperaturas de aproximadamente $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ e pressões de 610 Pa , obtém-se o chamado ponto triplo da água (Figura 9), possibilitando sua mudança de estado físico diretamente do sólido para o gasoso, ou seja, por sublimação (Martins, 2000; Vieira e Ho, 2008).

Figura 9. Diagrama de fases da água.



Fonte: Fellows (2006).

A liofilização é realizada em três etapas: congelamento, secagem primária e secagem secundária (Boss, Filho e De Toledo, 2004; Chen e Wang, 2007). O congelamento é uma fase importante e ele deve ser rápido para que se formem microcristais de gelo que não danifiquem a membrana celular da estrutura do alimento. Quando o congelamento é lento, formam-se

cristais grandes que rompem a membrana celular, acarretando perda do líquido citoplasmático e conseqüentemente, encolhimento do alimento que fica com aspecto de murcho. No congelamento rápido, a estrutura do alimento mantém-se intacta, conservando sua forma original que após a hidratação, recompõe-se normalmente (Fellows, 2006).

A secagem primária é a etapa onde o solvente é removido por sublimação em baixas pressões e adição de calor. Uma significativa quantidade de calor latente de sublimação é também consumida quando as moléculas de água sublimam e entram para a fase vapor (Fellows, 2006). Devido a isso, a temperatura do produto congelado é reduzida. Então, é necessário o fornecimento de calor para o produto, que poderá ser concedido por condução, convecção e/ou radiação (Boss, Filho e De Toledo, 2004). Nesta etapa o alimento pode ser desidratado até um teor de 15 % (Boss, Filho e De Toledo, 2004; Fellows, 2006).

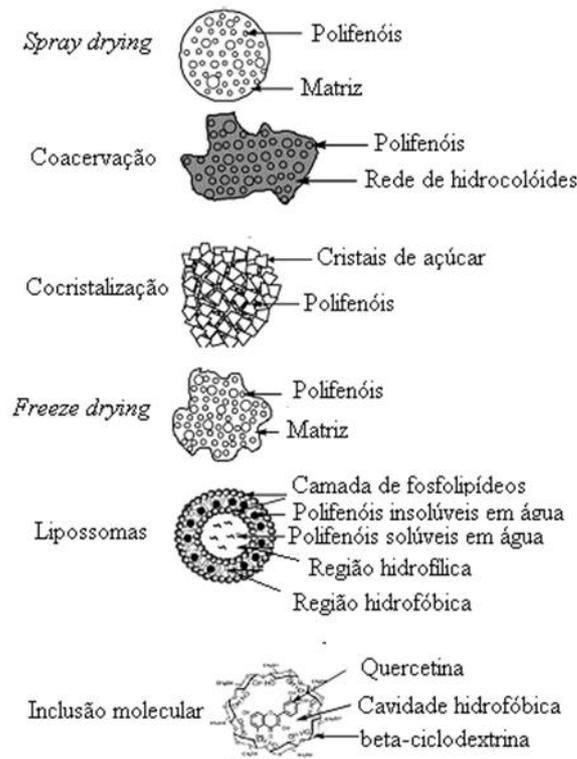
A secagem secundária é necessária para dessorver a camada de água ou solvente que não estava congelada (Boss, Filho e De Toledo, 2004; Fellows, 2006; Chen e Wang, 2007). A secagem por meio da evaporação (dessorção) da água não congelada ocorre até 2 % de umidade e é obtida pela elevação da temperatura até que esta seja igual ou próxima da temperatura ambiente mantendo a pressão baixa (Boss, Filho e De Toledo, 2004).

Basicamente os liofilizadores consistem de uma câmara a vácuo com bandejas para conter o alimento, aquecedores para suprir o calor latente de sublimação, serpentinas de refrigeração para condensar os vapores diretamente em gelo e bombas de vácuo para remover vapores não condensáveis. Os métodos utilizados para suprir o calor para a superfície do alimento podem ser via condução, radiação ou radiofrequência. Na prática, a mais baixa pressão da câmara economicamente viável é de aproximadamente de 13 Pa e a temperatura do condensador é de cerca de -35 °C (Fellows, 2006).

Cabe ressaltar que as micropartículas liofilizadas geralmente apresentam formatos irregulares, diferente de outras técnicas de microencapsulação. As estruturas das micropartículas obtidas pelos principais métodos de microencapsulação estão apresentadas na Figura 10, onde é possível visualizar as diferenças entre elas. Percebe-se que as micropartículas preparadas por atomização possuem formatos regulares, praticamente esféricos; a liofilização, a coacervação e a co-cristalização, por sua vez, formam micropartículas com formatos irregulares e indefinidos. Diferentes desses métodos, onde o composto microencapsulado está disperso na matriz microencapsulante, a inclusão molecular

e os lipossomas são técnicas onde o material microencapsulado fica protegido em uma cavidade ou região hidrofóbica e/ou hidrofílica.

Figura 10. Micropartículas de polifenóis preparadas com diferentes métodos físicos, químicos e físico-químicos.



Fonte: Fang e Bhandari (2010).

3.3.3. Materiais de revestimento

A qualidade da microencapsulação está intimamente ligada à escolha do material de parede e tal escolha depende de uma série de fatores (Cardello e Celestino, 1996). O material ideal para a microencapsulação deve ter as seguintes características: apresentar baixa viscosidade em concentrações elevadas; ser de fácil manipulação durante o processo; ter baixa higroscopicidade para facilitar a manipulação e evitar aglomeração; ter habilidade para dispersar ou emulsificar e estabilizar o ingrediente ativo; não deve ser reativo com o material a ser microencapsulado e deve ainda apresentar habilidade de selar e segurar o material ativo dentro da estrutura da microcápsula; deve proporcionar máxima proteção ao material ativo contra condições adversas como luz, pH, oxigênio e ingredientes reativos; ter solubilidade em solventes comumente utilizados; possuir propriedades desejadas de liberação do material

ativo; não possuir sabor desagradável (no caso de consumo oral) e finalmente ter baixo custo (Shahidi e Han, 1993).

Vários materiais podem ser utilizados como agentes microencapsulantes, dentre os principais pode-se destacar: goma arábica, ágar, alginato e carragena; amidos, amidos modificados e dextrinas; as celuloses carboximetilcelulose, acetilcelulose, nitrocelulose; os lipídios como mono e diacilgliceróis, óleos e gorduras; os materiais inorgânicos sulfato de cálcio e silicatos; as proteínas do glúten, caseína, gelatina e albumina (Jackson e Lee, 1991).

Cabe ressaltar, também, o desenvolvimento de diversas pesquisas com proteínas vegetais como material de revestimento proporcionando uma alternativa de substituir as proteínas sintéticas (poliestirenos, poliamidas e poliuretanas) e de origem animal (proteínas do soro do leite, gelatina e caseína). Estes polímeros naturais apresentam boa solubilidade, têm capacidade de formação de emulsões, possuem estabilidade de espuma, dando-lhes as características adequadas para utilização como materiais de revestimento (Nunes *et al.*, 2003; Nesterenko *et al.*, 2012; 2013). Entre as proteínas vegetais que têm sido estudadas como materiais de parede podem ser citados a soja, a ervilha, o trigo e outros cereais. A proteína isolada de soja, por exemplo, tem sido empregada como material de parede para microencapsular compostos de *flavor* (Charve e Reineccius, 2009), óleo de laranja (Kim, Morr e Schenz, 1996) e α -tocoferol (Nesterenko *et al.*, 2012).

Como a maioria dos materiais de cobertura não possui ao mesmo tempo todas as propriedades listadas, na prática eles podem ser utilizados em combinação com outro material de cobertura e/ou modificadores, como sequestrantes de oxigênio, antioxidantes, agentes quelantes e surfactantes (Shahidi e Han, 1993).

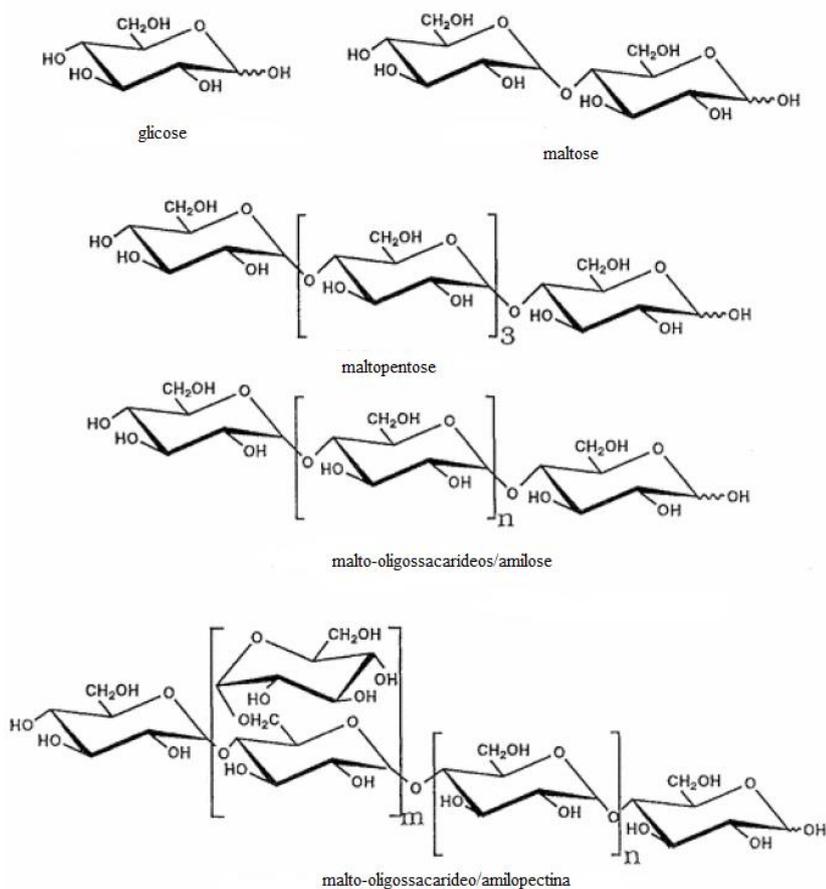
Na microencapsulação de antocianinas extraídas de diferentes fontes vegetais, são encontrados diversos estudos utilizando principalmente a maltodextrina e a goma arábica como material de revestimento, porém a maltodextrina é mais empregada em virtude da fácil aquisição e do seu baixo custo. No entanto, é pertinente ressaltar a importância de novas pesquisas empregando outros materiais de revestimento como, por exemplo, proteínas vegetais e outros polissacarídeos. Diante disso, os próximos itens referem-se às características da pectina, da proteína isolada de soja bem como da maltodextrina que foram os materiais de parede utilizados no presente trabalho.

3.3.2.1. Maltodextrina

A maltodextrina ($C_6H_{10}O_5$)_n.H₂O consiste de uma mistura de dissacarídeos com uma ampla distribuição da massa molecular entre polissacarídeos e oligossacarídeos, conforme mostrado na Figura 11) sendo estes constituídos por unidades de D-glicose unidas por ligações α (1- 4) com elevado grau de polimerização apresentando cadeias contendo em média de 3 a 20 moléculas de glicose (Kennedy, Knill e Taylor, 1995; Chronakis, 1998; Zheng, Jin e Zhang, 2007).

A maltodextrina pode ser produzido a partir da hidrólise – ácida, enzimática (α -amilase) ou a combinação destes dois métodos - do amido proveniente de diferentes fontes botânicas. A natureza do amido a ser hidrolisado e o processo utilizado possui importante influência na composição e propriedade do produto final (Kennedy, Knill e Taylor, 1995; Chronakis, 1998; Wang e Wang, 2000; Zheng, Jin e Zhang, 2007).

Figura 11. Principais componentes estruturais da maltodextrina.



Fonte: Kennedy, Knill e Taylor (1995).

As maltodextrinas são classificadas pelo seu grau de hidrólise expresso em dextrose equivalente (DE), que se caracteriza pela medida da extensão da hidrólise do amido e também

indica uma média da massa molecular. Conforme aumenta o grau de hidrólise, a média da massa molecular diminui e a DE aumenta. Esta é uma medida essencialmente empírica da quantidade de açúcar redutor presente no produto e é expressa em base seca. A dextrose usada como padrão são o amido (DE=0) e a glicose (DE=100). As variações nos valores de dextrose equivalente resultam em maltodextrinas com diferentes propriedades físico-químicas. A higroscopicidade, a solubilidade, a osmolaridade e a capacidade de reduzir o ponto de congelamento aumentam com o aumento da DE, enquanto que a viscosidade, a coesividade e a prevenção de formação de cristais aumentam com a diminuição da DE (Chronakis, 1998; Dokic, Jakovljevic e Dokic-Baucal, 1998; Wang e Wang, 2000).

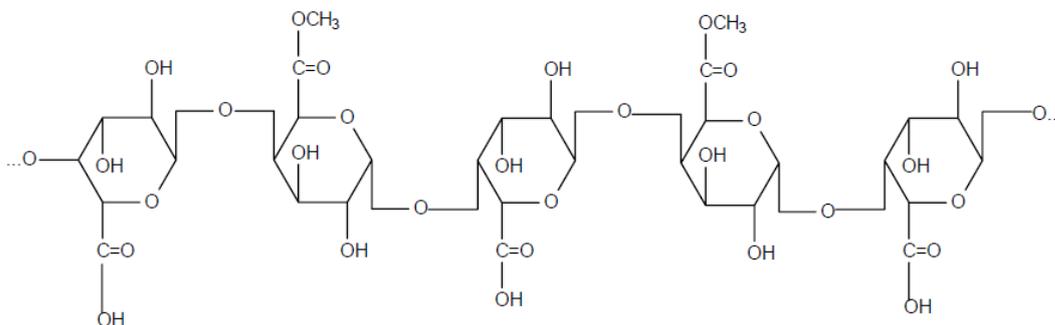
As maltodextrinas são definidas como os produtos com valores de DE menores do que 20. Esses produtos são solúveis em água, possuem baixa densidade e menos higroscópicos, não apresentam doçura e sabor, além de serem excelentes para contribuir com o corpo de sistemas alimentícios. A hidrólise do amido a valores de DE entre 20-60 resulta em uma mistura de moléculas que quando seca é denominada xarope de milho sólido. Estes produtos apresentam maior capacidade de absorver umidade e dissolvem-se rapidamente (Fennema, Damoradan e Kirk, 2010).

Na indústria de alimentos, as maltodextrinas possuem grande aplicação devido às suas propriedades físico-químicas funcionais específicas e ao baixo custo, quando comparadas com outros hidrocolóides comestíveis como, por exemplo, a goma xantana, a gelatina, a carragena entre outros; podem ser empregadas como agente espessante, para auxiliar a secagem por atomização, como substituto de gorduras, como formador de filmes, no controle do congelamento, para prevenir cristalizações, e como complemento nutricional. Apesar de suas aplicações variadas, normalmente a adição destes hidrolisados de amido não é suficiente para suprir as características e qualidades desejadas, sendo necessária a adição de outros carboidratos e proteínas para conferir maior viscosidade e estabilidade e fornecer maior proteção aos alimentos (Gharsallaoui *et al.*, 2007; Kannan e Priyenka Devi, 2012). As maltodextrinas com DE entre 10 e 20 são as mais indicadas para o microencapsulamento de aromas, enquanto que para óleos essenciais são utilizadas misturas de maltodextrinas com DE entre 5 e 15 com proteínas (Gharsallaoui *et al.*, 2007).

3.3.2.2. Pectina

As pectinas estão presentes na lamela média dos tecidos vegetais e na parede celular primária contribuindo para os processos fisiológicos tais como o crescimento celular, a diferenciação e adesão entre as células, a morfologia, o desenvolvimento da planta bem como a resistência mecânica (Alkorta *et al.*, 1998; Voragen *et al.*, 2009). A pectina é considerada um polissacarídeo heterogêneo de alta massa molecular contendo de 150 a 500 unidades de ácidos galacturônicos. A estrutura química é constituída de uma cadeia principal linear de unidades repetidas de ácido D-galacturônico ligados covalentemente por ligações α -(1,4), onde os grupos carboxílicos podem ser metil esterificados em diferentes extensões. A estrutura química da pectina está mostrada na Figura 12. Essa cadeia principal pode ser interrompida por unidades de L-ramnose através de ligações α -(1,2), às quais estão ligadas cadeias laterais, formadas por açúcares neutros, principalmente unidades de galactose e arabinose (Cheftel e Cheftel, 1976; Bobbio e Bobbio, 1989; Turquois *et al.*, 1999).

Figura 12. Estrutura química da pectina.



Fonte: Bobbio e Bobbio (1989).

O teor em substâncias pécicas varia de acordo com a origem botânica do produto vegetal. As matérias-primas mais importantes para a extração comercial da pectina constituem-se no bagaço de maçã e cascas de frutos cítricos (subprodutos da indústria de sucos) as quais são extraídas em condições levemente ácidas e em altas temperaturas dando origem a pectinas com alto e baixo grau de metoxilação (ATM) (Voragen *et al.*, 2009). Dependendo da fonte da qual é extraída, a pectina varia consideravelmente em sua capacidade de formar géis, aos diferentes tamanhos da cadeia de ácidos poligalacturônicos e do grau de esterificação dos grupos carboxílicos. O procedimento de extração, localização da pectina no tecido da planta, e o teor de açúcares neutros presentes, determinam, igualmente, consideráveis variabilidades em suas características finais (Barrera *et al.*, 2002).

A pectina constitui-se em um coloide por excelência, e em função de seu caráter hidrofílico, devido à presença de grupos polares, apresenta a propriedade de envolver grande quantidade de água, produzindo uma solução viscosa. Em função dessa capacidade, a pectina é amplamente utilizada no preparo de geleias, doces de frutos, produtos de confeitaria, doces, sucos de frutas e em outros ramos da indústria de alimentos. As pectinas também são utilizadas em alimentos, como espessantes, texturizantes, emulsificantes ou estabilizantes (Bowers, 1992).

3.3.2.3 Proteína isolada de soja

A proteína isolada de soja é a forma mais pura e refinada entre os derivados proteicos da soja – farinha de soja, proteína texturizada e a proteína concentrada – contendo mais de 90 % de proteína em sua composição. Estruturalmente, é constituída por um conjunto de macromoléculas de tamanhos e conformações variadas formadas a partir de 18 resíduos de aminoácidos diferentes, apresentados na Tabela 5 (Lodha e Netravali, 2005; Akesowan, 2008).

Tabela 5. Principais aminoácidos presentes na proteína isolada de soja.

Aminoácidos	Composição (g/16 g de nitrogênio)
Metionina	1,26
Triptofano	1,28
Cisteína	1,33
Histidina	2,53
Tirosina	2,14
Treonina	3,86
Glicina	4,18
Alanina	4,26
Isoleucina	4,54
Valina	4,8
Fenilalanina	4,94
Serina	5,12
Prolina	5,49
Lisina	6,38
Arginina	7,23
Leucina	7,78
Ácido Aspártico	11,7
Ácido Glutâmico	18,7

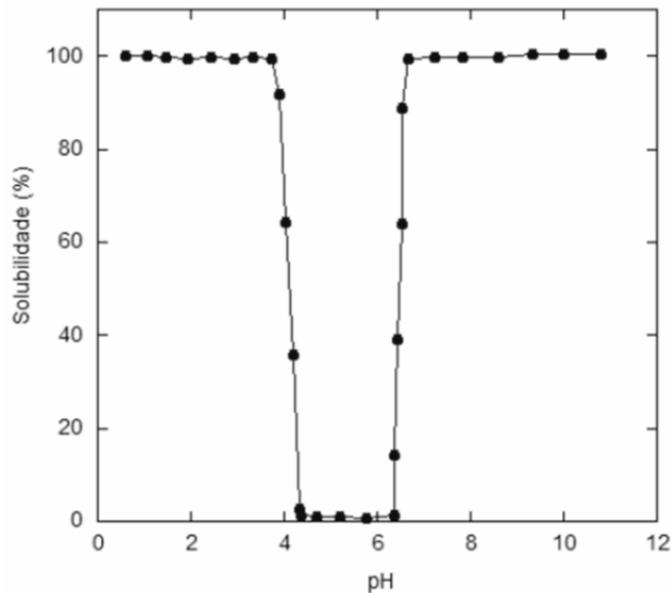
Fonte: Kumar *et al.* (2002).

No processo de obtenção da proteína isolada de soja ocorre, primeiramente, o preparo da farinha desengordurada de soja a partir de uma solução alcalina (pH = 8,0) após a remoção da casca e do óleo dos grãos de soja e, em seguida, uma extração em fase aquosa permite a separação dos demais componentes não proteicos através da variação da sua solubilidade em função do pH (Malhotra e Coupland, 2004; Giacomelli, 2005a; Giacomelli, 2005b).

As propriedades funcionais de uma proteína – solubilidade, emulsificação, viscosidade, formação de espuma e gelificação – refletem os efeitos específicos no processamento e vida útil dos alimentos e, ainda, o seu uso como ingrediente alimentar depende principalmente da sua estrutura e características físico-químicas (Vojdani, 1996; Damodaran e Paraf, 1997; Li, 2002; Kunsheng, Yangyang e Yunxia, 2007).

Dentre as propriedades funcionais citadas anteriormente, a solubilidade é considerada a mais importante, pois exerce uma grande influência sobre as outras propriedades. As cargas iônicas e a natureza hidrofóbica são os dois fatores principais que determinam a solubilidade de uma proteína. As interações hidrofóbicas favorecem as interações proteína-proteína que resulta em decréscimo na solubilidade. As interações iônicas favorecem as interações proteína-água, resultando em aumento de solubilidade (Fennema, Damoradan e Kirk, 2010).

Em soluções aquosas, a solubilidade das proteínas depende do pH. No ponto isoelétrico, a molécula de proteína possui carga líquida nula caracterizada pela máxima interação eletrostática entre os grupos carregados e interação mínima com a água corroborando para a agregação e precipitação. No entanto, em pH acima e abaixo do ponto isoelétrico, as proteínas apresentam cargas elétricas positivas e negativas, respectivamente, com isso as moléculas de água interagem com estas cargas contribuindo para a sua solubilização (Damodaran e Paraf, 1997; Ordóñez *et al.*, 2005). A Figura 13 mostra a curva de solubilidade da proteína isolada de soja em diferentes valores de pHs.

Figura 13. Diagrama de solubilidade da proteína isolada de soja em função do pH.

Fonte: Lakemond *et al.* (2000)

A solubilidade de uma proteína é afetada por fatores como massa molar e conformação das moléculas, composição e sequência de aminoácidos, densidade e distribuição das cargas elétricas, natureza e concentração de íons ou força iônica, assim como a polaridade do solvente, temperatura, pH e condições de processamento (Ordóñez *et al.*, 2005).

Além do efeito da força iônica, certos tipos específicos de íons de sais exercem efeitos sobre as características de solubilidade das proteínas. Enquanto o efeito da força iônica de sais atua sobre as forças eletrostáticas da proteína, os efeitos iônicos específicos de sais estão relacionados com seus efeitos sobre as forças hidrofóbicas (Damodaran e Paraf, 1997).

A proteína de soja é um produto que vem sendo amplamente utilizados como ingrediente nas indústrias alimentícias com a finalidade de substituir ou complementar outros tipos de proteínas de maior custo, além de melhorar as características organolépticas do produto final, aumentar o valor nutricional e reduzir custos de produção. Em relação a aplicabilidade como material de parede na microencapsulação de compostos fenólicos não foram encontradas pesquisas na literatura usando a técnica de liofilização.

3.3.3. Microencapsulação de antocianinas

Na literatura são encontrados estudos sobre a microencapsulação de antocianinas extraídas de diversas fontes vegetais através das técnicas de atomização e liofilização e a Tabela 6 resume as principais pesquisas publicadas recentemente.

Tabela 6. Microencapsulação de antocianinas provenientes de diversas fontes vegetais por atomização e liofilização.

