

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

TATIANA SANCHEZ LOUREIRO CALEFFI

**MICROENCAPSULAÇÃO DE POLPA DE AMORA-PRETA POR
COACERVAÇÃO E *SPRAY DRYING***

**CURITIBA
2014**

TATIANA SANCHEZ LOUREIRO CALEFFI

**MICROENCAPSULAÇÃO DE POLPA DE AMORA-PRETA POR
COACERVAÇÃO E *SPRAY DRYING***

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de mestre. Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos – PPGEAL – Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Maria Lucia Masson

**CURITIBA
2014**

C148m Caleffi, Tatiana Sanchez Loureiro

Microencapsulação de polpa de amora-preta por coacervação e *spray drying* / Tatiana Sanchez Loureiro Caleffi. – Curitiba, 2014.

107f. : il. [algumas color.] ; 30 cm.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Paraná, Setor de Tecnologia, Programa de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos, 2014.

Orientadora: Maria Lucia Masson
Bibliografia: p. 82-97

TATIANA SANCHEZ LOUREIRO CALEFFI

**MICROENCAPSULAÇÃO DE POLPA DE AMORA PRETA POR
COACERVAÇÃO E *SPRAY DRYER***

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, da Universidade Federal do Paraná, pela Comissão formada pelos professores:

Orientadora: 
Prof.^a Dr.^a MARIA LUCIA MASSON
Setor de Tecnologia, UFPR


Prof. Dr. NEY PEREIRA MATTOSO FILHO
Setor de Tecnologia, UFPR


Prof. Dr. MARCOS ROGÉRIO MAFRA
Setor de Tecnologia, UFPR

Curitiba, 26 de setembro de 2014.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus, que sem Ele nada teria sido possível, por ter me dado forças, sabedoria e ser minha fonte de inspiração, reavivando-me nos momentos em que pensava em desistir.

À meus pais, Nelson Ribas Loureiro e Marilene Sanchez Loureiro por todo o apoio incondicional.

Ao meu esposo Luis Ângelo e meus filhos Louise e Matheus pela paciência, carinho e compreensão.

À tia Maria de Lourdes Loureiro Giotto por ceder as amostras de amora-preta para a realização deste trabalho.

Às tias Aurora Tonial Loureiro e Eni Ribas Nicodemus pelo apoio e incentivo.

Aos amigos e colegas que me incentivaram neste desafio, Adriane Dargel Floriani, Leila Cristine Piza, Magali Maróstica, Evaldo Carlos, Cristiane Borges, Pastor Paulo Canto.

À Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR campus Pato Branco, por ter permitido utilizar seus laboratórios de físico-química, de microscopia eletrônica e termogravimetria para realização dos experimentos.

À Prof. Dra. Solange Teresinha Carpes, da UTFPR Pato Branco, pelos seus conhecimentos transmitidos, suas alunas Jacqueline Florio de Almeida, Cristiane Moura e Daiane Pereira pelo auxílio prestado nas análises laboratoriais.

À Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR campus Campo Mourão, pela utilização do spray dryer.

Aos colegas e professores do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, PPGEAL, da Universidade Federal do Paraná.

Ao Centro de Microscopia Eletrônica da Universidade Federal do Paraná e ao Prof. Dr. Ney Mattoso pelo apoio.

À minha orientadora Prof. Dra. Maria Lúcia Masson, por sua paciência e compreensão.

À todos aqueles que de uma forma ou de outra fizeram parte dessa etapa.

“Tudo posso naquele
que me fortalece”.

Filipenses 4:13

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 – AMORA PRETA.....	16
FIGURA 2 - REAÇÃO DE UM COMPOSTO FENÓLICO COM UM RADICAL LIVRE.	19
FIGURA 3- ESTRUTURA DOS PRINCIPAIS FLAVONOIDES (HARBORNE, 1994; ALKEMA & SEAGER, 1982).....	19
FIGURA 4 - ESTRUTURA DO ÍON FLAVÍLIO CARACTERÍSTICO DAS ANTOCIANINAS, NA QUAL, R1 E R2 SÃO H, OH OU OCH ₃ ;	20
FIGURA 5 - ESTRUTURA GENÉRICA DE ALGUMAS ANTOCIANINAS (HARBORNE, J. B.; 1994; HARBORNE, J. B.; 1967).	21
FIGURA 6 - FORMAS QUÍMICAS DE ANTOCIANINAS DEPENDENDO DO PH DA SOLUÇÃO E REAÇÃO DE DEGRADAÇÃO PARA ANTOCIANINAS, ONDE: R1 = H OU SACARÍDEO, R2 E R3 = H OU METIL (CASTAÑEDA-OVANDO <i>ET AL</i> , 2009). ..	23
FIGURA 7 - ILUSTRAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS DE ENCAPSULADOS PRODUZIDOS POR DIFERENTES PROCESSOS DE ENCAPSULAÇÃO (FONTE: FANG & BHANDARI, 2010).....	26
FIGURA 8 -MODELOS DE MICROCÁPSULAS: (A): MATRIZ (MICROESFERA);(B): SIMPLES; (C): SIMPLES,IRREGULAR; (D): DUAS PAREDES; (E): VÁRIOS NÚCLEOS; (F):AGRUPAMENTO DE MICROCÁPSULAS (ARSHADY, 1993; GIBBS, 1999).	27
FIGURA 9 - MODELO DA ESTRUTURA DOS DIFERENTES TIPOS DE MICROPARTÍCULAS (SILVA <i>ET AL.</i> , 2003).....	28
FIGURA 10 - ETAPAS DO PROCESSO DE MICROENCAPSULAÇÃO POR COACERVAÇÃO: (SUAVE <i>ET AL.</i> ,2006). A) DISPERSÃO DE MATERIAL DE NÚCLEO NUMA SOLUÇÃO DE POLÍMERO DE REVESTIMENTO; B) SEPARAÇÃO DA SOLUÇÃO DE COACERVADO; C)REVESTIMENTO DO MATERIAL DO NÚCLEO POR MICROGOTÍCULAS DE COACERVADO; D) COALESCÊNCIA DE COACERVAÇÃO PARA FORMAR REVESTIMENTO CONTÍNUO EM TORNO DAS PARTÍCULAS DE NÚCLEO.	30
FIGURA 11 - MODELO ESQUEMÁTICO DE MICROENCAPSULAÇÃO POR COACERVAÇÃO COMPLEXA (FONTE: ARAÚJO, 2011).....	31
FIGURA 12 – ESQUEMA DE FUNCIONAMENTO DE UM “ <i>SPRAY DRYER</i> ”. FONTE: (MASTERS, 1979).....	33
FIGURA 13. ESTRUTURA QUÍMICA DA GOMA ARÁBICA. FONTE: GUILHERME, 2006.....	36
FIGURA 14 - EMULSÃO (POLPA DE AMORA, GELATINA E GOMA ARÁBICA).....	48
FIGURA 15 MATERIAL COACERVADO ANTES DE REPOUSO A) E MATERIAL COACERVADO APÓS REPOUSO B).....	49
FIGURA 16 - MATERIAL COACERVADO APÓS CENTRIFUGAÇÃO.	49
FIGURA 17- LIOFILIZADOR UTILIZADO NA SECAGEM DAS AMOSTRAS MICROENCAPSULADAS POR COACERVAÇÃO	50
FIGURA 18– SOLUÇÃO MALTODEXTRINA	51
FIGURA 19 – EMULSÃO (POLPA DE AMORA E MALTODEXTRINA)	51
FIGURA 20– <i>SPRAY-DRYER</i> UTILIZADO PARA A MICROENCAPSULAÇÃO DA POLPA DE AMORA.....	52
FIGURA 21 - ESQUEMA COLORIMÉTRICO CIE LAB (CIE, 1976).....	55

FIGURA 22 - GRÁFICO DE SUPERFÍCIE DE GELIFICAÇÃO: GELATINA VERSUS GOMA ARÁBICA.....	61
FIGURA 23 - GRÁFICO DE PARETO DE GELEIFICAÇÃO: GELATINA VERSUS GOMA ARÁBICA . (1) A(L) GELATINA LINEAR, A(Q) GELATINA QUADRÁTICO, (2) B(L) GOMA ARÁBICA LINEAR, B (Q) GOMA ARÁBICA QUADRÁTICO.	62
FIGURA 24 – VALORES DE COLORIMETRIA REALIZADA COMPARANDO-SE OS PRODUTOS EM PÓ OBTIDOS NOS TRATAMENTOS DA POLPA DE AMORA-PRETA POR <i>SPRAY DRYER</i> E POR COACERVAÇÃO COM A POLPA <i>IN NATURA</i> , PARA OS PARÂMETROS DE COR L*, A* E B*.....	64
FIGURA 25 A) PÓ RESULTANTE DA MICROENCAPSULAÇÃO DA POLPA DE AMORA COM GELATINA E GOMA ARÁBICA POR COACERVAÇÃO E SECAGEM POR LIOFILIZAÇÃO. B) PÓ RESULTANTE DA MICROENCAPSULAÇÃO POR <i>SPRAY DRYER</i> DA POLPA DE AMORA COM MALTODEXTRINA COMO AGENTE CARREADOR.	65
FIGURA 26 – INTENSIDADE DOS PARÂMETROS COLORIMÉTRICOS DOS MICROENCAPSULADOS POR <i>SPRAY DRYER</i> E COACERVAÇÃO DISSOLVIDOS, L (0 REPRESENTA PRETO E 100 REPRESENTA BRANCO), A*(VERDE (NEGATIVO) A VERMELHO (POSITIVO)) E B* (AMARELO (POSITIVO) AO AZUL (NEGATIVO)).	66
FIGURA 27 - MICROSCOPIA ÓTICA DAS PARTÍCULAS FORMADAS PELA COACERVAÇÃO COMPLEXA DE GELATINA E GOMA ARÁBICA COM POLPA DE AMORA, DA AMOSTRA CONTENDO 4% DE GELATINA E 10% GOMA ARÁBICA . .	68
FIGURA 28 - MICROESTRUTURA DA GELATINA AUMENTADA EM 100 VEZES.	69
FIGURA 29 - MICROESTRUTURA DA GOMA ARÁBICA AUMENTADA EM 1200 VEZES.....	69
FIGURA 30 - MICROESTRUTURA DA MALTODEXTRINA AUMENTADA EM 120 VEZES.....	70
FIGURA 31 - MICROGRAFIAS DAS PARTÍCULAS FORMADAS PELA COACERVAÇÃO E SECAGEM POR LIOFILIZAÇÃO (GELATINA E GOMA ARÁBICA COMO AGENTE ENCAPSULANTE) SEGUIDA DE TRITURAÇÃO DO PÓ. A) AUMENTO DE 100 VEZES, B) AUMENTO DE 180 VEZES, C) AUMENTO DE 1500 VEZES.....	71
FIGURA 32 – MICROGRAFIAS DAS PARTÍCULAS FORMADAS PELA COACERVAÇÃO E SECAGEM POR LIOFILIZAÇÃO (GELATINA E GOMA ARÁBICA COMO AGENTE ENCAPSULANTE) A) AUMENTO DE 100 VEZES, B) AUMENTO DE 1000 VEZES E C) 2000 VEZES.....	72
FIGURA 33 - MICROGRAFIAS OBTIDAS POR MEV DAS MICROPARTÍCULAS DE POLPA DE AMORA PRETA FORMADAS POR <i>SPRAY DRYER</i> , UTILIZANDO MALTODEXTRINA COMO AGENTE ENCAPSULANTE. A) AUMENTO DE 500 VEZES, B) AUMENTO DE 1000 VEZES, C) AUMENTO DE 2000 VEZES E D) AUMENTO DE 8000 VEZES.....	73
FIGURA 34 - MICROPARTÍCULAS DE SUCO DE PITANGA ROXA MICROENCAPSULADA COM GOMA ARÁBICA E SECAGEM POR LIOFILIZAÇÃO. FONTE: RUTZ, (2013).....	74
FIGURA 35 - MICROGRAFIAS OBTIDAS POR MEV DE MICROCÁPSULAS COACERVADAS DE FERRO E SECAGEM POR LIOFILIZAÇÃO EM MAGNITUDE DE 100 X(A) E 200X (B).FONTE: ARAÚJO, 2011.	74

FIGURA 36 - EQUIPAMENTO SDT Q600 UTILIZADO PARA EFETUAR AS ANÁLISES TÉRMICAS.	75
FIGURA 37 – CURVA TERMOGRAVIMÉTRICA DE MALTODEXTRINA PURA EM ATMOSFERA DE AR SINTÉTICO (10 °C/MIN, 100 ML/MIN, 30 °C – 600 °C, VARIAÇÃO DA MASSA VERSUS TEMPERATURA). FONTE: MÜLLER, (P. S. 2011)	76
FIGURA 38 – CURVAS TERMOGRAVIMÉTRICAS: COA - MICROENCAPSULADO DA POLPA DE AMORA COM GELATINA E GOMA ARÁBICA POR COACERVAÇÃO, AMF - POLPA DE AMORA <i>IN NATURA</i> , AML – POLPA DE AMORA LIOFILIZADA, GEL – GELATINA EM PÓ, GUM – GOMA ARÁBICA EM PÓ, SPR – MICROENCAPSULADO DE POLPA DE AMORA COM MALTODEXTRINA POR <i>SPRAY DRYER</i> , EM ATMOSFERA DE NITROGÊNIO (10°C/MIN, 20-500°C, VARIAÇÃO DE MASSA VERSUS TEMPERATURA).	76

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição físico-química da polpa de amora-preta	17
Tabela 2 – Fatores utilizados no delineamento experimental	47
Tabela 3 - Caracterização dos compostos bioativos da polpa de amora-preta por diferentes métodos.....	59
Tabela 4 - Resultados da análise experimental.....	60
Tabela 5 – Dados obtidos pelo modelo realizado por Análise de variância (ANOVA)..	61
Tabela 6 - Valores dos parâmetros L, a*, b* de coloração para a polpa de amora preta in natura e para os pós provenientes dos tratamentos da polpa de amora-preta por <i>spray dryer</i> e coacervação.....	64
Tabela 7 – Valores dos parâmetros L, a*, b* de coloração para a polpa de amora-preta in natura e os microencapsulados por <i>spray dryer</i> e coacervação dissolvidos (média e desvio padrão).	66
Tabela 8– Valores de antocianinas para polpa de amora <i>in natura</i> , microencapsulado por <i>spray dryer</i> e microencapsulado por coacervação.	67

LISTA DE ABREVIATURAS

ABTS	Radical 2,2 azino-bis-3-etil-benzotiazolína-6-ácido sulfônico
ANOVA	Análise de variância
DPPH	Radical 2,2 difenil,1-picril-hidrazil
DSC	Calorimetria exploratória diferencial
DTA	Análise térmica diferencial
DTG	Termogravimetria derivada
EAG	Equivalente em ácido gálico
Fcalc	Fator calculado
Ftab	Fator tabelado
FRAP	<i>Ferric Reducing Antioxidant Power</i> - Poder antioxidante de redução do ferro
GL	Grau de liberdade
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
MQ	Média quadrática
nm	Nanômetro
pH	Potencial de hidrogênio
PM	Peso molecular
R ²	Coeficiente de determinação
Rpm	Rotações por minuto
SQ	Soma quadrática
TG	Termogravimetria
Tp	Temperatura de pico
TPTZ	Radical 2,4,6-tri (2-piridil)-1,3,5 - triazina

LISTA DE SÍMBOLOS

μm	Micrômetro
Δm	Varição de massa
$^{\circ}\text{C}$	graus Celsius
%	por cento

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
2. OBJETIVOS.....	14
2.1 OBJETIVO GERAL.....	14
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	14
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	15
3.1 AMORA	15
3.1.1 Compostos bioativos.....	17
3.1.1.1 Compostos fenólicos	17
3.1.1.2 Antocianinas.....	19
3.2.1 Coacervação	28
3.2.1.1 Coacervação complexa.....	30
3.2.2 <i>Spray Drying</i>	32
3.3.1 Goma Arábica	35
3.3.2 Maltodextrina.....	37
3.3.3 Gelatina.....	38
3.4. ANÁLISES TÉRMICAS.....	39
3.4.1. Termogravimetria (TG) e Análise Termica Diferencial (DTG)	39
4. MATERIAIS E MÉTODOS	40
4.1 MATERIAL.....	40
4.2. MÉTODOS.....	41
4.2.1 Obtenção da polpa de amora-preta.....	41
4.2.2 Caracterização da polpa de amora preta	41
4.2.2.1 pH e concentração de Sólidos solúveis.....	41
4.2.2.2 Determinação de compostos fenólicos totais	41
4.2.2.3 Caracterização do potencial antioxidante <i>in vitro</i> da polpa de amora-preta	42
4.2.2.4 Determinação do teor de antocianinas	46
4.2.3. Microencapsulação da polpa de amora-preta.....	47
4.2.3.1 Formação das microcápsulas por coacervação.....	47
4.2.3.2 Microencapsulação por spray dryer	50
4.3 Eficiência da encapsulação (%)	52

4.3.1 Compostos fenólicos para eficiência da microencapsulação	53
4.3.1.1 Extração dos compostos fenólicos não microencapsulados.....	54
4.3.1.2 Ruptura das micropartículas para liberação dos compostos fenólicos microencapsulados	54
4.4. Caracterização da estrutura formada	54
4.4.1 Microscopia eletrônica de varredura – MEV	54
4.4.3 Colorimetria	55
4.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	56
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	58
5.1. CARACTERIZAÇÃO DA POLPA DE AMORA	58
5.1.1 Compostos fenólicos.....	58
5.1.2 Atividade Antioxidante pelo Método de Redução do Ferro (FRAP)	58
5.1.3 ABTS	58
5.1.4 DPPH Trolox	59
5.1.5 β -caroteno/ácido linoleico	59
5.1.6 Antocianinas.....	59
5.2. Análise estatística no microencapsulado por coacervação	60
5.2.1 Eficiência da microencapsulação por <i>spray dryer</i> e coacervação.....	63
5.2.2 Colorimetria	63
5.2.4 Antocianinas.....	67
5.3 CARACTERIZAÇÃO DAS MICROCÁPSULAS	68
5.3.1 Caracterização das Microcápsulas por microscopia.....	68
5.3.1.1 Microscopia ótica.....	68
5.3.1.2 Microscopia eletrônica de Varredura (MEV)	68
5.3.2 Análises Térmicas	75
6 - CONCLUSÃO	80
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	82

RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi avaliar os métodos de microencapsulação da polpa de amora-preta e caracterizar as antocianinas, compostos fenólicos e características de cor resultantes dos produtos obtidos. Foram utilizados como métodos de microencapsulação a coacervação complexa utilizando gelatina e goma arábica como agentes encapsulantes com posterior liofilização como método de secagem e a atomização por *spray dryer* utilizando maltodextrina como agente encapsulante. Os materiais obtidos pelos dois métodos foram comparados em relação ao teor de antocianinas, em relação a cor por análises colorimétricas pelo método CIELAB, as microestruturas formadas foram analisadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) e a degradação térmica das amostras foi analisada por termogravimetria (TG). Em relação à coloração da polpa de amora-preta *in natura*, o composto microencapsulado por *spray dryer* obteve coloração tendendo mais ao vermelho, característico das antocianinas em pH ácido, devido ao processo que não altera o pH inicial da polpa permanecendo ácido; o produto final obtido pelo método da coacervação obteve coloração final tendendo mais ao azul, característico das antocianinas em pH alcalino, devido ao processo de coacervação que eleva o pH da polpa *in natura*. O produto resultante obtido pelo método do *spray dryer* foi mais eficiente nos teores de antocianinas, resultando em (53 ± 1) mg cianidina-3-glicosídeo/100g, sendo que o método da coacervação resultou em $(10,5 \pm 0,5)$ mg cianidina-3-glicosídeo/100g. As microestruturas formadas foram analisadas por microscopia eletrônica de varredura e verificou-se que pelo método de *spray dryer*, foram formadas microesferas, com diâmetros variando de 3,5 a 9,5 μm e superfície lisa, com leves rugosidades. Pelo método de coacervação as características microscópicas apresentaram uma estrutura complexa, com aspecto disforme, com a formação de mínimas microcápsulas de tamanho variando de 4 a 12 μm , imersas numa mesma matriz polimérica. Pela termogravimetria foi verificado um aumento na estabilidade térmica dos produtos obtidos pela coacervação e *spray dryer* em relação à degradação térmica sofrida pela polpa *in natura*, pois os produtos formados por coacervação e *spray dryer* apresentaram maior estabilidade térmica que a polpa de amora liofilizada. Concluiu-se que a coacervação não demonstrou ser um processo eficiente na microencapsulação da polpa de amora-preta pois obteve os menores teores de antocianinas e menor eficiência de microencapsulação de compostos fenólicos em relação ao processo de *spray dryer*.

Palavras chave: Amora-preta, microencapsulação, antocianinas, compostos fenólicos.