Fonte de Antocianinas	Material de parede	Processo de microencapsulação	Referências
Pétalas da flor do açafraão	Maltodextrina e goma arábica	Liofilização	Khazaei <i>et al.</i> (2014)
Mirtilo	Proteína isolada do soro do leite	Atomização	Flores <i>et al.</i> (2014)
Bagaço de mirtilo	Proteína isolada do soro do leite e goma arábica	Atomização	Flores <i>et al.</i> (2014)
Bagaço de vinificação da uva Bordo (<i>Vitis labrusca</i>)	Maltodextrina e goma arábica	Atomização	Souza <i>et al.</i> (2014)
Amora preta (<i>Rubus fruticosus</i>)	β -ciclodextrina, goma xantana, quitosana e hidrogel	Liofilização	Da Rosa <i>et al.</i> (2014)
Farinhas de batata doce roxa	Maltodextrina e pectina	Atomização	Peng <i>et al.</i> (2013)
Andes Berry (<i>Rubus glaucus</i> Benth.)	Maltodextrina, goma arábica, amido de milho, amido de mandioca e amidos modificados Capsul® TA e Hi-Cap™ 100	Atomização	Villacrez, Carriazo e Osório. (2014)
Bagaço de uva vermelha (<i>Vitis vinifera</i> L.)	Maltodextrina e carboximetilcelulose	Atomização	Boonchu e Utama-ang (2013)
Suco de bayberry	Maltodextrina e proteína isolada do soro do leite	Atomização	Fang e Bhandari (2012)
Bagaço de groselhas pretas	Maltodextrina	Atomização	Bakowska-Barczak e Kolodziejczyk (2011)
Vinagreira (<i>Hibiscus sabdariffa</i> L.)	Maltodextrina e goma arábica	Atomização	Idhan <i>et al.</i> (2012)
Cascas de jabuticabas	Maltodextrina, goma arábica e amido modificado Capsul™	Atomização	Silva <i>et al.</i> (2013)
Suco de bayberry	Maltodextrina	Atomização	Fang e Bhandari (2010)
Mirtilo	Goma de algaroba	Atomização	Jiménez-Aguilar <i>et al.</i> (2011)
Frutos de Corozo (<i>Bactris guineensis</i>)	Maltodextrina	Atomização	Osório <i>et al.</i> (2010)
Suco de açai	Maltodextrina, goma arábica e amido de tapioca	Atomização	Tonon <i>et al.</i> (2009)
Suco de açai	Maltodextrina	Atomização	Tonon <i>et al.</i> (2008)
Cenouras pretas (<i>Daucus carota</i> L.)	Maltodextrina	Atomização	Ersus e Yurdagel (2007)

Sementes de uva

Maltodextrina e goma arábica Atomização

Zhang, Mou e Du. (2007)

Diante dos diferentes tipos de materiais de parede analisados nesses estudos, destaca-se a utilização da maltodextrina e da goma arábica em virtude das propriedades desejáveis associados ao baixo custo, à boa solubilidade em água, à baixa viscosidade em altas concentrações e à formação de emulsões estáveis quando comparadas com outros hidrocolóides comestíveis como, por exemplo, a goma xantana, a gelatina, a carragena entre outros (Ersus e Yurdagel, 2007; Tonon, Brabet e Hubinger, 2008; Osorio *et al.*, 2010; Fang e Bhandari, 2012; Souza *et al.*, 2014).

O efeito do tipo de material de revestimento sobre os rendimentos de secagem por atomização foi objeto de estudo de Bakowska-Barczak e Kolodziejczyk (2011). O extrato de antocianinas obtido de groselhas pretas foram microencapsulados com maltodextrinas de diferentes dextroses equivalentes (11 DE, 18 DE e 21 DE) e com a inulina. Os resultados mostraram que o tipo de material de parede apresentou um efeito significativo ($p < 0,05$) sobre o rendimento de secagem e os menores rendimentos foram obtidos com o aumento da dextrose equivalente da maltodextrina. Para a inulina, o rendimento foi semelhante ao da maltodextrina 11DE.

Ersus e Yurdagel (2007) mostraram que as maltodextrinas com dextroses equivalentes diferentes (10 DE, 20-23 DE e 28-31 DE) influenciaram significativamente ($p < 0,05$) a quantidade de antocianinas, o teor de umidade, a cor e a higroscopicidade das micropartículas de cenouras pretas obtidas por atomização. Esse comportamento é esperado, pois as maltodextrinas com dextrose equivalente superiores apresentam uma massa molecular menor e são constituídas quimicamente por mais grupos hidrofílicos. Em relação ao teor de antocianinas os melhores resultados foram obtidos para a maltodextrina 20-23DE como material de parede. Por outro lado, o efeito da concentração de maltodextrina 10DE (10 – 30 %) e da temperatura de entrada do ar de secagem (138 – 202 °C) sobre as propriedades físico-químicas do suco de açaí microencapsulado por atomização foi avaliado simultaneamente por Tonon *et al.* (2008). As respostas analisadas foram o teor de umidade, a higroscopicidade, o rendimento de processo e a retenção de antocianinas. O teor de umidade nos pós e o rendimento de processo foram afetados positivamente pela temperatura de entrada do ar, o que pode ser atribuído à maior eficiência de transferência de calor e massa. Em contrapartida, a concentração de maltodextrina influenciou negativamente o rendimento de

processo e positivamente a higroscopicidade dos pós. O aumento da concentração de maltodextrina nas formulações conferiu uma maior viscosidade da mistura de alimentação, diante disso, houve uma maior deposição das micropartículas nas paredes da câmara do atomizador reduzindo o rendimento do processo. Em relação à higroscopicidade, valores mais baixos foram obtidos para concentrações mais altas de maltodextrinas enquanto que a retenção de antocianinas foi afetada apenas pela temperatura devido à alta sensibilidade desses pigmentos em temperaturas elevadas.

Em outros estudos, a proteína isolada do soro do leite e a goma de algaroba foram usadas como material de parede na atomização das antocianinas extraídas do mirtilo (Jiménez-Aguilar *et al.*, 2011; Flores, Singh e Kong, 2014) e do bagaço de mirtilo (Flores *et al.*, 2014) enquanto que para a liofilização do extrato de amoras pretas foram utilizados os seguintes polímeros: a β -ciclodextrina, a goma xantana, a quitosana e o hidrogel (mistura de goma xantana com quitosana) (Da Rosa *et al.*, 2014).

Fang e Bhandari (2012) avaliaram a eficiência da proteína isolada do soro do leite e da maltodextrina como material de parede na atomização do suco de *bayberry*. A proporção de suco e de proteína isolada do soro do leite analisada foi de 99,5 – 90,0: 0,5 – 10,0 enquanto que para a maltodextrina a proporção foi de 90,0 – 50,0: 10,0 – 50,0. Em todas as formulações a quantidade de sólidos totais foi mantida igual a 11 g/100 g de solução. Os resultados mostraram que a adição de apenas 1 % de proteína isolada do soro do leite foi suficiente para a recuperação de 53 % do suco de *bayberry* em pó enquanto que para a maltodextrina foi necessário à adição de mais de 30 % para obter a mesma eficiência. Os pesquisadores justificam que houve uma redução da viscosidade das formulações contendo proteína isolada do soro do leite e, conseqüentemente, ocorreu uma diminuição da aderência do pó nas paredes da câmara do atomizador em decorrência da modificação das propriedades da superfície do sistema gotícula/partícula.

Como a maioria dos materiais de parede não possuem ao mesmo tempo todas as propriedades listadas, na prática eles podem ser utilizados em combinação com outro material. Alguns autores avaliaram o comportamento da maltodextrina misturada com goma arábica (Zhang, Mou e Du, 2007; Idham, Muhamad e Sarmidi, 2012; Mahdavee Khazaei *et al.*, 2014), β -ciclodextrina (Peng *et al.*, 2013), carboximetilcelulose (Boonchu e Utama-Ang, 2013), amidos modificados como Capsul™ (Silva *et al.*, 2013), Capsul® e Hi-Cap™100 (Villacrez, Carriazo e Osorio, 2014) e pectina (Berg *et al.*, 2012) na microencapsulação do

extrato de antocianinas obtidos das pétalas da flor do açafrão, de sementes de uvas, Roselle (*Hibiscus sabdariffa L*), da batata doce roxa, do bagaço de uvas vermelhas, das cascas de jabuticaba, de andes *berry* e do mirtilo, respectivamente. Para tanto, nos estudos Idhan *et al.* (2012) e Zhang, Mou e Du (2007) a combinação de goma arábica e maltodextrina apresentaram a maior eficiência de microencapsulação das antocianinas correspondendo aos valores de 99,8 % e 99,2 %.

Finalmente, a influência do tipo de agente microencapsulante (maltodextrina, goma arábica e amido modificado CAPSUL™) e da temperatura de entrada do ar no atomizador (140 °C, 160 °C e 180 °C) foi investigada simultaneamente por Silva *et al.*(2013) ao microencapsular as antocianinas extraídas das cascas de jabuticaba. As seguintes respostas foram avaliadas: a retenção de antocianinas, o teor de umidade, a higroscopicidade, a diferença total de cor e atividade antioxidante. Os dados obtidos foram submetidos a uma análise de variância para um nível de confiança de 95 % e revelaram que a temperatura e o material de parede não teve influência significativa na higroscopicidade e no teor de umidade, respectivamente, e nenhuma das duas variáveis foram significativas para a atividade antioxidante. Por outro lado, para a diferença total de cor (ΔE^*_{ab}) e para a retenção de antocianinas o material de parede e a temperatura de entrada do ar foram significativos assim como a interação entre elas. Segundo Obón *et al.* (2005), uma diferença de cor total entre 0 - 1,5 é considerada pequena, indicando assim que a coloração da amostra é visivelmente idêntica ao extrato de origem. Quando o valor de ΔE^*_{ab} situa-se dentro da faixa de 1,5 – 5 já pode ser distinguida uma diferença de cor e para valores de ΔE^*_{ab} superiores a 5 essa diferença de cor se torna evidente. Portanto, as maiores diferenças totais de cor foram observadas para as micropartículas formuladas com as misturas de goma arábica/maltodextrina ($\Delta E^*_{ab} = 12,86$) e com o amido modificado CAPSUL™/maltodextrina ($\Delta E^*_{ab} = 10,95$) ambas na proporção 25:5.

Capítulo 4 - Materiais e Métodos

Neste capítulo é apresentada a metodologia empregada na produção dos pós, assim como as matérias-primas, os reagentes, os equipamentos e métodos de análise realizados durante o desenvolvimento desse trabalho.

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Tecnologia e Processamento de Alimentos (LATEPA), no Laboratório de Tecnologia em Engenharia Química (LATEQ) no Centro de Nanociência e Nanotecnologia e no Laboratório de Materiais Cerâmicos todos pertencentes da UFRGS.

4.1. Matéria-prima e reagentes

Os frutos de jabuticaba maduros foram adquiridos do comércio local de Porto Alegre e transportados até o Departamento de Engenharia Química da UFRGS. Inicialmente, 20 kg de frutos foram lavados em água corrente e destinados para a produção de suco de jabuticaba por extração com calor. No processo de produção de suco, as jabuticabas foram aquecidas a 60 – 80 °C por 40 minutos, e em seguida, foram prensadas com a finalidade de obter a melhor extração do suco. A quantidade de resíduo gerado nesse processo foi de aproximadamente 10 kg de bagaço (constituído majoritariamente de cascas e sementes). Posteriormente o bagaço foi homogeneizado em porções de 250 g distribuídos em sacos plásticos e armazenados em freezer doméstico na temperatura de -18 °C para em seguida ser utilizados nos experimentos descritos abaixo.

A maltodextrina 10DE e a pectina foram gentilmente cedidas pelas empresas Ingredion Brasil Ing. Ind. Ltda (São Paulo – SP) e CP Kelco Brasil (São Paulo – SP),

respectivamente. A proteína isolada de soja foi obtida da empresa Vital Naturallis Comércio de Produtos Naturais (Santo André – SP).

Os padrões trolox (ácido 2-carboxílico-6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano) e o ABTS (2,2-azino-bis-(3-etilbenzotiazolona-6-sulfonato)) foram adquiridos da Sigma-Aldrich (São Paulo, Brasil) e o ácido gálico da Vetec (São Paulo, Brasil). O reagente de Folin-Ciocalteu foi adquirido da Merck Millipore Brasil (São Paulo, Brasil), o álcool etílico da Vetec (São Paulo, Brasil) e o ácido cítrico da Dinâmica Química Contemporânea Ltda (Diadema – SP). Todos os reagentes e solventes utilizados apresentavam grau de pureza PA.

4.2. Extração com ultrassom de antocianinas do bagaço úmido

As extrações foram realizadas com o ultrassom equipado com uma sonda de 12 mm de diâmetro e potência de 750 W (Sonics Vibracell modelo VC750, Newtown, USA). O bagaço (10 g) foi adicionado em 100 mL de solvente (água acidificada com ácido cítrico 1%) em uma célula de vidro encamisada de 200 mL no qual foi colocada sobre um agitador magnético (Fisatom, modelo 752^a, São Paulo - Brasil). A sonda foi submersa a 4 cm abaixo da mistura composta pelo solvente e pelo bagaço. Em decorrência do aumento da temperatura do solvente ocasionada pelo uso da sonda de ultrassom durante a extração, a célula de vidro foi conectada a um banho termostático e a temperatura de 5 °C foi mantida durante todo o experimento. O aparato experimental está mostrado na Figura 18.

Figura 14. Aparato experimental de extração.



O solvente utilizado, a amplitude e o tempo de extração foram selecionados tendo como referencia trabalhos prévios realizados pelo grupo de pesquisa (dados não publicados). O bagaço de jabuticaba (10 g) foi extraído duas vezes com 50 mL de uma solução aquosa de ácido cítrico 1%. A extração consistiu na aplicação do ultrassom com intensidade de

531 W.cm⁻² por 15 minutos a 20 °C. Após a primeira extração, o sobrenadante foi separado por filtração e o sólido foi re-extraído. Os dois sobrenadantes coletados foram combinados. Em seguida, os extratos a e b foram homogeneizadas e centrifugadas (Cientec, modelo CT 5000R, Brasil) por 20 minutos a 10 °C e 4757 g. O sobrenadante foi coletado e concentrado em evaporador rotativo a vácuo (Fisatom, modelo 803, São Paulo - Brasil) na temperatura de 35 °C até o extrato atingir uma concentração de 4° Brix correspondente a uma redução de 50 % do volume inicial. Em seguida, o extrato de antocianinas concentrado (EAC) foi armazenado em frasco protegido da luz e sob refrigeração até a etapa de microencapsulação.

4.3. Obtenção dos pós de antocianinas

O extrato de antocianinas concentrado (EAC) foi diluído em água acidificada com ácido cítrico (1%) na proporção 1:9 (v/v). Em seguida, o material de parede na concentração de 20% (m/v) foi suspenso no sistema obtido acima e homogeneizado por 20 minutos com o auxílio de um Ultra-Turrax (T25 Ultra-Turrax, Ika, Wilmington, USA). Após o preparo das suspensões, as amostras foram congeladas em ultrafreezer (Coldlab, modelo CL 120-40, Brasil) a - 40°C durante 24 horas. A microencapsulação de cada formulação foi realizada em duplicada e o ponto final de secagem foi estabelecido quando as amostras atingiram o peso constante, o que resultou em um tempo de 96 horas para o primeiro lote e 120 horas para o segundo lote. As formulações foram preparadas de acordo com a Tabela 7 para os dois lotes de liofilização.

Tabela 7. Formulações preparadas para a liofilização.

Formulações	Materiais de parede
F1A e F1B	20 % de maltodextrina
F2A e F2B	5 % de pectina + 15 % de maltodextrina
F3A e F3B	5 % de proteína isolada de soja + 15 % de maltodextrina
F4A e F4B	5 % de pectina + 5 % de proteína isolada de soja + 10 % de maltodextrina

A: primeiro lote e B: segundo lote

A secagem das amostras foi feita nas bandejas do equipamento de liofilização e durante o processo a campânula de acrílico transparente foi recoberta com saco preto com o intuito de proteger as amostras da luz. A pressão do liofilizador (Terroni Equipamentos,

modelo LS 6000, Brasil) manteve-se na faixa de 230-300 Hg e a temperatura do condensador permaneceu em torno de $-53^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Após a secagem, as amostras foram reduzidas a pó utilizando almofariz e pistilo. Posteriormente, os pós foram passados em peneira de 32 *mesh* e condicionados em sacos de polietileno em dessecador na temperatura ambiente e protegidos da luz até a sua caracterização.

4.4. Análises de caracterização dos pós de antocianinas

4.4.1. Determinação do conteúdo de umidade

As análises de umidade foram realizadas conforme protocolo n° 925.10 da AOAC (2005). Foram pesadas cerca de 5 gramas de amostra em cápsulas de alumínio, secas em estufa a 105°C (A3 DG Temp, De Leo, Brasil) por 12 horas, resfriadas em dessecador até temperatura ambiente por 30 minutos e finalmente pesadas. O percentual de umidade é calculado pela diferença de massa da amostra.

4.4.2. Determinação da atividade de água

A atividade de água (a_w) das amostras foi determinada de acordo com o manual do equipamento higrômetro (Aqualab 3TE, Decagon, Pullman, WA, EUA), mediante leitura direta, após o equilíbrio da amostra com o ambiente à temperatura de 25°C .

4.4.3. Determinação da solubilidade

Os testes de dissolução em água seguiram o método descrito por Cano-Chauca *et al.* (2005). A técnica consiste em diluir 1 g de amostra em 100 mL de água destilada sob agitação a 2500 rpm (agitador tipo Shaker, modelo MA563, Marconi, Brasil) por 5 min. Uma alíquota de 40 mL é então transferida para um tubo e centrifugada a 4757 g por 10 min (modelo CT5000R, Cientec Instrumentos Científicos S.A., Santiago/Chile). Uma alíquota de 20 mL do sobrenadante é transferida para uma cápsula de alumínio previamente pesada e submetida à secagem a 105°C . Por diferença de peso, o peso final de pó na placa é determinado, e calcula-se o percentual de solubilidade.

4.4.4. Determinação da higroscopicidade

A higroscopicidade foi determinada de acordo com a metodologia de Cai e Corke (2000), com algumas modificações. Aproximadamente 1 g de amostra em pó foi distribuída uniformemente em uma cápsula de alumínio e em seguida colocada dentro de um dessecador

contendo solução saturada de cloreto de sódio (umidade relativa de 75%) a temperatura ambiente. Quando o equilíbrio foi estabelecido (aproximadamente oito dias), as amostras foram pesadas e a higroscopicidade foi expressa em g de umidade por 100 g de sólidos seco (g/100 g).

4.4.5. Análise granulométrica

A análise do tamanho de partícula foi realizada utilizando um analisador de difração de laser (CILAS, modelo 1180). Os pós foram dispersos em álcool isopropílico utilizando ultrassom durante 60 s. A distribuição de tamanho foi quantificada como a percentagem relativa de partículas de tamanho em bandas apresentadas como curvas de distribuição de tamanho.

As análises de tamanho de partícula incluíram a área de superfície específica, o maior tamanho de partícula (D_{90}), o volume médio de partícula (D_{50}), o menor tamanho de partícula (D_{10}) e diâmetro médio de partícula.

4.4.6. Microscopia eletrônica de varredura

Para visualizar as características e as propriedades estruturais das micropartículas de antocianinas e dos materiais de parede foi empregada a técnica da Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) utilizando um microscópio MEV EVO CARL ZEISS. As amostras foram fixadas em *stubs* de 1 cm de diâmetro usando uma fita dupla face de carbono e recobertas com ouro sob vácuo (*sputtering*). As fotomicrografias foram feitas em diferentes magnitudes em função da diferença de tamanho de partículas e para melhor visualização das diferenças e distribuição de tamanhos usando aceleração potencial de 5 kV.

4.4.7. Análise térmica

As propriedades térmicas e termodinâmicas das micropartículas de antocianinas e da mistura física entre o extrato concentrado liofilizado e os materiais de parede foram realizadas através de calorimetria diferencial de varredura (DSC 6000, Perkin Elmer, Estados Unidos) calibrado com índio (In), usando argônio como gás de purga e um suporte vazio como referência. Inicialmente as micropartículas e a mistura física foram pesadas (22 – 26 mg e 34 – 38 mg) em recipientes de alumínio e selados hermeticamente. Posteriormente, todas as amostras foram submetidas a uma faixa de aquecimento de -20 °C a 300 °C com taxa de aquecimento de 10 °C.min⁻¹. Os parâmetros obtidos através dos termogramas foram à

temperatura inicial (T_0 – *onset*), temperatura do pico endotérmico (T_p) e temperatura final (T_f), bem como a entalpia (ΔH).

Além das micropartículas (formulações F1 a F4) também foram avaliados o extrato de antocianinas liofilizado, os materiais de parede puros e a mistura física entre o extrato de antocianinas liofilizado e os materiais de parede. A mistura física entre o extrato de antocianinas liofilizado e os materiais de parede foi realizada na proporção 1:3 (m/m), respectivamente, e homogeneizada utilizando almofariz e pistilo.

4.4.8. Análises quantitativas

4.4.8.1. Determinação do teor de antocianinas monoméricas

Antocianinas monoméricas do extrato concentrado e dos pós foram determinadas utilizando o método de pH diferencial proposto por Lee, Durst, e Wrolstad (2005) que consiste na medida da absorbância das amostras diluídas em tampão de cloreto de potássio 0,0025 M de pH 1,0 e um tampão de pH 4,5 de acetato de sódio 0,4M em 520 e 700 nm, respectivamente. As unidades para a quantificação das antocianinas monoméricas foram mg de cianidina-3-glicosídeo/g de bagaço em base seca.

Inicialmente foi realizada a preparação das amostras em pó para a posterior quantificação. Cerca de 0,25 g de pó foram suspensos em 3 mL de solução de álcool etílico/água (50:50, v/v) e agitados com vórtex (Phoenix Luferco, modelo AP 56, Brasil) por 10 minutos em temperatura ambiente. Em seguida, o sistema foi centrifugado (Cientec, modelo CT 5000R, Brasil) por 20 minutos a 10 °C e 4757 g, o sobrenadante foi coletado em tubo falcon de 15 mL.

4.4.8.2. Determinação do teor de fenólicos totais

A primeira etapa dessa análise consistiu na preparação das amostras em pó conforme a metodologia descrita no item 4.5.8.1 Em seguida, foi feita a quantificação dos compostos fenólicos de acordo com a metodologia de Waterhouse (2002) com modificações. Para avaliação do teor de fenólicos totais nas amostras, 40 μ L de extrato (ou padrão de ácido gálico, no caso da curva de calibração) foram adicionados de 3,2 mL de água destilada e 200 μ L do reagente de Folin-Ciocalteu; a mistura foi levemente agitada e deixada no escuro por 5 min em um tubo Falcon de 15 mL. Após esse período, à solução foi adicionada de 600 μ L de uma solução saturada de carbonato de sódio em temperatura ambiente, agitada em vórtex

(Phoenix Lufarco, modelo AP 56, Brasil) por alguns segundos e deixados no escuro, a temperatura ambiente por 1 h. Por fim, as amostras foram transferidas para cubetas de plástico e foram realizadas as medidas de absorvância utilizando um espectrofotômetro (Shimadzu® Model UV-Vis 1800) e comprimento de onda (λ) igual a 765 nm. Os resultados são apresentados na forma de mg de equivalentes de ácido gálico por 100 g de bagaço ou de micropartículas (mg AGE. g^{-1}) em base seca.

O branco foi preparado da mesma forma que as amostras para evitar a leitura de compostos interferentes, apenas substituindo o extrato por água destilada. O valor obtido para o branco foi subtraído das absorvâncias encontradas para as amostras.

Para quantificação dos compostos fenólicos foi utilizado um padrão externo, preparado separadamente da amostra. A calibração foi realizada através da elaboração de uma curva analítica, obtendo-se o sinal de resposta (absorvância) como função da concentração conhecida do analito. Para elaboração da curva padrão, primeiramente, foi elaborada uma solução padrão de ácido gálico. A solução consiste na diluição de 0,5 g de ácido gálico em 10 mL de álcool etílico PA em um balão volumétrico de 100 mL, no qual o volume é completado com água destilada (concentração final $5 g L^{-1}$). Na obtenção das diferentes diluições da curva de calibração 0,1, 0,4, 0,6, 0,8, 1,0 mL de solução foram diluídos em 100 mL de água destilada, a fim de se obter padrões com as concentrações de 50, 100, 200, 300, 400 e 500 mg L^{-1} , respectivamente. A curva analítica e a equação da reta utilizada para o cálculo encontram-se em anexo (Apêndice B).

4.4.8.3. Determinação da capacidade antioxidante com o radical ABTS^{•+}

Nesta análise foi utilizado o método de Re *et al.* (1999). Primeiramente, o reagente ABTS foi dissolvido em 50 mL água, obtendo-se uma concentração de 7 mM. O cátion ABTS foi produzido reagindo essa solução com persulfato de potássio 140 mM e deixando esse mistura no escuro por 16 h antes do uso. Para o ensaio, a solução contendo o radical ABTS foi diluída em álcool etílico PA até que a absorvância de $0,70 (\pm 0,05)$ a 734 nm fosse atingida. Aliquotas de extrato de 30 μL foram misturadas com 3 mL da solução de ABTS ($A_{734} = 0,70 \pm 0,05$) e a absorvância foi determinada após 6 min a 734 nm. Foi utilizado o Trolox como padrão e os resultados foram expressos em equivalente de Trolox (mM TE.100 g^{-1}) em base seca.

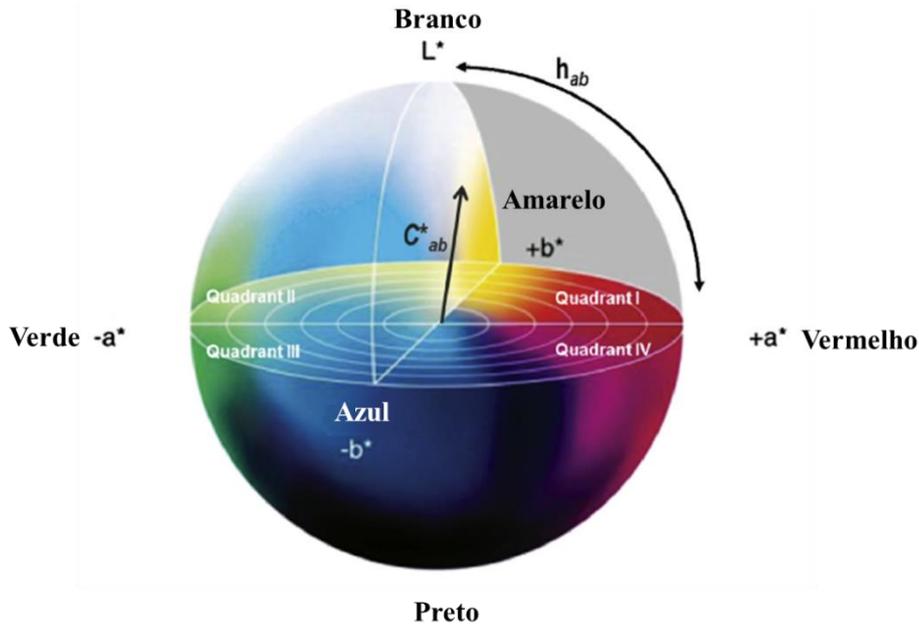
Para elaboração da curva de calibração, primeiramente, foi elaborada uma solução padrão de Trolox 2 mM. A solução consiste na diluição de 25 mg de trolox em 10 mL de etanol PA em balão volumétrico de 50 mL, no qual o volume é completado com o mesmo solvente. Na obtenção das diferentes diluições da curva de calibração 0,5, 2,5, 5, 7,5 e 10 mL de solução foram diluídos em 10 mL de etanol, a fim de se obter padrões com as concentrações de 100, 500, 1000, 1500 e 2000 μM , respectivamente. A curva de calibração e a equação da reta utilizada para o cálculo encontram-se em anexo (Apêndice B).

Inicialmente foi realizada a preparação das amostras em pó para a posterior quantificação. Aproximadamente 0,25g de pó foram suspensos em 2 mL de solução de álcool etílico/água (70:30, v/v) e agitados com vórtex (Phoenix Luferco, modelo AP 56, Brasil) por 10 minutos em temperatura ambiente. Em seguida, o sistema foi centrifugado (Cientec, modelo CT 5000R, Brasil) por 20 minutos a 10°C e 4757 g, o sobrenadante foi coletado em tubo falcon de 15 mL. Todas as análises quantitativas foram realizadas em triplicata.

4.4.9. Análise colorimétrica

A cor dos pós foi medida em espectro-colorímetro Color Quest XE (Hunter Lab, EUA) equipado com iluminante D_{65} e ângulo de observação de 10°, leitura de modo reflectância especular excluída por leitura direta. Os parâmetros colorimétricos L^* , a^* e b^* da escala CIELAB foram determinados segundo a *Commission International de l'Eclairage* (CIE). A Figura 15 representa um sólido de cor no espaço de cor $L^*a^*b^*$ (Sant'Anna *et al.*, 2013). No espaço de cores, o L^* indica a luminosidade, e o a^* e o b^* representam as coordenadas cromáticas. Os valores de L^* variam de 0 (totalmente preta) a 100 (totalmente branca). A coordenada de cromaticidade a^* apresenta coloração verde para valores negativos e coloração vermelha para valores positivos. Em relação à coordenada de cromaticidade b^* para a coloração azul os valores são negativos e para a coloração amarela os valores positivos.

Figura 15. Representação de um sólido de cor no Espaço de Cor $L^*a^*b^*$.



Fonte: Sant'Anna *et al.* (2013)

A partir dos valores a^* e b^* , pode-se calcular a distância da coordenada (a,b) em relação a sua origem $(0,0)$, o que é conhecido por cromaticidade ou chroma (C_{ab}^*) e o ângulo de tonalidade h_{ab} , que é medido em uma escala de 0 a 360°, determinando a localização correta da amostra em questão no espaço de cor (Minolta, 1998). Os valores de C_{ab}^* e h_{ab} foram calculados conforme as equações 1 e 2, respectivamente.

$$C^* = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2} \quad (1)$$

$$h = \text{tg}^{-1}\left(\frac{a^*}{b^*}\right) \quad \text{quando } +a^* \text{ e } +b^* \text{ (I quadrante)} \quad (2)$$

As diferenças de cor foram determinadas pelo parâmetro ΔE^*_{ab} , que foi calculado pela distância Euclidiana entre dois pontos em um espaço tridimensional definidos pelos parâmetros L^* , a^* e b^* . Matematicamente, o parâmetro colorimétrico ΔE^*_{ab} pode ser descrito pela Equação 3:

$$\Delta E^*_{ab} = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad (3)$$

4.5.10. Fotoestabilidade das micropartículas

Os testes de estabilidade frente à presença de luz foram conduzidos conforme Kechinski (2011) com modificações. O material microencapsulado foi armazenado em placa Petri de polietileno transparente e foram expostos a quatro lâmpadas UV de 40 W com intensidade de radiação 0,286 W.m⁻², dispostas paralelamente e suspensas a 42 cm das amostras. O teste de estabilidade se estendeu por um período de 90 dias à temperatura de 25 ± 2 °C. As amostras foram quantificadas nos tempos 0, 5, 9, 15, 30, 45, 60 e 90 dias em relação à quantidade de antocianinas monoméricas, fenólicos totais e atividade antioxidante conforme item 4.4.8.1 e ainda, a cor dos pós foram medidos conforme item 4.4.9 em triplicata.

A modelagem matemática dos perfis de degradação das antocianinas foi realizada utilizando uma reação de primeira ordem, como mostrada na Equação 4 e o tempo de meia vida foi calculado segundo a Equação 5.

$$\ln\left(\frac{C}{C_0}\right) = -k \times t \quad (4)$$

$$t_{1/2} = \frac{\ln(2)}{k} \quad (5)$$

4.5.11. Análise estatística

Todas as análises foram realizadas em triplicata e os resultados avaliados estatisticamente através de uma análise de variância (ANOVA) utilizando o software Statistica 8. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey e os resultados foram expressos como a média ± desvio padrão (DP). Um valor de p<0,05 foi considerado significativo.

Capítulo 5 - Resultados e Discussão

Inicialmente serão apresentados os resultados relacionados à caracterização do extrato de antocianinas concentrado, em seguida serão apresentados os resultados referentes à obtenção e caracterização dos pós de antocianinas liofilizados, e por último serão expostos resultados de fotoestabilidade dos pós durante 90 dias de armazenamento.

5.1. Caracterização do extrato de antocianinas concentrado

As antocianinas foram extraídas do bagaço gerado na produção do suco de jabuticaba utilizando como solvente uma solução aquosa de ácido cítrico 1 % em substituição aos solventes orgânicos etanol e metanol comumente utilizados. O extrato de antocianinas concentrado apresentou uma quantidade de compostos fenólicos totais de $12.860 \pm 1,5 \text{ mg AGE} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ (b.s), antocianinas monoméricas de $510 \pm 0,09 \text{ mg de cianidina-3-glicosideo} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ (b.s) e uma atividade antioxidante utilizando o método de captura dos radicais ABTS de $39.590 \pm 1,25 \mu\text{M TE} \cdot \text{g}^{-1}$ (b.s). Gurak *et al.* (2014), analisando o bagaço de jabuticaba obtido na produção do suco encontraram valores de $4339 \text{ mg AGE} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ b.s para a quantificação de fenólicos totais (teor 2,5 vezes superior quando comparado com a quantidade de fenólicos presente no fruto inteiro – $1.692 \text{ mg AGE} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ b.s) e valores de $392 \text{ mg de cianidina-3-glicosideo} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ b.s para antocianinas monoméricas. No trabalho de Silva *et al.* (2010) valores obtidos para os teores de teores de fenólicos totais, antocianinas monoméricas e atividade antioxidante foram: $636,23 \pm 0,48 \text{ mg AGE} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$, $48,06 \pm 5,76 \text{ mg de cianidina-3-glicosideo} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ e $723,84 \pm 37,00 \mu\text{M TE} \cdot \text{g}^{-1}$ de casca de jabuticaba expressos em base seca.

5.2. Caracterização dos pós de antocianinas liofilizados

5.2.1. Determinação do conteúdo de umidade

O conteúdo de umidade, em base seca dos pós liofilizados está apresentada na Tabela 8. Os pós obtidos de todas as formulações apresentaram baixos teores de umidade com valores entre $2,09 \pm 0,10$ a $4,15 \pm 0,32$ % e não foi observado a formação de aglomerados. O conteúdo dos pós obtidos está abaixo do limite estabelecido pela legislação referente a frutas liofilizadas, que é de 5 % (Brasil, 2005).

Tabela 8. Umidade dos pós de antocianinas liofilizados (b.s.).

Amostras	Umidade (g/100 g) *
F1A	$3,82 \pm 0,15^a$
F2A	$2,66 \pm 0,40^b$
F3A	$2,09 \pm 0,10^b$
F4A	$2,21 \pm 0,14^b$
F1B	$2,70 \pm 0,03^b$
F2B	$3,53 \pm 0,32^a$
F3B	$2,56 \pm 0,19^b$
F4B	$4,15 \pm 0,32^a$

Amostras preparadas com maltodextrina (F1A e F1B), pectina e maltodextrina (F2A e F2B), proteína isolada de soja e maltodextrina (F3A e F3B) e pectina, proteína isolada de soja e maltodextrina (F4A e F4B). *Média de três repetições \pm desvio padrão. ^{a,b} Letras iguais na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

A análise estatística dos resultados de umidade apresentados na Tabela 8 mostra que, para o primeiro lote da liofilização, as formulações F2A, F3A e F4A não apresentaram diferença significativa estatisticamente. . No entanto, para os pós do segundo lote, é possível observar que as formulações F1B e F3B não apresentaram diferença significativa estatisticamente assim como as formulações F2B e F4B. Esse comportamento diferenciado entre os dois lotes de pós está associado ao processo de liofilização executado no decorrer dos experimentos. No primeiro lote, a liofilização das formulações não foi contínua devido à frequente queda de energia durante o período noturno. Diante disso, o equipamento foi desligado durante esse período e as amostras foram armazenadas novamente no ultrafreezer (-40 °C) até o dia seguinte onde o processo era então reiniciado. No segundo lote, o processo de secagem foi contínuo, uma vez que não ocorreram problemas com a rede elétrica.

Horszwald, Julien e Andlaue (2013) estudando processos de secagem (atomização, liofilização e secagem a vácuo em 40 °C, 60 °C e 80 °C) para o suco de Aronia, observaram que diferentes técnicas de secagem resultaram em pós com diferentes teores de umidade, assim como em outros parâmetros, entre eles na quantidade de compostos bioativos. Os valores de umidade obtidos para a atomização, liofilização e secagem a vácuo em 40 °C, 60 °C e 80 °C foram 2,97 %, 4,05 %, 2,54 %, 1,91 % e 1,13 %, respectivamente. Portanto, os parâmetros de secagem utilizados devem ser cuidadosamente considerados.

Mahdavee Khazaei *et al.* (2014), ao caracterizar microcápsulas de antocianinas obtidas por liofilização utilizando a maltodextrina e goma arábica como material de parede, encontraram teores de umidade de $1,66 \pm 0,02$ a $4,38 \pm 0,04$ %. Esses pesquisadores relataram que as formulações contendo menores quantidades de maltodextrina apresentaram os menores teores de umidade devido a sua alta solubilidade em água e, portanto, maior higroscopicidade. A influência do tipo de material de parede sobre o teor de umidade foi avaliado também por Sahin-Nadeem *et al.* (2013) ao microencapsular o extrato aquoso de chá com β -ciclodextrina, goma arábica e maltodextrina (12 e 20 DE) por atomização. Os pesquisadores concluíram que as variações no teor de umidade das amostras dependem da natureza e da concentração do material de parede utilizado.

Vale salientar que o comportamento observado por Khazaei *et al.* (2014) em relação à maltodextrina e o teor de umidade foi observado apenas para os pós do primeiro lote, de modo que os pós contendo apenas 20 % de maltodextrina (controle) como material de parede (F1A) apresentaram maior teor de umidade (3,82 %). Nas formulações (F2A e F3A), a quantidade de maltodextrina é de 15 % enquanto para a formulação F4A o valor é de 10 %, todavia, a diferença de 5 % não influenciou no teor de umidade e conseqüentemente as três formulações não apresentaram diferença estatisticamente.

Fang e Bhandari (2012) microencapsularam o suco de *bayberry* por atomização empregando como materiais de parede a proteína isolada do soro do leite e a maltodextrina em diferentes proporções. A proporção de suco e de proteína isolada do soro do leite analisada foi de 99,5 – 90,0: 0,5 – 10,0 enquanto que, para a maltodextrina, a proporção foi de 90,0 – 50,0: 10,0 – 50,0. Em todas as formulações a quantidade de sólidos totais foi mantida igual a 11 g/100 g de solução. Os resultados mostraram que o teor de umidade ficou na faixa de 2,79 – 5,07 %, sendo que os valores mais baixos foram obtidos para as proporções de suco

e maltodextrina iguais a 90:10 e 80:20 e para as proporções de suco e proteína isolada do soro do leite iguais a 95:5 e 90:10.

Resultados semelhantes foram relatados por Saikia *et al.* (2015) ao microencapsular os polifenóis extraídos do bagaço de carambola com maltodextrina 10 DE em diferentes concentrações (10, 15 e 25 %) por atomização e liofilização. Os valores do teor de umidade apresentados pelos pós atomizados e liofilizados foram de 2,85 a 4,98 % e 2,79 a 3,67 %, respectivamente, sendo os menores valores correspondentes aos pós atomizados com 15 % de maltodextrina e os pós liofilizados com 10 % de maltodextrina.

5.2.2. Determinação da atividade de água

O grau de disponibilidade de água de um alimento pode ser expresso como atividade de água sendo um dos fatores mais importantes para a indústria de alimentos, pois quantifica a água disponível para o crescimento de microorganismos e de reações químicas que podem alterar as propriedades sensoriais dos produtos, possibilitando, assim, a previsão da estabilidade durante o processamento e o armazenamento (Cardello e Celestino, 1996; Gurak *et al.*, 2014). A atividade de água dos pós obtidos apresentaram valores entre $0,053 \pm 0,003$ a $0,162 \pm 0,002$ (Tabela 9). Conforme pode ser observado, os valores obtidos foram bem inferiores ao valor limite (0,600) para a deterioração microbiana (Herrera *et al.*, 2003).

Tabela 9. Atividade de água dos pós.

Amostras	Atividade de água (a_w)*
F1A	$0,120 \pm 0,001^b$
F2A	$0,090 \pm 0,005^d$
F3A	$0,091 \pm 0,001^d$
F4A	$0,053 \pm 0,003^c$
F1B	$0,096 \pm 0,001^d$
F2B	$0,101 \pm 0,003^d$
F3B	$0,094 \pm 0,006^d$
F4B	$0,162 \pm 0,002^a$

Amostras preparadas com maltodextrina (F1A e F1B), pectina e maltodextrina (F2A e F2B), proteína isolada de soja e maltodextrina (F3A e F3B) e pectina, proteína isolada de soja e maltodextrina (F4A e F4B). *Média de três repetições \pm desvio padrão. ^{a,b,c,d} Letras iguais na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

Observa-se na Tabela 9 que os pós preparados com pectina e maltodextrina (F2A e F2B), assim como com proteína isolada de soja e maltodextrina (F3A e F3B), não apresentaram diferença estatisticamente. O mesmo comportamento não foi observado para as demais formulações, o que pode estar relacionado com os diferentes modos de liofilização descrito no item 5.2.1.

Pós de antocianinas atomizados obtidos a partir do bagaço de uva vermelha com maltodextrina e carboximetilcelulose como materiais de parede apresentaram uma atividade de água que variou de 0,150 a 0,300 (Boonchu e Utama-Ang, 2013). Resultados semelhantes foram relatados por Villacrez *et al.* (2014) ao caracterizar os pós de antocianinas de atomizados com a maltodextrina e o amido modificado Hi-Cap TM100 como materiais de revestimento.

5.2.3. Determinação da solubilidade

A solubilidade dos pós em água a 25 °C está apresentada na Tabela 10. Os valores permaneceram na faixa de $15,86 \pm 0,71$ – $21,28 \pm 0,2$ %. A análise estatística constatou que as formulações do lote A e B contendo pectina e maltodextrina (F2A e F2B), as formulações preparadas com proteína isolada de soja e maltodextrina (F3A e F3B), assim como as formulações contendo a mistura dos três materiais de parede (F4A e F4B), não apresentam diferença significativa entre si para um nível de confiança de 95 %. Todavia, a formulação contendo apenas maltodextrina como material de revestimento (F1A e F1B) apresentou diferença significativa em relação às formulações F2, F3 e F4 em ambos os lotes.

Tabela 10. Solubilidade em água (25 °C) dos pós de antocianinas.

Amostras	Solubilidade em água (%)*
F1A	$20,64 \pm 0,10^a$
F2A	$16,65 \pm 1,62^b$
F3A	$16,05 \pm 0,15^b$
F4A	$15,86 \pm 0,71^b$
F1B	$21,28 \pm 0,21^a$
F2B	$16,1 \pm 2,2^b$
F3B	$16,1 \pm 0,7^b$
F4B	$15,1 \pm 1,3^b$

Amostras preparadas com maltodextrina (F1A e F1B), pectina e maltodextrina (F2A e F2B), proteína isolada de soja e maltodextrina (F3A e F3B) e pectina, proteína isolada de soja e maltodextrina (F4A e F4B). * Média de três repetições \pm desvio padrão. ^{a,b,c} Letras iguais na

coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey ($p > 0,05$).

Esse comportamento está associado à interação das antocianinas com os diferentes materiais de parede no processo de microencapsulação. Os pós contendo apenas 20 % maltodextrina apresentaram uma solubilidade maior devido à alta polaridade desse polissacarídeo (Zhang *et al.*, 2014). Os pós preparados com 5 % de proteína isolada de soja e 15 % de maltodextrina apresentaram uma redução da solubilidade devido à interação hidrofílica e hidrofóbica das antocianinas com a proteína. A região hidrofílica da molécula de antocianinas é caracterizada pelos grupos hidroxila os quais formam ligações de hidrogênio com os grupos carbonila e amina da proteína. Por outro lado, na região hidrofóbica da molécula de antocianina constituída pelo anel benzênico, interage com as zonas apolares das proteínas como as cadeias laterais de aminoácidos. Na presença de água, as regiões apolares das proteínas e das antocianinas tendem a associar-se através de ligações van der Waals, diminuindo, assim, a superfície de zonas apolares expostas à água. As moléculas de água que estavam associadas às regiões apolares de uma forma ordenada ficam livres para se juntarem ao solvente, diminuindo a solubilidade do sistema (Zhang *et al.*, 2014).

O efeito hidrofóbico sobre a solubilidade dos pós preparados com 5 % de pectina e 15 % de maltodextrina também foi observado. Isto pode ser atribuído às interações eletrostáticas entre os grupos carboxílicos livres da pectina com o cátion flavílio das antocianinas (Buchweitz *et al.*, 2013; Holzwarth *et al.*, 2013).

5.2.4. Determinação da higroscopicidade

A higroscopicidade é um parâmetro fundamental de qualidade de produtos alimentícios desidratados, uma vez que mostra a tendência do produto em adsorver a umidade do ambiente no qual se encontra (Tonon *et al.*, 2009). A migração da umidade do ambiente para o pó pode representar alguns inconvenientes como a formação de agregados de alta consistência ou *caking*, a solubilização dos pós e o conseqüente contato das antocianinas com o ar atmosférico corroborando para a sua degradação e a perda da capacidade antioxidante (Silva *et al.*, 2013). Portanto, a obtenção de pós com baixos valores de higroscopicidade são sempre desejáveis.

A Tabela 11 apresenta a higroscopicidade dos pós elaborados. Os valores ficaram na faixa de $10,8 \pm 0,1 - 14,2 \pm 0,3$ g/100 g. De acordo com a classificação estabelecida por GEA

Niro Research Laboratory (2005), os pós obtidos são classificados como ligeiramente higroscópicos (10,1 -15 g/100g).

Tabela 11. Higroscopicidade dos pós de antocianinas.

Amostras	Higroscopicidade (g/100 g)*
F1A	13,1 ± 0,1 ^c
F2A	14,2 ± 0,3 ^a
F3A	12,7 ± 0,4 ^c
F4A	13,2 ± 0,5 ^a
F1B	12,6 ± 0,2 ^c
F2B	12,7 ± 0,1 ^c
F3B	11,3 ± 0,1 ^b
F4B	10,8 ± 0,1 ^b

Amostras preparadas com maltodextrina (F1A e F1B), pectina e maltodextrina (F2A e F2B), proteína isolada de soja e maltodextrina (F3A e F3B) e pectina, proteína isolada de soja e maltodextrina (F4A e F4B). * Média de três repetições ± desvio padrão. ^{a,b,c} Letras iguais na coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey ($p > 0,05$).

A análise estatística dos valores de higroscopicidade mostra que, para os pós das formulações F1 e F3 do lote A, não apresentaram diferença estatística assim como as formulações F2 e F4. Os pós obtidos a partir das formulações F1 (20 % de maltodextrina) e F3 (15% de maltodextrina e 5% de proteína isolada de soja) apresentaram menor higroscopicidade em decorrência da estrutura molecular da maltodextrina e da proteína isolada de soja. A maltodextrina 10 DE apresenta alta massa molecular e um número reduzido de grupos hidrofílicos em sua estrutura, e ainda a proteína isolada de soja apresenta grupos hidrofóbicos na molécula contribuindo desta forma para a menor higroscopicidade do produto formado (Fennema, Damoradan e Kirk, 2010). Por outro lado, os pós preparados a partir das formulações F2 (15 % de maltodextrina e 5 % de pectina) e F4 (10 % de maltodextrina, 5 % de pectina e 5 % de proteína isolada de soja) apresentaram maior higroscopicidade em virtude da presença da pectina em sua composição. A característica hidrofílica da pectina está associada aos grupos polares presentes em sua estrutura sendo, portanto, responsável por envolver mais facilmente a umidade presente no ambiente (Bowers, 1992).

Entretanto, para os pós do lote B, observa-se que as formulações F1 e F2 não apresentaram diferença estatística assim como as formulações F3 e F4. Observa-se que o comportamento da higroscopicidade foi semelhante ao apresentado pelo teor de umidade (item 5.2.1) e, portanto, pode está relacionado com os diferentes modos de execução dos

experimentos. Além disso, cabe salientar que quanto menor for o teor de umidade dos pós de antocianinas maior será a sua higroscopicidade, ou seja, maior será o gradiente de concentração de água entre o produto e o ambiente.

Nos estudos de Silva *et al.* (2013), o extrato de antocianinas da casca de jabuticaba foi atomizado com os seguintes materiais de revestimento: i) 30% de maltodextrina (controle), ii) 25% de goma arábica + 5% de maltodextrina e iii) 25% amido modificado Capsul™ + 5% de maltodextrina. Os pós apresentaram valores de higroscopicidade na faixa de 12,75 - 17,75 g/100g, sendo que os pós preparados com a formulação iii) foram menos higroscópicos devido à presença do grupo lipofílico octenilsuccinato no amido modificado Capsul™. Tonon *et al.* (2008), ao estudar o suco de açaí microencapsulado com maltodextrina 10 DE (10 – 30 %) através da técnica de atomização, observaram que a variação da concentração do material de parede afetou significativamente ($p < 0,05$) a higroscopicidade dos pós com valores entre 12,48 – 15,79 g/100g. Além disso, os pós preparados com maiores concentrações de maltodextrina foram menos higroscópicos.

5.2.5. Análise granulométrica

A análise da distribuição do tamanho de partícula dos pós de antocianinas liofilizados está apresentada na Tabela 12. O diâmetro médio volumétrico ($D_{4,3}$) para todas as formulações ficou na faixa de 311,66 – 419,74 μm e esses valores corroboram com os resultados encontrados na microscopia eletrônica de varredura, que será apresentada mais adiante. Além disso, os pós apresentaram tamanhos dentro da faixa de 0,2 – 5000 μm ; portanto, podem ser classificadas de micropartículas (Azeredo, 2005; Júnior, 2005).

Tabela 12. Resultado da análise granulométrica dos pós de antocianinas liofilizados.