ABSTRACT

The aim of this study is to evaluate the blackberry pulp microencapsulation method that can better keep the anthocyanin, phenolic compounds and color features. It was utilized as microencapsulation method the complex coacervation utilizing gelatin and Arabic gum as encapsulant agents and subsequent lyophilization as drying method and the atomization by spray dryer making use of maltodextrin as encapsulant agent. Comparing the post results using both methods, taking colorimetric analysis by CIELAB method, the formed microstructures were analyzed by electronic scanning microscopy and the thermal degradation of the samples was analyzed by thermal gravimetric analysis (TGA). Regarding the pulp color of blackberry in nature, the microencapsulated compound by spray dryer got tending more color to red, characteristic of anthocyanins in acidic pH, due to the process that does not change the initial pH of the pulp, remaining acid; the final product obtained by the coacervation got tending more color to blue, characteristic of anthocyanins at alkaline pH, due to the coacervation process that raises the pH of the pulp in nature. The resulting obtained product by the spray dryer method was better efficient on anthocyanin levels, resulting (53 ± 1) mg/100g of cyaniding-3-glicosídeo, being the coacervation method results $(10,5 \pm 0,5)$ mg/100g of cyaniding-3-glicosídeo. The formed microstructures were analyzed by electronic scanning microscopy and it was found that the spray dryer method were formed microspheres with different sizes, with diameters varying from 3,5 to 9,5 micrometers and the formed particles maintained the surface smooth with slight roughness. It was found to the coacervation method the microscopic characteristics showed a complex structure, with misshapen appearance, with minimum formation of microcapsules size ranging from 4 to 12 micrometers immersed in the same polymeric matrix. The thermogravimetric concluded the formation of microcapsules due to the increasing of thermal stabilization of products obtained by the coacervation and spray dryer in relation of thermal degradation suffered by the in nature pulp. Results revealed that the coacervation did not prove to be efficient in the blackberry pulp's microencapsulation process since it has the lowest content of anthocyanins and lower efficiency of phenolic compounds' microencapsulation in relation to the spray drying process.

Keywords: Blackberry, microencapsulation, anthocyanins, phenolic compounds.

1. INTRODUÇÃO

O crescente interesse sobre o impacto gerado por compostos bioativos da dieta na promoção da saúde (ABDALLA & ROOZEN, 1999; MOLYNEUX, 2004), tornou mais crescente a busca de novos produtos com propriedades antioxidantes oriundas de fontes naturais presentes nos alimentos. Esses compostos bioativos, destacam-se tanto pela possibilidade de ter aproveitamento como alimentos funcionais quanto pelo fornecimento de compostos que se enquadram como nutracêuticos (ANDRADE- WARTHA, 2007).

A utilização de corantes obtidos a partir de fontes naturais e sua correlação com a atividade antioxidante vem sendo estudada (FALCÃO, 2007) devido à toxicidade de alguns corantes sintéticos e à proibição do uso de alguns deles (TÜRKER, 2006; MACZ-POP *et al.*, 2006; GIUSTI & WROLSTAD, 2003). Desde a década de 90, as fontes mais pesquisadas de corantes naturais envolveram as principais famílias cromáticas: os carotenóides, principalmente aqueles de coloração amarela e laranja; os porfirínicos, de coloração verde, e os flavonóides, principalmente aqueles de cor vermelha, como as antocianinas (FAVARO, 2009).

As antocianinas possuem potencial uso como corante natural e também propriedades terapêuticas, mas devido à sua instabilidade frente a diversos fatores, se fez necessário o estudo e o desenvolvimento de técnicas que promovessem um aumento na estabilidade destes pigmentos, permitindo sua aplicação principalmente na indústria alimentícia (HORST, 2009). Seu uso é indicado para alimentos não submetidos a temperaturas elevadas durante o processamento, com tempo curto de armazenamento e embalados de forma a evitar a exposição à luz, ao oxigênio e à umidade (FENNEMA, 2000).

Muitos compostos, como os aromas e corantes naturais, na indústria de alimentos, são altamente degradáveis, perdendo suas propriedades de interesse e conseqüentemente seu valor de mercado (AZEREDO, 2005). Uma alternativa para reduzir essa degradação seria a aplicação de um processo de microencapsulação, que consiste no empacotamento das partículas em uma microcápsula por um agente de corpo com o objetivo de proteger o núcleo do ambiente externo.

Alguns dos objetivos da encapsulação de componentes de alimentos são: reduzir alterações que podem resultar em perda de aroma, alteração de cor ou perda do valor nutricional; separar componentes reativos ou incompatíveis; reduzir a taxa de migração do núcleo para o ambiente externo; evitar reações prematuras de um substrato; mascarar sabor indesejável; promover melhor solubilidade e melhor incorporação em sistemas secos (DEPYPERE, 2003; PSZCZOLA, 1998; REINECCIUS, 1991). Outro objetivo da encapsulação é permitir que a liberação do material do núcleo ocorra lentamente com o tempo, ou a partir da ocorrência de um certo evento. Esse conceito refere-se ao controle do início da liberação ou da taxa de liberação e é denominado de *liberação controlada* (RISCH, 1995), e ajuda a evitar a utilização inefetiva e a perda de compostos durante o processamento (AZEREDO, 2005).

Uma alternativa para a utilização das antocianinas como corante natural é a utilização desta através de sucos em pó. Os sucos de frutas são produtos de crescente demanda no mercado mundial, e uma aplicação de crescente interesse industrial é a produção de sucos de frutas encapsulados em pó. Entretanto, devido à alta higroscopicidade e a natureza termoplástica desses sucos em pó podem ocorrer problemas durante o processo de encapsulamento como adesão às paredes do secador, aglomeração, entre outros, o que pode ser contornado pela utilização de encapsulantes (BHANDARI *et al*, 1993).

O objetivo do presente trabalho foi avaliar os processos de microencapsulação de polpa de amora-preta pelos métodos de coacervação e *spray-dryer* em relação à estabilidade dos compostos fenólicos e antocianinas, microestrutura e cor da polpa desidratada.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O presente trabalho teve por objetivo avaliar a influência do tratamento para encapsulação da polpa de amora-preta sobre as atividades, degradação e concentrações de seus compostos fenólicos e antocininas, utilizando-se os processos de *spray dryer* e coacervação complexa como técnicas encapsulantes.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Medir o teor de antocianinas e capacidade antioxidante da polpa de amora-preta, e dos produtos microencapsulados por coacervação e *spray drying*.
- Caracterizar a coloração formada na microencapsulação por coacervação e *spray drying* e comparar com as características de coloração originais da fruta.
- Caracterizar a degradação térmica da polpa de amora-preta e dos métodos de microencapsulação por termogravimetria.
- Caracterização morfológica das partículas na microencapsulação por microscopia eletrônica de varredura (MEV).

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 AMORA

A amoreira-preta faz parte de um grande grupo de plantas do gênero *Rubus*, pertencente à família *Rosaceae*, na qual existem outros gêneros de importância para a fruticultura (WSSA, 2005). Seu fruto é denominado de mini drupa ou drupete, onde existe uma pequena semente, sendo que a sua junção forma o que é chamado de fruto agregado (POLING, 1996).

A amoreira-preta (*Rubus* spp.) é uma planta rústica, apresentando frutas de alta qualidade nutricional e valor econômico significativo. Seu cultivo vem crescendo nos estados do Rio Grande do Sul e de São Paulo, e, em Minas Gerais suas qualidades vêm sendo trabalhadas como uma das opções para a pequena propriedade agrícola (ANTUNES *et al.*, 2000; ANTUNES, 2002).

Quando madura, a fruta apresenta coloração vermelho-escura, quase preta, com polpa vermelho-escura, apresentando crescimento rápido e adaptando-se a qualquer tipo de solo, tendo sua frutificação entre setembro e novembro (BIBVIRT, 2005).

O consumo da amora *in natura* (Figura 1), não é muito frequente devido à sua estrutura frágil e alta atividade respiratória dos frutos, pois a vida pós colheita da amora-preta é relativamente curta (máx. de 7 dias à temperatura de 5°C). Em função disso os frutos são comercializados preferencialmente na forma industrializada podendo ser congelados, enlatados, processados na forma de polpa para utilização em produtos lácteos (como matéria-prima ou aditivo de cor e sabor), sucos e geléias (ANTUNES, 2002; ANTUNES; DUARTE-FILHO; SOUZA, 2003; FERRARI ; RIBEIRO; AGUIRRE, 2012).

A amora-preta possui alta presença de compostos polifenólicos, sendo que as antocianinas conferem à polpa e ao suco coloração altamente atrativa (HAMINIUK, 2005), além de ser altamente nutritiva na forma *in natura* contendo elevado conteúdo de minerais, vitaminas B, vitamina A e cálcio; ser rica em compostos bioativos, que são oriundos de metabólicos secundários, como carotenóides, vitaminas, tocoferóis (MOTA, 2006).

Uma forma de agregar valor ao produto "*in natura*", auxiliando na renda dos fruticultores é o processamento das frutas da amoreira-preta, em produtos como geléias, sucos, iogurtes e sorvetes. Após o processamento podem

ocorrer alterações das características funcionais originais da fruta, mas o impacto do processamento sobre as propriedades funcionais da amora-preta ainda está sendo estudado (JACQUES, 2011).

O uso da amoreira preta vem sendo difundido para fins terapêuticos como laxante, expectorante, refrescante, emoliente, calmante, diurético, anti-diabético (variedade nira) e anti-inflamatório (SALGADO, 2003).

Mota (2006) obteve as seguintes médias na caracterização de um suco de amora-preta em diversas cultivares: Umidade: 91,14; pH: 3,3; °Brix: 8,76; Acidez: 1,34% (ácido cítrico); Carboidratos: 5,11%; Antocianinas: 130,73 mg/100g.



FIGURA 1 – AMORA PRETA

Com relação à polpa de amora-preta, Ferrari *et al* (2012) obteve as médias mostradas na tabela 1.

Tabela 1 - Composição físico-química da polpa de amora-preta

Componente	Conteúdo
Umidade (% base úmida)	92,0 ± 0,1
Açúcares redutores (g de açúcar redutor . 100g ⁻¹ b.u.)	5,4 ± 0,3
Açúcares totais (g de açúcar invertido . 100g ⁻¹ b.u.)	6,5 ± 0,2
Lipídeos (100g ⁻¹ b.u.)	0,1
Cinzas (100g ⁻¹ b.u.)	0,2
Teor de sólidos solúveis (Brix)	6,8 ± 0,1
pH	3,31 ± 0,02
Acidez (% ácido cítrico. 100g ⁻¹ b.u.)	0,76 ± 0,02
Antocianinas (mg. 100g ⁻¹ b.u.)	78 ± 2
Compostos fenólicos totais (mg ácido gálico . 100g ⁻¹ b.u.)	211 ± 4

Fonte: Ferrari *et al.* (2012)

3.1.1 Compostos bioativos

Compostos bioativos são constituintes que exibem potente atividade biológica e são naturalmente presentes em pequenas quantidades nos alimentos (COZZOLINO, 2009).

As atividades biológicas das frutas vermelhas, como a amora-preta, são parcialmente atribuídas ao seu elevado teor de fitoquímicos como os flavonóides (antocianinas, flavonóis e flavanóis), taninos (proantocianidinas, elagitaninos e galotaninos), estilbenóides (como o resveratrol), ácidos fenólicos (derivados do ácido hidroxibenzóico e hidroxicinâmicos) e lignanas (SEERAM *et al.*, 2006).

3.1.1.1 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos merecem destaque dentre os fitoquímicos presentes em frutos de amora-preta, devido à sua atividade antioxidante. A capacidade de inativação dos radicais livres pelos compostos fenólicos vem

sendo atribuída à presença de grupamentos hidroxilas (OH-), que possuem capacidade de se ligar a radicais livres presentes no organismo, impedindo sua ação de oxidação de componentes celulares. (SEVERO *et al.*, 2009).

Os compostos fenólicos compõem a classe dos fitoquímicos alimentares, sua fórmula química contém pelo menos um anel aromático, ao qual está unida uma (ou mais) hidroxila(s). Foram identificadas mais de 8000 estruturas fenólicas caracterizadas em 10 classes. Elas variam desde moléculas simples (como os ácidos fenólicos com uma única estrutura aromática), bifenóis (como o ácido elágico) e flavonóides, que contém 2 a 3 anéis aromáticos e polifenóis, contendo de 12 a 16 anéis. Os compostos fenólicos são classificados em dois grupos, flavonóides e não flavonóides (KARAKAYA, 2004; HASLAM, 1998).

Os compostos fenólicos presentes nas plantas são essenciais para o crescimento e reprodução dos vegetais, atuam como agentes antipatogênicos e contribuem na pigmentação, adstringência e estabilidade oxidativa (JACQUES; ZAMBIAZI, 2011).

Em geral os compostos fenólicos podem atuar de várias formas como antioxidantes: combatendo os radicais livres através da doação de um átomo de hidrogênio de um grupo hidroxila (OH) da sua estrutura aromática, pois possui a capacidade de suportar um elétron desemparelhado através do deslocamento deste ao redor de todo o sistema de elétrons da molécula; quelando metais de transição, como o Fe^{2+} e o Cu^{+} ; interrompendo a propagação dos radicais livres na oxidação lipídica; reparando a lesão a moléculas atacadas por radicais livres (PODSEDEK, 2007; KYNGMI, EBELER 2008); atuando como agentes redutores, doadores de hidrogênio e supressores de oxigênios *singletes*, devido a sua capacidade redox (KÄHKÖNEN *et al.*, 1999; ZHENG, WANG, 2001; JOHN, SHARIDI, 2010).

Os compostos fenólicos são incluídos na categoria de interruptores de radicais livres, sendo muito eficientes na prevenção da autooxidação (SHAHIDI, JANITHA, WANASUNDARA, 1992). Na Figura 2 está representada a ação de um composto fenólico frente a um radical livre, na qual ocorre a doação de um átomo de hidrogênio do composto fenólico para o radical livre, estabilizando-o, enquanto o composto antioxidante promove a organização de seu elétron desemparelhado por ressonância (NAWAR, 1996). Estes compostos podem atuar agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo

oxidativo, formando produtos intermediários, relativamente estáveis, devido à ressonância do anel aromático (SOARES, 2002).

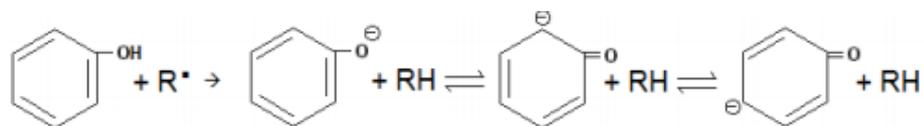


FIGURA 2 - REAÇÃO DE UM COMPOSTO FENÓLICO COM UM RADICAL LIVRE.

FONTE: ADAPTADO DE NAWAR, 1996.

Os flavonóides são subdivididos em 11 classes menores, sendo que as mais importantes são: flavanas, flavanonas, flavonas, isoflavonas, flavonóis e antocianinas conforme a Figura 3 (HARBORNE, 1994; ALKEMA & SEAGER, 1982). A presença e a distribuição dos flavonóides nos vegetais depende de diversos fatores, como ordem e família do vegetal, bem como da variação das espécies. Os flavonóides são formados a partir da combinação de derivados sintetizados da fenilalanina (via metabólica do ácido chiquímico) e ácido acético (DEGÁSPARI, WASZCZYNSKY, 2004).

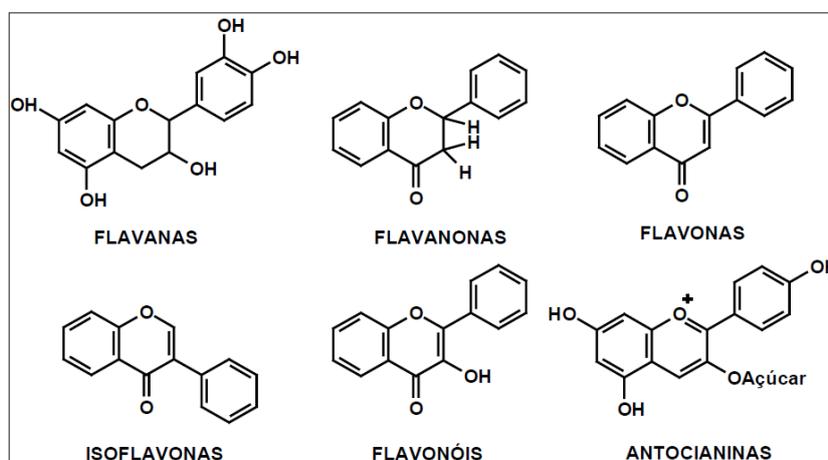


FIGURA 3- ESTRUTURA DOS PRINCIPAIS FLAVONOIDES (HARBORNE, 1994; ALKEMA & SEAGER, 1982).

3.1.1.2 Antocianinas

Dentre os compostos fenólicos do grupo dos flavonóides se encontram as antocianinas (JACQUES, 2011).

As antocianinas são pigmentos naturais que são responsáveis pela coloração de flores, frutas e vegetais são chamados de agentes cromóforos e

estão inseridos em três importantes classes, as porfirinas, os carotenóides e os flavonóides.

As antocianinas pertencem ao grupo dos flavonóides, que apresentam como características o núcleo básico flavílio (cátion 2-fenilbenzopirílio) conforme a Figura 4, que consiste de dois anéis aromáticos unidos por uma unidade de três carbonos e condensados por um oxigênio. A molécula de antocianina é constituída por duas ou três porções: uma aglicona (antocianidina), um grupo de açúcares e, freqüentemente, um grupo de ácidos orgânicos (FRANCIS, 1989).

As antocianidinas (agliconas) são estruturas básicas das antocianinas e, quando são encontradas nas formas glicosadas, são conhecidas como antocianinas. A glicosilação pode ocorrer em várias posições, sendo observada com maior frequência na posição 3. (WROLSTAD; DURST; LEE, 2005). Glicose, ramnose, xilose, galactose, arabinose e frutose são os açúcares mais comumente ligados às antocianidinas, ocorrendo como monoglicosídeos, diglicosídeos e triglicosídeos glicosilados diretamente na aglicona (MALACRIDA & MOTTA, 2006).

As antocianinas possuem uma estrutura química adequada para a ação antioxidante, sendo capaz de doar elétrons ou átomos de hidrogênio para radicais livres (PRIOR, 2003).

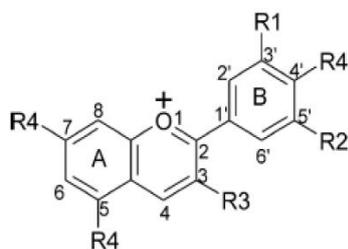


FIGURA 4 - ESTRUTURA DO ÍON FLAVÍLIO CARACTERÍSTICO DAS ANTOCIANINAS, NA QUAL, R1 E R2 SÃO H, OH OU OCH₃; R3 É UM GLICOSIL OU H; E R4 É OH OU UM GLICOSIL.

A cor de uma determinada antocianina está relacionada ao número de grupos hidroxila, à natureza e número de açúcares ligados à molécula, à posição dessas ligações (Figura 5), à natureza e número de ácidos alifáticos ou aromáticos esterificados aos açúcares na molécula (KONG *et al.*, 2003).

As antocianinas diferem de outros flavonóides naturais pela variação de cores que podem apresentar e pela habilidade de formar estruturas de ressonância por variação de pH (CASTAÑEDA-OVANDO *et al.*, 2009). A coloração das soluções de antocianinas sofre influência do número de hidroxilas, grupos metoxilas e glicólicos presentes na estrutura. Quanto maior o número de metoxilas, mais intensa é a cor vermelha; enquanto que mais hidroxilas e grupos glicólicos intensificam a cor azul (ALKEMA, 1982).

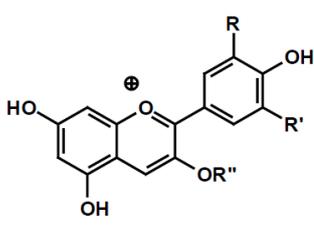
	Antocianina	Grupo R	Grupo R'	Grupo R''
	Cianidina 3-glicosídeo	OH	H	glicose
Cianidina 3-galactosídeo	OH	H	galactose	
Cianidina 3-rutinosídeo	OH	H	rutinose	
Delfinidina 3-glicosídeo	OH	OH	glicose	
Pelargonidina 3-glicosídeo	H	H	glicose	
Malvidina 3-glicosídeo	OCH ₃	OCH ₃	glicose	
Peonidina 3-glicosídeo	OCH ₃	H	glicose	

FIGURA 5 - ESTRUTURA GENÉRICA DE ALGUMAS ANTOCIANINAS (HARBORNE, J. B.; 1994; HARBORNE, J. B.; 1967).

Dentre as antocianinas identificadas em amora-preta, incluem-se a cianidina-3-glicosídeo (SERRAINO *et al.*, 2003), totalizando 80% em termos quantitativos (SERRAINO *et al.*, 2003), e as demais: cianidina-3-arabinosídeo, cianidina-3-galactosídeo, malvidina-3-glicosídeo, pelargonidina-3-glicosídeo, cianidina-3-xilosídeo, cianidina-3-rutinosídeo, cianidina-malonoil-glicosídeo (FAN-CHIANG; WROLSTAD, 2005), cianidina-dioxaloil-glicosídeo, peonidina-3-glicosídeo (SEERAM *et al.*, 2006) e malvidina-acetilglicosídeo (REYES-CARMONA *et al.*, 2005).

As antocianinas são pouco estáveis, pois alguns tratamentos de conservação e armazenamento de alimentos podem levar à degradação destas embora possuam grande valor como corantes naturais de alimentos,. (FRANCIS, 1989).

A principal desvantagem das antocianinas em relação aos corantes sintéticos, deve-se à mudança de coloração decorrente de reações químicas dos produtos alimentícios, pois as antocianinas possuem grupos cromóforos que são bastante sensíveis às alterações de pH do meio. Durante a preparação dos alimentos, o conteúdo de antocianinas pode decrescer em até 50%, durante a lavagem com água, devido à sua solubilidade ou pela

remoção de porções dos alimentos que sejam ricas em flavonóides (ANDERSEN, 1998).

A formação de produtos marrons ocorre devido à degradação térmica, especialmente na presença de oxigênio. O oxigênio ou agentes oxidantes encontrados em alimentos e plantas podem acelerar a degradação das antocianinas (JACKMAN & SMITH, 1992).

A utilização das antocianinas é restrita pela baixa estabilidade em meio aquoso e pH acima de 2,0, condições bastante comuns durante o processamento e estocagem dos alimentos pois o pH é um fator de grande importância na coloração e na estabilidade das antocianinas. Em soluções ácidas, a antocianina é vermelha, mas aumentando-se o pH a intensidade da cor diminui. Em pH 1, o cátion flavílio (coloração vermelha) é a espécie predominante e contribui para as cores vermelha e roxa (Figura 6 - A). Em valores de pH entre 2 e 4, as espécies quinoidais azuis são predominantes (Figura 6 B-D). Em solução alcalina, a cor azul é obtida, porém instável. Em valores de pH entre 5 e 6 duas espécies incolores predominam, que são a pseudobase carbinol (Figura 6 - E) e a chalcona (Figura 6 - F), respectivamente. Em valores de pH maiores que 7, as antocianinas são degradadas dependendo de seus grupos substituintes (Figura 6, reação de degradação). Existem outros fatores importantes na estabilidade das antocianinas como a estrutura química e concentração, a temperatura, a luz, a presença de oxigênio, a degradação enzimática e as interações com outros componentes dos alimentos, tais como ácido ascórbico, íons metálicos, açúcares e copigmentos (MALACRIDA & MOTA, 2006), (CASTAÑEDA & OVANDO *et al.*, 2009).

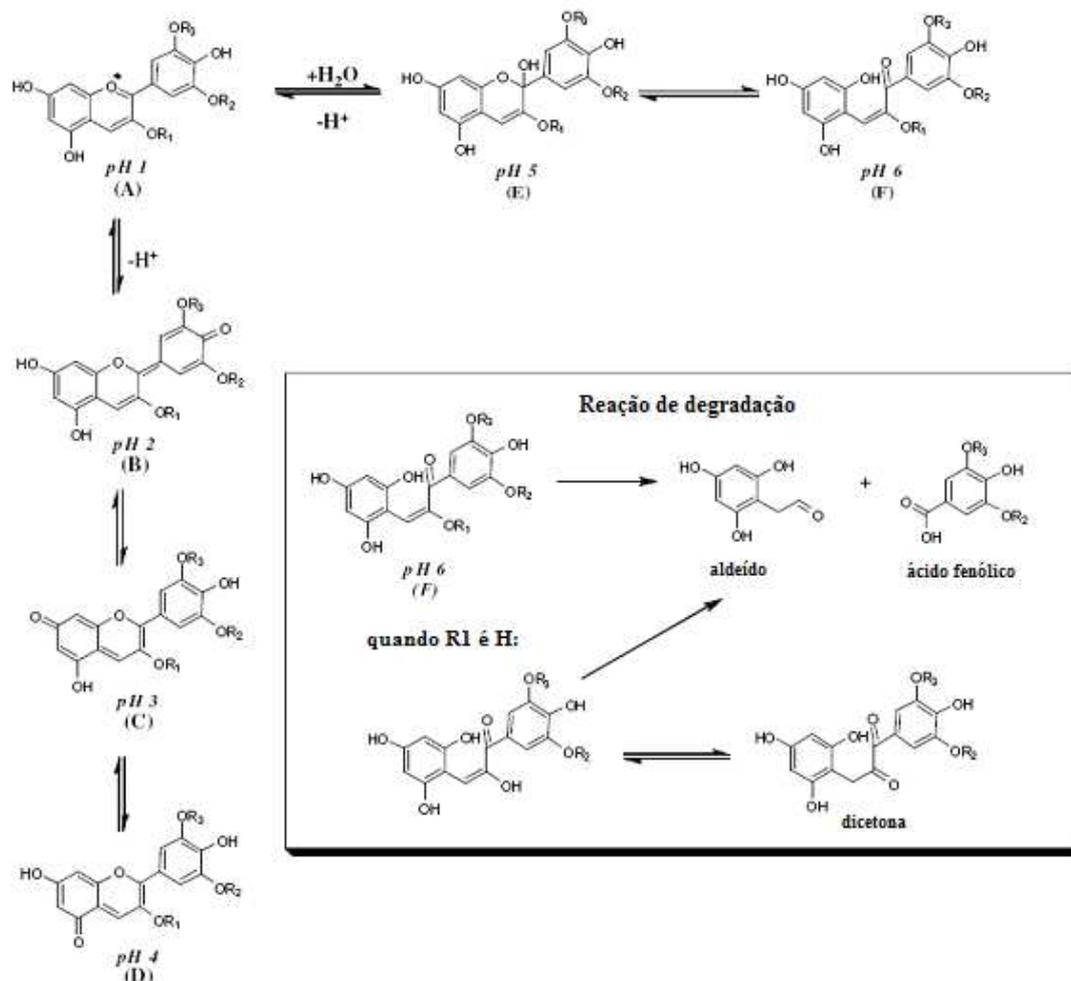


FIGURA 6 - FORMAS QUÍMICAS DE ANTOCIANINAS DEPENDENDO DO PH DA SOLUÇÃO E REAÇÃO DE DEGRADAÇÃO PARA ANTOCIANINAS, ONDE: R₁ = H OU SACARÍDEO, R₂ E R₃ = H OU METIL (CASTAÑEDA-OVANDO *ET AL*, 2009).

Em pH 3,5 e 5,5, as antocianinas retêm a sua coloração original, não se transformando em estruturas incolores (como em solução), por se auto associarem em forma de hélice (por meio de atrações hidrofóbicas e ligações de hidrogênio) com o núcleo flavílio de outra, protegendo os grupos cromóforos da reação de hidratação (BROUILLARD, 1982).

A copigmentação é uma interação molecular que acontece, entre as antocianinas e o copigmento proporcionando eficiente proteção aos cromóforos de antocianinas contra o ataque nucleofílico e, especialmente, a hidratação e perda da cor (MALACRIDA & MOTTA, 2006). É um mecanismo de proteção provavelmente por intermédio de ligações de hidrogênio dos grupos fenólicos, entre a antocianina e moléculas como flavonóides não antociânicos,

antocianinas, alcalóides, aminoácidos, ácidos orgânicos e nucleosídeos, entre outros (LEWIS; WALKER; LANCASTER, 1995).

Íons metálicos trivalentes tais como Al^{3+} e Fe^{3+} são os principais responsáveis pela complexação de antocianinas com metais, pois a forma estrutural das antocianinas quase planar com extensa deslocalização eletrônica facilita a formação de complexos. (HARBORNE, 1994; FRANCIS, 1989).

3.2 MICROENCAPSULAÇÃO

A microencapsulação vem sendo estudada desde a década de 30, onde foi empregada primeiramente com a técnica denominada *pan coating* na área farmacêutica, para obtenção de partículas maiores de 600 μm . (SANTOS; FERREIRA; GROSSO, 2001).

Em sua primeira aplicação comercial, a obtenção de um produto bem sucedido ocorreu em 1954 para a produção de papel cópia sem carbono lançado pela National Cash Register nos EUA, para ser usado com sucesso nos boletos bancários e notas fiscais. Esse papel recebia uma fina camada de microcápsulas de uma tinta incolor, contendo solução de um pigmento adequado, disperso em partículas com diâmetro desde 1 até 10 μm , e tal camada era recoberta com um reagente incolor. A pressão da ponta do lápis na superfície do papel rompia as microcápsulas liberando a tinta incolor, tornando-se colorida ao entrar em contato com o reagente, devido a mudança de pH, produzindo em outra folha uma cópia idêntica ao que estava sendo escrito no primeiro papel (ARSHADY, 1990; RÉ, 2000).

Os primeiros estudos na área de alimentos foram nos anos 60, com a microencapsulação de óleos essenciais, visando o controle da liberação do aroma, prevenção da oxidação e perda de compostos voláteis (RÉ, 2000).

A encapsulação baseia-se na preparação de uma emulsão entre o composto a ser encapsulado e o agente encapsulante, seguido da secagem da emulsão. As micropartículas formadas são compostas por um polímero como material de parede e um material ativo chamado de núcleo. (SANTOS *et al.*, 2005).

A microencapsulação de uma substância facilita sua manipulação, transporte e adição em formulações; solucionando limitações no emprego de

ingredientes alimentícios, suprimindo ou atenuando aromas indesejáveis, reduzindo a volatilidade e a reatividade; aumentando a estabilidade destes compostos em condições adversas, como na presença de luz, oxigênio e pH extremos (TRINDADE; PINHO; ROCHA, 2008).

Entre os métodos de microencapsulação existentes existe uma diferença básica que está no tipo de envolvimento ou aprisionamento do material ativo pelo agente encapsulante (Figura 7), visto que a combinação entre o material e o agente ativo pode ser de natureza física, química ou físico-química (SANTOS; FERREIRA; GROSSO, 2001; GIBS *et al.*, 1999; MOZAFARI *et al.*, 2008; SUAVE *et al.*, 2006), conforme os exemplos citados abaixo:

- Métodos físicos: *spray drying*, *spray cooling*, pulverização em banho térmico, leite fluidizado, extrusão, centrífuga com múltiplos orifícios, co-cristalização e liofilização.
- Métodos químicos: inclusão molecular e polimerização interfacial.
- Métodos físico-químicos: coacervação ou separação de fases, emulsificação seguida de evaporação do solvente, pulverização em agente formador de reticulação e envolvimento lipossômico.

Tecnologia de encapsulação Ilustração das características

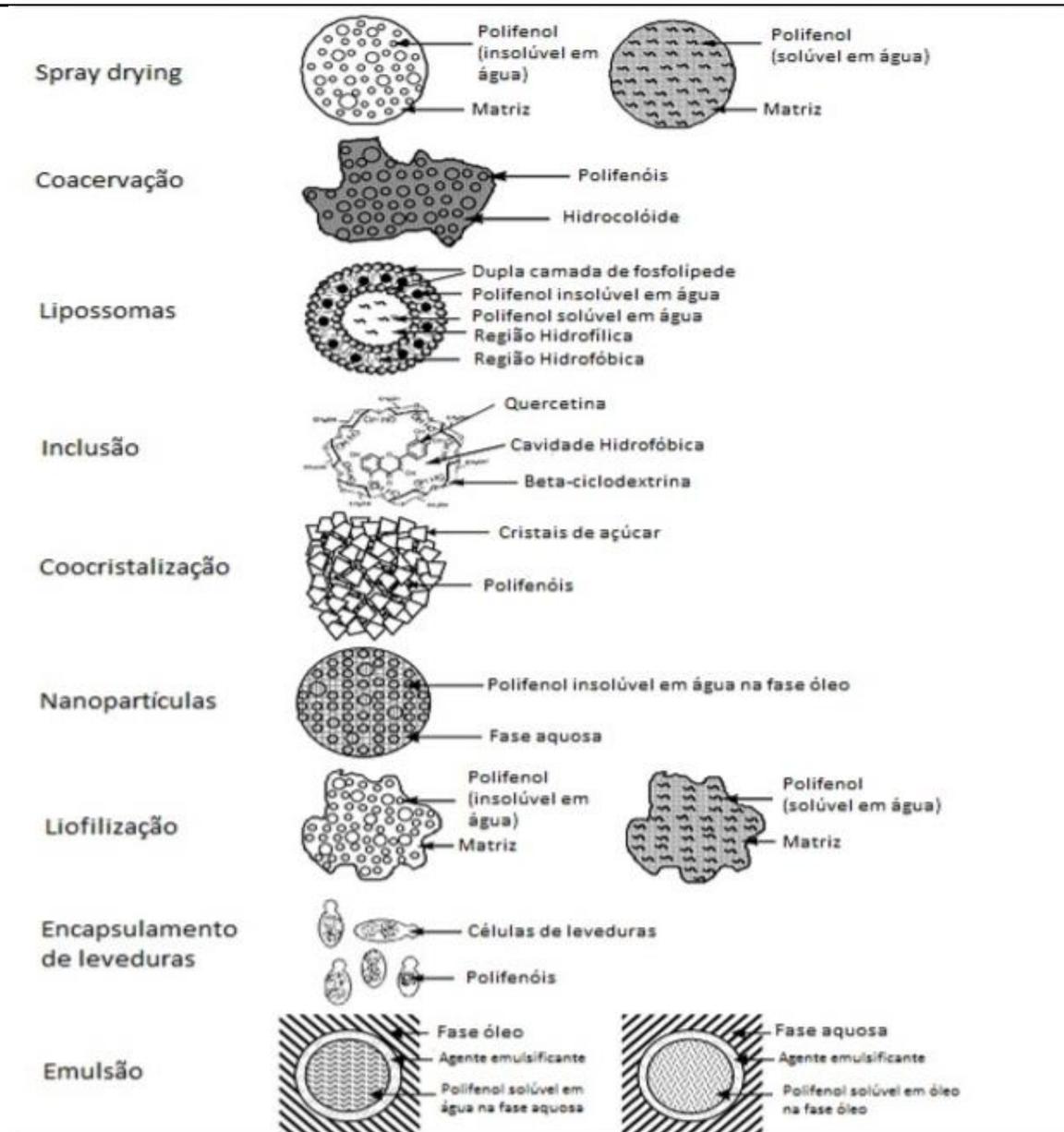


FIGURA 7 - ILUSTRAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS DE ENCAPSULADOS PRODUZIDOS POR DIFERENTES PROCESSOS DE ENCAPSULAÇÃO (FONTE: FANG & BHANDARI, 2010).

Microcápsulas podem ser definidas como embalagens extremamente pequenas, compostas por um polímero conhecido como material de parede, revestimento ou encapsulante e um material ativo chamado de núcleo, fase interna ou recheio (GHARSALLAOUI *et al*, 2007). O ingrediente ativo pode ser, por exemplo, um aditivo alimentício ou um medicamento (ARSHADY, 1993). Para serem consideradas microcápsulas, as partículas devem apresentar um

tamanho entre 0,2 μm e 500 μm . Abaixo de 0,2 μm são consideradas nanocápsulas e acima de 500 μm , macrocápsulas (RÉ, 1998).

Muitas morfologias podem ser produzidas por encapsulação, mas duas principais morfologias são mais comumente vistas: cápsulas mononucleares, as quais têm apenas um núcleo envolto por um revestimento, enquanto que as outras tem muitos núcleos embutidos numa mesma matriz (Figura 8) (SCHROOYEN; VAN DER MEER; DE KRUIF, 2001). Seus formatos específicos em diferentes sistemas são influenciados por tecnologias de processo, por seu núcleo e os materiais de revestimento dos quais as cápsulas são feitas (CHERIEGATE, 2012).

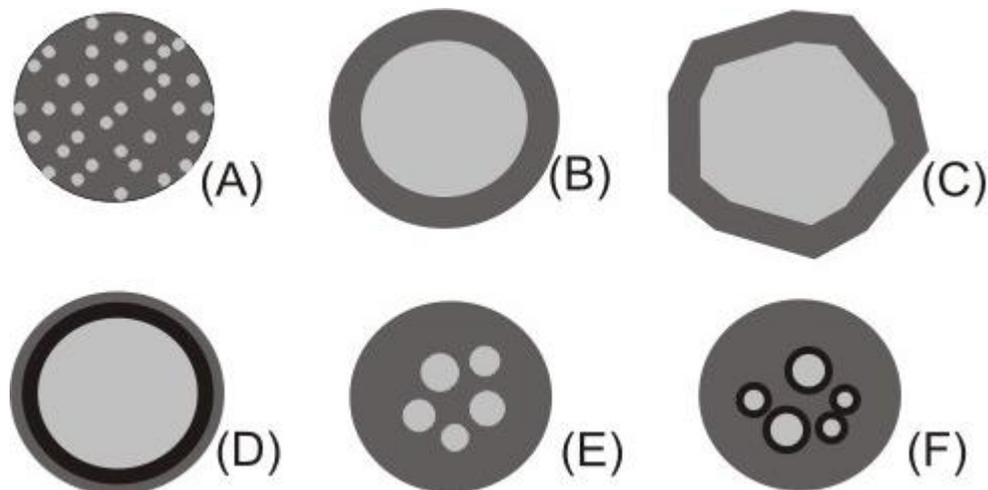


FIGURA 8 -MODELOS DE MICROCÁPSULAS: (A): MATRIZ (MICROESFERA);(B): SIMPLES; (C): SIMPLES,IRREGULAR; (D): DUAS PAREDES; (E): VÁRIOS NÚCLEOS; (F):AGRUPAMENTO DE MICROCÁPSULAS (ARSHADY, 1993; GIBBS, 1999).

As micropartículas são subdivididas em microesferas e microcápsulas, segundo a sua estrutura (Figura 9). São denominadas microesferas as partículas compactas constituídas por uma rede polimérica na qual a substância ativa se encontra distribuída no seu estado sólido ou molecular. Já as microcápsulas são as partículas constituídas por um núcleo interno contendo o agente ativo recoberto por uma camada de polímero de espessura variável (BATYCKY *et al.*, 1997; LINHARD,1988).

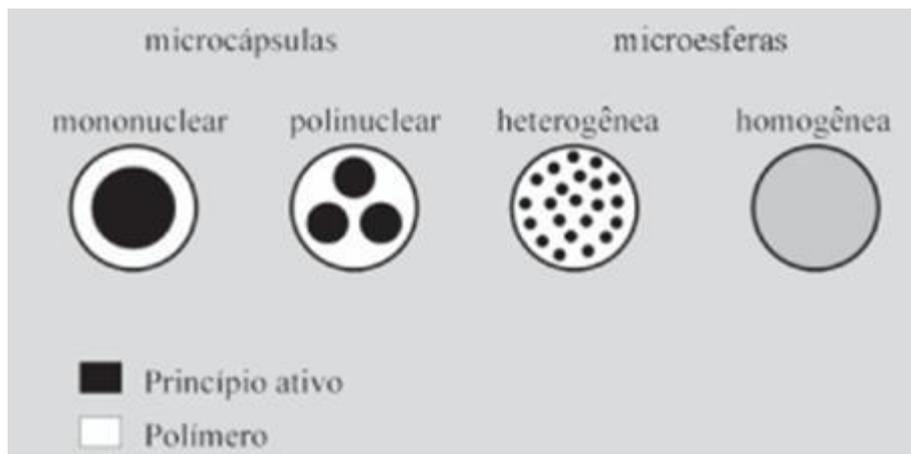


FIGURA 9 - MODELO DA ESTRUTURA DOS DIFERENTES TIPOS DE MICROPARTÍCULAS (SILVA *ET AL.*, 2003).

Através da caracterização morfológica das microcápsulas é possível observar visualmente a ocorrência da formação das microcápsulas, a integridade das paredes e também a distribuição de tamanho e do material encapsulado (ROSENBERG; TALMON; KOPELMAN, 1988).

Os métodos empregados para caracterização das microcápsulas e também avaliação do processo de microencapsulação destacam-se: as microscopias ótica e eletrônica de varredura, que avaliam as estruturas gerais (externa e interna), a análise térmica, a cromatografia e os métodos espectroscópicos, que avaliam a composição da parede e do recheio, o comportamento de liberação através das mudanças de peso, rendimento e atividade do encapsulado, entre outros (SANTOS; FERREIRA; GROSSO, 2001).

3.2.1 Coacervação

O termo coacervação foi introduzido pela primeira vez na química por Bungenberg de Jong e Kruyt em 1929 para descrever o fenômeno de agregação macromolecular formando um sistema coloidal em que existem duas fases líquidas: uma rica (coacervado) e a outra pobre em colóides (sobrenadante) (VILA JATO, 1999). Consiste na deposição do polímero ao redor do agente ativo a ser recoberto pela alteração das características físico-químicas do meio, tais como a temperatura, a força iônica, o pH ou a polaridade (SUAVE, 2006). O ingrediente a ser encapsulado pode estar

presente na mistura de polímeros que vai ser coacervada, em uma das fases poliméricas ou pode ser adicionada durante ou depois da separação de fases. Em todos os casos, deve ser mantida a agitação continuamente (HAMESTER *et al.*, 2006).