Amostras	D [4,3] (μm)	d _{0,1} (μm)	d _{0,5} (μm)	d _{0,9} (μm)
F1A	381,39	44,28	289,32	867,53
F2A	419,74	71,48	386,97	828,45
F3A	361,63	34,74	206,86	847,53
F4A	364,35	43,62	289,71	804,88
F1B	370,89	41,22	280,65	837,74
F2B	341,60	46,41	305,27	708,48
F3B	311,66	38,10	177,74	727,78
F4B	319,77	38,36	215,08	718,97

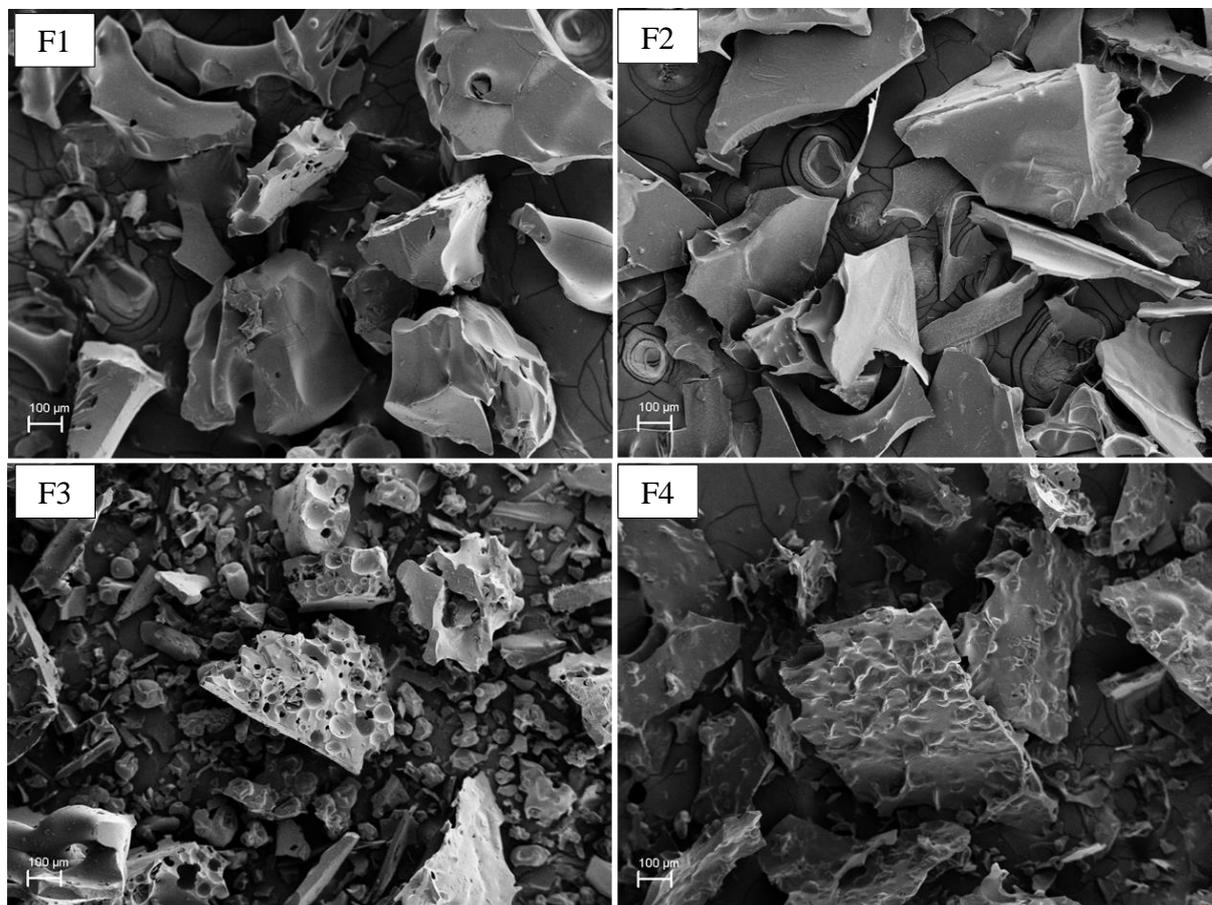
Amostras preparadas com maltodextrina (F1A e F1B), pectina e maltodextrina (F2A e F2B), proteína isolada de soja e maltodextrina (F3A e F3B) e pectina, proteína isolada de soja e maltodextrina (F4A e F4B).

Os histogramas, expostos no apêndice A, mostraram que todos os pós apresentaram uma distribuição bimodal com uma ampla faixa de tamanho de partícula, entre 0,5 a 1600 μm , sendo que esta característica pode ser atribuída à trituração das amostras após a liofilização. O tamanho da partícula, a morfologia, o teor de umidade e a natureza higroscópica do pó apresentam uma grande influência sobre as propriedades dos pós; pequenas faixas de tamanhos de partículas são mais propensas à aglomeração e se unem mais fortemente do que partículas grandes e essa característica pode ser desejável ou indesejável, dependendo da aplicação do produto na indústria de alimentos (Gurak *et al.*, 2014).

5.2.6. Microscopia eletrônica de varredura

A morfologia dos pós de antocianinas microencapsuladas com diferentes materiais de parede via processo de liofilização foi analisada através da microscopia eletrônica de varredura. A Figura 16 apresenta as fotomicrografias dos pós obtidos no primeiro lote com um aumento de 150 vezes (150x).

Figura 16. Fotomicrografias obtidas por MEV (x150) dos pós de antocianinas microencapsuladas com maltodextrina (F1), maltodextrina e pectina (F2), maltodextrina e proteína isolada de soja (F3) e mistura de maltodextrina, pectina e proteína isolada de soja (F4).



Conforme pode ser observado, os pós apresentaram estruturas irregulares amorfas com tamanhos variados independentemente do tipo de material de parede utilizado nas formulações. Apesar da ausência da estrutura cristalina, foi possível visualizar que a estrutura amorfa dos materiais de parede protegeram as antocianinas, pois não foram detectadas alterações físicas que possibilitassem a aceleração da degradação desses pigmentos.

O mesmo comportamento morfológico foi observado nos pós obtidos no segundo lote da liofilização. Resultados semelhantes foram relatados por Khazaei *et al.* (2014) ao microencapsular o extrato de antocianinas das pétalas da flor do açafraão com maltodextrina e goma arábica por liofilização em diferentes proporções. Os pós não apresentaram estrutura geométrica definida e os tamanhos das partículas são variados; no entanto, os pesquisadores salientam que os pós obtidos com 100 % de goma arábica como material de revestimento apresentaram tamanhos menores quando comparados com os pós obtidos com 100 % de maltodextrina. Esse comportamento foi verificado também pela maior densidade apresentada pelos pós preparados com goma arábica, logo menor volume espacial.

Rutz *et al.* (2013) microencapsularam o extrato fenólico de amoras pretas por liofilização e avaliaram a influência do tipo de material de parede (β -ciclodextrina, quitosana, goma xantana e hidrogel - mistura de goma xantana e quitosana) sobre a morfologia dos pós obtidos. As fotomicrografias mostraram que os pós obtidos com quitosana e goma xantana apresentaram estrutura regular com tamanhos uniformes enquanto que os pós obtidos com β -ciclodextrina e hidrogel formaram aglomerados de partículas com tamanhos variados e estruturas irregulares.

A forma vítrea amorfa é característica da técnica de secagem por liofilização e está relacionada com as condições de operação do processo, visto que o mesmo utiliza alto vácuo e baixas temperaturas, pressionando as partículas dos produtos e produzindo pós com menor teor de umidade e maior tamanho (Man, Irwandi e Abdullah, 1999; Fang e Bhandari, 2010).

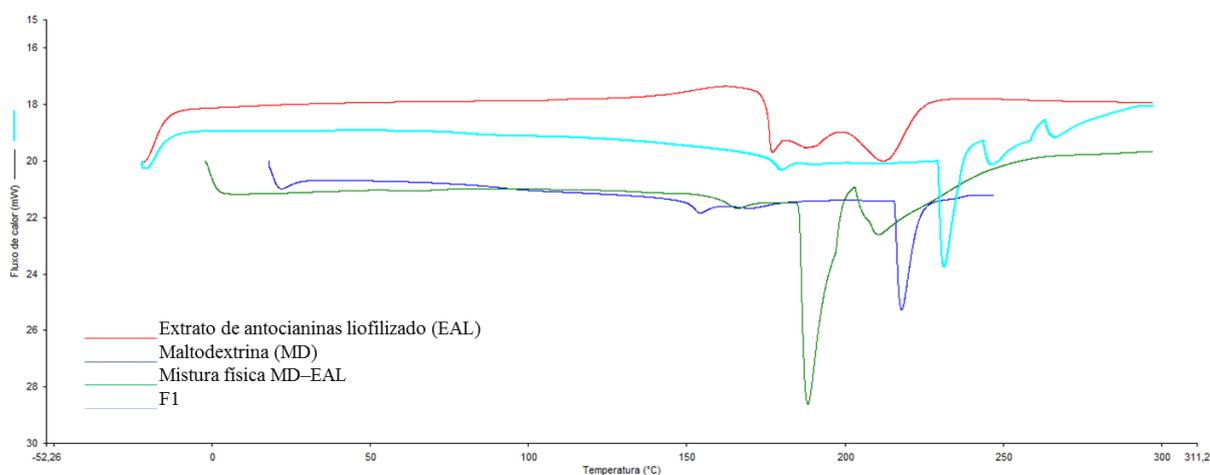
5.2.7. Análise térmica

Com a finalidade de avaliar possíveis interações entre os diferentes materiais de parede testados e as antocianinas, foram realizadas análises de calorimetria diferencial de varredura (DSC) para as micropartículas e para a mistura física entre os materiais de parede e o extrato de antocianinas liofilizado. Para efeito de comparação, foram avaliados os

comportamentos térmicos da maltodextrina (MD), da pectina (PC) e da proteína isolada de soja (PIS), assim como do extrato de antocianinas liofilizado (EAL). No Apêndice C são apresentados o valor da temperatura inicial ($T_0 - onset$), a temperatura do pico endotérmico (T_p), a temperatura final (T_f) e a entalpia (ΔH) do EAL, da MD, da PC, PIS assim como da mistura física entre os materiais de parede e o extrato e dos pós.

A Figura 17 apresenta os termogramas das micropartículas preparadas com maltodextrina como material de parede (F1), do extrato de antocianinas liofilizado, da maltodextrina e da mistura física entre a maltodextrina e o extrato de antocianina liofilizado.

Figura 17. Termogramas obtidos por calorimetria diferencial de varredura: extrato de antocianina liofilizado (EAL); maltodextrina (MD); mistura física da maltodextrina com o extrato de antocianina liofilizado (MD-EAL) e micropartículas preparadas com maltodextrina (F1).



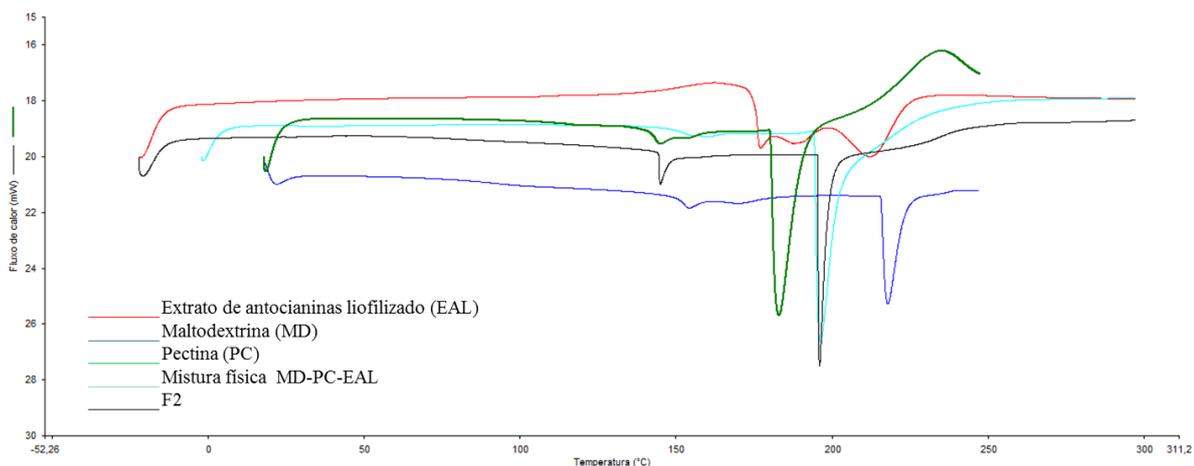
O termograma da maltodextrina apresentou um pico endotérmico na temperatura de 153 °C indicando provavelmente a perda de água interna da amostra e a evaporação dos compostos voláteis, e um pico mais pronunciado a 211 °C relacionado ao ponto de fusão desse polissacarídeo (Osório *et al.*, 2010). Para o extrato de antocianinas liofilizado observa-se a presença de três transições endotérmicas nas seguintes temperaturas: 176 °C, 193 °C e 212 °C. Horst (2009) obteve apenas um pico endotérmico da antocianina (padrão AC-12r-WSP) na temperatura de 187 °C. Essa diferença pode estar relacionada com a fonte botânica do pigmento bem como na presença de diversos açúcares e outros compostos ligados em sua

estrutura (Kong *et al.*, 2003; Rein, 2005; O.M. e M, 2006; Castañeda-Ovando *et al.*, 2009; Cavalcanti, Santos e Meireles, 2011).

O termograma da mistura física MD-EAL apresentou dois picos endotérmicos nas temperaturas de 192 °C e 214 °C. Comparando com os valores obtidos para os compostos separados, foi possível observar que houve uma interação física entre eles, visto que ocorreu o desaparecimento dos picos localizados nas temperaturas de 153 °C (MD) e 176 °C (EAL). Além disso, o termograma da amostra microencapsulada (F1) apresentou três transições endotérmicas sendo o primeiro pico na temperatura de 170 °C, o segundo em 223 °C e o terceiro em 249 °C. O comportamento desses picos, em comparação com a mistura física MD-EAL, mostra que houve interação entre essas duas substâncias e a formação de um complexo com valores de entalpia de fusão e entalpia de decomposição térmica iguais a $52,78 \pm 8,53 \text{ J.g}^{-1}$ e $11,18 \pm 0,56 \text{ J.g}^{-1}$, respectivamente.

A Figura 18 apresenta os termogramas das micropartículas preparadas com pectina e maltodextrina (F2), do extrato de antocianina liofilizado, da maltodextrina, da pectina e da mistura física composta do extrato de antocianina liofilizado com a maltodextrina e a pectina.

Figura 18. Termogramas obtidos por calorimetria diferencial de varredura: extrato de antocianina liofilizado (EAL); maltodextrina (MD); pectina (PC); mistura física do extrato de antocianina liofilizado com a maltodextrina e a pectina (MD-PC-EAL) e micropartículas preparadas com pectina e maltodextrina (F2).

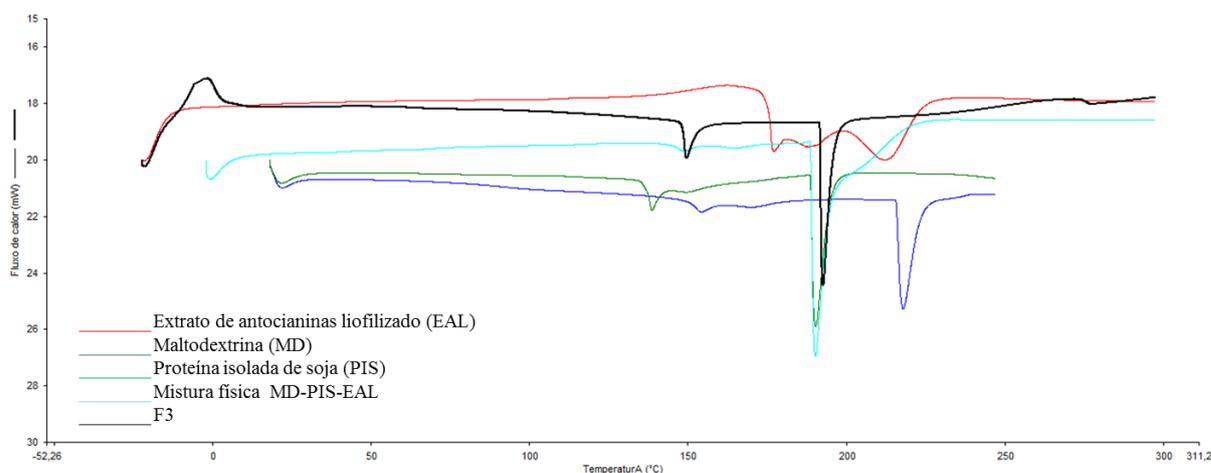


O termograma da pectina apresentou um pico endotérmico na temperatura de 142 °C referente ao ponto de fusão e um pico em 186 °C correspondente à decomposição térmica do polímero Iijima *et al.* (2001). Para a mistura física MD-PC-EAL foi observado apenas um

pico endotérmico em 197 °C; a partir da comparação com os valores obtidos para o EAL, MD e PC, assim é possível concluir que houve uma interação física entre essas substâncias, apresentando uma entalpia de fusão igual a $100,05 \pm 14,39 \text{ J.g}^{-1}$. Analisando o termograma obtido para as micropartículas (F2), observa-se que ocorreu uma interação química entre o EAL e os materiais de parede visto que o primeiro pico obtido em 136 °C está localizado entre as temperaturas de fusão da MD (153 °C) e da PC (142 °C) e do primeiro pico do EAL (176 °C). A segunda transição endotérmica ocorreu em 200 °C e pode ser entendida como uma possível degradação ou decomposição térmica de um ou mais componentes e sua subsequente volatilização (Osorio *et al.*, 2010).

Os termogramas das micropartículas preparadas com proteína isolada de soja e maltodextrina (F3), do extrato de antocianina liofilizado, da proteína isolada de soja, da maltodextrina e da mistura física do extrato liofilizado com a maltodextrina e a proteína isolada de soja estão apresentados na Figura 19.

Figura 19. Termogramas obtidos por calorimetria diferencial de varredura: extrato de antocianina liofilizado (EAL); maltodextrina (MD); proteína isolada de soja (PIS); mistura física do extrato de antocianina liofilizado com a maltodextrina e proteína isolada de soja (MD-PIS-EAL) e micropartículas preparadas com proteína isolada de soja e maltodextrina (F3).

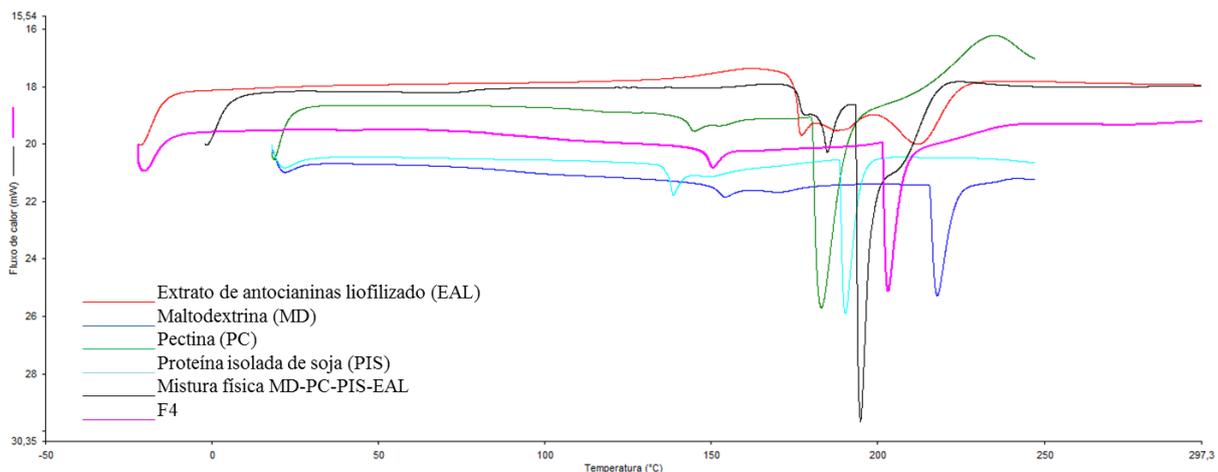


O comportamento térmico da proteína isolada de soja mostrou duas transições endotérmicas nos quais foram atribuídas ao fenômeno de desnaturação proteica, constituído de alterações que ocorrem nas estruturas secundária, terciária e quaternária da proteína sem o rompimento das cadeias de ligações peptídicas (Fennema, Damoradan e Kirk, 2010). Esse processo irreversível produziu picos em 141°C e 193°C referentes aos processos de fusão e decomposição, respectivamente. O termograma da mistura física MD-PIS-EAL apresentou um único pico na temperatura de 186 °C mostrando que houve uma interação física entre o

EAL e os materiais de revestimento. Além disso, pode-se observar pelo termograma das micropartículas (F3) que ocorreu o desaparecimento dos eventos endotérmicos referentes ao EAL, o que sugere a proteção e interação do material de parede com o pigmento.

Os termogramas das micropartículas preparadas com maltodextrina, pectina e proteína isolada de soja (F4), do EAL, da PIS, da MD, da PC e da mistura física MD-PC-PIS-EAL estão apresentados na Figura 20.

Figura 20. Termogramas obtidos por calorimetria diferencial de varredura: extrato de antocianina liofilizado (EAL); maltodextrina (MD); pectina (PC); proteína isolada de soja (PIS); mistura física do extrato de antocianina liofilizado com a maltodextrina, pectina e proteína isolada de soja (MD-PC-PIS-EAL) e micropartículas preparadas maltodextrina, pectina e proteína isolada de soja (F4).



Analisando o termograma da mistura física MD-PC-PIS-EAL pode-se visualizar a presença de dois eventos endotérmicos nas temperaturas de 170 °C e 182 °C. Comparando os valores de temperatura obtidos para os três materiais de parede e para o EAL, é possível observar que houve uma interação física entre os quatro compostos em virtude do deslocamento dos picos característico da formação de um novo sistema. Foi possível visualizar o mesmo comportamento no termograma das micropartículas, porém com picos endotérmicos nas temperaturas de 147 °C e 202 °C mostrando que houve o microencapsulamento das antocianinas pela mistura desses materiais de parede.

Cabe ressaltar que a curva característica de uma mistura física, geralmente, é composta por picos referentes ao material de parede e ao composto microencapsulado, porém estes eventos não foram detectados nos termogramas referentes às quatro misturas físicas analisadas. De acordo com Wu *et al* (2008), este comportamento é decorrente da interação dos compostos durante o aquecimento corroborando para o processo de amorfização dos materiais sugerindo a formação de complexos de inclusão.

Em relação aos pós preparados com os diferentes materiais de parede, os termogramas mostraram que houve a microencapsulação das antocianinas do bagaço de jabuticaba pois foram detectados novos picos de transição endotérmicos. Esta mudança e a consequente formação do complexo são observadas pela redução da intensidade e/ou a expansão do pico em temperaturas mais altas quando comparados com as temperaturas dos materiais de parede e do pigmento (Naidu *et al.*, 2004).

No estudo de Osório *et al.* (2010) foi analisado o comportamento térmico dos pós de antocianina do fruto de corozo (*Bactris guineenses*) microencapsulados com maltodextrina 20 DE por atomização através da calorimetria de varredura diferencial (DSC). A partir dos termogramas, foi visualizado um pico endotérmico na faixa de temperatura de 30 a 100 °C referente à dessorção dos compostos voláteis e da evaporação da água adsorvida na superfície dos pós. Um segundo pico mais pronunciado foi observado na faixa de temperatura de 100 a 170 °C que pode está relacionado com a energia necessária para a evaporação da água interna presentes nas amostras. Diante disso, os pesquisadores concluíram que os pós são bastante estáveis até a temperatura de 100 °C.

5.3 Fotoestabilidade das micropartículas de antocianinas liofilizados

Nesta seção serão expostos e discutidos os resultados relativos à estabilidade do extrato de antocianina liofilizado e das micropartículas obtidas com os diferentes materiais de parede testados durante a estocagem na presença de luz UV por um período de 90 dias.

5.3.1 Teores de fenólicos totais, antocianinas monoméricas e atividade antioxidante

Na tabela 13 são apresentados os teores de fenólicos totais, antocianinas monoméricas e atividade antioxidante dos pós submetidos à exposição da luz UV no tempo inicial e no tempo de 90 dias. Os resultados mostraram que a exposição do extrato liofilizado (EL) à luz ocasionou uma degradação de 56 % de fenólicos totais e 77 % de antocianinas monoméricas assim como uma redução de 43 % da capacidade antioxidante. Por outro lado, os materiais de

parede protegeram os compostos fitoquímicos do efeito deletério da luz em mais de 90 % em relação ao teor de fenólicos totais e em 80% para a quantidade de antocianinas monoméricas, de modo que a atividade antioxidante foi mantida em 70 % durante 90 dias em presença de luz.

Tabela 13. Teores de fenólicos totais, antocianinas monoméricas e atividade antioxidante dos pós de antocianinas expostas à luz UV no tempo inicial e no tempo de 90 dias.

Amostra	Fenólicos totais (mg AGE.100 g ⁻¹) b.s		Antocianinas Monoméricas (mg.100 g ⁻¹) b.s		ABTS ⁺ (mM TE.100 g ⁻¹) b.s	
	0 dia	90 dias	0 dia	90 dias	0 dia	90 dias
F1A	128,33 ± 3,63 ^b	123,8 ± 5,53 ^a	7,04 ± 0,05 ^{a,b}	6,97 ± 0,69 ^b	309,49 ± 41,50 ^b	173,16 ± 7,54 ^b
F2A	134,27 ± 5,94 ^b	123,8 ± 5,54 ^{a,b}	6,08 ± 0,05 ^b	5,10 ± 0,57 ^a	273,99 ± 28,85 ^a	207,40 ± 20,48 ^{b,c}
F3A	182,12 ± 2,49 ^a	166,48 ± 1,35 ^b	-	-	298,15 ± 38,73 ^{a,b}	198,95 ± 15,19 ^{b,c}
F4A	169,73 ± 7,43 ^a	167,78 ± 9,17 ^b	8,01 ± 0,40 ^{a,b}	5,87 ± 0,33 ^b	225,26 ± 26,79 ^{a,b}	187,81 ± 5,64 ^{b,c}
F1B	131,17 ± 1,49 ^b	118,50 ± 0,44 ^a	6,93 ± 0,35 ^b	6,33 ± 0,13 ^{a,b}	253,15 ± 11,59 ^a	186,41 ± 4,56 ^a
F2B	140,13 ± 4,52 ^b	127,12 ± 4,04 ^{a,b}	6,18 ± 0,25 ^b	4,67 ± 0,15 ^a	236,43 ± 9,70 ^{a,b}	222,62 ± 6,85 ^{a,c}
F3B	177,92 ± 6,66 ^a	165,48 ± 3,22 ^b	-	-	310,76 ± 17,39 ^b	225,76 ± 11,19 ^{a,c}
F4B	168,17 ± 5,73 ^a	167,38 ± 6,27 ^b	7,43 ± 0,15 ^a	7,04 ± 0,86 ^b	226,67 ± 41,20 ^{a,b}	221,21 ± 11,18 ^a
EL	4253,84 ± 51,20 [*]	2721,94 ± 72,02 [*]	591,14 ± 51,20 [*]	135,62 ± 13,84 [*]	15790 ± 2051 [*]	8977,20 ± 134,34 [*]

Amostras preparadas com maltodextrina (F1A e F1B), pectina e maltodextrina (F2A e F2B), proteína isolada de soja e maltodextrina (F3A e F3B) e pectina, proteína isolada de soja e maltodextrina (F4A e F4B); extrato de antocianinas liofilizado (EL). *Média de três repetições ± desvio padrão. ^{a,b,c,d} Letras iguais na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

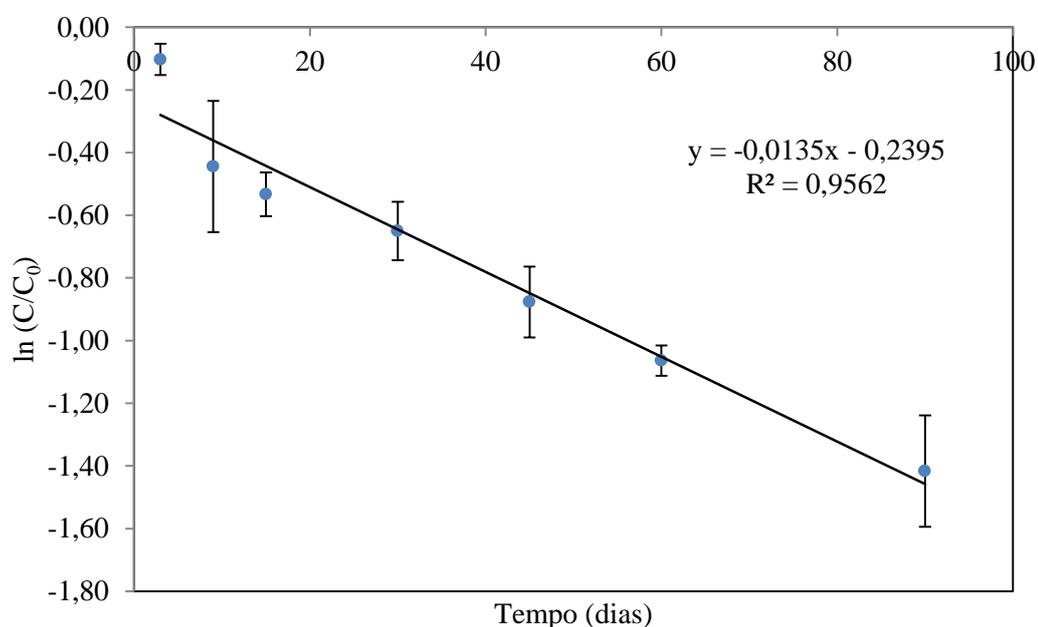
O efeito das diferentes formulações testadas sobre a estabilidade das antocianinas foi avaliado através da análise estatística dos resultados de fenólicos totais apresentados na Tabela 13. Observa-se que para o tempo inicial da fotoestabilidade, as formulações obtidas nos dois lotes (A e B) da liofilização não apresentaram diferenças estatisticamente. No entanto, depois de 90 dias de exposição à luz UV apenas as formulações F4A e F1B são diferentes estatisticamente para um nível de confiança de 95 %. Em relação às antocianinas monoméricas e atividade antioxidante todas as formulações não apresentaram diferenças estatisticamente após 90 dias.

Vale salientar que, para as formulações contendo proteína isolada de soja e maltodextrina (F3A e F3B), não foi possível quantificar as antocianinas monoméricas devido à agregação e precipitação da proteína isolada de soja no pH 4,5 correspondente ao tampão de carbonato de sódio utilizado no método do pH diferencial. Isso ocorre devido à proximidade deste pH com o do ponto isoelétrico da proteína (Figura 13) no qual a molécula possui carga líquida nula caracterizada pela máxima interação eletrostática entre os grupos carregados e interação mínima com a água. Esse comportamento não foi observado na quantificação dos

fenólicos totais bem como na capacidade antioxidante através do radical $ABTS^+$, pois nas metodologias utilizadas o pH do meio ficou fora na faixa de pHs referente ao ponto isoelétrico da proteína.

Na Figura 21 estão apresentados os valores experimentais e preditos por um modelo cinético de primeira ordem referente à concentração de antocianinas do extrato liofilizado não microencapsulado expostas à luz UV durante 90 dias. A linha cheia corresponde ao traçado do modelo de primeira ordem. Observa-se que a luz influenciou na estabilidade desse pigmento diminuindo consideravelmente sua vida útil.

Figura 21. Valores experimentais e preditos por um modelo cinético de primeira ordem referente à concentração de antocianinas do extrato liofilizado exposto à luz UV a temperatura ambiente.



A constante de velocidade cinética de degradação (Equação 4) e o tempo de meia-vida (Equação 5) das antocianinas encontrados foram $0,0135 \text{ d}^{-1}$ e 51 dias, respectivamente. Em outros trabalhos foram relatados a constante cinética de degradação desse composto assim como a meia-vida, porém em diferentes condições experimentais.

Jiménez-Aguilar *et al* (2011) avaliou o efeito negativo da luz sobre a estabilidade das antocianinas durante o armazenamento. As micropartículas foram estocadas na presença e ao abrigo da luz (3000 lx) na temperatura de $25 \text{ }^\circ\text{C}$ e o controle constituído pelo extrato de antocianinas liofilizado sem o material de parede foi apenas armazenado na presença de luz na mesma temperatura por 28 dias. Os resultados mostraram que a exposição da luz ao controle proporcionou uma perda de 65 % de antocianinas, enquanto que para as

micropartículas houve uma redução de 25 %. A cinética de degradação foi monitorada durante o período de armazenamento e os tempos de meia-vida e as constantes de velocidade foram determinadas. As antocianinas microencapsuladas expostas à luz por 28 dias apresentaram um tempo de meia-vida de 70 dias e as estocadas ao abrigo de luz um tempo de meia-vida de 119 dias; em contrapartida, as antocianinas do controle apresentaram um tempo de meia-vida de 21 dias corroborando desta forma para o efeito protetor da goma de algaroba como material de parede.

Nos estudos de Ersus e Yurdagel (2007) foi avaliada a estabilidade das antocianinas de cenouras pretas microencapsuladas por atomização expostas a luz (3000 lx) por 56 dias na temperatura de 25 °C. A partir dos dados obtidos da cinética de degradação desses pigmentos houve uma redução de aproximadamente 65% das antocianinas, um tempo de meia-vida de 63 dias e uma taxa de degradação igual a 0,0024 d⁻¹.

Por outro lado, Flores *et al* (2014) observaram que a fotodegradação das antocianinas do bagaço de mirtilo atomizadas com proteína isolada do soro do leite durante o armazenamento de 40 dias foi comparável com a degradação térmica quando as micropartículas foram estocadas na temperatura de 37 °C, sendo as taxas de degradação calculadas e iguais a 0,0083 d⁻¹ e 0,0069 d⁻¹, respectivamente. Os pesquisadores observaram também que as taxas de degradação das antocianinas microencapsuladas com a proteína isolada do soro do leite foram superiores quando comparadas com materiais de parede constituídas por polissacarídeos (Tonon *et al.*, 2009; Idham, Muhamad e Sarmidi, 2012).

5.3.2. Análise colorimétrica

Através da colorimetria foi possível avaliar as alterações qualitativas e quantitativas sofridas pela cor nos pós de antocianinas expostos a luz UV por um período de 90 dias de fotoestabilidade. A Tabela 14 apresenta o comportamento do parâmetro colorimétricos L^* , a^* e b^* em função do tempo referente aos pós obtidos nos dois lotes de liofilização. Foi possível observar que houve um sensível aumento nos valores de luminosidade no decorrer do tempo de armazenamento em presença de luz UV, indicando que os pós foram se tornando mais claros (Apêndice D).

Tabela 14. Mudanças ocorridas no parâmetro de cor L^* , a^* e b^* em função do tempo para os pós preparados com maltodextrina (F1A e F1B), pectina e maltodextrina (F2A e F2B), proteína isolada de soja e maltodextrina (F3A e F3B) e pectina, proteína isolada de soja e maltodextrina (F4A e F4B) armazenadas na presença de luz UV..

Amostra	L^*		a^*		b^*	
	0 dia	90 dias	0 dia	90 dias	0 dia	90 dias
F1A	67,50 ± 0,84 ^{a,b,c,d}	71,23 ± 0,75 ^{a,b,c}	28,33 ± 1,27 ^a	21,97 ± 0,91 ^a	2,05 ± 0,29 ^e	4,46 ± 0,34 ^b
F2A	64,47 ± 1,59 ^a	69,42 ± 2,87 ^{b,c}	19,77 ± 0,92 ^b	9,86 ± 0,88 ^{c,d}	4,33 ± 0,30 ^b	8,67 ± 0,6 ^{c,d}
F3A	69,01 ± 2,06 ^{a,b}	72,40 ± 0,71 ^{a,b,c}	13,97 ± 0,55 ^{c,d}	8,21 ± 0,83 ^{d,e}	3,24 ± 0,55 ^d	10,32 ± 0,53 ^{a,e}
F4A	65,49 ± 0,29 ^{a,c,d}	69,29 ± 1,13 ^{b,c}	12,54 ± 0,30 ^d	9,04 ± 0,48 ^{c,d,e}	6,47 ± 0,15 ^a	11,27 ± 0,66 ^a
F1B	68,72 ± 0,76 ^{b,c}	73,65 ± 0,62 ^a	29,18 ± 0,46 ^a	19,44 ± 0,30 ^b	1,77 ± 0,09 ^e	4,25 ± 0,30 ^b
F2B	65,02 ± 0,56 ^{a,d}	68,58 ± 0,62 ^c	19,66 ± 0,92 ^b	10,46 ± 0,44 ^c	4,15 ± 0,02 ^{b,c}	7,98 ± 0,41 ^c
F3B	68,27 ± 1,13 ^{b,c,d}	72,26 ± 1,59 ^{a,b,c}	14,76 ± 0,54 ^c	8,66 ± 0,93 ^{c,d,e}	3,46 ± 0,33 ^{c,d}	9,39 ± 0,18 ^{d,e}
F4B	68,52 ± 1,62 ^{b,c,d}	72,83 ± 0,58 ^{a,b}	12,49 ± 0,46 ^d	7,59 ± 0,12 ^e	5,78 ± 0,27 ^a	10,78 ± 0,39 ^a

* Média de três repetições ± desvio padrão. ^{a,b,c,d,e} Letras iguais na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

O comportamento do parâmetro colorimétrico a^* sofreu uma pequena redução nos seus valores devido à degradação das antocianinas das formulações, conforme discutido anteriormente (Tabela 14). As amostras contendo pectina, proteína isolada de soja e maltodextrina (F4A e F4B) apresentaram maior decaimento desses valores, ou seja, essas amostras foram as que mais perderam a coloração rosada e, conseqüentemente, as que mais sofreram degradação.

Resultados semelhantes foram reportados por Jiménez-Aguilar *et al.* (2011) que avaliaram colorimetricamente a estabilidade das antocianinas microencapsuladas com algaroba durante a estocagem por 28 dias. A partir dos dados obtidos, os pesquisadores observaram que os parâmetros L^* e o a^* são mais sensíveis na retenção de antocianinas, ocorrendo um aumento dos valores de L^* e o decaimento dos valores de a^* .

Durante o processo de exposição dos pós à luz UV observou-se duas alterações na coloração das micropartículas: uma mínima perda da tonalidade tornando a cor das amostras menos intensas (leve modificação do h_{ab}) (Figura 22) e a redução da intensidade de cor em decorrência da formação de compostos de degradação (alteração dos valores C^*_{ab}) (Figura 23) quando comparado com os pós no tempo zero.

Figura 22. Mudanças ocorridas no ângulo de tonalidade (h_{ab}) em função do tempo para os pós preparados com maltodextrina (F1A e F1B), pectina e maltodextrina (F2A e F2B), proteína isolada de soja e maltodextrina (F3A e F3B) e pectina, proteína isolada de soja e maltodextrina (F4A e F4B) armazenadas na presença de luz UV.

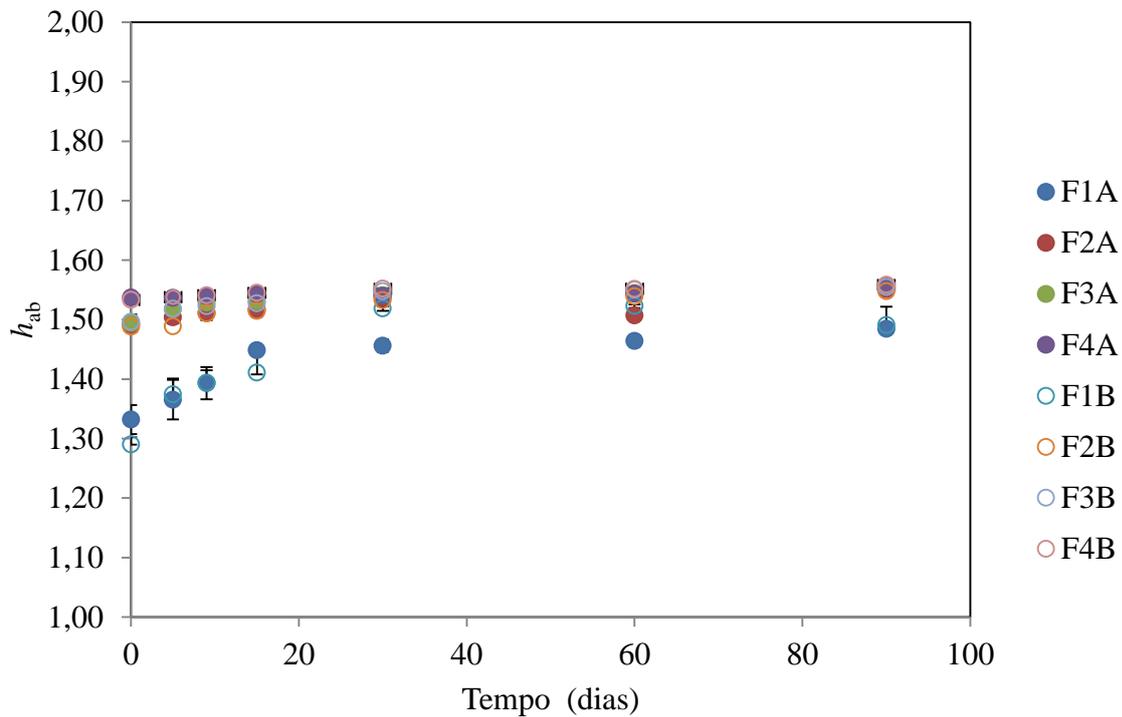
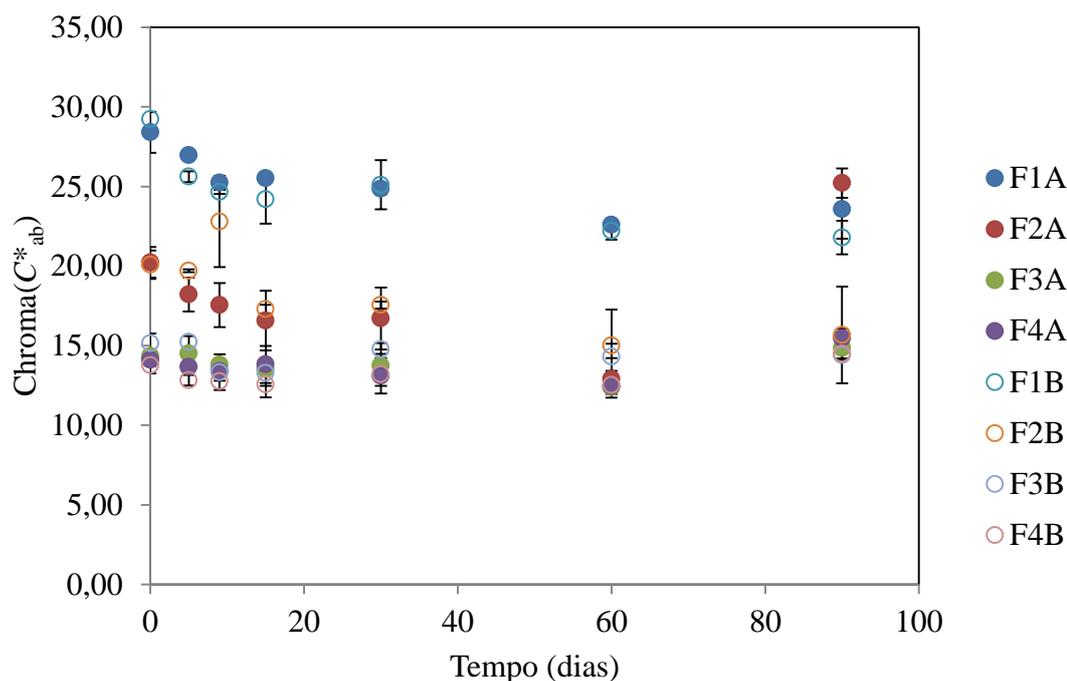


Figura 23. Mudanças ocorridas no chroma (C^*_{ab}) em função do tempo para os pós preparados com maltodextrina (F1A e F1B), pectina e maltodextrina (F2A e F2B), proteína isolada de soja e maltodextrina (F3A e F3B) e pectina, proteína isolada de soja e maltodextrina (F4A e F4B) armazenadas na presença de luz UV.



A Tabela 15 apresenta as mudanças ocorridas na diferença de cor total ΔE^*_{ab} , em função do tempo, dos pós expostos à luz UV durante a estocagem. Os valores de ΔE^*_{ab} aumentaram consideravelmente com o tempo e ficaram na faixa de 7,05 – 11,89. Cabe salientar $\Delta E^*_{ab} > 5$ já apresenta mudança de cor perceptível (Apêndice C) em relação à amostra inicial (Obón *et al.*, 2009). As maiores diferenças de cor total foram apresentadas pelas amostras preparadas com pectina e maltodextrina (F2A e F2B) e as amostras preparadas com proteína isolada de soja e maltodextrina (F3A e F3B).

Tabela 15. Mudanças ocorridas na diferença de cor total (ΔE^*_{ab}) em função do tempo (em dias) para os pós preparados com maltodextrina (F1A e F1B), pectina e maltodextrina (F2A e F2B), proteína isolada de soja e maltodextrina (F3A e F3B) e pectina, proteína isolada de soja e maltodextrina (F4A e F4B) armazenadas na presença de luz UV.

Amostra	$\Delta E^*_{ab(5)}$	$\Delta E^*_{ab(9)}$	$\Delta E^*_{ab(15)}$	$\Delta E^*_{ab(30)}$	$\Delta E^*_{ab(45)}$	$\Delta E^*_{ab(60)}$	$\Delta E^*_{ab(90)}$
F1A	7,23	3,25	3,43	6,12	5,36	6,42	7,21
F2A	5,73	3,48	4,77	7,04	6,79	11,04	11,89
F3A	4,12	5,09	1,84	4,59	5,84	5,42	9,74
F4A	2,22	1,98	1,11	3,17	2,05	2,89	7,05
F1B	7,53	4,72	5,26	6,66	8,05	8,68	10,07
F2B	4,17	2,46	3,68	7,08	6,69	8,00	10,13
F3B	4,02	2,38	2,80	3,65	6,92	7,35	8,95
F4B	3,71	1,39	2,99	2,57	3,88	5,95	8,11

Silva *et al.* (2010) avaliaram a fotoestabilidade dos pós de antocianinas durante 21 dias na temperatura de 25 °C. O extrato de antocianinas foi obtido das cascas de jabuticaba e

microencapsulado por atomização com maltodextrina e goma arábica nas seguintes proporções: 30 % de maltodextrina (MD), 30 % de goma arábica (GA) e uma mistura 15 % de maltodextrina com 15% de goma arábica (MD-GA). A partir dos dados experimentais obtidos da análise colorimétrica, a diferença de cor total (ΔE^*_{ab}) foi calculada e todas as formulações apresentaram alterações visualmente perceptíveis, pois foram superiores a cinco e mais expressivo nos pós preparados com goma arábica apenas. Esse comportamento foi observado nos parâmetros cinéticos, visto que os pós contendo goma arábica em sua formulação apresentaram tempos de meia-vida iguais e inferiores ao dos pós contendo apenas maltodextrina.

A colorimetria permitiu que os dados experimentais obtidos para os parâmetros de cor a^* fossem ajustados utilizando um modelo cinético de primeira ordem. A análise de regressão foi aplicada às equações cinéticas de primeira ordem e os parâmetros cinéticos obtidos nestes ajustes estão apresentados na Tabela 16. Os valores da constante de degradação e os tempos de meia-vida calculados a partir dos dados apresentados pelo parâmetro a^* apresentaram valores entre $0,0022 \pm 0,0004 - 0,0070 \pm 0,0009 \text{ d}^{-1}$ e tempos de meia-vida de 101 a 320 dias.

Tabela 16. Resultados da regressão linear do parâmetro a^* utilizando modelo cinético de primeira ordem para os pós de antocianinas expostos a luz UV.

Amostra	k (dias ⁻¹)	$t_{1/2}$ (dias)	R^2
F1A	$0,0022 \pm 0,0004^c$	320	0,8791
F2A	$0,0070 \pm 0,0009^a$	101	0,9089
F3A	$0,0051 \pm 0,0005^b$	137	0,9303
F4A	$0,0032 \pm 0,0002^{b,c}$	215	0,8940
F1B	$0,0031 \pm 0,0004^{b,c}$	226	0,9035
F2B	$0,0069 \pm 0,0003^a$	101	0,8802
F3B	$0,0050 \pm 0,0008^b$	140	0,8836
F4B	$0,0042 \pm 0,0008^b$	170	0,9032

Amostras preparadas com maltodextrina (F1A e F1B), pectina e maltodextrina (F2A e F2B), proteína isolada de soja e maltodextrina (F3A e F3B) e pectina, proteína isolada de soja e maltodextrina (F4A e F4B). * Média de três repetições \pm desvio padrão. ^{a,b,c} Letras iguais na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

Através da análise estatística dos resultados foi constatado que as formulações contendo proteína e maltodextrina (F3A e F3B), e as formulações contendo a mistura dos três materiais de parede (F4A e F4B), são iguais estatisticamente para um nível de confiança de

95 % e diferentes estatisticamente em relação às formulações contendo maltodextrina (F1A e F1B) e as formulações contendo pectina e maltodextrina (F2A e F2B). Desta forma, foi possível verificar que o tipo de material de parede influenciou na degradação da cor avermelhada das micropartículas.