A coacervação pode ser simples ou complexa. No sistema simples emprega-se apenas uma substância como agente encapsulante enquanto que, na coacervação complexa, dois polímeros de cargas opostas formam um complexo solúvel e as microcápsulas são formadas pela interação interiônica entre os polímeros.

Dependendo das propriedades físico-químicas do polímero que será empregado e do material a ser encapsulado pode ser realizada em meio aquoso ou orgânico (SUAVE, 2006).

O mecanismo geral da coacervação por separação de fases baseia-se em três etapas, realizadas sob agitação contínua conforme Figura 10 (LEON; HERBERT; JOSEPH, 1990):

Etapa 1 - Formação de três fases quimicamente imiscíveis

Ocorre a formação de três fases, uma fase líquida que corresponde ao veículo, uma fase do material a ser encapsulado e uma fase do material encapsulante.

O agente a encapsular é disperso numa solução do material encapsulante (macromolécula), sendo que o solvente do agente encapsulante é a fase do veículo líquido;

Etapa 2 – Deposição do agente encapsulante

Consiste na deposição do agente encapsulante, que se encontra no estado líquido, sobre o material do núcleo. Esta deposição acontece se o material encapsulante for adsorvido na interface que se forma entre a substância a encapsular e a fase do veículo líquido, constituindo um pré-requisito para um revestimento efetivo. A deposição contínua do material encapsulante é promovida por uma redução da energia livre interfacial total do sistema, provocada pela diminuição da superfície específica do material encapsulante durante a coalescência das gotículas líquidas.

Etapa 3 – Solidificação do agente encapsulante

Consiste na solidificação do material encapsulante, normalmente por técnicas térmicas, de *cross linking* (ligação cruzada) ou dessolvatação, a fim de se formar microcápsulas.

As micropartículas formadas podem ser recolhidas por centrifugação ou filtração, lavadas com solvente apropriado e a secagem pode ser realizada por *spray drying* ou leito fluidizado (WILSON & SHAH, 2007).

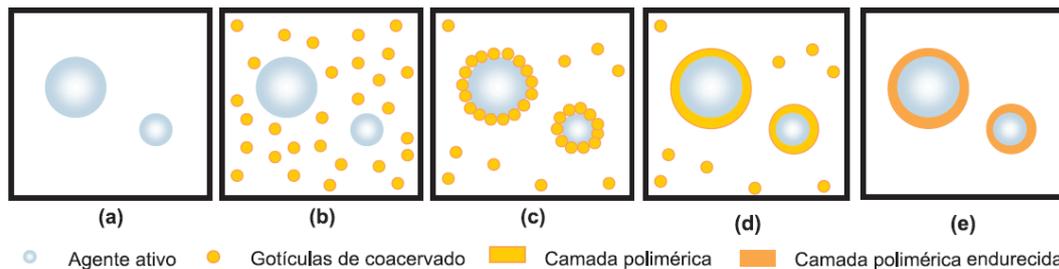


FIGURA 10 - ETAPAS DO PROCESSO DE MICROENCAPSULAÇÃO POR COACERVAÇÃO: (SUAVE ET AL.,2006). A) DISPERSÃO DE MATERIAL DE NÚCLEO NUMA SOLUÇÃO DE PÓLÍMERO DE REVESTIMENTO; B) SEPARAÇÃO DA SOLUÇÃO DE COACERVADO; C)REVESTIMENTO DO MATERIAL DO NÚCLEO POR MICROGOTÍCULAS DE COACERVADO; D) COALESCÊNCIA DE COACERVAÇÃO PARA FORMAR REVESTIMENTO CONTÍNUO EM TORNO DAS PARTÍCULAS DE NÚCLEO.

Durante a coacervação simples e complexa pode ocorrer a agregação das micropartículas preparadas e isso é um problema importuno comumente encontrado. O rápido aumento na viscosidade aparente da região rica em polímero causa essa indesejável coesão e agregação de micropartículas (DONG & BODMEIER, 2006).

3.2.1.1 Coacervação complexa

A coacervação complexa pode ser induzida em sistemas onde estão dispersos dois colóides hidrofílicos com cargas elétricas opostas. A neutralização das cargas positivas de um dos colóides pela carga negativa do outro é utilizada para ocasionar a separação da fase do complexo coacervado (SCHERI; MARQUEZ; MARTUCCI, 2003). Essa técnica consiste em uma separação espontânea de fases, pela formação de um complexo insolúvel entre dois ou mais polímeros. Para a ocorrência do fenômeno, são necessárias duas condições essenciais: os biopolímeros devem estar juntos em solução e as cargas opostas entre as suas cadeias devem estar em quantidades estequiométricas.

Um exemplo de encapsulação por coacervação em sistemas com dois colóides hidrofílicos de cargas elétricas opostas é o sistema gelatina-goma arábica (Figura 11). O processo é conduzido sob contínua agitação, onde o material do núcleo é emulsificado em uma das duas soluções (gelatina ou goma arábica), e a outra solução é então adicionada, formando-se assim um sistema com três fases. O pH inicial deve ser maior que 5,0 (ponto isoelétrico da gelatina); assim, ambos têm cargas negativas e se repelem, sendo portanto miscíveis. A gelatina adquire cargas positivas com a diminuição gradual do pH até 3,8-4,3, que interagem com as cargas negativas da goma arábica, formando-se microcápsulas que se depositam em torno das gotículas do núcleo. Posteriormente, pode-se promover a formação de ligações cruzadas do material com um aldeído, para assegurar maior integridade da cobertura (KING, 1995; VERSIC, 2004).

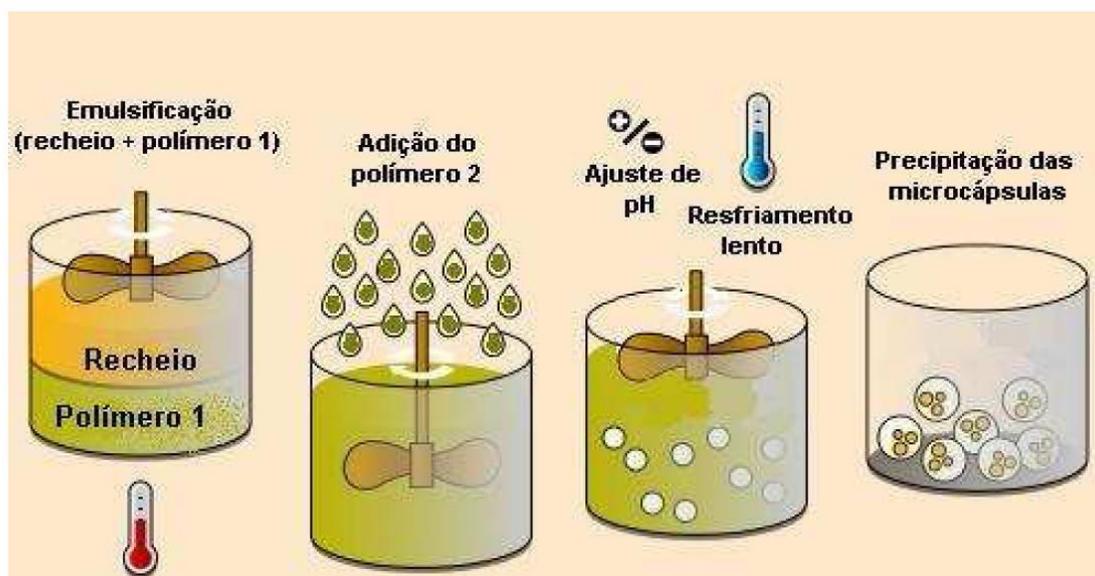


FIGURA 11 - MODELO ESQUEMÁTICO DE MICROENCAPSULAÇÃO POR COACERVAÇÃO COMPLEXA (FONTE: ARAÚJO, 2011).

As misturas de soluções poliméricas podem resultar em dois tipos de interação: segregativas, nas quais ocorre repulsão entre as cadeias de biopolímeros (incompatibilidade) ou associativas, nas quais ocorre atração entre os polímeros (complexação) (SCHMITT *et al.*, 1998; KRUIF; WEINBRECK; VRIES, 2004).

A precipitação dos complexos formados pela coacervação ocorre por interações eletrostáticas, a partir da mistura de soluções de substâncias com cargas opostas. Assim, há a formação de duas fases distintas: uma rica em polímeros, que contém o coacervado precipitado, e outra pobre em polímeros, na qual permanece o solvente da solução (SCHMITT *et al.*, 1998; WANG *et al.*, 2000; FITZSIMONS; MULVIHILL; MORRIS, 2008).

As micropartículas coacervadas podem ser secas, para que se estenda o seu tempo de estocagem e para sua utilização em produtos desidratados, utilizando-se os seguintes métodos de secagem: liofilização, secagem em estufa, remoção da água por solventes e secagem em condições ambientes. Um problema que ocorre é que a maioria destes métodos não permite a obtenção de partículas individualizadas, interferindo no tamanho do produto final e nas propriedades de liberação do recheio. O uso em *spray dryer*, possibilita a obtenção de partículas individualizadas, mas a baixa resistência física da parede compromete a aplicação desse processo para a secagem (THIES, 1995).

3.2.2 *Spray Drying*

Dentre as técnicas de microencapsulação, a atomização por *spray dryer* é uma das mais utilizadas pela indústria de alimentos, e um dos métodos mais antigos tendo sido utilizado para os primeiros compostos de sabor encapsulados na década de 1930. Possibilita preservar a bioatividade de muitos componentes alimentares, sendo uma técnica econômica, com disponibilidade de equipamentos e métodos de produção relativamente baratos quando comparados com outros métodos. (DZIEZAK, 1988; SANTOS; FAVARO-TRINDADE; GROSSO, 2005).

A encapsulação conduzida em um *Spray Dryer* envolve as etapas básicas: preparação da dispersão ou emulsão a ser processada; homogeneização da dispersão; e, finalmente a atomização da massa dentro da câmara de secagem (RISCH; REINECCIUS, 1995; BARROS; STRIGHETA, 2006).

O princípio da técnica consiste em pulverizar o produto em finas gotas formando uma névoa que entra em contato com uma corrente de ar quente

(120 a 250 °C em alimentos agroindustriais) que atua por sua vez como fluido aquecedor e como veículo transportador de umidade. A evaporação transforma as gotas líquidas em partículas sólidas que são separadas mediante um ciclone primário que se forma na saída da câmara de secagem. Mediante uma ventilação de aspiração apropriada, um ciclone secundário recupera as partículas mais finas que tendem a permanecer em suspensão no recinto de secagem, conforme Figura 12 (MAFART, 1994).

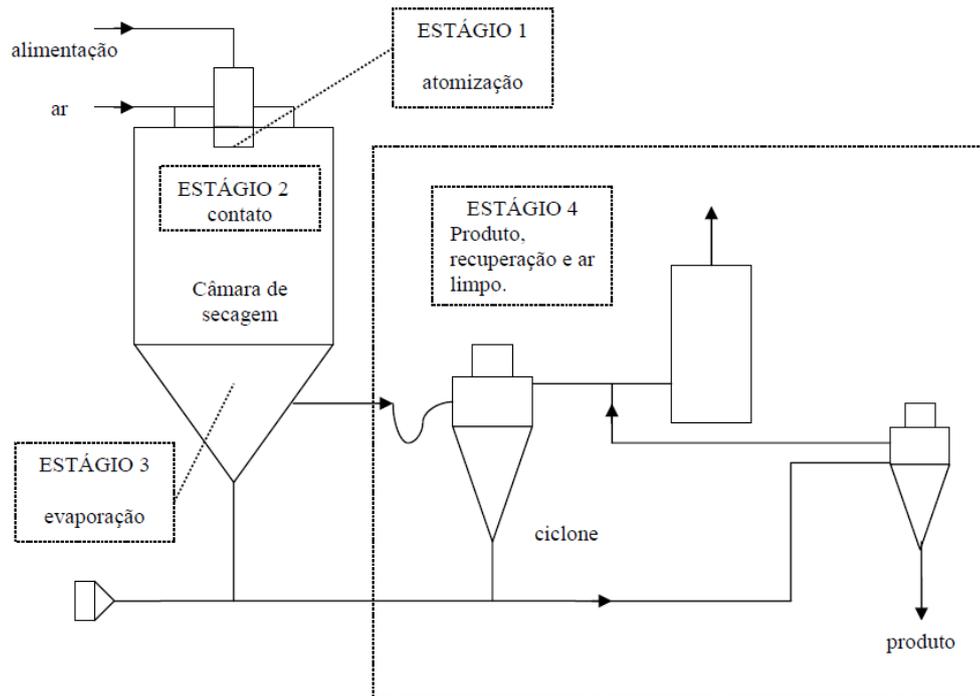


FIGURA 12 – ESQUEMA DE FUNCIONAMENTO DE UM “SPRAY DRYER”. FONTE: (MASTERS, 1979).

3.3. MATERIAIS ENCAPSULANTES MAIS UTILIZADOS

A natureza do material encapsulante é um dos principais fatores que influenciam a estabilidade dos compostos encapsulados (ROSENBERG, 1990).

A escolha do material a ser utilizado deve levar em consideração uma série de fatores, tais como: propriedades físicas e químicas do núcleo (porosidade, solubilidade etc.) e do material de parede (viscosidade, propriedades mecânicas, transição vítrea, capacidade de formação de filme, etc.), compatibilidade do núcleo com o material de parede, fatores econômicos

(BRAZEL, 1999), a não reatividade com o núcleo, o processo utilizado para a formação da microcápsula e o mecanismo de liberação ideal (REINECCIUS, 1988).

Uma boa matriz encapsulante deve apresentar alguns requisitos: fácil manipulação durante o processo; baixa higroscopicidade, para facilitar a manipulação e evitar aglomeração; baixa viscosidade a altas concentrações de sólidos; habilidade para dispersar ou emulsificar e estabilizar o material do núcleo; não reatividade com o núcleo; boas propriedades de formação de filme; liberação completa do solvente ou outros materiais utilizados durante o processo de encapsulação; máxima proteção ao núcleo contra condições adversas, como luz, pH e oxigênio; solubilidade em solventes comumente utilizados; fácil reconstituição; ausência de sabor ou odor desagradável e baixo custo. Na prática, é comum a utilização de misturas de materiais, como um só composto não encerra em si todas essas propriedades (SPARKS, 1981; TRUBIANO & LACOURSE, 1988; SHAHIDI & HAN, 1993).

Para atuar como emulsificante, um composto deve conter grupamentos hidrofílicos e hidrofóbicos; quanto maior a capacidade emulsificante do encapsulante, melhor a retenção de compostos. (TRINDADE; PINHO; ROCHA, 2008).

Os materiais encapsulantes mais utilizados compreendem (SHAHIDI & HAN, 1993):

- Carboidratos: amidos, dextrinas, xarope de milho, sacarose;
- Celulose: carboximetilcelulose, etil, metil, acetil e nitro-celulose;
- Gomas: goma arábica, guar, alginato de sódio, carragena;
- Lipídeos: cera, parafina, triestearina, ácido esteárico, mono e diglicerídeos, óleos e gorduras hidrogenadas;
- Proteínas: glúten, caseína, isolado protéico de soro de leite (WPI), gelatina e albumina, e algumas fontes alternativas como a quitosana.

Na coacervação complexa, os biopolímeros mais indicados são aqueles que apresentam propriedades coloidais hidrofílicas, densidades de cargas adequadas e cadeias lineares. Alguns polímeros possíveis de serem utilizados são: gelatinas, alginatos, albuminas, caseína, ágar, gomas e pectinas (THIES, 1995; JACOBS & MASON, 2003). O mais comumente utilizados são as

misturas de proteínas e polissacarídeos aniônicos. Diversos sistemas de materiais de parede já foram avaliados no processo de coacervação complexa, mas o mais estudado e compreendido é o sistema gelatina-goma arábica (GOUIN, 2004; QV; ZENG; ZIANG, 2001). Enquanto o valor de pH é mantido acima de 6, estes materiais são miscíveis entre si, no entanto, quando o pH é reduzido abaixo do ponto isoelétrico da gelatina, a carga líquida na gelatina torna-se negativa e, interage com a goma arábica carregada positivamente (BURGUNDY, 2011).

As gomas geralmente podem ser definidas como moléculas de alta massa molecular com características hidrofílicas ou hidrofóbicas que, usualmente, possuem propriedades coloidais, capacidade de produzir géis ou soluções viscosas e são baseadas em características físicas e na origem dos materiais em questão (PASQUEL, 2001). As gomas são utilizadas na indústria de alimentos como espessantes e estabilizantes, para suspender partículas e impedir a formação de cristais de gelo. São inertes em termos nutricionais, e a grande maioria é composta de carboidratos naturais (goma guar, goma arábica) ou ainda dos modificados quimicamente (carboximetilcelulose) (OLIVEIRA *et al.*, 2006).

As gomas de sementes permitidas em alimentos são as chamadas galactomananas e apresentam uma cadeia principal formada por manoses e cadeias laterais de galactoses, responsáveis pela solubilidade dos polímeros. Estes polímeros são pouco afetados pela acidez, em decorrência da ausência de cargas com baixos valores do pH.

3.3.1 Goma Arábica

A goma arábica é extraída a partir do exudado de árvores de Acácia, e é uma goma neutra ou levemente ácida. Apresenta alta solubilidade em água e baixa viscosidade em solução, que reduz na presença de um eletrólito e em pHs extremos. Pode ser utilizada em solução com a concentração de até 50%, sendo que acima dessa concentração a dispersão apresenta características de gel (BE MILLER; WHISTLER, 1996).

Graças à sua solubilidade, baixa viscosidade, boas propriedades emulsificantes, sabor suave e alta estabilidade oxidativa conferida ao núcleo, A

goma arábica é considerada historicamente como um material encapsulante por excelência. (KENYON, 1995; REINECCIUS, 1988; THEVENT, 1995).

A goma arábica é constituída principalmente por arabina, mistura complexa de sais de cálcio, magnésio e potássio do ácido arábico. Este ácido é um polissacarídeo que produz L-arabinose, D-galactose, ácido D-glucurônico e L-ramnose, após hidrólise. As unidades de D-galactopiranosose em ligação 1,3 formam a cadeia estrutural da molécula, e algumas das unidades de D-galactopiranosose contêm cadeias laterais na posição C-6, constituídas por duas unidades de D-galactopiranosose em ligação 1,6 terminadas por uma unidade de ácido glucurônico em ligação 1,6. A goma arábica contém 12% a 15% de água e várias enzimas ocultas (oxidases, peroxidases e pectinases) que podem causar problemas em algumas formulações. A goma arábica é composta de duas frações: a primeira composta de polissacarídeos, os quais apresentam pouco ou nenhum material nitrogenado (70% da composição da goma) e a segunda fração composta de moléculas de elevado peso molecular e proteínas integrantes da estrutura. A goma arábica dissolve prontamente em água, gerando soluções claras que variam da coloração amarelo muito pálido para laranja dourado, e com um pH de aproximadamente 4,5. A estrutura altamente ramificada da goma de Acácia senegal dá origem às moléculas compactas, com volume hidrodinâmico relativamente pequeno e, conseqüentemente, as soluções de goma tornam-se viscosas somente a altas concentrações (VOGLER, 2011).

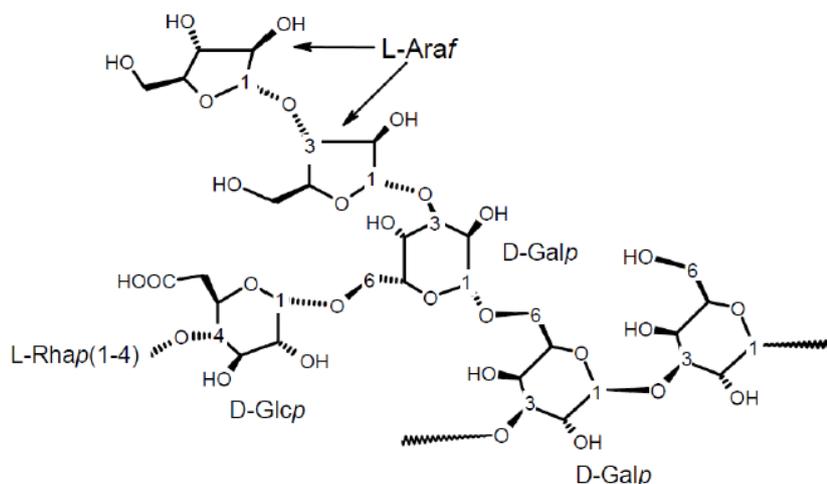


FIGURA 13. ESTRUTURA QUÍMICA DA GOMA ARÁBICA. FONTE: GUILHERME, 2006.