Com os resultados obtidos nesse trabalho em relação à fotoestabilidade, pode-se concluir que a degradação dos compostos fenólicos seguiu uma cinética de primeira ordem para todos os pós analisados. Ao comparar os tempos de meia-vida entre os pós preparados com os diferentes materiais de parede testados verifica-se que a maltodextrina proporcionou maior proteção aos compostos fenólicos, e ainda, que a técnica de microencapsulação por liofilização é bastante eficaz na proteção e estabilização das antocianinas extraídas do bagaço da jabuticaba.

Conclusões

O presente trabalho teve como objetivo caracterizar e avaliar a estabilidade de micropartículas de antocianinas produzidas pela técnica de liofilização utilizando como material de parede a maltodextrina combinada com pectina e com a proteína isolada de soja. Com base nos resultados obtidos, pode-se concluir que é possível obter um corante natural a partir de um subproduto emergente gerado na produção do suco de jabuticaba com propriedades antioxidantes.

A caracterização das micropartículas de antocianinas após a liofilização mostrou que todas as formulações apresentaram baixos valores de umidade, de atividade de água e de higroscopicidade, assim como baixa solubilidade em água, atributos desejáveis na obtenção de alimentos em pó. Em relação à morfologia, as micropartículas apresentaram estruturas irregulares amorfas semelhantes com tamanho médio de partículas entre 312 a 420 μm . A análise térmica dos pós preparados com os diferentes materiais de parede mostraram que houve a microencapsulação das antocianinas em decorrência dos novos picos endotérmicos e foi possível observar também que os pós apresentaram uma estabilidade térmica até a temperatura de 130 °C.

A fotoestabilidade das micropartículas bem como do extrato de antocianinas liofilizado não microencapsulado mostraram que a degradação desse pigmento seguiu uma cinética de primeira ordem. O efeito deletério da luz durante a estocagem por 90 dias conferiu ao extrato não microencapsulado uma redução de 56 % no teor de fenólicos totais e 77 % no teor de antocianinas monoméricas. Em contrapartida, os materiais de revestimentos foram capazes de conferir uma proteção de 90 % na quantidade de fenólicos totais e 80 % na quantidade de antocianinas monoméricas, principalmente para os pós preparados com maltodextrina como material de parede.

Sugestões para Trabalhos Futuros

Como sugestões para a continuidade deste trabalho, destaca-se a avaliação da estabilidade dos pós liofilizados em diferentes temperaturas durante o armazenamento. A determinação das isotermas de sorção e a temperatura de transição vítrea dos pós liofilizados preparados com os diferentes materiais de parede testados, pois também podem ser informações importantes na caracterização das micropartículas.

Além disso, outro aspecto interessante seria estudar o perfil de liberação das antocianinas microencapsuladas em diferentes alimentos durante o seu processamento. Por fim, poder-se-ia avaliar o processo de atomização como técnica de microencapsulação, caracterizar os pós obtidos por essa técnica e comparar com as propriedades físico-químicas dos pós liofilizados.

Referências Bibliográficas

ADAMS, J. B. Thermal degradation of anthocyanin with particular reference on 3 glucosides of cyanidin. In acidified aqueous solution at 100 °c. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v.24, p. 747-762, 1973.

AGRAFNP. *Hortifrutis*. São Paulo: Agriannual 2012: anuário da agricultura brasileira. p. 314-315, 2012.

AKESOWAN, A. Effect of soy protein isolate on quality of light pork sausages containing konjac flour. *African Journal of Biotechnology*, v.7, p. 4586-4590, 2008

ALEZANDRO, M. R, DUBÉ, P., DESJARDINS, Y., LAJOLO, F. M., GENOVESE, M. I. Comparative study of chemical and phenolic compositions of two species of jaboticaba: *Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg and *Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg. *Food Research International*, v.54, n.1, p. 468-477, 2013.

ALEZANDRO, M. R.; LAJOLO, F. M.; GENOVESE, M. **Functional potential of jaboticaba, a Brazilian native fruit**. Honolulu-HI, United States: International Chemical Congress of Pacific Basin Societies 2010.

ALKORTA, I., GARBISU, C., LLAMA, M. J., SERRA, J. L. Industrial applications of pectic enzymes: a review. *Process Biochemistry*, v.33, n.1, p. 21-28, 1998.

ANDERSEN, O.; ANDERSEN, V. U. **As frutas silvestres brasileiras**. . Rio de Janeiro Globo: 131-135 p. 1998.

ANDERSEN, O. M.; JORDHEIM, M. **The anthocyanins**. Taylor and Francis, Boca Raton: Flavonoids Chemistry, Biochemistry and Applications. CRC Press: 471–551 p. 2006a.

ANDRADE, R. A.; MARTINS, A. B. G. **Influence of the temperature in germination of seeds of jaboticaba tree**. . Jaboticabal: Revista Brasileira de Fruticultura. 25: 197-198 p. 2003.

ANANGA, A., GEORGIEV, V., OCHIENG, J. W., PHILLS, B., TSOLOVA, V. Production of Anthocyanins in Grape Cell Cultures: A Potential Source of Raw Material for Pharmaceutical, Food, and Cosmetic Industries. *Agricultural and Biological Sciences: The Mediterranean Genetic Code - Grapevine and Olive*.c.11, p. 247-287, 2013.

ANTUNES, L. E. C. et al. Resumos do II Simpósio Nacional do Morango e do I Encontro de Pequena Fruta e Fruta Nativa do Mercosul. Pelotas-RS: EMBRAPA 2004.

AOAC. Official methods of Analysis. Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists 2005.

ASCHERI, D. P. R.; ASCHERI, J. L. R.; CARVALHO, C. W. P. Caracterização da farinha do bagaço da jabuticaba e propriedades funcionais dos extrusados. *Ciência de Tecnologia de Alimentos*. v. 26, p. 867-905, 2006.

ASEN, S.; STEWART, R. N.; NORRIS, K. H. Copigmentation of anthocyanins in plant tissues and its effect on color. *Phytochemistry*. v.11, p. 1139-1144, 1972.

ASSIS, S. A., VELLOSA, J. C., BRUNETTI, I. L., KHALIL, N. M, LEITE, K. M, MARTINS, A. B, OLIVEIRA, O. M. Antioxidant activity, ascorbic acid and total phenol of exotic fruits occurring in Brazil. *International Journal of Food Science and Nutrition*. v.60, p. 439-448, 2009.

AZEREDO, H. M. C. Encapsulação: Aplicação à Tecnologia de Alimentos. *Brazilian Journal of Food Nutrition*. v.16, p. 89 - 97, 2005.

BAKOWSKA-BARCZAK, A. M.; KOLODZIEJCZYK, P. P. Black currant polyphenols: Their storage stability and microencapsulation. *Industrial Crops and Products*, v.34, n. 2, p. 1301-1309, 2011.

BALERDI, C. F.; RAFIE, R.; CRANE, J. Jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*, Berg) a delicious fruit with an excellent market potencial. Flórida: Proceedings of the Florida State Horticultural Society. 119: 66-68 p. 2006.

BARRERA, A. M., RAMÍREZ, J. A., GONZÁLEZ-CABRIALES, J. J, VÁZQUEZ, M. Effect of pectins on the gelling properties of surimi from silver carp. *Food Hydrocolloids*, v.16, n. 5, p. 441-447, 2002.

BARROS, R. S.; FINGER, F. L.; MAGALHÃES, M. M. *Scientia Horticulturae*, v. 66, n. null, p. 209, 1996.

BENZA, J. C. 143 Frutales Nativos. Peru: Universidade Nacional Agraria La Molina: 366 p. 1980.

BERG, S., BRETZ, M. HUBBERMANN, E. M., SCHWARZ, K. Influence of different pectins on powder characteristics of microencapsulated anthocyanins and their impact on drug

retention of shellac coated granulate. *Journal of Food Engineering*, v. 108, n. 1, p. 158-165, 2012.

BOARI LIMA, A. J. et al. Caracterização química do fruto jabuticaba (*Myrciaria cauliflora* Berg) e de suas frações. . Caracas: Archivos Latinoamericanos de Nutrición. 58: 416-421 p. 2008.

BOBBIO, F. O.; BOBBIO, P. A. Introdução a Química de Alimentos. São Paulo: Livraria Varela: 231 p. 1989.

BOBBIO, F. O.; MERCADANTE, A. Z. Anthocyanins in foods: occurrence and physicochemical properties. *Food Colorants: Chemical and Functional Properties* v.1, 241-276 p. 2008.

BOONCHU, T.; UTAMA-ANG, N. Optimization of extraction and microencapsulation of bioactive compounds from red grape (*Vitis vinifera* L.) pomace. *Journal of Food Science and Technology*, p.1-10, 2013.

BORGES, M. H. C. B.; MELO, B. Cultura da jabuticabeira Uberlândia: Núcleo de Estudo em Fruticultura no Cerrado 2013

BOSS, E. A.; FILHO, R. M.; DE TOLEDO, E. C. V. Freeze drying process: real time model and optimization. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, v. 43, n. 12, p. 1475-1485, 2004.

BOULTON, R. The copigmentation of anthocyanins and its role in the color of red wine: A critical review. *American Journal of Enology and Viticulture*. v. 52, n.2, p. 67-87, 2001.

BOWERS, J. Food Theory and Applications. New York: Macmillan Publishing Company: p. 411, 1992.

BRASIL. Resolução RDC nº 272, de 22 de setembro de 2005. Aprova o Regulamento Técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos. ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2005.

BRAVO, L. Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition Reviews*, v.56, p. 317-333, 1998.

BRIDLE, P.; TIMBERLAKE, C. F. Anthocyanins as natural food colours-selected aspects. *Great Britain Food Chemistry*. v.58, p. 103-109, 1997.

BUCHWEITZ, M., SPETH, M., KAMMERER, D. R., CARLE, R. Impact of pectin type on the storage stability of black currant (*Ribes nigrum* L.) anthocyanins in pectic model solutions. *Food Chemistry*, v. 139, n. 1-4, p. 1168-1178, 2013.

BÖHM, H. G. Mazza und E. Miniati: Anthocyanins in Fruits, Vegetables and Grains. 362 Seiten, zahlr. Abb. und Tab. CRC Press, Boca Raton, Ann Arbor, London, Tokyo 1993. Preis: 144.— £. *Food / Nahrung*, v. 38, n. 3, p. 343-343, 1994.

- CAI, Y. Z.; CORKE, H. Production and Properties of Spray-dried *Amaranthus* Betacyanin Pigments. *Journal of Food Science*, v. 65, n. 7, p. 1248-1252, 2000.
- CANO-CHAUCA, M., STRINGHETA, P. C., RAMOS, A. M., CAL-VIDAL, J. Effect of the carriers on the microstructure of mango powder obtained by spray drying and its functional characterization. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, v. 6, n. 4, p. 420-428, 2005.
- CARDELLO, H. M. A. B.; CELESTINO, E. M. Encapsulação de aromas e sabores: utilização de amidos como agentes encapsulantes. *Boletim SBCTA*. v. 30, n.2, p. 166-171, 1996.
- CASTAÑEDA-OVANDO, A., PACHECO-HERMÁNDEZ, M. L., PÁEZ-HERNÁNDEZ, M. E., RODRÍGUES, J. A., GALÁN-VIDAL, C. A. Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chemistry*, v. 113, n. 4, p. 859-871, 2009.
- CAVALCANTI, R. N.; SANTOS, D. T.; MEIRELES, M. A. A. Non-thermal stabilization mechanisms of anthocyanins in model and food systems—An overview. *Food Research International*, v. 44, n. 2, p. 499-509, 2011.
- CHARVE, J.; REINECCIUS, G. A. Encapsulation Performance of Proteins and Traditional Materials for Spray Dried Flavors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 57, n. 6, p. 2486-2492, 2009.
- CHEFTEL, J. C.; CHEFTEL, H. Introducción a la Bioquímica y Tecnología de los Alimentos. Zaragoza: Ed. Acribia. p. 333, 1976.
- CHEN, G.; WANG, W. Role of Freeze Drying in Nanotechnology. *Drying Technology*, v. 25, n. 1, p. 29-35, 2007.
- CHRONAKIS, I. S. On the Molecular Characteristics, Compositional Properties, and Structural-Functional Mechanisms of Maltodextrins: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v. 38, n. 7, p. 599-637, 1998.
- CITADIN, I.; DANNER, M. A.; SASSO, S. A. Z. Jaboticabeiras. Jaboticabal: Revista Brasileira de Fruticultura, v.32, n.2, p. 434-656, 2010.
- COLETTI, L. Y. Curva de maturação de frutos e potencial germinativo de sementes de jaboticaba ‘Sabará’ (*Myrciaria jaboticaba* Berg). Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo, Piracicaba, Brasil, p. 16, 2012.
- COMOGLIO, A., LEONARDUZZI, G., CARINI, R. BUSOLIN, D., BASAGA, H. ALBANO, E., TOMASI, A., POLI, G., MORAZZONI, P., MAGISTRITTI, M J. Studies on the antioxidant and free radical scavenging properties of IdB 1016 a new flavanolignan complex. *Free Radical Research Communications*, v. 11, n.1-3, p. 109-115, 1990.

CORRÊA, M. O. G.; PINTO, D. D.; ONO, E. O. Análise da atividade respiratória em frutos de jabuticabeira. *Revista Brasileira de Biociências*, v.5, n.2, p. 831-833, 2007

CRUZ, C. D. Princípios de genética quantitativa. Viçosa, MG: UFV Imprensa Universitária. p. 394, 2005.

DA COSTA, C. T.; HORTON, D.; MARGOLIS, S. A. *Journal of Chromatography A*. 881: p. 403-410, 2000.

DA ROSA, C. G., BORGES, C. D., ZAMBIAZI, R. C., RUTZ, J. K., DA LUZ, R. S., BENVENUTTI, E. V., NUNES, M. R. Encapsulation of the phenolic compounds of the blackberry (*Rubus fruticosus*). *LWT - Food Science and Technology*, v. 58, n. 2, p. 527-533, 2014.

DAIUTO, E. R. Avaliação da coloração, teor de fenóis e atividade da peroxidase no guacamole conservado pelo frio. *Agronomia Tropical*, Maracay. v. 59, p.331-342, 2009.

DAMODARAN, S.; PARAF, A. *Food Protein and their Applications*. New York: Marcel Dekker, Inc., 1997.

DANNER, M. A., SASSO, S. A. Z., MEDEIROS, G. S., MARCHESE, J. A., MAZARO, S. M. Indução de resistência à podridão-parda em pêssegos pelo uso de elicitores em pós-colheita. *Pesquisa agropecuária brasileira*, v.43, n.7, p. 793-799, 2008.

DASTMALCHI, K., FLORES, G., WU, S., MA, C., DADO., A. J., WHALEN, K., REYNERTSON, K. A., FORONJY, R. F., D'ARMIENTO, J. M. KENNELLY, E. J. Edible Myrciaria vexator fruits: Bioactive phenolics for potential COPD therapy. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, v. 20, n. 14, p. 4549-4555, 2012.

DE ALBUQUERQUE, U. P., MEDEIROS, P. M., ALMEIDA, A. L. S., MONTEIRO, J. M. NETO., E. M. F. L., MELO, J. G., SANTOS, J. P. Medicinal plants of the caatinga (semi-arid) vegetation of NE Brazil: A quantitative approach. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 114, n. 3, p. 325-354, 2007.

DE OLIVEIRA, L. A., SOUZA-MOREIRA, T. M., CEFALI, L. C., CHIARI, B. G., CORRÊA, M. A., ISAAC, V. L. B. SALGADO, H. R. N., PIETRO, R. C. L. R. Design of antiseptic formulations containing extract of *Plinia cauliflora*: *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 47, p. 525-533, 2011.

DESAI, K. G. H.; JIN PARK, H. Recent Developments in Microencapsulation of Food Ingredients. *Drying Technology*, v. 23, n. 7, p. 1361-1394, 2005.

DOKIC, P.; JAKOVLJEVIC, J.; DOKIC-BAUCAL, L. Molecular characteristics of maltodextrins and rheological behaviour of diluted and concentrated solutions. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, v. 141, n. 3, p. 435-440, 1998.

-
- DONADIO, L. C. Jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba* (Vell.) berg). SÉRIE FRUTAS NATIVAS. Jaboticabal: Funep, p. 55, 2000.
- DUARTE, O. R.; HUETE, M.; LÜDDER, S. P. Propagation of jaboticaba (*Myrciaria cauliflora* (Mart.) Berg.) by terminal leafy cuttings. Wageningen: Acta Horticulturae. p. 123-128, 1997.
- EINBOND, L. S., REYNERTSON, K. A, LUO, X., BASILE, M. J., KENNELLY, E. J Anthocyanin antioxidants from edible fruits. *Food Chemistry*, v. 84, n. 1, p. 23-28, 2004.
- ERSUS, S.; YURDAGEL, U. Microencapsulation of anthocyanin pigments of black carrot (*Daucus carota* L.) by spray drier. *Journal of Food Engineering*, v. 80, n. 3, p. 805-812, 2007.
- FACHINELLO, J. C. Mirtilo. v. 30, p. 285-576, 2008.
- FAGUNDES, G. R.; YAMANISHI, O. K. CARACTERÍSTICAS FÍSICAS E QUÍMICAS DE FRUTOS DE MAMOEIRO DO GRUPO 'SOLO' COMERCIALIZADOS EM 4 ESTABELECIMENTOS DE BRASÍLIA-DF. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v. 23, p. 541-545, 2001.
- FANG, Z.; BHANDARI, B. Encapsulation of polyphenols – a review. *Trends in Food Science & Technology*, v. 21, n. 10, p. 510-523, 2010a.
- FANG, Z., BHANDARI, B. Comparing the efficiency of protein and maltodextrin on spray drying of bayberry juice. *Food Research International*, v. 48, n. 2, p. 478-483, 2012b.
- FELLOWS, P. J. Tecnologia do processamento de alimentos: Princípios e Prática. Porto Alegre: Artmed, 2006.
- FENNEMA, O. R.; DAMORADAN, S.; KIRK, L. P. Química de Alimentos de Fennema. Espanha: Editorial Acribia. p.1258, 2010.
- FLORES, F. P., SINGH, R. K., KERR, W. L, PEGG, R. B. KONG, F. Total phenolics content and antioxidant capacities of microencapsulated blueberry anthocyanins during in vitro digestion. *Food Chemistry*, v. 153, n. 0, p. 272-278, 2014.
- FLORES, F. P.; SINGH, R. K.; KONG, F. Physical and storage properties of spray-dried blueberry pomace extract with whey protein isolate as wall material. *Journal of Food Engineering*, v. 137, n. 0, p. 1-6, 2014.
- FRANCIS, F. J. Food colorants: anthocyanins. Critical Review of Food Science and Nutrition. v. 28, p. 273-314, 1989.
- FRANCIS, F. J. Anthocyanins and betalains: composition and applications. *Cereal Foods World*. v. 45, p. 208-213, 2000.

FURTADO, P., FIGUEIREDO, P., DAS NEVES, H. C., PINA, F. Photochemical and thermal degradation of anthocyanidins. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*. v. 75, p.113-118, 1993.

GHARSALLAOUI, A., ROUDAUT, G., CHAMBIN, O., VOILLEY, A., SAUREL, R. Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food Research International*, v. 40, n. 9, p. 1107-1121, 2007.

GIACOMELLI, V. S. Morfologia, Propriedades Térmicas e Mecânicas de Filmes de Proteína Isolada de Soja/Dodecilsulfato de sódio/Policaprolactona-triol. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Brasil, p. 75, 2005.

GOMES, R. P. A jaboticabeira. São Paulo: Nobel Fruticultura Brasileira. p. 263-267, 1972.

GONÇALVES, E. D.; TREVISAN, R.; CORRÊA, E. R. Espécies Frutíferas Nativas do Sul do Brasil. Pelotas-RS: EMBRAPA: p.96, 2004.

GOUIN, S. Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends. *Trends in Food Science & Technology*, v. 15, n. 7-8, p. 330-347, 2004.

GURAK, P. D., DE BONA, G. S., TESSARO, I. C., MARCZAK, L. D. F. Jaboticaba Pomace Powder Obtained as a Co-product of Juice Extraction: A Comparative Study of Powder Obtained from Peel and Whole Fruit. *Food Research International*, v. 62, n. 0, p. 786-792, 2014.

HAMINIUK, W. I. C., MACIEL, G. M., PLATA-OVIEDO, M. S. V, PERALTA, R. M. Phenolic compounds in fruits – an overview. *Journal Food Science and Technology*. v. 27, p. 2023-2044, 2012.

HOLZWARTH, M., KORHUMMEL, S., SIEKMANN, T., CARLE, R., KAMMERER, D., R. Influence of different pectins, process and storage conditions on anthocyanin and colour retention in strawberry jams and spreads. *LWT - Food Science and Technology*, v. 52, n. 2, p. 131-138, 2013.

HORST, B. L. Microencapsulação do corante natural antocianina em matriz polimérica de quitosana e quitosana/alginate através das técnicas de impregnação, coacervação e spray-drying. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Brasil, p.102, 2009.

HORSZWALD, A.; JULIEN, H.; ANDLAUER, W. Characterisation of Aronia powders obtained by different drying processes. *Food Chemistry*, v. 141, n. 3, p. 2858-2863, 2013.

IACOBUCCI, G. A.; SWEENEY, J. G. The chemistry of anthocyanins, anthocyanidins, and related flavilium salts. *Tetrahedron Letters*. v.39, p. 3005-3012, 1983.

IBGE. Pesquisa de Orçamentos Familiares: 2008-2009: Tabelas de Composição Nutricional dos Alimentos Consumidos no Brasil. SAÚDE, M. D. Rio de Janeiro-RJ: Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão 2011.

- IDHAM, Z.; MUHAMAD, I. I.; SARMIDI, M. R. DEGRADATION KINETICS AND COLOR STABILITY OF SPRAY-DRIED ENCAPSULATED ANTHOCYANINS FROM HIBISCUS SABDARIFFA L. *Journal of Food Process Engineering*, v. 35, n. 4, p. 522-542, 2012.
- IJIMA, M., HATAKEYANA, T., TAKAHASHI, M., HATAKEYAMA, H. Thermomechanical Analysis of Polysaccharide Hydrogels in Water. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*. v. 64, p. 617 - 627, 2001.
- JACKMAN, R. L., YADA, R. Y., TUNG, M. A. E SPEERS, R. A. Anthocyanins as food colorants - a review. *Journal of Food Biochemistry*. v. 11, p. 201-247, 1987.
- JACKSON, L. S.; LEE, K. Microencapsulation and Food Industry. *LWT - Food Science and Technology*. v. 24, p.289 - 297, 1991.
- JHAM, G. N.; FERNANDES, S. A.; GARCIA, G., C. F. Comparison of gc and hplc for quantification of organic acids in two jabuticaba (*Myrciaria*) fruit varieties. *Química Nova*. v. 30, p. 1529-1534, 2007.
- JIMENEZ, N., BOHUON, P., LIMA, J., DORNIER, M. VAILLANT, F., PÉREZ, A. M. Kinetics of anthocyanin degradation and browning in reconstituted blackberry juice treated at high temperatures (100–180 °c). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. v. 58, p. 2314-2322, 2010.
- JIMÉNEZ-AGUILAR, D. M., ORTEGA-REGULES, A. E. LOZADA-RAMÍREZ, J. D., PÉREZ-PÉREZ, M. C. I., VERNON-CARTER, E. J., WELTI-CHANES, J. Color and chemical stability of spray-dried blueberry extract using mesquite gum as wall material. *Journal of Food Composition and Analysis*, v. 24, n. 6, p. 889-894, 2011.
- JURD, L. Some advances in the chemistry of anthocyanin-type plant pigments. Academic Press, London and New York The chemistry of plant pigments, p.123-142, 1972.
- JÚNIOR, A. A. S. Micropartículas biodegradáveis para liberação prolongada intraocular de fármacos. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Araraquara, Brasil. p.140, 2005.
- KALT, W.; MCDONALD, J. E.; DONNER, H. Anthocyanins, phenolics, and antioxidant capacity of processed lowbush blueberry products. *Journal of Food Science*. v. 65, p. 390-393, 2000.
- KANESIRO, M. A. B. Efeito da irradiação gama e embalagens na conservação pós-colheita de jabuticabas (*Myrciaria sp*). Monografia (Trabalho de conclusão de curso de Engenharia Agrônoma) – Faculdade de Agronomia Dr. Francisco Maeda, Ituverava, Brasil. p. 136, 2002.
- KANNAN, K.; PRIYENKA DEVI, S. Microencapsulation of Colors by Spray Drying - A Review. *International Journal of Food Engineering*, v. 8, n. 2, 2012.

KARA, Ş.; ERÇELEBI, E. A. Thermal degradation kinetics of anthocyanins and visual colour of Urmu mulberry (*Morus nigra* L.). *Journal of Food Engineering*, v. 116, n. 2, p. 541-547, 2013.

KECHINSKI, C. P. Estudo de diferentes formas de processamento do mirtilo visando à preservação dos compostos antociânicos. Tese de doutorado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil. p.320, 2011.

KENNEDY, J. F.; KNILL, C. J.; TAYLOR, D. W. Maltodextrins. KEARSLEY, M. W. e DZIEDZIC, S. Z. Glasgow: *Blackie Academic & Professional: Handbook of Starch Hydrolysis Products and Their Derivatives*. p. 65-82, 1995.

KIM, Y. D.; MORR, C. V.; SCHENZ, T. W. Microencapsulation properties of gum Arabic and several food proteins: pray-dried orange oil emulsion particles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. v.44, p.1314 - 1320, 1996.

KONCZAK, I.; ZHANG, W. Anthocyanins—More Than Nature's Colours. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. v.5, p. 239-240, 2004.

KONG, J., CHIA, L., GOH, N., BROUILLARD, R. Analysis and biological activities of anthocyanins. *Phytochemistry*. v. 64, p. 923-933, 2003.

KUMAR, R. CHOUDHARY, V. MISHRA, S., VAMA, I. K. Adhesives and plastics based on soy protein products. *Industrial Crops and Products*, v. 16, n. 3, p. 155-172, 2002.

KUNSHENG, Z.; YANGYANG, L.; YUNXIA, R. Research on the phosphorylation of soy protein isolate with sodium tripoly phosphate. *Journal of Food Engineering*, v.79, p.1233-1237, 2007.

KUROSUMI, A., SASAKI, C., KUMADA, K., MTUI, G., NAKAMURA, Y. Novel extraction method of antioxidant compounds from *Sasa palmata* (Bean) Nakai using steam explosion. *Process Biochemistry*, v. 42, n. 10, p. 1449-1453, 2007.

LABORATORY, G. N. R. Higroscopicity: GEA Niro analytical method A 14 a. Dinamarca: p. 1 - 4 2005.

LAKEMOND, C. M. M. D. J., H. H. J. et al. Heat denaturation of soy glycinin: influence of pH and ionic strength on molecular structure. *Journal Agriculture Food Chemistry* v. 48, p.1991-1995, 2000.

LEITE-LEGATTI, A. V., BATISTA, A. G., DRAGANO, N. R. V., MARQUES, A. C., MALTA, L. G, RICCIO, M. F., EBERLIN, M. N., MACHADO, A. R. T., CARVALHO-SILVA, L. B., RUIZ, A. L. T. G., CARVALHO, J. E., PASTORE, G. M., JUNIOR, M. R. M. Jaboticaba peel: Antioxidant compounds, antiproliferative and antimutagenic activities. *Food Research International*, v. 49, n. 1, p. 596-603, 2012.

LENQUISTE, S. A., BATISTA, A. G., MARINELI, R. S., DRAGANO, N. R. V., JR, M. R. Freeze-dried jaboticaba peel added to high-fat diet increases HDL-cholesterol and improves insulin resistance in obese rats. *Food Research International*, v. 49, n. 1, p. 153-160, 2012.

-
- LI, L. The process and applications of soybean. Beijing 2002.
- LIMA, A. D. J. B. et al. Anthocyanins, pigment stability and antioxidant activity in jaboticaba [*Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg]. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v. 33, p. 877-887, 2011. ISSN 0100-2945.
- LIU, R. H.: *Journal of Nutrition*. 134: 3479S-3485S p. 2004.
- LODHA, P.; NETRAVALI, A. N. Thermal and mechanical properties of environment-friendly 'green' plastics from stearic acid modified-soy protein isolate. *Ind Crops Prod.* v. 21, p. 49-64, 2005.
- LORENZI, H. et al. Brazilian fruits & cultivated exotics (for consumin in natura). Instituto Plantarum de Estudos da Flora Ltda: Avenida Brasil, 2000.
- MACEDO-COSTA, M. R. D., D.N. CARVALHO, C.M. PEREIRA, M. DO S.V.; PEREIRA, J. V.; HIGINO, J. S. Effectiveness of the *Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg. extract on oral bacteria. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*. v.19, p. 565-571, 2008.
- MADENE, A. M. J.; SCHER, J.; DESOBRY, S. Flavour encapsulation and controlled release – a review. *International Journal of Food Science and Technology*. v. 41, p. 1-21, 2006.
- MADHUJITH, T.; SHAHIDI, F. Antioxidant potential of barley as affected by alkaline hydrolysis and release of insoluble-bound phenolics. *Food Chemistry*. v. 117, p. 615-620. 2009.
- MAHDAVEE KHAZAEI, K., JAFARI, S. M., GHORBANI, M., KAKHKI, A. H. Application of maltodextrin and gum Arabic in microencapsulation of saffron petal's anthocyanins and evaluating their storage stability and color. *Carbohydrate Polymers*, v. 105, n. 0, p. 57-62, 2014.
- MALHOTRA, A.; COUPLAND, J. N. The effect of surfactants on the solubility, zeta potential, and viscosity of soy protein isolates. *Food Hydrocolloids*, v. 18, n. 1, p. 101-108, 2004.
- MAN, Y. B. C.; IRWANDI, J.; ABDULLAH, W. J. W. Effect of different types of maltodextrin and drying methods on physico-chemical and sensory properties of encapsulated durian flavour. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. v. 79, p.1075-1080, 1999.
- MARKAKIS, P. Stability of anthocyanins in foods. New York: Academic Press: Anthocyanins as Food Colors. p.163-180, 1982.
- MARQUES, L. G.; SILVEIRA, A. M.; FREIRE, J. T. Freeze-Drying Characteristics of Tropical Fruits. *Drying Technology*, v. 24, n. 4, p. 457-463, 2006.
- MARTINS, B. T. Tecnologia de secagem preservam as características dos alimentos. *Revista Engenharia de Alimentos*. v. 6, p. 40 - 42, 2000.

-
- MATTOS, J. L. R. Fruteiras nativas do Brasil: jabuticabeiras. . Porto Alegre: Nobel: p: 92 p. 1983.
- MAZZA, G.; BROUILLARD, R. Recent developments in the stabilization of anthocyanins in food products. *Food Chemistry*. v. 25, p. 207-225, 1987.
- MEDICINE, A. I. Kowalczyk, CKxzesmski, P Kura, MSzmigiel, BBlaszczyk J. : Anthocyanins in medicine. v. 55, p. 699-702, 2003.
- MEIRELES, M. A. A. Extracting bioactive compounds for food products. CRC Press, 2009.
- MENDONÇA, R. M. N. Maturação, secagem e armazenamento de sementes e propagação vegetativa de Jabuticabeiras (*Myrciaria* sp). Tese (Doutorado). Universidade Federal de Viçosa, UFV. p.136, 2000.
- MERCALI, G. D. et al. Evaluation of non-thermal effects of electricity on anthocyanin degradation during ohmic heating of jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) juice. *Food Chemistry*, v. 171, n. 0, p. 200-205, 2015.
- MINOLTA. Comunicação precisa da cor: controle de qualidade da percepção à instrumentação. Japão: Minolta Corporation, 1998. 59.
- NAIDU, N. B. et al. Physicochemical characterization and dissolution properties of meloxicam–cyclodextrin binary systems. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v. 35, n. 1, p. 75-86, 2004.
- NESTERENKO, A. et al. Influence of soy protein's structural modifications on their microencapsulation properties: α -Tocopherol microparticle preparation. *Food Research International*, v. 48, n. 2, p. 387-396, 2012a.
- _____. Vegetable proteins in microencapsulation: A review of recent interventions and their effectiveness. *Industrial Crops and Products*, v. 42, n. 0, p. 469-479, 2013b.
- NICOLAS, J. J. et al. Enzymatic browning reactions in apple and apple products. : *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. v.34, p.109-157, 1994.
- NUNES, M. C. et al. Vegetable proteins and milk puddings. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 31, n. 1–4, p. 21-29, 2003.
- OBÓN, J. M. et al. Production of a red–purple food colorant from *Opuntia stricta* fruits by spray drying and its application in food model systems. *Journal of Food Engineering*, v. 90, n. 4, p. 471-479, 2009.
- OLIVEIRA, A. L. Caracterização tecnológica de jabuticabas 'Sabará' provenientes de diferentes regiões de cultivo. *Jaboticabal: Revista Brasileira de Fruticultura* v. 25, p. 397-400 2003.
- ORDÓÑEZ, J. A. et al. Tecnologia de alimentos: componentes dos alimentos e processos. Porto Alegre Editora Artmed. p. 1: 294, 2005.

- OSORIO, C. et al. Microencapsulation by Spray-Drying of Anthocyanin Pigments from Corozo (*Bactris guineensis*) Fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 58, n. 11, p. 6977-6985, 2010.
- PACHECO-PALENCIA, L. A.; HAWKEN, P.; TALCOTT, S. T. Phytochemical, antioxidant and pigment stability of açai (*Euterpe oleracea* Mart.) as affected by clarification, ascorbic acid fortification and storage. *Food Research International*. v. 40, p. 620-628, 2007.
- PATRAS, A., BRUNTON, N. P., O'DONNELL, C. E TIWARI, B. K. Effect of thermal processing on anthocyanin stability in foods; mechanisms and kinetics of degradation. : *Trends in Food Science & Technology*. v.21, p. 3-11, 2010.
- PENG, Z. et al. Effect of carriers on physicochemical properties, antioxidant activities and biological components of spray-dried purple sweet potato flours. *LWT - Food Science and Technology*, v. 51, n. 1, p. 348-355, 2013.
- PEREIRA, M. C. T. et al. Atributos físicos e químicos de frutos de oito clones de jaboticabeiras. *Jaboticabal: Revista Brasileira de Fruticultura*, v. 22, p.16-21, 2000.
- PIFFAUT, B., KADER, F., GIRARDIN, M. E METCHE, M. Comparative degradation pathways of malvidin 3,5-diglucoside after enzymatic and thermal treatments. *Food Chemistry*. v. 50, p. 115-120, 1994.
- PLAGEMANN, I. et al. Volatile constituents of jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba* (Vell.) O. Berg) fruits. *Journal of Essential Oil Research*, v. 24, n. 1, p. 45-51, 2012.
- POEI-LANGSTON, M. S.; WROLSTAD, R. E. Color Degradation in an Ascorbic Acid-Anthocyanin-Flavanol Model System. *Journal of Food Science*, v. 46, n. 4, p. 1218-1236, 1981.
- POTTER, N. N.; HOTCHKLSS, J. H. Food Science. New York: Chapman: 608 p. 1998.
- RAMALHO, M. A. P.; SANTOS, J. B.; PINTO, C. A. B. P. Genética na agropecuária. Lavras-MG: UFLA: 472 p. 2000.
- RE, R. et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, v. 26, n. 9-10, p. 1231-1237, 1999.
- REIN, M. Copigmentation reactions and color stability of berry anthocyanins. Department of Applied Chemistry and Microbiology: Food Chemistry Division University of Helsinki 2005.
- REYNERTSON, K. A. et al. Bioactive depsides and anthocyanins from jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*). *Journal of Natural Products*. v.69, p.1228-1230, 2006.
- ROBARDS, K. et al. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chemistry*, v. 66, n. 4, p. 401-436, 1999.
- RUFINO, M. D. S. M. et al. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. *Food Chemistry*, v. 121, n. 4, p. 996-1002, 2010.

RUFINO, M. S. M. et al. Free radical scavenging behavior of ten exotic tropical fruits extracts. *Food Research International*, v. 44, n. 7, p. 2072-2075, 2011.

RUTZ, J. K. et al. Microencapsulation of purple Brazilian cherry juice in xanthan, tara gums and xanthan-tara hydrogel matrixes. *Carbohydrate Polymers*, v. 98, n. 2, p. 1256-1265, 11/6/2013.

SAIKIA, S.; MAHNOT, N. K.; MAHANTA, C. L. Optimisation of phenolic extraction from Averrhoa carambola pomace by response surface methodology and its microencapsulation by spray and freeze drying. *Food Chemistry*, v. 171, n. 0, p. 144-152, 2015.

SANITÁRIA., B. M. D. S. A. N. D. V. Tabela brasileira de composição de alimentos - TACO. Campinas-SP: 164 p. 2011.

SANT'ANNA, V. et al. Tracking bioactive compounds with colour changes in foods – A review. *Dyes and Pigments*, v. 98, n. 3, p. 601-608, 2013.

SANTOS, D. T.; VEGGI, P. C.; MEIRELES, M. A. A. Extraction of antioxidant compounds from Jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) skins: Yield, composition and economical evaluation. *Journal of Food Engineering*, v. 101, n. 1, p. 23-31, 2010.

SANTOS, G. M. et al. Correlação entre atividade antioxidante e compostos bioativos de polpas comerciais de açaí (*Euterpe oleracea* Mart). *Archivos latinoamericanos de nutricion*. v. 58, p.187-192, 2008.

SARKIS, J. R. et al. Effects of ohmic and conventional heating on anthocyanin degradation during the processing of blueberry pulp. *LWT - Food Science and Technology*, v. 51, n. 1, p. 79-85, 2013.

SCHEFFELDT, P.; HRAZDINA, G. Co-pigmentation of anthocyanins under physiological conditions: *Journal Food Science*. v. 43, p. 517-520 1978.

SEERAM, N. P. Berry fruits: Compositional elements, biochemical activities, and the impact of their intake on human health, performance, and disease. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.56, p. 627-629, 2008.

SHAHIDI, F.; HAN, X. Encapsulation of food ingredients. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. v.33, p.501 - 547, 1993.

SHAHIDI, F.; NACZK, M. Phenolics in food and nutraceuticals. Florida: Boca Raton 2004.

SILVA, G. J. F.; FIGUEIREDO, R. W.; MOURA, S. M. Formulação e estabilidade de corantes de antocianinas extraídas das cascas de jaboticaba (*Myrciaria ssp.*). Araraquara, SP: 429 - 436 p. 2010.

SILVA, P. I. et al. Parameter optimization for spray-drying microencapsulation of jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) peel extracts using simultaneous analysis of responses. **Journal of Food Engineering**, v. 117, n. 4, p. 538-544, 8// 2013. ISSN 0260-8774.

-
- SKREDE, G.; WROLSTAD, R. E.; DURST, R. W. Changes in anthocyanins and polyphenolics during juice processing of highbush blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.) *Journal Food Science* v. 65, p.357-364, 2000.
- SOBRAL, M. Alterações nomeclaturais em *Plinia* (Myrtaceae). . Curitiba: Boletim do Museu Botânico de Curitiba p: 1-4 p. 1985.
- SOUZA, V. B. D. et al. Functional properties and stability of spray-dried pigments from Bordo grape (*Vitis labrusca*) winemaking pomace. *Food Chemistry*, v. 164, n. 0, p. 380-386, 12/1/ 2014.
- SOUZA-MOREIRA. Histochemical, phytochemical and biological screening of *Plinia cauliflora* (DC.) Kausel, Myrtaceae, leaves. : *Braz. J. Pharmacogn.* v. 20: 48-53 p. 2010.
- SPARKS, R. E. Microencapsulation. New York: Jonh Willey & Sons: Encyclopedia of Chemical Technology 1981.
- T, D. C. C.; D, H.; MARGOLIS, S. A. 2000: *Journal of Chromatografy A.* 881: 403-410 p.
- TERCI, D. B. L. Aplicações analíticas e didáticas de antocianinas extraídas de frutas. University of Campinas, Campinas, Brazil (Pharm. D. Thesis) Institute of Chemistry 2004.
- TONON, R. V. et al. Water sorption and glass transition temperature of spray dried açai (*Euterpe oleracea* Mart.) juice. *Journal of Food Engineering*, v. 94, n. 3-4, p. 215-221, 10// 2009.
- TONON, R. V.; BRABET, C.; HUBINGER, M. D. Influence of process conditions on the physicochemical properties of açai (*Euterpe oleraceae* Mart.) powder produced by spray drying. *Journal of Food Engineering*, v. 88, n. 3, p. 411-418, 2008.
- TREVISAN, L. V.; BOBBIO, P. A.; BOBBIO, F. O. **1972**: *J. Food Sci.* . 37: 818 p.
- TURQUOIS, T. et al. Extraction of highly gelling pectic substances from sugar beet pulp and potato pulp: influence of extrinsic parameters on their gelling properties. *Food Hydrocolloids.* v. 13, p.255-262 1999.
- VAMOS-VIGYAZO, L. Polyphenol oxidase and peroxidase in fruits and vegetables: Critical Reviews in Food Science and Nutrition. v.15, p.49-127 1981.
- VIEIRA, M.; HO, P. Experiments in unit operations and processing of foods. : New York: Springer. p.190, 2008.
- VILLACREZ, J.; CARRIAZO, J.; OSORIO, C. Microencapsulation of Andes Berry (*Rubus glaucus* Benth.) Aqueous Extract by Spray Drying. *Food and Bioprocess Technology*, v. 7, n. 5, p. 1445-1456, 2014.
- IVOJDANI, F. Solubility Methods of testing protein functionality. HALL, G. M. London: Blackie Academic & Professional: 11-60 p. 1996.

VORAGEN, A. G. J. et al. Pectin, a versatile polysaccharide present in plant cell walls: *Structural Chemistry*. 20: 263-275 p. 2009.

WANG, Y. J.; WANG, L. Effects of modification sequence on structures and properties of hydroxypropylated and crosslinked waxy maize starch. *Starch/Staerke*. 52: 406-412 p. 2000.

WATERHOUSE, A. L. Determination of total phenolics. Current protocols in food analytical chemistry. WROLSTAD, R. E. New York. Supplement 6: 1-8 p. 2002.

WILLSHTTER, R.; ZOLLINGER, E. H. 1916: *Ann. Chem.* cdviii: 83 p.

WILSKA-JESZKA, J. Polifenole, glukozytolany i inne związki prozdrowotne i antyżywniowe.: W: *Chemia żywności. T. I. Składniki żywności*. Red. Z.E. Sikorski. WN-T, Warszawa: 206-226 p. 2007.

WROLSTAD, R. E.; DURST, R. W.; LEE, J. Tracking color and pigment changes in anthocyanin products. *Trends in Food Science & Technology*, v. 16, n. 9, p. 423-428, 2005.

WU, S.-B.; LONG, C.; KENNELLY, E. J. Phytochemistry and health benefits of jaboticaba, an emerging fruit crop from Brazil. *Food Research International*, v. 54, n. 1, p. 148-159, 2013.

WU, T. H. et al. Preparation, physicochemical characterization, and antioxidant effects of quercetin nanoparticles. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 346, p.160–168, 2008. 346: 160-168 p. 2008.

YAN, Q. et al. Stabilization of grape skin anthocyanins by copigmentation with enzymatically modified isoquercitrin (EMIQ) as a copigment. *Food Research International*, v. 50, n. 2, p. 603-609, 2013..

YOUDIM, K. A. Potencial role of dietary flavonoids in reducing microvascular endothelium vulnerability to oxidative and inflammatory insults. *J Nutr Biochem* v. 13, p.282–288, 2002.

YÚFERA, E. P. *Química de los alimentos*. . Madri: Editorial Sintesis.: Tecnología bioquímica de los alimentos. 461 p. 1998.

ZHANG, B. et al. Copigmentation of malvidin-3-O-glucoside with five hydroxybenzoic acids in red wine model solutions: Experimental and theoretical investigations. *Food Chemistry*, v. 170, n. 0, p. 226-233, 2015.

ZHANG, H. et al. Interaction of plant phenols with food macronutrients: characterisation and nutritional-physiological consequences: *Nutrition Research Reviews* v.29, 1-15 p. 2014.

ZHANG, L.; MOU, D.; DU, Y. Procyanidins: extraction and micro- encapsulation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 87, n. 12, p. 2192-2197, 2007.

ZHENG, M.; JIN, Z.; ZHANG, Y. Effect of cross-linking and esterification on hygroscopicity and surface activity of cassava maltodextrins. *Food Chemistry*, v. 103, n. 4, p. 1375-1379, 2007

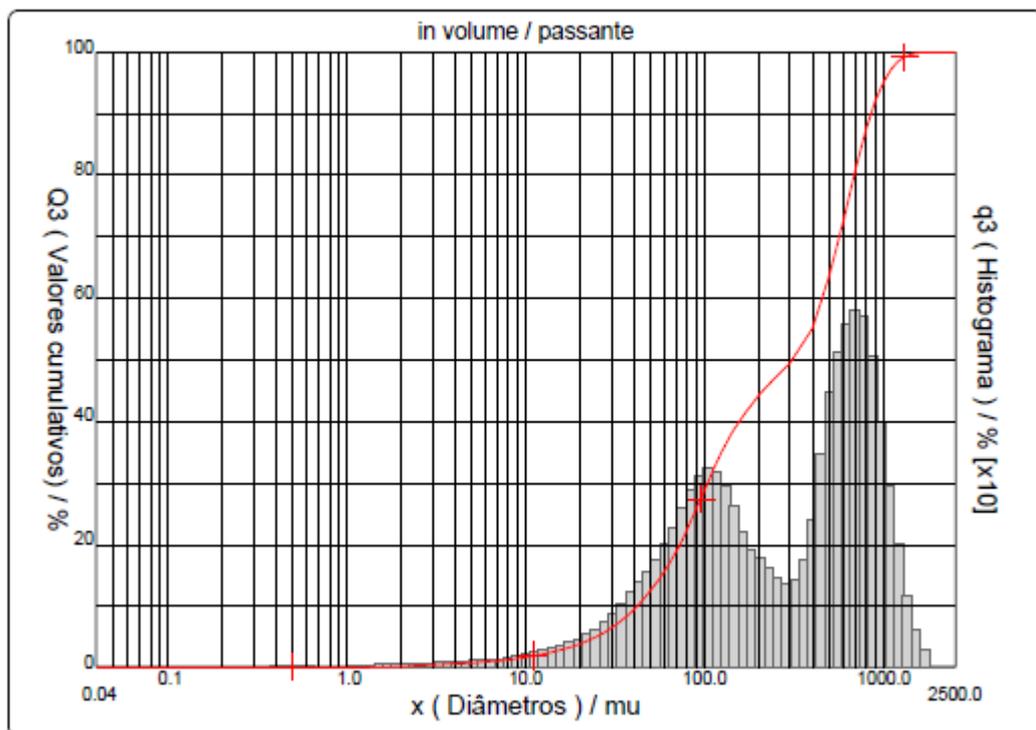
ŞAHIN-NADEEM, H. et al. Influence of inlet air temperature and carrier material on the production of instant soluble sage (*Salvia fruticosa* Miller) by spray drying. *LWT - Food Science and Technology*, v. 52, n. 1, p. 31-38, 2013.