Uma característica funcional da goma arábica é sua habilidade de agir como um emulsificante para óleos essenciais e aromas. Os componentes de alta massa molecular ricos em proteínas são adsorvidos preferencialmente na superfície das gotas de óleos. As cadeias de polipeptídeos hidrofóbicos adsorvem e ancoram as moléculas na superfície, enquanto que os blocos de carboidrato inibem a floculação e coalescência por fenômeno de repulsão eletrostática e estérica (VOGLER, 2011a).

Já que somente parte da goma é envolvida no processo de emulsificação, a concentração necessária para produzir uma emulsão é muito mais alta do que para proteínas puras. Para produzir uma emulsão de 20% de óleo de laranja, por exemplo, é necessária uma concentração de cerca de aproximadamente 12% de goma arábica. Uma vez formadas, as emulsões podem permanecer estáveis por longos períodos de tempo (vários meses), sem evidência de ocorrer coalescência. O aquecimento prolongado de soluções de goma arábica leva a precipitação dos componentes proteínicos fora da solução, influenciando assim as propriedades de emulsificação da goma (VOGLER, 2011a).

3.3.2 Maltodextrina

A maltodextrina, $[(C_6H_{12}O_5)_nH_2O]$, é um polímero sacarídeo nutritivo, tem dextrose equivalente menor que 20, não doce que consiste de unidades D-glicose ligadas por cadeia α 1-4 e que (REINECCIUS *et al.*, 1998).

A maltodextrina possui uma média de 5 a 10 unidades de glicose/molécula. O processo utilizado e a natureza do amido a ser hidrolisado possuem bastante influência na composição e propriedade do produto final (ROBIN *et al.*, 1974).

Apresenta-se como pó branco ou solução concentrada, formada pela hidrólise parcial do amido de milho com ácidos e/ou enzimas. Não possui propriedade emulsificante (hidrofílica e lipofílica), por isso deve ser usada combinada com amidos modificados para estabilizar emulsões. Na encapsulação forma uma película protegendo o material volátil e mostra retenção na faixa de 65 a 80% do material e tem efeito antioxidante (ASCHERI; MARQUEZ; MARTUCCI, 2003).

As maltodextrinas têm sido estudadas como possíveis substitutos para a goma arábica em emulsões atomizadas, devido à sua baixa viscosidade a altas concentrações (MÜLLER, 2011).

3.3.3 Gelatina

A gelatina é uma proteína derivada da hidrólise parcial do colágeno, que é o principal constituinte de peles de animais, ossos, tendões e tecido conectivo. É composta por 18 aminoácidos diferentes que estão unidos por ligações peptídicas na formação da molécula de gelatina, cujo peso molecular médio varia entre 20.000 a 250.000, dependendo do grau de hidrólise do colágeno (VOGLER, 2011b).

As gelatinas comestíveis disponíveis comercialmente possuem em sua composição 84% a 90% de proteína; 2% a 4% sais minerais; e 8% a 12% água. Não contêm carboidratos, gorduras, colesterol ou purina e são livres de qualquer tipo de conservantes. A gelatina, como todas as proteínas, é composta de L-aminoácidos unidos por ligações peptídicas. (VOGLER, 2011b).

O conteúdo em aminoácidos da gelatina é, de cerca de 27% de glicina, 16% de prolina e 14% de hidroxiprolina; os 43% restantes são compostos por outros 17 aminoácidos. Esses números podem apresentar variações. A gelatina apresenta um teor particularmente alto em aminoácidos básicos e ácidos. Dos aminoácidos ácidos (ácidos aspártico e glutâmico), cerca de 1/3 está presente na formação amida, como glutamina e asparagina. A cisteína, bem como o triptofano são totalmente ausentes; dos aminoácidos contendo enxofre, somente a metionina está presente em quantidade muito baixa (VOGLER, 2011b).

A ligação peptídica é obtida pela eliminação de água, condensando um grupo carboxila de um aminoácido com o grupo amina de outro aminoácido. O dipeptídeo obtido possui um grupo $-NH_2$ livre e um grupo $-COOH$; a condensação pode ser repetida várias vezes, levando a cadeias polipeptídicas que formam macromoléculas, chamadas de proteínas. Assim, a gelatina é constituída de várias cadeias polipeptídicas, as quais podem ser livres ou ligadas entre si. A gelatina tem a capacidade de estabilizar superfícies através

da formação de filme, sendo um efeito importante para proteger uma fase dispersa em um determinado meio. Estes efeitos são muito úteis para a produção e estabilização de espumas e emulsões. A gelatina pode ajudar a reduzir a tensão superficial de sistemas aquosos (VOGLER, 2011b).

3.4. ANÁLISES TÉRMICAS

As análises térmicas abrangem um grupo de técnicas na qual uma propriedade física da substância é avaliada em função da temperatura, enquanto a mesma é submetida a um sistema controlado de aquecimento ou de resfriamento. Estas técnicas são principalmente utilizadas para confirmar a encapsulação por serem relativamente simples e demandarem pouco tempo. As mais utilizadas para avaliar a formação das cápsulas são a calorimetria diferencial de varredura (DSC) e análise termogravimétrica (TG). (TAKAHASHI, 2009).

3.4.1. Termogravimetria (TG) e Análise Termica Diferencial (DTG)

A termogravimetria trata-se de um sistema capaz de medir continuamente a massa de um material enquanto este é submetido a uma programação controlada de temperatura. É empregado para avaliar mudanças de massa permitindo determinações específicas, bem como analisar a decomposição térmica das amostras (GIRON, 2002). É uma técnica que se usa para avaliar a estabilidade térmica das micropartículas, que avalia a perda de massa contínua devido à temperatura, que aumenta de forma controlada. Esta perda de massa relaciona-se com a estrutura molecular, surgindo devido à evaporação da mistura residual, quando a temperatura é baixa, ou à deterioração do polímero, quando a temperatura é elevada. A perda de massa traduz-se em uma alteração na composição que é característica de cada polímero. Os resultados de massa perdida são obtidos de um termograma em função da temperatura (CORDEIRO, 2007).

A termogravimetria (TG) permite conhecer detalhadamente as alterações que o aquecimento pode causar na massa das substâncias, como modificações da estrutura molecular e ainda estabelecer a faixa de temperatura

em que as mesmas sofrem processos de decomposição (CARVALHO FILHO, 2000; CEREDA & VILPOUX, 2003).

A termogravimetria derivada (DTG) é um recurso matemático que fornece a derivada primeira da curva TG em função do tempo ou da temperatura. O registro é a curva termogravimétrica derivada ou curva DTG. A área dos picos sob a curva DTG é proporcional à perda de massa naquele evento térmico (WENDLANT, 1986).

Já a análise térmica diferencial (DTA), geralmente plotada em conjunto com a curva TG, é uma técnica de medição contínua das temperaturas da amostra e de um material de referência termicamente inerte, à medida que ambos vão sendo aquecidos ou resfriados em um forno. Estas medições de temperatura são diferenciais, pois registra-se a diferença entre a temperatura da referência e a da amostra, em função da temperatura ou do tempo, dado que o aquecimento ou resfriamento são sempre feitos em ritmo linear (IONASHIRO, 2005).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 MATERIAL

A polpa de amora-preta utilizada nos experimentos foi proveniente da região de Palmas - PR (safra 2012/2013), preparada a partir da extração da polpa de fruta integral orgânica, sem adição de água. A fruta integral, foi adquirida congelada, em embalagens de 1Kg diretamente do produtor.

Na coacervação foram utilizados gelatina incolor Neilar e goma arábica Gastronomy Lab, como agentes encapsulantes; ácido clorídrico 0,5 M como acidulantes e carbonato de cálcio (CaCO_2) para corrigir o pH.

Na microencapsulação por *spray dryer*, foi utilizada maltodextrina 10D Corn Products, como agente carreador.

4.2. MÉTODOS

4.2.1 Obtenção da polpa de amora-preta

A polpa de amora foi preparada submetendo-se a fruta previamente descongelada em mixer industrial para a extração da polpa, sendo em seguida filtrada para a retirada das sementes e resíduos e posteriormente armazenada sob temperatura de congelamento em freezer em recipientes de vidro com tampa.

4.2.2 Caracterização da polpa de amora preta

4.2.2.1 pH e concentração de Sólidos solúveis

Foi realizado a determinação do pH do suco de amora-preta em pHgâmetro da marca Tecnal, e obteve-se o valor de $3,4 \pm 0,2$. Para a determinação da concentração de sólidos solúveis (°Brix) foi utilizado um refratômetro manual e obteve-se o resultado de $8,5^\circ$ Brix.

4.2.2.2 Determinação de compostos fenólicos totais

A determinação do teor de compostos fenólicos totais foi realizada pelo método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu utilizando ácido gálico como padrão de referência. Este método envolve a oxidação dos fenóis pelo reagente de Folin-Ciocalteu, que é uma solução de íons complexos poliméricos formados a partir de heteropoliácidos fosfomolibdicos e fosfotungsticos. Esse reagente oxida os fenolatos, reduzindo os ácidos a um complexo azul Mo-W (SINGLETON, JOSEPH, ROSSI, 1965). A leitura foi realizada a 740 nm em espectrofotômetro.

A polpa de amora foi diluída na proporção 1:100 em etanol. Uma alíquota de 0,5 mL da amostra diluída foi transferida para um tubo com tampa de rosca e adicionado 2,5 mL do reagente Folin-Ciocalteu diluído em água destilada 1:10. Esses reagentes ficaram em repouso por 5 minutos onde foi adicionado 2 mL de carbonato de sódio 4%. Os tubos foram deixados em

repouso por 2 horas ao abrigo da luz. Após as duas horas de repouso, foram feitas as leituras em espectrofotômetro a 740 nm. Uma amostra em branco foi conduzida nas mesmas condições e foi construída uma curva analítica com soluções de 150 ppm, 125 ppm, 100 ppm, 75 ppm, 50 ppm, 25 ppm, 10 ppm, 5 ppm e 2,5 ppm de ácido gálico. Os resultados foram expressos em mg ácido gálico/g de polpa de amora. (MINUSSI *et al.*, 2003; KROYER & HEGEDUS, 2001).

4.2.2.3 Caracterização do potencial antioxidante *in vitro* da polpa de amora-preta

O potencial antioxidante de frutas e hortaliças pode ser medido *in vitro* por diversos métodos. Não há um método que possa avaliar satisfatoriamente a atividade antioxidante total de uma amostra, já que existem diversos mecanismos antioxidantes como o sequestro de radicais, a habilidade redutora, a complexação de íons metálicos, entre outros. Há dificuldades na comparação dos métodos por causa da complexidade e princípios diferentes das reações. Alguns métodos produzem resultados diferentes ou mesmo contraditórios, tornado-se impossível qualquer comparação entre eles. Ao se analisar o potencial antioxidante *in vitro* de um alimento recomenda-se a aplicação de mais de um método (VEDANA, 2008; OU *et al.*, 2002; ALONSO *et al.*, 2002; CAPOCASA *et al.*, 2008; ARUOMA, 2003).

4.2.2.3.1 Determinação da atividade antioxidante total pelo método de redução do ferro (FRAP)

O método FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) – Poder Antioxidante de Redução do Ferro, pode ser aplicado para estudos da atividade antioxidante em extratos de alimentos e bebidas, e também, para o estudo da eficiência antioxidante de substâncias puras, com resultados comparáveis àqueles obtidos com outras metodologias mais complexas (PULIDO, BRAVO, SAURA-CALIXTO, 2000).

O ensaio do FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) está baseado na capacidade de um antioxidante em reduzir o Fe^{3+} em Fe^{2+} . A reação ocorre

pela formação de um complexo 2,4,6-tri(2-piridil)-1,3,5-triazina (TPTZ) com o Fe^{3+} de cor amarelada. Na presença de um antioxidante o ferro presente é reduzido a Fe^{2+} , com a formação do composto $[\text{Fe}^{2+}\text{TPTZ}_2]^{3+}$ de cor azul escura, com uma absorção máxima a 593nm (HUANG; OU; PRIOR, 2005).

A interpretação dos resultados da capacidade antioxidante pelo teste FRAP depende da coloração azul escura produzida após a redução do íon ferro de Fe^{+3} a Fe^{+2} , devido à presença de compostos antioxidantes nas amostras avaliadas. Quanto maior a capacidade antioxidante dos compostos encontrados nas matrizes alimentares estudadas, maior será a redução do íon ferro e, portanto, maior a coloração azul produzida e identificada pelo espectrofotômetro.

A partir da solução padrão de sulfato ferroso (2.000 μM), preparou-se uma curva de calibração. Em ambiente escuro, transferiu-se uma alíquota de 90 μL de cada solução de sulfato ferroso (500 μM , 1.000 μM , 1.500 μM e 2.000 μM) para tubos de ensaio, acrescentou-se 270 μL de água destilada e misturou-se com 2,7 mL do reagente FRAP, homogeneizou-se em agitador de tubos e manteve-se em banho-maria a 37 °C. Realizou-se a leitura (595 nm) após 30 minutos da mistura e utilizou-se o reagente FRAP como branco para calibrar o espectrofotômetro.

Foi plotado em planilha as concentrações de sulfato ferroso (mM) no eixo X e as respectivas absorbâncias no eixo Y e ajustou-se a equação da reta.

A partir da equação da reta, calculou-se a absorbância referente a 1000 mM de sulfato ferroso (PULIDO *et al.*, 2000), de acordo com a Equação 1:

$$y = ax + b \quad \text{(Eq. 1)}$$

Onde,

x = 1.000 μM de sulfato ferroso

y = Absorbância correspondente a 1.000 μM de sulfato ferroso

Em ambiente escuro, transferiu-se uma alíquota da polpa de amora diluída (1:100) e 3 mL do reagente FRAP. Homogeneizou-se e manteve-se em banho-maria a 37 °C por 30 minutos. Após esse tempo, realizou-se a leitura em 595 nm. Foi utilizado o reagente FRAP como branco para calibrar o espectrofotômetro.

4.2.2.3.2 Determinação de atividade antioxidante – ABTS

O método ABTS determina a atividade antioxidante total pela captura do radical livre ABTS (2,2-azino-bis-(3-etil-benzotiazolina-6-ácido sulfônico)), e tem sido amplamente utilizado na avaliação da atividade antioxidante em alimentos e bebidas, devido à sua aplicabilidade na fase aquosa. A atividade antioxidante de produtos naturais é determinada pela descoloração do ABTS, medindo-se a redução do radical a uma absorbância de 734 nm. A absorbância da reação da mistura de ABTS e um antioxidante é comparada com atividade do antioxidante sintético trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico) (padrão), e os resultados são expressos em μmol de Trolox/g de amostra (atividade antioxidante equivalente ao Trolox)

A capacidade de sequestrar o radical (2,2-azino-bis-(3-etil-benzotiazolina-6-ácido sulfônico)) ABTS, foi determinada segundo o método de Re *et al*, (1999).

O radical ABTS^+ , foi gerado a partir da reação da solução aquosa de ABTS (7 μMol) com 2,45 mM de persulfato de potássio. Esta solução foi mantida ao abrigo da luz, em temperatura ambiente por 16 horas e em seguida diluída em etanol até obter, em comprimento de onda 734 nm, uma medida de absorbância de $0,7 \pm 0,05$.

Preparou-se uma curva padrão de Trolox, adicionando-se diferentes concentrações de fenólicos totais à solução do ABTS, atingindo concentração final de 0,25; 1,00 e 1,75 mg de fenólicos totais, e a absorbância registrada em comprimento de onda de 734 nm após 6 min em espectrofotômetro (Shimadzu – UV – 1650 PC). Com os valores obtidos fez-se o gráfico plotando as absorbâncias obtidas com as soluções de Trolox no eixo X e no eixo Y as concentrações de Trolox em μmol para obter o R^2 e a equação do gráfico que será utilizada para calcular a quantidade de μMol de Trolox/g de amostra. A capacidade antioxidante da amostra foi calculada em relação à atividade do antioxidante sintético Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico), nas mesmas condições, e os resultados foram expressos em capacidade antioxidante equivalente ao Trolox. ($\mu\text{Mol TEACg}^{-1}$ de polpa).

4.2.2.3.3 Determinação Atividade antioxidante pelo sistema β -caroteno/ácido linoleico

A medida da atividade antioxidante pelo sistema β -caroteno/ácido linoleico foi determinada segundo metodologia descrita por Ahn *et al.* (2004). Em triplicata, alíquotas de 300 μ L da amostra foram adicionadas a 3 mL da emulsão β -caroteno/ácido linoleico, preparada previamente, e a solução foi incubada em banho-maria à 50 °C, para reação de oxidação. A oxidação foi monitorada em espectrofotômetro a 470 nm, com leituras realizadas no tempo inicial e em intervalos de 20 min, até o tempo final de 100 minutos, utilizando etanol como branco. Para a amostra controle, foi utilizado 300 μ L de etanol 80% juntamente com 3mL da emulsão. A atividade antioxidante foi expressa pela porcentagem de inibição relativa em relação ao controle depois de 100 min de incubação, usando a Equação (2):

$$\%AA = (DR_C - DR_S) / DR_C \times 100 \quad (\text{Eq. 2})$$

onde %AA representa a porcentagem de atividade antioxidante, DR_C a taxa de degradação da amostra controle ($=\ln(a/b)/100$); DR_S a taxa de degradação da substância teste ($=\ln(a/b)/100$); a absorvância inicial no tempo 0 e b a absorvância depois de 100 minutos.

4.2.2.3.4 Atividade antioxidante pelo método do radical DPPH'

A medida da atividade antioxidante pelo método do sequestro do radical DPPH foi realizada segundo metodologia descrita por Brand-Williams *et al.* (1995), com algumas modificações. A mistura de reação foi constituída pela adição de 0,5 mL da polpa de amora, 3,0 mL de etanol absoluto e 0,3 mL da solução do radical DPPH 0,5 mmol.L⁻¹ em etanol. Em paralelo foram realizadas amostras em branco com adição de etanol em substituição a solução de DPPH, para que, assim, pudesse ser descontada uma possível coloração que venha a influenciar na interpretação dos resultados. Foram realizadas em conjunto, amostras controle contendo 3,5 mL de etanol e 0,3 mL de solução do radical

DPPH. Foi realizada curva padrão com o antioxidante sintético Trolox e os resultados foram expressos mmol de Trolox.g⁻¹ de amostra.

4.2.2.4 Determinação do teor de antocianinas

Para a determinação do teor de antocianinas da polpa de amora, foi utilizado o método do pH diferencial proposto pela AOAC (2005), onde as mudanças de colorações são quantificadas por colorimetria, através de diferenças de absorbâncias em espectrofotômetro. Os pigmentos das antocianinas mudam de cor em pH 1,0 e 4,5, sendo a forma de oxônio colorido (pH 1,0) e o hemiacetal descolorido (pH 4,5).

A absorbância foi medida em espectrofotômetro (Pró-análise UV-1600), em 510 nm e 700 nm. Para esse método faz-se a preparação de duas soluções, cloreto de potássio (KCl) a 0,025 mol/L e pH corrigido para 1,0 com ácido clorídrico, e, acetato de sódio (CH₃COONa) a 0,4 mol/L e pH corrigido para 4,5 com ácido clorídrico (HCl).

As amostras foram diluídas na proporção 1:5 (600 µL de amostra para 2400 µL de solução tampão), a diluição foi realizada em um tubo de ensaio e para o branco foi utilizado água destilada.

Procederam-se as análises transferindo 0,5 mL de polpa de amora, na diluição 1:10 para tubo de ensaio contendo 2 mL de solução tampão cloreto de potássio (pH 1,0) e uma alíquota de 0,5 mL da amostra, para tubo de ensaio contendo 2,0 mL de solução tampão acetato de sódio (pH 4,5). Aguardou-se 20 minutos e realizou-se a leitura das amostras dos dois tampões nos comprimentos de onda 520 e 700 nm em espectrofotômetro zerado com água destilada.

Expressaram-se o resultados em miligramas de cianidina-3-glucosídeo por litro de amostra (mg cianidina-3-glucosídeo/L), conforme equação abaixo:

$$A = \frac{AT \times (10^3 \times PM \times df)}{\epsilon} \quad (\text{Eq. 3})$$

$$AT = (A_{520\text{nm}} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH } 1,0} - (A_{520\text{nm}} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH } 4,5} \quad (\text{Eq. 4})$$

onde:

PM= 449,2 g/mol (massa molar da cianidina-3 glucosídeo)

df= fator de diluição

ϵ = 26900L/mol.(absortividade molar da cianidina-3-glucosídeo)

λ = 1 cm(comprimento caminho óptico da cubeta)

4.2.3. Microencapsulação da polpa de amora-preta

4.2.3.1 Formação das microcápsulas por coacervação

A polpa de amora foi submetida à microencapsulação por coacervação, utilizando-se gelatina e goma arábica como agentes encapsulantes. Esses encapsulantes foram utilizados de forma combinada em diferentes proporções, a fim de determinar a proporção em que ocorresse a separação de fases no teste de gelificação.