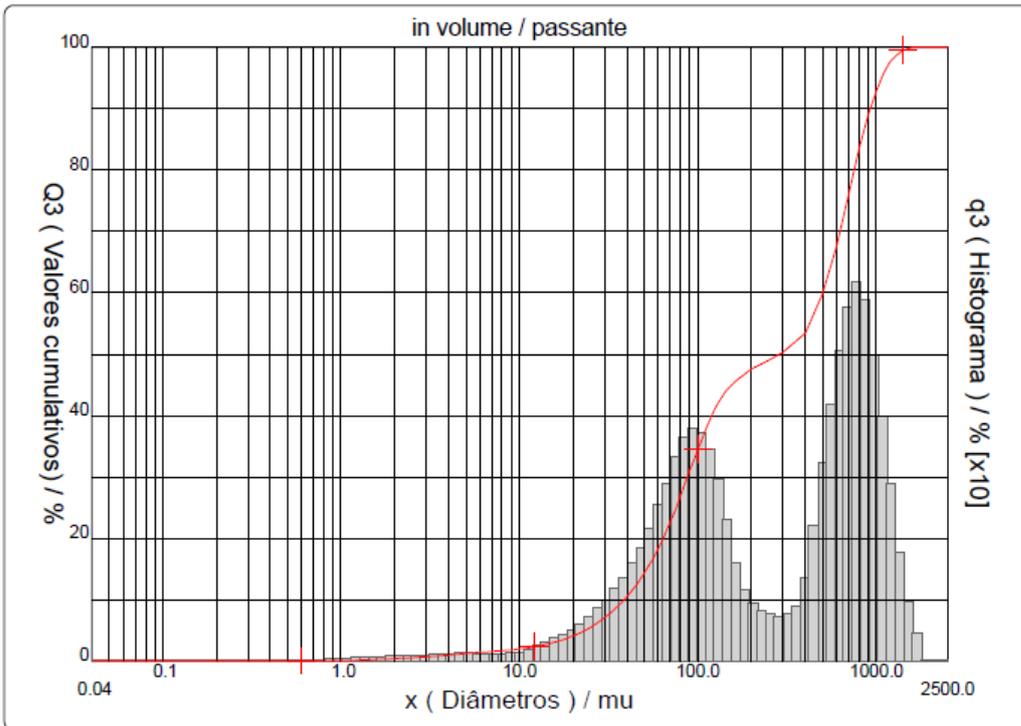
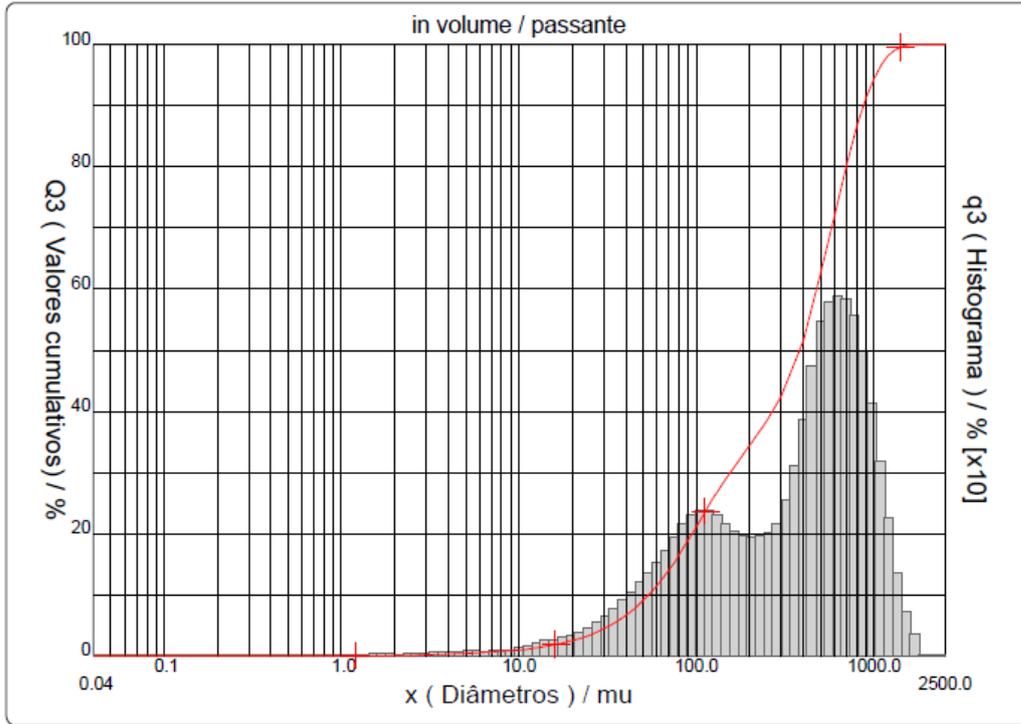
Apêndice A

Histogramas da distribuição do tamanho de partícula.

A Figura A.1 e a Figura A.2 apresentam os histogramas dos pós de antocianinas do primeiro lote e do segundo lote testados com os diferentes materiais de parede, respectivamente.

Figura A.1. Distribuição granulométrica dos pós de antocianinas liofilizados preparados com maltodextrina (A), pectina e maltodextrina (B), proteína isolada de soja e maltodextrina (C) e pectina, proteína isolada de soja e maltodextrina (D).





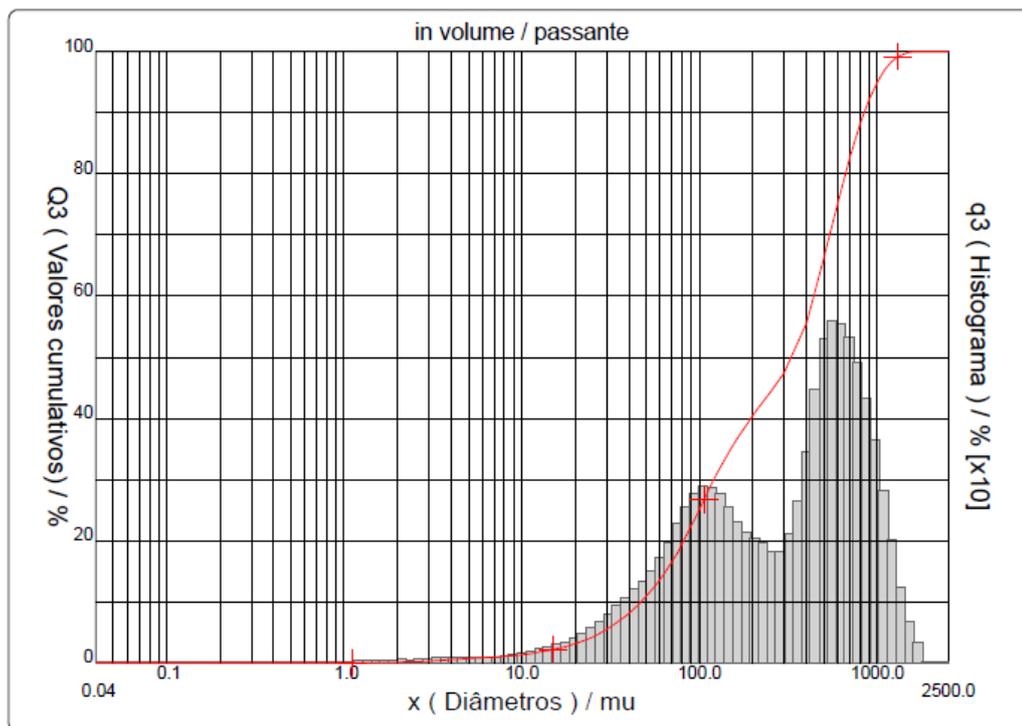
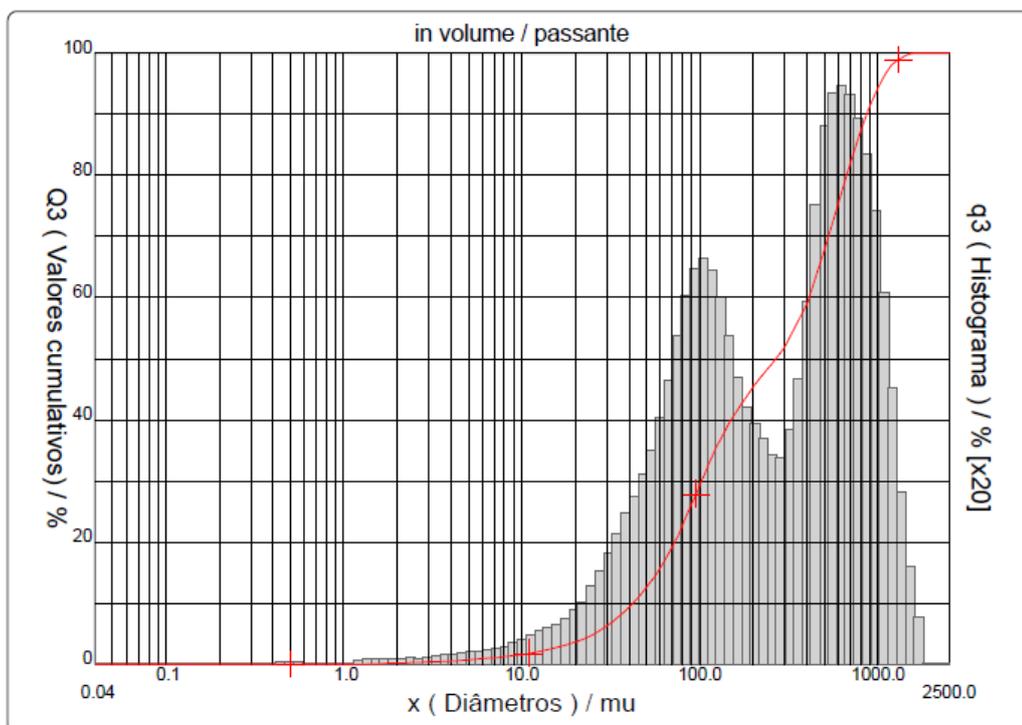
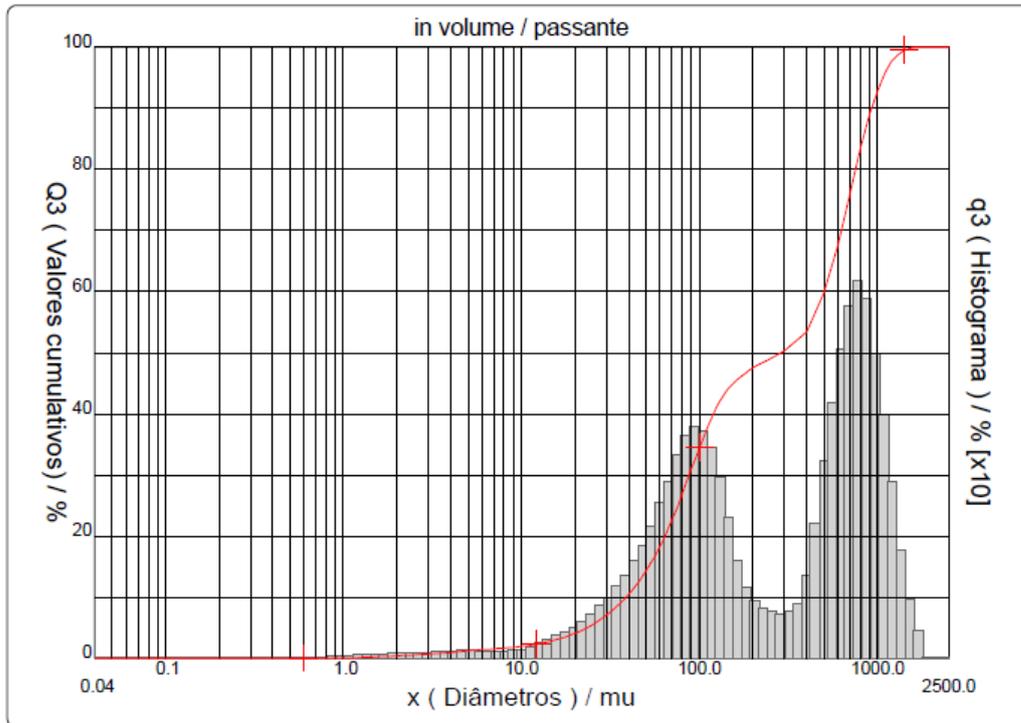
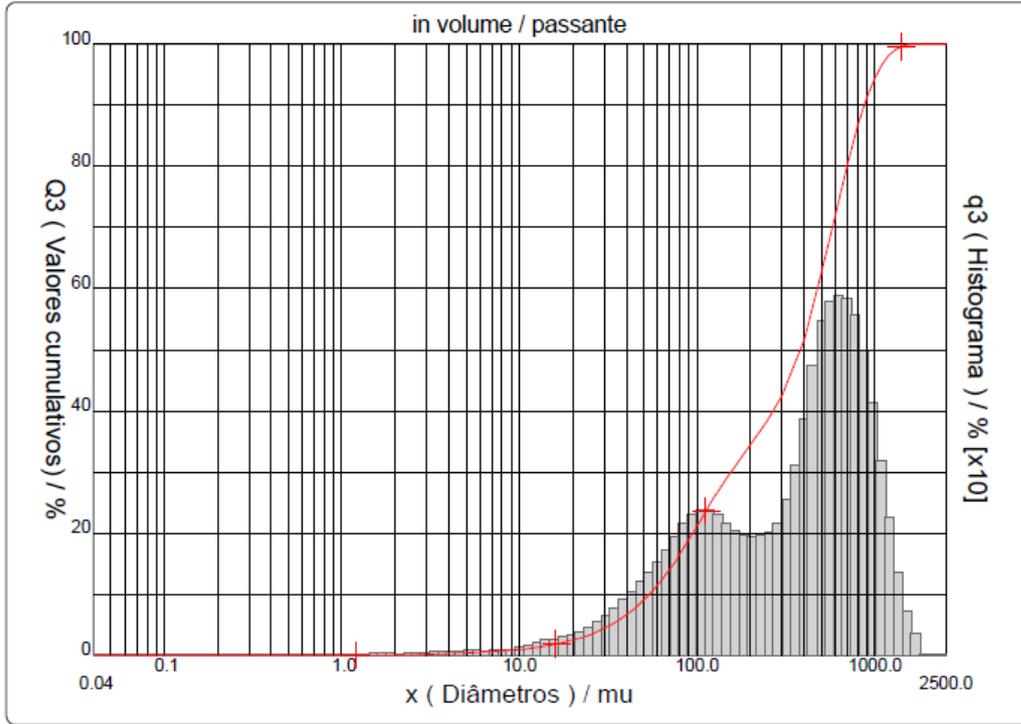
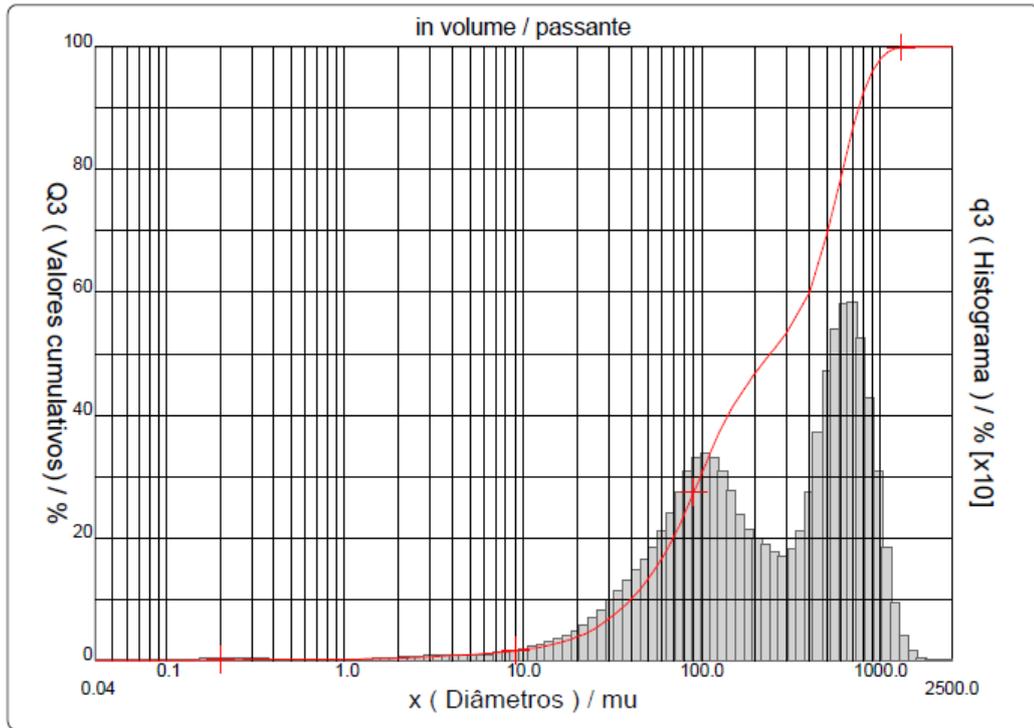


Figura A.2. Distribuição granulométrica dos pós de antocianinas liofilizados preparados com maltodextrina (A), pectina e maltodextrina (B), proteína isolada de soja e maltodextrina (C) e pectina, proteína isolada de soja e maltodextrina (D).

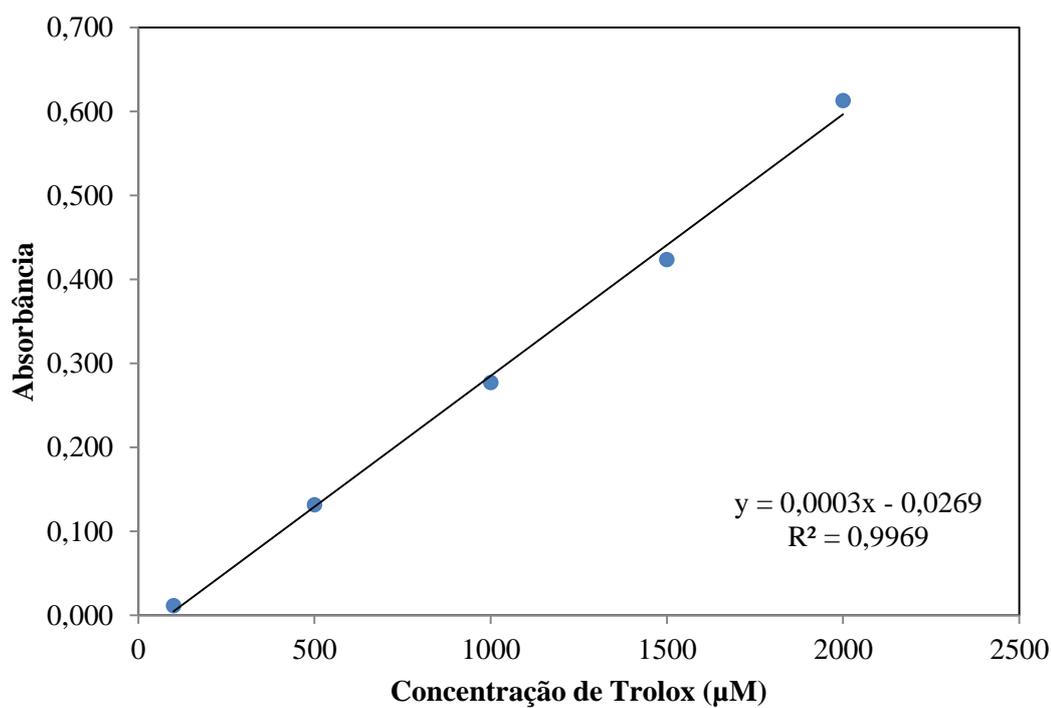
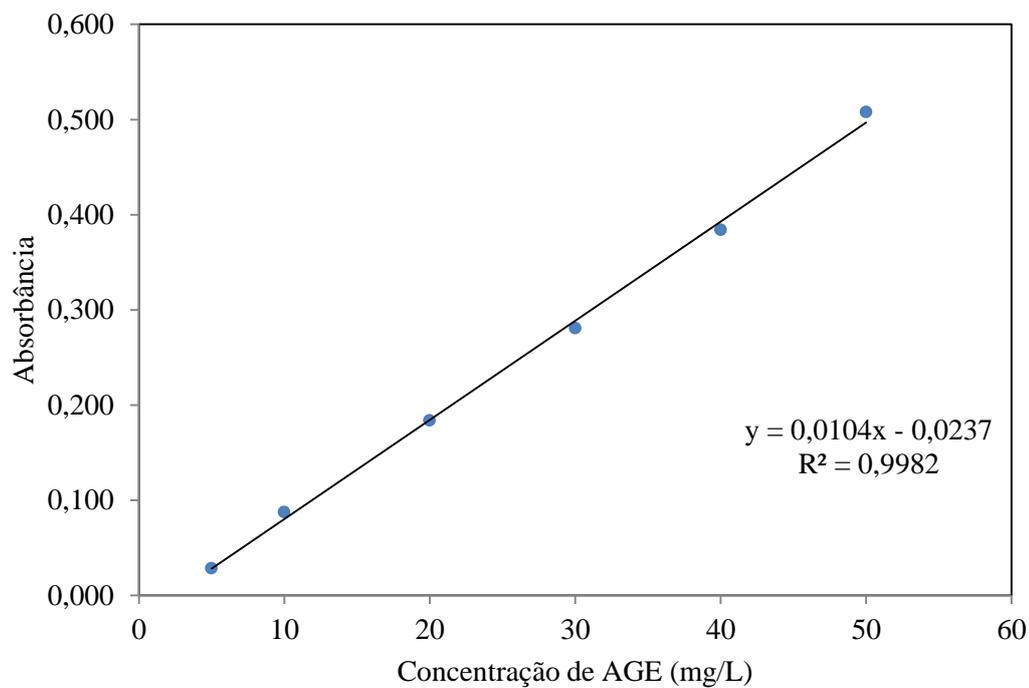






Apêndice B

Curva de calibração utilizada para determinação de compostos fenólicos e para a capacidade antioxidante com radical ABTS



Apêndice C

Parâmetros térmicos e termodinâmicos obtidos na análise térmica por calorimetria diferencial de varredura (DSC)

Tabela C.1. Propriedades térmicas e termodinâmicas do extrato concentrado, dos mat6rias de parede e das misturas f6sicas entre o extrato concentrado e os materiais de parede.

Amostra	To (°C)	Tp (°C)	Tc (°C)	ΔH (J.g-1)	To (°C)	Tp (°C)	Tc (°C)	ΔH (J.g-1)	To (°C)	Tp (°C)	Tc (°C)	ΔH (J.g-1)
Extrato concentrado	155,87 ± 11,48	176,51 ± 4,99	182,18 ± 2,96	81,62 ± 39,50	191,04 ± 6,26	193,46 ± 5,39	198,86 ± 2,99	53,12 ± 10,24	203,28 ± 1,12	212,91 ± 0,86	222,59 ± 2,25	96,87 ± 34,47
Maltodextrina	150,84 ± 0,27	153,72 ± 0,37	157,58 ± 0,53	1,64 ± 0,38	209,54 ± 8,73	211,96 ± 8,39	217,76 ± 7,51	32,95 ± 3,94	-	-	-	-
Proteína isolada de soja	139,97 ± 3,62	142,22 ± 3,44	145,41 ± 3,05	1,36 ± 0,06	183,32 ± 4,17	185,82 ± 3,96	192,85 ± 3,68	76,09 ± 7,10	-	-	-	-
Pectina	138,71 ± 2,27	141,46 ± 0,06	141,98 ± 4,89	5,03 ± 1,61	189,34 ± 0,98	192,94 ± 2,43	192,57 ± 3,23	40,43 ± 10,46	-	-	-	-
MD - EAL					188,63 ± 6,14	192,46 ± 4,21	199,88 ± 0,90	172,40 ± 8,64	209,71 ± 6,47	214,11 ± 3,82	224,99 ± 0,25	115,62 ± 42,09
PC - EAL					195,56 ± 1,58	196,88 ± 1,31	200,98 ± 1,45	100,05 ± 14,39				
PIS - EAL					185,28 ± 3,40	186,60 ± 3,56	190,97 ± 3,99	92,12 ± 6,07				
MD-PIS-PC-EAL	168,72 ± 15,05	170,46 ± 14,46	173,14 ± 13,89	6,44 ± 4,42	179,97 ± 10,17	181,99 ± 9,85	187,31 ± 8,94	86,36 ± 20,81				

Tabela C.2. Propriedades térmicas e termodinâmicas dos p6s de antocianinas liofilizados.

Amostra	To (°C)*	Tp (°C)*	Tc (°C)*	ΔH (J.g ⁻¹) (b.s)*	To (°C)*	Tp (°C)*	Tc (°C)*	ΔH (J.g ⁻¹) (b.s)*	To (°C)*	Tp (°C)*	Tc (°C)*	ΔH (J.g ⁻¹) (b.s)*
F1A	166,63 ± 9,54	170,34 ± 8,78	174,54 ± 8,66	3,32 ± 0,28	221,42 ± 7,07	223,57 ± 6,79	229,39 ± 6,43	52,78 ± 8,53	247,26 ± 3,65	249,68 ± 3,60	255,39 ± 3,20	11,18 ± 0,56
F2A	154,88 ± 14,78	156,04 ± 15,72	158,83 ± 15,99	4,92 ± 0,54	199,37 ± 5,64	200,50 ± 6,45	204,45 ± 7,95	68,08 ± 28,48	-	-	-	-
F3A	148,15 ± 0,28	149,35 ± 0,44	152,53 ± 0,55	9,62 ± 0,74	190,43 ± 1,38	191,89 ± 1,12	196,05 ± 1,00	60,45 ± 10,73	-	-	-	-
F4A	145,70 ± 3,75	147,10 ± 4,84	149,9 ± 5,31	4,40 ± 0,09	201,10 ± 0,73	202,24 ± 1,27	206,03 ± 2,49	44,92 ± 13,24	-	-	-	-
F1B	157,85 ± 9,56	159,91 ± 11,22	163,58 ± 11,96	5,53 ± 2,39	221,77 ± 3,10	223,91 ± 2,80	229,65 ± 2,35	48,77 ± 11,35	248,62 ± 0,44	251,26 ± 0,69	255,44 ± 1,20	7,95 ± 2,13
F2B	135,54 ± 0,73	136,20 ± 0,76	138,84 ± 0,74	2,86 ± 0,27	204,06 ± 2,13	205,53 ± 1,66	209,74 ± 0,58	42,04 ± 4,88	-	-	-	-
F3B	138,70 ± 0,11	139,16 ± 0,18	141,75 ± 0,23	4,58 ± 1,32	195,27 ± 2,73	196,63 ± 2,97	200,68 ± 3,13	59,66 ± 6,54	-	-	-	-
F4B	135,43 ± 3,60	135,84 ± 3,60	138,38 ± 3,65	4,85 ± 0,92	188,78 ± 5,97	190,08 ± 4,98	194,62 ± 3,63	59,40 ± 7,84	-	-	-	-

Apêndice D

Fotografias dos pós expostos na luz UV durante 90 dias

Figura D.1. Coloração dos pós preparados no tempo igual a zero (a) e após 30 dias (b), 60 dias (c) e 90 dias (d) de exposição a luz UV.