Para realizar o teste de gelificação, foi testado várias concentrações de gelatina e de goma arábica na formulação, de acordo com a Tabela 2. Neste caso, os ensaios foram realizados por um delineamento experimental Box-Behnken do tipo 3^{3-1} , totalizando 9 ensaios.

Foi avaliado de maneira qualitativa entre não gelificou, gelificou parcialmente, separação de fases, gelificação total e foi atribuído pesos para cada resultado obtido respectivamente.

Tabela 2 – Fatores utilizados no delineamento experimental

	(-1)	0	(+1)
Fatores			
Gelatina	2%	4%	6%
Goma arábica	5%	7,5%	10%

As dispersões da polpa com o material encapsulante foram homogeneizadas por meio de um agitador de bancada por aproximadamente 5 minutos em velocidade máxima.

A gelatina foi dissolvida em água destilada, com formação de um "sol" e então aquecida a 40 °C para solubilizar, a seguir foi emulsionada com a polpa de amora na proporção de 1:1 em agitador de bancada na velocidade máxima.

Foi utilizado carbonato de cálcio (CaCO_2) para aumentar o pH na solução de gelatina e polpa de amora até 5,0. Observou-se que ao adicionar o

carbonato de cálcio (CaCO_2), a coloração do suco mudou de avermelhada para arroxeada, devido à mudança de pH ocorrida.

À mistura foi então adicionado aproximadamente 1 parte de solução de goma arábica previamente hidratada. A goma arábica utilizada foi lentamente incorporada à emulsão, com auxílio de um agitador de bancada para promover uma melhor adesão do material conforme Figura 14.



FIGURA 14 - EMULSÃO (POLPA DE AMORA, GELATINA E GOMA ARÁBICA).

Para promover a coacervação, o pH foi reduzido até 4,0 com ácido clorídrico 0,5 M, à temperatura de 40 °C. (ARAÚJO, 2011).

À medida que o pH foi sendo reduzido formaram-se microcápsulas de material coacervado de gelatina carregada positivamente e goma arábica carregada negativamente depositando em torno das gotículas.

O material foi mantido em refrigerador, a aproximadamente 12 °C por 24 horas em repouso, para promover a decantação e ocorrer a separação de fases, conforme Figura 15.

A proporção de gelatina combinada com a goma arábica em que ocorreu a separação de fases foi gelatina 4% e goma arábica 10%.

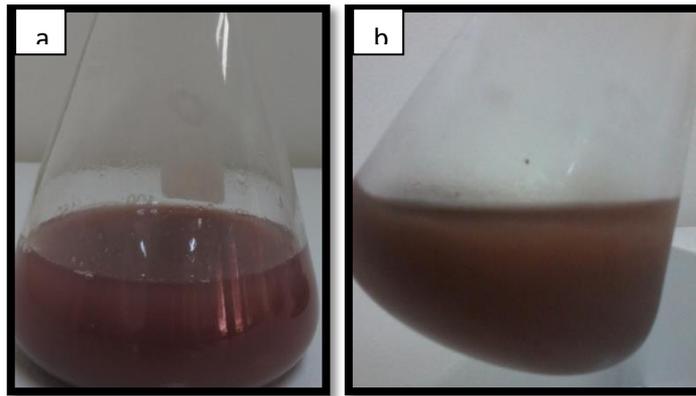


FIGURA 15 MATERIAL COACERVADO ANTES DE REPOUSO A) E MATERIAL COACERVADO APÓS REPOUSO B).

Após a separação de fases, o material foi submetido a centrifugação, a 2000 rpm por 7 minutos para separar as microcápsulas, conforme Figura 16, e descartar o sobrenadante. Em seguida o material resultante foi congelado e após 12 horas desidratado em liofilizador apresentado na Figura 17.



FIGURA 16 - MATERIAL COACERVADO APÓS CENTRIFUGAÇÃO.



FIGURA 17- LIOFILIZADOR UTILIZADO NA SECAGEM DAS AMOSTRAS MICROENCAPSULADAS POR COACERVAÇÃO

4.2.3.2 Microencapsulação por spray dryer

No experimento realizado para microencapsulação da polpa de amora-preta por *spray dryer*, a polpa de amora foi filtrada em peneira de 425 nm para uniformizar as partículas. O teor de sólidos solúveis resultou em 8° Brix.

O preparo da mistura a ser encapsulada consistiu em diluir 60 g de maltodextrina a 120 mL de água destilada quente sob contínua agitação, por aproximadamente 2 min, em agitador de bancada, a 4800 rpm/min por 3 min para que a maltodextrina se dissolvesse na água, conforme Figura 18.

Após resfriar, a solução foi levada à agitação constante a 4000 rpm e, em seguida, foi adicionado à mistura 750 g de polpa de amora lentamente, permanecendo em constante agitação por 5 min conforme Figura 19. Obteve-se na mistura final um teor de sólidos solúveis de 12%.

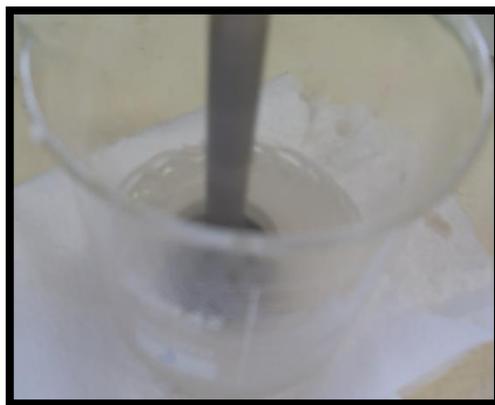


FIGURA 18– SOLUÇÃO MALTODEXTRINA

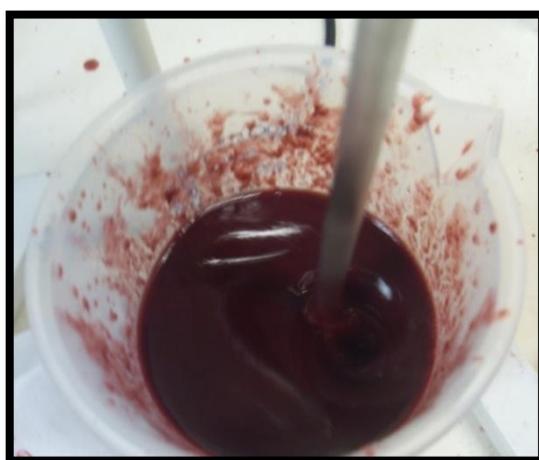


FIGURA 19 – EMULSÃO (POLPA DE AMORA E MALTODEXTRINA)

Em seguida, a atomização foi conduzida e as microcápsulas foram obtidas em secador por atomização, *spray dryer* de bancada modelo MSD 1.0, da marca LABMAQ do Brasil, com bico atomizador de 1,0 mm de diâmetro, com vazão máxima de 1L.h^{-1} conforme Figura 20.

Foi utilizada uma média das condições consideradas ótimas de operação, à $151\text{ }^{\circ}\text{C}$ do ar de secagem de entrada e $90\text{ }^{\circ}\text{C}$ de saída do secador, fluxo de ar comprimido de 50 L.min^{-1} , fluxo de ar de secagem de $3,6\text{ m}^3.\text{min}^{-1}$ e vazão de alimentação de $0,60\text{ L.h}^{-1}$.



FIGURA 20– *SPRAY-DRYER* UTILIZADO PARA A MICROENCAPSULAÇÃO DA POLPA DE AMORA.

Tonon (2009) realizou a microencapsulação por *spray dryer* de suco de açaí e verificou a influência da temperatura do ar de secagem sobre a manutenção das antocianinas presentes no suco. Os melhores resultados foram obtidos entre as temperaturas de entrada entre 138 °C e 170 °C e saída de 83 °C e 97 °C respectivamente, obtendo-se valores de antocianinas de 83% para entrada de 138 °C, e, 97% para entrada de 170 °C.

Neste experimento, utilizamos uma média das condições de pesquisa do açaí por acreditarmos ser parecidos e verificamos as quantidades de antocianinas obtidas. Outros estudos podem ser utilizados para a otimização do processo.

4.3 Eficiência da encapsulação (%)

A eficiência da encapsulação define a quantidade de substância retida no interior das microesferas e depende, entre outros fatores, da afinidade entre o material de parede e a substância microencapsulada. Foi considerada como eficiência de encapsulação a relação existente entre a quantidade de compostos fenólicos não encapsulados pelo método do *spray dryer*, presentes

na superfície das micropartículas, e o total de compostos fenólicos que foram microencapsulados.

O experimento para eficiência da encapsulação foi dividido em duas etapas, sendo a primeira a de extração dos compostos fenólicos que não foram microencapsulados, e a segunda etapa a ruptura das micropartículas, para quantificação dos compostos fenólicos que nelas estavam contidos.

A eficiência de encapsulação foi calculada usando a seguinte equação:

$$\text{Eficiência de encapsulação (\%)} = (FT - FS) / FT \times 100 \quad \text{(Eq. 5)}$$

Onde FT (fenólicos totais após a ruptura) é a quantidade de compostos fenólicos de uma quantidade conhecida de microcápsulas e FS (fenólicos da superfície) a quantidade de compostos fenólicos contidos na mesma quantidade de microcápsulas (SEMALAT; MUHAMAD; SARMIDI, 2009).

4.3.1 Compostos fenólicos para eficiência da microencapsulação

Para análise de eficiência da microencapsulação foi realizado análise de compostos fenólicos totais segundo metodologia descrita por Singleton *et al.* (1999), com algumas modificações. Em um tubo com tampa de rosca, foi preparada uma solução contendo 0,1 mL das amostras diluídas em 3,0 mL de água destilada e 0,25 mL de reagente Folin-Ciocalteu. Após três minutos de repouso foram adicionados 2,0 mL de solução de carbonato de sódio 7,5 %. Logo após, o tubo foi devidamente tampado e encubado em banho-maria à 37 °C por trinta minutos. A seguir, foram feitas leituras das absorvâncias em espectrofotômetro a 765 nm. Uma amostra branca foi realizada utilizando 2,0 mL da solução de carbonato de sódio 7,5% e 3,0 mL de água destilada.

Os teores de compostos fenólicos totais foram determinados por interpolação da absorvância das amostras em uma curva de calibração construída com padrões de ácido gálico (50 a 500 mg/L).

4.3.1.1 Extração dos compostos fenólicos não microencapsulados

Para extrair os compostos fenólicos localizados nas superfícies das micropartículas foram dissolvidos 0,2 g da polpa de amora microencapsulada em 2,0mL de etanol. A mistura foi agitada num agitador tubo e centrifugada a 4000 xg durante 2 minutos. Em seguida foi quantificado o teor de compostos fenólicos do sobrenadante em espectrofotômetro UV, conforme metodologia descrita no item 4.3.1. O resultado obtido foi utilizado para cálculos da eficiência da encapsulação (item 4.3 – Eq. 5).

4.3.1.2 Ruptura das micropartículas para liberação dos compostos fenólicos microencapsulados

A ruptura das micropartículas foi realizada a fim de avaliar a eficiência da microencapsulação. Segundo metodologia descrita por Nori *et al.* (2011), 0,2 g da polpa de amora microencapsulada foi adicionada de 2,0mL de citrato de sódio 10% (m/v). Em seguida, o pH foi elevado para 8,0 com solução de NaOH 0,1 mol.L⁻¹. Esta mistura foi agitada num misturador de tubo vórtex por dois minutos. Em seguida, 5,0 mL de etanol 99,5% (v/v) foram adicionados à mistura, mantendo em agitação durante mais dois minutos. A mistura foi centrifugada a 4000xg durante vinte minutos. Em seguida, foi quantificado o teor de compostos fenólicos em espectrofotômetro UV, conforme descrito no item 4.3.1. O resultado obtido foi utilizado para cálculos da eficiência da encapsulação (item 4.3).

4.4. Caracterização da estrutura formada

4.4.1 Microscopia eletrônica de varredura – MEV

A microscopia eletrônica de varredura – MEV, é uma técnica bastante usada para analisar a morfologia dos produtos encapsulados. Por esta técnica, os elétrons são acelerados numa coluna e atingem a superfície da amostra. O feixe de elétrons produzido pelo filamento de tungstênio, é emitido da fonte e acelerado por uma tensão de -0,5 a -30Kv, o que forma um pequeno feixe de cruzamento (*crossover*). O feixe passa por lentes condensadoras e pela lente

objetiva. A aquisição dos sinais produzidos pela interação entre o feixe de elétrons e a amostra irá formar as imagens do MEV. Estes sinais vão sofrendo modificações de acordo com as variações da superfície à medida que o feixe de elétrons primários vai varrendo a amostra. Os elétrons secundários são os responsáveis pela obtenção das imagens de mais alta resolução e fornecem uma imagem de topografia da superfície da amostra (HAWKES & SPENCE, 2007; SILVA *et al.*, 2010).

4.4.3 Colorimetria

A colorimetria é um sistema onde são utilizadas técnicas instrumentais por espectrofotômetros para obter avaliações objetivas da cor através dos sistemas de cores (Munsell, Hunter, CIE, CIE Lab), definindo o espaço cromático em coordenadas retangulares (L^* , a^* , b^*). A luminosidade é representada por L^* (onde 0 representa preto e 100 representa branco), enquanto que a intensidade da cor é definida pelos parâmetros de croma a^* e b^* , onde a^* varia do vermelho (positivo) ao verde (negativo) e b^* do amarelo (positivo) ao azul (negativo) (HUNTERLAB, 1996). Na Figura 21 é mostrada a representação das coordenadas retangulares (L^* , a^* e b^*).

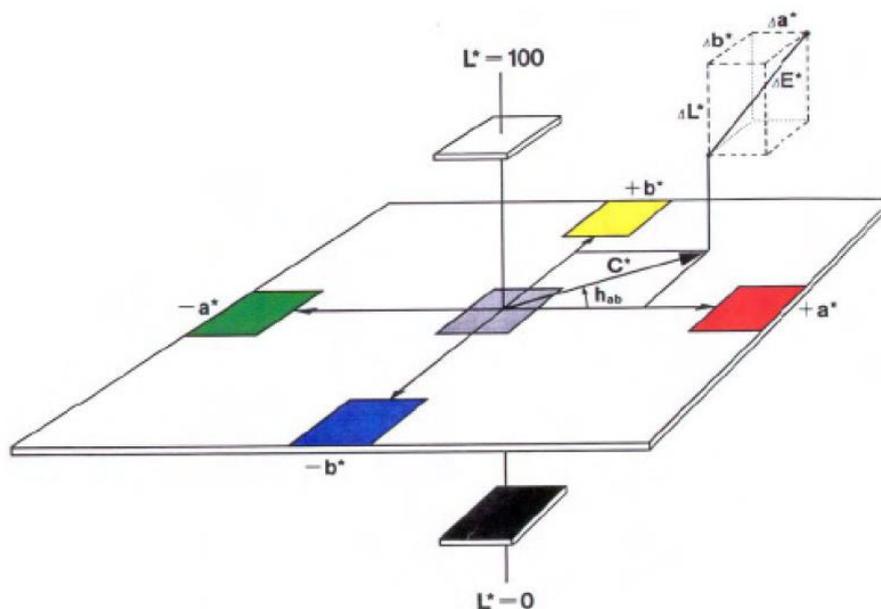


FIGURA 21 - ESQUEMA COLORIMÉTRICO CIE LAB (CIE, 1976).

Os produtos em pó obtidos pelo microencapsulamento da polpa de amora-preta por *spray dryer* e por coacervação foram analisados comparando-se com a polpa *in natura* no colorímetro Minolta, previamente calibrado em superfície de porcelana branca. A calibração se dá posicionando o canhão de leitura no centro da placa de calibração, pressionando a tecla *calibrate*, em seguida a tecla *measure* e obtendo-se três flashes de luz.

A determinação da cor em alimentos dá-se posicionando o canhão de leitura sobre a amostra ou colocando a amostra no compactador de amostra e em seguida posicionando o canhão. Após isso deve-se pressionar o botão *measure*, em seguida os resultados são impressos e mostrados no display do equipamento.

4.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os experimentos de gelificação de gelatina *versus* goma arábica na microencapsulação por coacervação foram avaliados pelo teste da Análise de Variância (ANOVA).

A ANOVA, é o método mais utilizado para a análise de estudos de repetitividade e reprodutibilidade. Usando a ANOVA, a variabilidade pode ser decomposta em repetitividade e reprodutibilidade, sendo possível também avaliar a interação entre os dois componentes. Possibilita estimativas mais precisas da variabilidade do sistema através do cálculo do erro aleatório, obtido com as repetições, e, o erro de medição é composto pela dispersão do instrumento, pelo efeito do avaliador e pelo erro aleatório, devido às replicações (AIAG, 2002).

Os parâmetros colorimétricos da dissolução dos pós obtidos pelos métodos de microencapsulação por *spray dryer* e coacervação foram avaliados quanto à diferença entre as análises pelo teste de Student ou teste t,

Onde $t = \frac{\mu_1 - \mu_2}{\sqrt{S^2 \left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right)}}$ **(Eq. 6)**

$$\sqrt{S^2 \left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right)}$$

O teste de *Student*, ou simplesmente teste t, é o método mais utilizado para se avaliarem as diferenças entre as médias de dois grupos. Toda vez que o valor calculado de t, em valor absoluto for igual ou maior do que o tabelado, conclui-se que as médias não são iguais, ao nível de significância estabelecido.

O teor das antocianinas da polpa de amora e dos produtos obtidos por microencapsulação por *spray dryer* e coacervação foi avaliado pelo teste de Tukey, com $p < 0,05$.

Os resultados da caracterização dos compostos bioativos da polpa de amora-preta foram avaliados em triplicata pelas médias e desvio padrão.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. CARACTERIZAÇÃO DA POLPA DE AMORA

5.1.1 Compostos fenólicos

Verificou-se que o teor de compostos fenólicos encontrado para a polpa de amora foi de 181,14 mg ác. gálico/100g de polpa de amora-preta, calculado através da equação da reta de uma curva padrão de ácido gálico ($R^2= 0,9992$) (Anexo A).

Segundo relatos da literatura, ocorre uma variabilidade no conteúdo de compostos fenólicos totais em amora-preta. Ferrari (2012) encontrou 210,71 mg ácido gálico/100 g em polpa de amora-preta. Uma variação nos teores de compostos fenólicos de 261,95 a 929,62 mg ácido gálico/100 g foi encontrado em amora fresca pela Embrapa Clima Temperado, (2008); 569,89 mg ác. gálico/100 g amora (CHIM, 2008), até 1983,70 mg ác. gálico/100 g polpa de amora (JACQUES, 2009).

5.1.2 Atividade Antioxidante pelo Método de Redução do Ferro (FRAP)

O resultado da capacidade antioxidante da polpa de amora em reduzir o Fe^{3+} em Fe^{2+} pelo método da redução do ferro, foi 9184,595 $\mu\text{mol } Fe^{+2}/\text{mg}$ de polpa de amora-preta, calculado a partir da equação da reta obtida pela curva padrão de sulfato ferroso ($R^2= 0,9977$) apresentado no Anexo B, comprovando que a polpa tem alta atividade antioxidante.

5.1.3 ABTS

As medidas foram realizadas a 734 nm em espectrofotômetro no tempo de 6 minutos após a adição da amostra. Preparou-se uma curva padrão com Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico) e os resultados foram calculados a partir da equação da reta de uma curva padrão de trolox ($R^2=0,9994$), e expressos em $\mu\text{mol de TEAC.g}^{-1}$ de amostra, sendo 14,931 a 15,613 $\mu\text{mol de trolox/ ml}$ de polpa de amora (Anexo C).

5.1.4 DPPH Trolox

O resultado para atividade antioxidante da polpa de amora-preta pelo método do DPPH foi calculado com base em equação da reta de uma curva padrão ($R^2=0,9985$). Os resultados foram expressos em μmol de trolox/g sendo 7657,143 μmol de trolox/ml de polpa de amora (Anexo D).

5.1.5 β -caroteno/ácido linoleico

O método pelo sistema β -caroteno/ácido linoleico nos permitiu analisar o potencial da polpa de amora de inibir, ou retardar, a oxidação do β -caroteno, protegendo-o dos radicais livres produzidos na peroxidação do ácido linoleico, portanto a porcentagem de inibição da oxidação da polpa de amora-preta foi de 67 %.

5.1.6 Antocianinas

O valor encontrado de antocianinas para a polpa de amora-preta foi de 164,317 mg cianidina-3-glucosídeo/100g \pm 0,445, utilizando-se a metodologia descrita no item 4.2.2.4.

Tabela 3 - Caracterização dos compostos bioativos da polpa de amora-preta por diferentes métodos.

MÉTODOS	VALORES MÉDIOS	R ²
Compostos fenólicos	(181 \pm 6) mg/100g	0,9992
FRAP	9184,595 μmol de Fe ⁺² /mg	0,9977
ABTS ^{•+}	15,613 μmol de trolox/mL	0,9994
DPPH [•]	7657,143 μmol trolox/mL	0,9985
β - Caroteno/Ácido Linoléico	67%	
Antocianinas	164,3 \pm 0,4 mg cianidina-3-glicosídeo /100g	

*Valores médios, R² – Coeficiente de determinação.

5.2. Análise estatística no microencapsulado por coacervação

Os ensaios de gelificação realizados para coacervação com o produto obtido foram realizados variando as quantidades de gelatina e goma arábica, e os resultados qualitativos foram transformados em uma escala numérica de 0 a 1, conforme apresentado na Tabela 4.

Tabela 4 - Resultados da análise experimental

Ensaio	%Gelatina	%Goma arábica	Resultado	Resultado qualitativo em escala ortogonal
1	2 (-1)	5,0 (-1)	Não gelificou	0,00
2	2 (-1)	7,5 (0)	Não gelificou	0,00
3	2 (-1)	10,0 (+1)	Não gelificou	0,00
4	4 (0)	5,0 (-1)	Gelificação parcial	0,50
5	4 (0)	7,5 (0)	Gelificação parcial	0,50
6	4 (0)	10,0 (+1)	Separação de fases	0,25
7	6 (+1)	5,0 (-1)	Gelificação	1,00
8	6 (+1)	7,5 (0)	Gelificação	1,00
9	6 (+1)	10,0 (+1)	Gelificação	1,00

Com os dados obtidos e transformados na escala numérica da análise experimental foi realizada uma regressão linear múltipla para encontrar um modelo que pudesse descrever o comportamento dos dados experimentais, e o modelo encontrado é apresentado na equação a seguir:

$$Y = 0,472 + 0,500A - 0,042A^2 - 0,042B + 0,021B^2 \quad (\text{Eq. 6})$$

Em que A representa a quantidade de gelatina, ao passo que B a quantidade de goma arábica. Com os dados teóricos gerados pelo modelo, a verificação do modelo foi realizada por ANOVA, e os dados obtidos são apresentados na Tabela 5.

Tabela 5 – Dados obtidos pelo modelo realizado por Análise de variância (ANOVA)

	SQ	GL	MQ	F _{calc}	F _{tab}
Regressão	1.52777	4	0.38194	54.9994	6.38823
Falta de Ajuste	0.02778	4	0.00694		
Total	1.55556	8			

SQ, soma quadrática; GL, grau de liberdade; MQ, média quadrática; F_{calc}, F calculado; F_{tab}, F tabelado

Conforme os dados de regressão, o R² do modelo foi de 0,98214, indicando boa correlação entre os dados teóricos e os experimentais. Além disso, o valor de F_{calc} foi muito maior do que o F_{tab,(0,95,4,4)}, indicando que os dados da regressão não estão dentro da faixa de erro da distribuição F para 0,95% de confiança para o respectivo grau de liberdade. Portanto, uma vez que o modelo foi validado por ANOVA, foi plotado o gráfico de superfície, visando entender quais as tendências nas variáveis independentes que levam a maiores resultados, e o gráfico é apresentado na Figura 22.

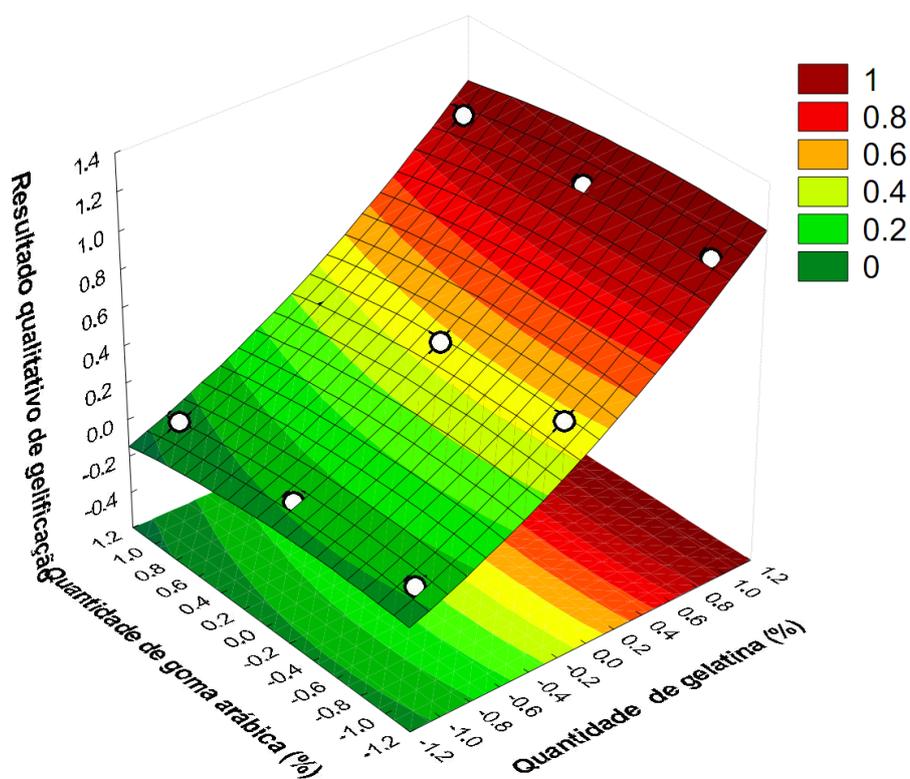


FIGURA 22 - GRÁFICO DE SUPERFÍCIE DE GELIFICAÇÃO: GELATINA VERSUS GOMA ARÁBICA.

De acordo com a superfície, pode-se verificar que os pontos experimentais estão muito próximos da superfície apresentada. Além disso, pode-se verificar que nas faces inferiores e superiores da quantidade de goma arábica não apresenta inclinação, o que pode ser um indício de que esta variável não seja estatisticamente significativa. Por outro lado, para a quantidade de gelatina é possível identificar nas suas duas faces uma inclinação em direção crescente. Para verificar a significância deste comportamento, os efeitos estatísticos são apresentados na Figura 23 em gráfico de Pareto.

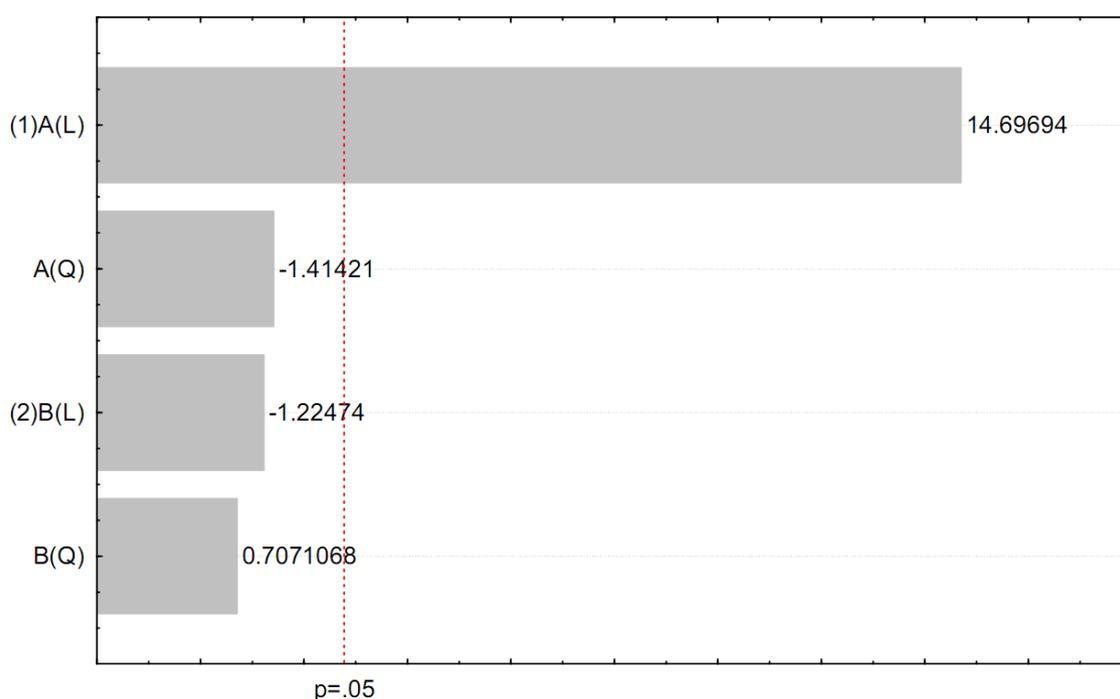


FIGURA 23 - GRÁFICO DE PARETO DE GELEIFICAÇÃO: GELATINA VERSUS GOMA ARÁBICA . (1) A(L) GELATINA LINEAR, A(Q) GELATINA QUADRÁTICO, (2) B(L) GOMA ARÁBICA LINEAR, B (Q) GOMA ARÁBICA QUADRÁTICO.

De acordo com o gráfico de Pareto, pode-se verificar que apenas a quantidade de gelatina foi estatisticamente significativa (~14,70 p.p.). Além disso, também não ocorreu sinergia entre a quantidade de gelatina e de goma arábica.

5.2.1 Eficiência da microencapsulação por *spray dryer* e coacervação

Através de ensaios realizados conforme metodologia descrita no item 4.3, foi calculada a eficiência da microencapsulação da polpa de amora por *spray dryer* com maltodextrina como agente carreador, e o resultado encontrado foi de 31,6%, e para o método de coacervação com gelatina e goma arábica como material de parede a eficiência foi de 2,9% pois quase não houve formação de microcápsulas. O processo de *spray dryer* foi mais eficiente na formação de microesferas resultando em um melhor resultado na encapsulação ao contrário do processo de coacervação que não demonstrou ter havido um envolvimento do núcleo pelos agentes de encapsulação, a goma arábica e gelatina.

Rosa utilizou materiais derivados de amido como β -cliclodextrina para microencapsular extratos fenólicos de amora preta obtendo-se uma eficiência de 52 % (ROSA, 2012).

A encapsulação por liofilização do extrato de amora silvestre (*Rubus chamaemorus*), utilizando maltodextrinas DE5-8 e DE18.5, foi realizada por Laine et al. (2008). Pode-se observar que a encapsulação aumentou a estabilidade dos compostos fenólicos e manteve sua atividade antioxidante; no entanto, ao comparar os diferentes materiais de parede, os autores observaram que as microcápsulas de maltodextrina DE5-8 apresentaram maior rendimento e eficiência de encapsulação, além de oferecer maior proteção aos compostos fenólicos durante o armazenamento.

5.2.2 Colorimetria

As análises de colorimetria foram realizadas comparando-se os produtos em pó obtidos nos tratamentos da polpa de amora-preta por *spray dryer* e por coacervação em relação a polpa *in natura* pelo teste de Tukey (Figura 24); e, comparando-se os produtos obtidos nos tratamentos da polpa de amora-preta por *spray dryer* (Figura 25) e por coacervação dissolvidos com a polpa de amora-preta *in natura* pelo Teste “t” (Figura 26).

Tabela 6 - Valores dos parâmetros L, a*, b* de coloração para a polpa de amora preta in natura e para os pós provenientes dos tratamentos da polpa de amora-preta por *spray dryer* e coacervação.

Tratamento	L*	a*	b*
Polpa de amora <i>in natura</i>	10,830±0,004 ^a	-0,7±0,1 ^a	1,43±0,05 ^a
Microencapsulado por Coacervação	33,01±0,01 ^b	8,28±0,02 ^b	1,03±0,01 ^b
Microencapsulado por <i>Spray Dryer</i>	41,41±0,03 ^c	18,70±0,02 ^c	2,81±0,01 ^c

Média e desvio padrão dos valores de L*, a* e b*.
Letras diferentes na mesma coluna significa que há diferenças significativas entre os grupos, com p<0,05.

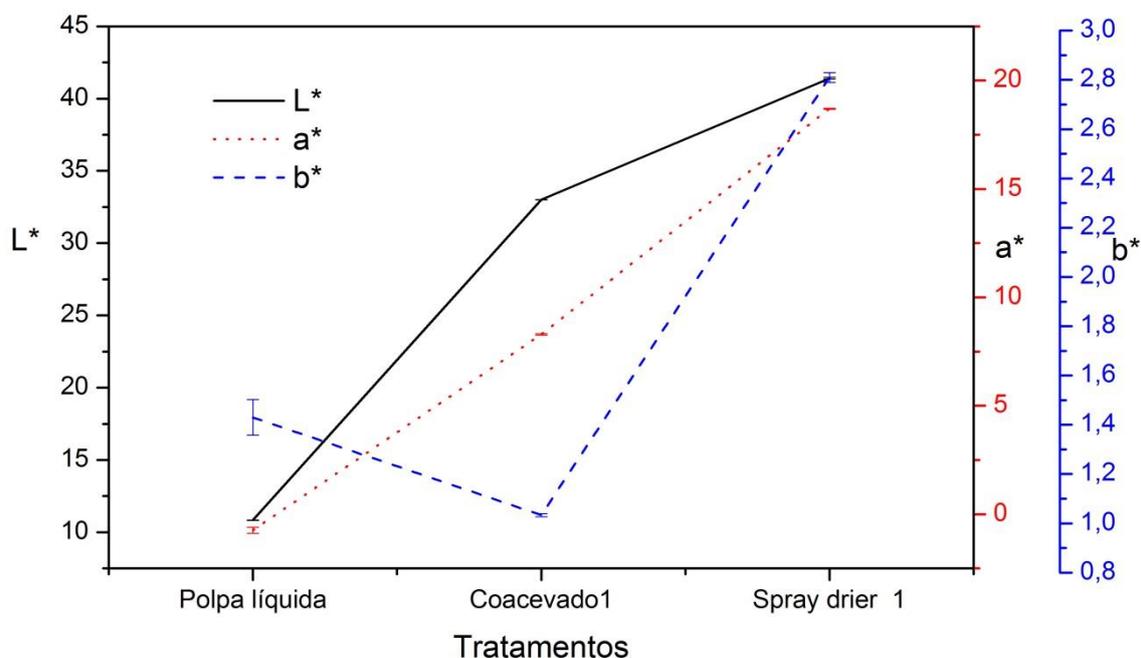


FIGURA 24 – VALORES DE COLORIMETRIA REALIZADA COMPARANDO-SE OS PRODUTOS EM PÓ OBTIDOS NOS TRATAMENTOS DA POLPA DE AMORA-PRETA POR *SPRAY DRYER* E POR COACERVAÇÃO COM A POLPA *IN NATURA*, PARA OS PARÂMETROS DE COR L*, A* E B*.

Em relação à luminosidade L*, a amostra obtida por *spray dryer* teve um resultado L* mais próximo de 100, o que equivale a uma cor mais clara em relação ao tratamento por coacervação. Isso pode ser devido ao conteúdo de maltodextrina utilizado na obtenção das microcápsulas por *spray dryer*. Em relação à coloração L da polpa de amora *in natura*, os microencapsulados por

spray dryer e por coacervação diferiram pouco entre si, mas o que mais se aproximou do valor de L^* da polpa *in natura* foi o coacervado.

Em relação aos valores obtidos para a^* , componente de cor que varia de verde (negativo) a vermelho (positivo), demonstrou-se que o composto microencapsulado por *spray dryer* obteve valor mais alto para a^* tendendo mais ao vermelho, característico das antocianinas em pH ácido, devido ao processo que não altera o pH inicial da polpa permanecendo ácido.

Em relação aos valores obtidos para b^* , que está relacionado à variação do amarelo (positivo) ao azul (negativo), o microencapsulado que mais se aproximou dos valores de b^* da polpa *in natura*, foi o coacervado, tendendo mais ao azul, característico das antocianinas em pH alcalino, devido ao processo de coacervação que eleva o pH da polpa *in natura*.

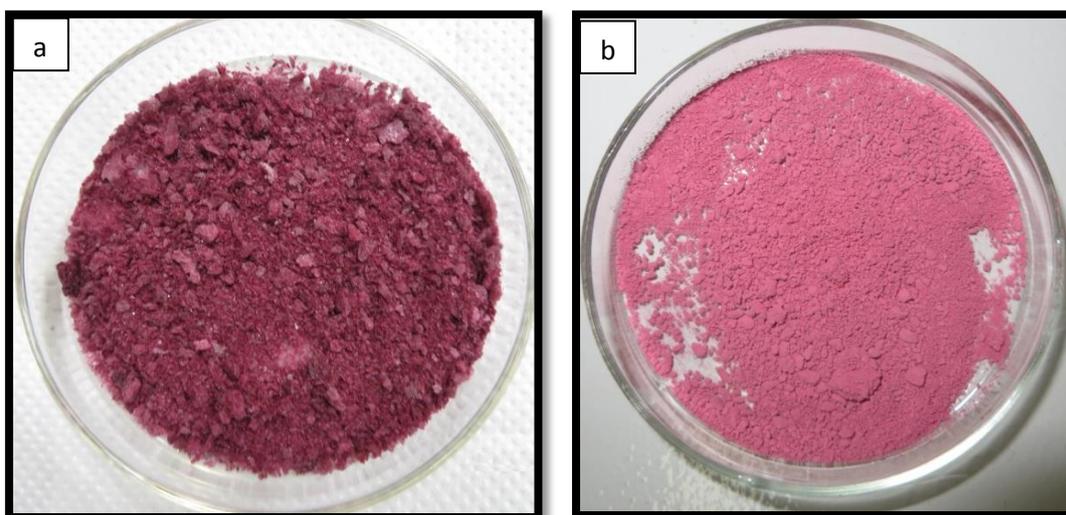


FIGURA 25 A) PÓ RESULTANTE DA MICROENCAPSULAÇÃO DA POLPA DE AMORA COM GELATINA E GOMA ARÁBICA POR COACERVAÇÃO E SECAGEM POR LIOFILIZAÇÃO. B) PÓ RESULTANTE DA MICROENCAPSULAÇÃO POR *SPRAY DRYER* DA POLPA DE AMORA COM MALTODEXTRINA COMO AGENTE CARREADOR.

A análise de colorimetria dos produtos dissolvidos realizou-se diluindo-se os pós microencapsulados por *spray dryer* e coacervação em água destilada, até chegar ao brix da polpa de amora-preta *in natura*. Avaliou-se os resultados da colorimetria realizada em triplicata nos produtos dissolvidos e comparou-os com os obtidos para a polpa líquida, comparando-se os grupos (A) vs (B), (A) vs (C) e (C) vs (B), para os três diferentes parâmetros de resposta colorimétrica, " L ", " a " e " b ".

Tabela 7 – Valores dos parâmetros L, a*, b* de coloração para a polpa de amora-preta in natura e os microencapsulados por *spray dryer* e coacervação dissolvidos (média e desvio padrão).

Tratamento	L*	a*	b*
Polpa de amora in natura (A)	10,833±0,006	-0,7±0,1	1,43±0,07
Spray dryer dissolvido (B)	22,953±0,006	11,897±0,006	3,34±0,01
Coacervado dissolvido (C)	24,367±0,006	8,33±0,02	1,427±0,006

Segundo análise de teste “t”, os dados de “b” para a comparação de (A) vs (C) demonstrou que estes grupos são semelhantes, e de fato isso pode ser refletido nas médias que são idênticas, de 1,43 (Anexo H).

Houve semelhança entre a polpa líquida e o produto coacervado dissolvido para os dados de b* (relacionado à intensidade de cor do amarelo (positivo) ao azul (negativo)), pois as médias foram semelhantes. Os demais grupos demonstraram ser diferentes entre si, pois os valores comparativos de “t” foram diferentes (Anexos G e I). Neste caso, existe um valor tabelado para a probabilidade de erro neste grau de liberdade (3,3) para este grau de confiança (95%) que foi de 2.776. Portanto, sempre que o valor comparativo de “t” encontrado pela fórmula for maior do que este valor, há diferença nos grupos de dados, ao passo que quando este for menor, significa que os grupos são estatisticamente semelhantes.

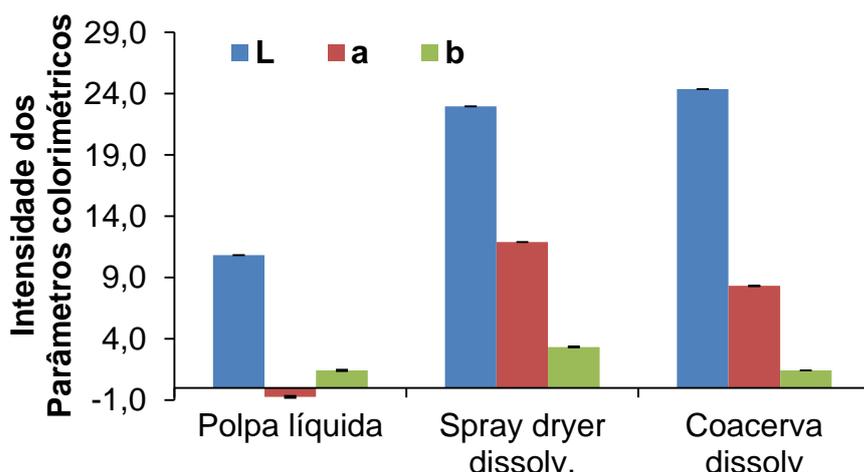


FIGURA 26 – INTENSIDADE DOS PARÂMETROS COLORIMÉTRICOS DOS MICROENCAPSULADOS POR *SPRAY DRYER* E COACERVAÇÃO DISSOLVIDOS, L (0 REPRESENTA PRETO E 100 REPRESENTA BRANCO), A* (VERDE (NEGATIVO) A VERMELHO (POSITIVO)) E B* (AMARELO (POSITIVO) AO AZUL (NEGATIVO)).

5.2.4 Antocianinas

Utilizou-se o teste de Tukey para verificar se houve diferença significativa entre os resultados para antocianinas provenientes das amostras do microencapsulado por coacervação e microencapsulado por *spray dryer* em relação à polpa *in natura*.

Tabela 8– Valores de antocianinas para polpa de amora *in natura*, microencapsulado por *spray dryer* e microencapsulado por coacervação.

	Antocianinas (mg cianidina-3-glicosídeo/ 100g*)
Polpa de amora <i>in natura</i>	164,3 ^a ± 0,4
Microencapsulado <i>spray dryer</i>	53 ^b ± 1
Microencapsulado coacervação	10,5 ^c ± 0,5

*Letras diferentes na mesma coluna significa que as médias dos teores de antocianinas são estatisticamente diferentes entre si, com $p < 0,05$.

Em relação à polpa de amora *in natura*, houve uma perda significativa de antocianinas para os microencapsulados por *spray dryer* e por coacervação. No processo por *spray dryer*, a polpa sofre uma taxa de aquecimento capaz de ocasionar essa perda no teor de antocianinas. Já no processo da coacervação ocorrem alterações no pH, aumento de temperatura, resfriamento, congelamento, causando um dano maior às antocianinas resultando em um valor final bem menor.

5.3 CARACTERIZAÇÃO DAS MICROCÁPSULAS

5.3.1 Caracterização das Microcápsulas por microscopia

5.3.1.1 Microscopia ótica

O material coacervado foi observado pela microscopia ótica, a fim de constatar a formação das micropartículas e avaliar seu formato (Figura 27), para isto uma pequena quantidade do material foi disperso em lâminas de vidro e recoberto por lamínulas e visualizados em magnitude 400x.

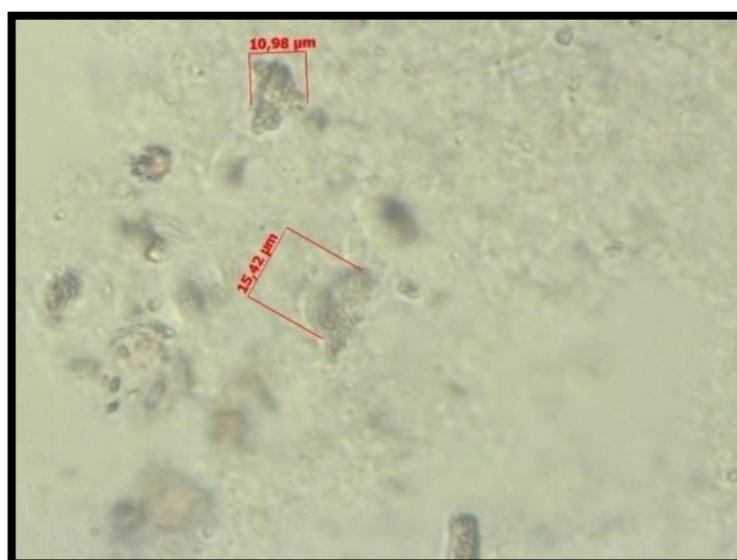


FIGURA 27 - MICROSCOPIA ÓTICA DAS PARTÍCULAS FORMADAS PELA COACERVAÇÃO COMPLEXA DE GELATINA E GOMA ARÁBICA COM POLPA DE AMORA, DA AMOSTRA CONTENDO 4% DE GELATINA E 10% GOMA ARÁBICA .

5.3.1.2 Microscopia eletrônica de Varredura (MEV)

As análises das microestruturas formadas pelos métodos da coacervação seguido de secagem por liofilização, e do *spray dryer* foram realizadas utilizando microscopia eletrônica de varredura (MEV), no Centro de Microscopia Eletrônica da UTFPR – Câmpus Pato Branco, utilizando um microscópio eletrônico de varredura da marca HITACHI TM 3000 e no Centro de Microscopia Eletrônica da Universidade Federal do Paraná, utilizando um microscópio eletrônico de varredura da marca TESCAN (modelo VEGA3 LMU).

Conforme micrografias realizadas dos agentes encapsulantes, pode-se observar na Figura 28 que a microestrutura da gelatina apresenta aspecto de partículas angulares e irregulares, de tamanhos variados.

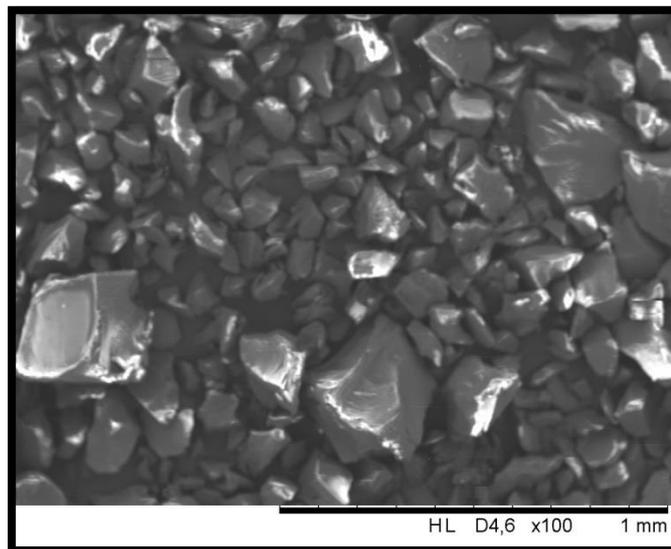


FIGURA 28 - MICROESTRUTURA DA GELATINA AUMENTADA EM 100 VEZES.

A micrografia realizada para a goma arábica, (Figura 29), demonstrou que a mesma apresenta formas arredondadas e aspecto rugoso.

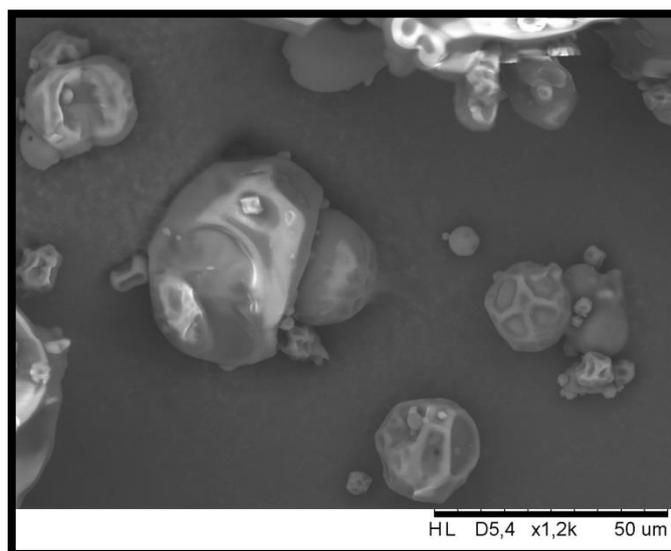


FIGURA 29 - MICROESTRUTURA DA GOMA ARÁBICA AUMENTADA EM 1200 VEZES.

A microestrutura da maltodextrina apresentou aspecto arredondado e não uniforme e de tamanho variado (Figura 30).

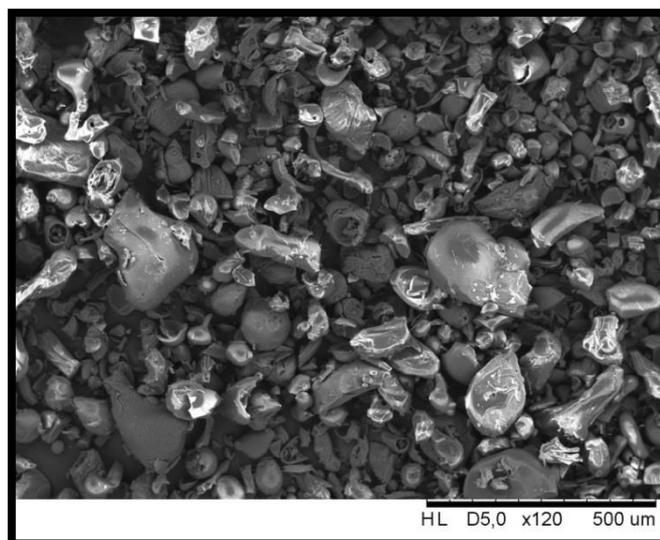
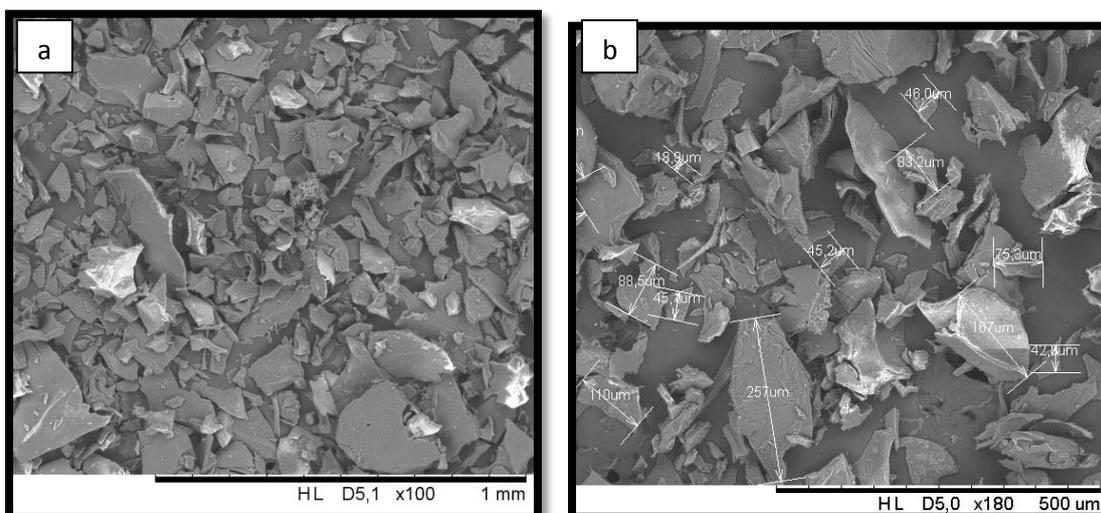


FIGURA 30 - MICROESTRUTURA DA MALTODEXTRINA AUMENTADA EM 120 VEZES.

Conforme observado na Figura 31, na coacervação de polpa de amora preta com gelatina e goma arábica como agentes encapsulantes, secagem por liofilização, seguida de trituração das partículas, as características morfológicas apresentaram partículas com estrutura de placas disformes, de variados tamanhos, com a formação de mínimas microcápsulas de tamanho variando de 4 a 12 μm , imersas numa mesma matriz polimérica (c).



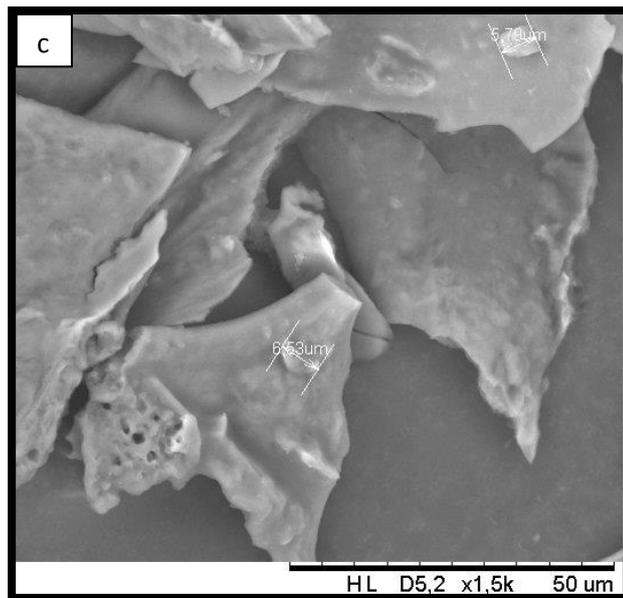
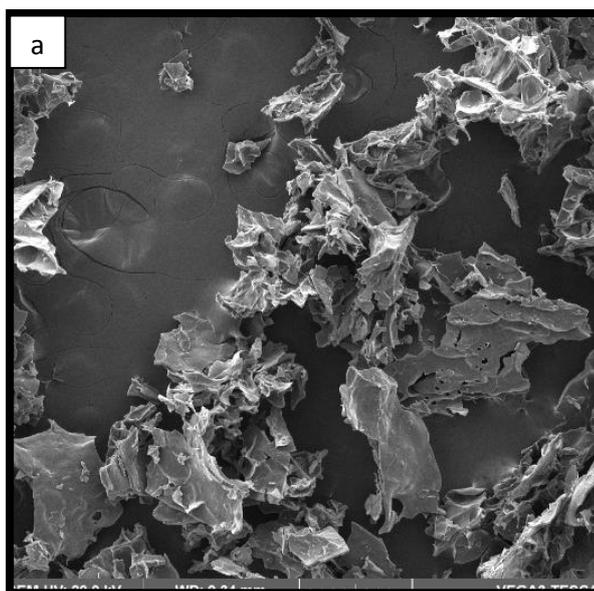


FIGURA 31 - MICROGRAFIAS DAS PARTÍCULAS FORMADAS PELA COACERVAÇÃO E SECAGEM POR LIOFILIZAÇÃO (GELATINA E GOMA ARÁBICA COMO AGENTE ENCAPSULANTE) SEGUIDA DE TRITURAÇÃO DO PÓ. A) AUMENTO DE 100 VEZES, B) AUMENTO DE 180 VEZES, C) AUMENTO DE 1500 VEZES.

Conforme Figura 32, na coacervação de polpa de amora preta com gelatina e goma arábica como agentes encapsulantes e secagem por liofilização, as características microscópicas apresentaram uma estrutura complexa, com aspecto disforme, com a formação de mínimas microcápsulas de tamanho variando de 4 a 12 μm , imersas numa mesma matriz polimérica (c).



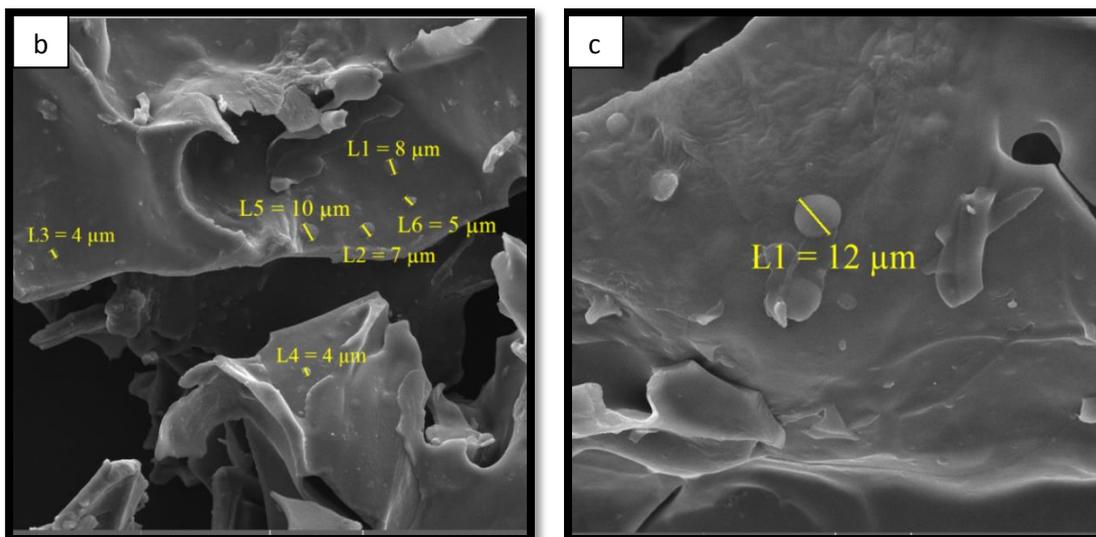


FIGURA 32 – MICROGRAFIAS DAS PARTÍCULAS FORMADAS PELA COACERVAÇÃO E SECAGEM POR LIOFILIZAÇÃO (GELATINA E GOMA ARÁBICA COMO AGENTE ENCAPSULANTE) A) AUMENTO DE 100 VEZES, B) AUMENTO DE 1000 VEZES E C) 2000 VEZES.

Como observado na microencapsulação da polpa de amora com maltodextrina por *spray dryer*, (Figura 33), houve a formação de microesferas, revelando ausência de fissuras, indicando a existência de um filme contínuo na parede externa das microesferas, com tamanho variando de 3,5 a 9,5 μm de diâmetro.

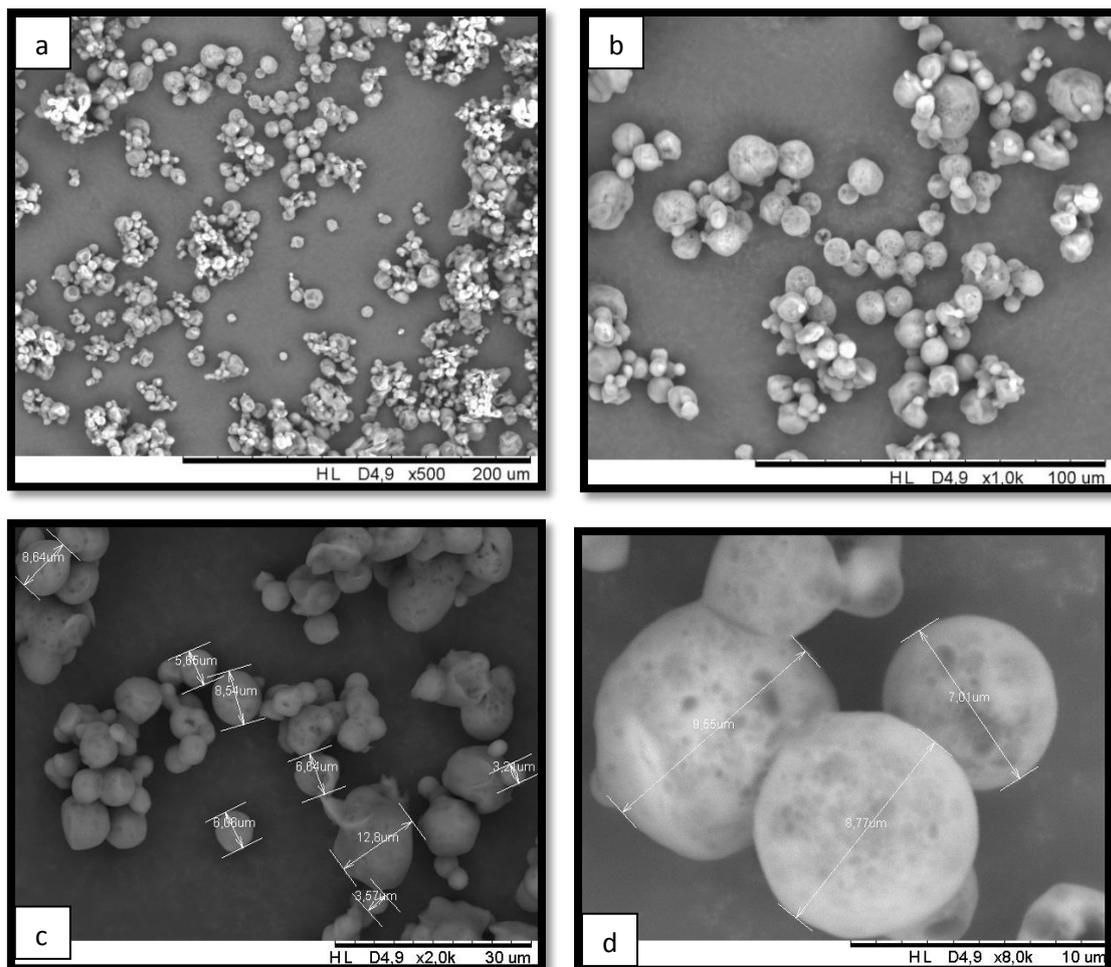


FIGURA 33 - MICROGRAFIAS OBTIDAS POR MEV DAS MICROPARTÍCULAS DE POLPA DE AMORA PRETA FORMADAS POR *SPRAY DRYER*, UTILIZANDO MALTODEXTRINA COMO AGENTE ENCAPSULANTE. A) AUMENTO DE 500 VEZES, B) AUMENTO DE 1000 VEZES, C) AUMENTO DE 2000 VEZES E D) AUMENTO DE 8000 VEZES.

Rutz (2013), proporcionou a formação de micropartículas de formato não característico na microencapsulação do suco de pitanga roxa com goma arábica e secagem por liofilização (Figura 34).

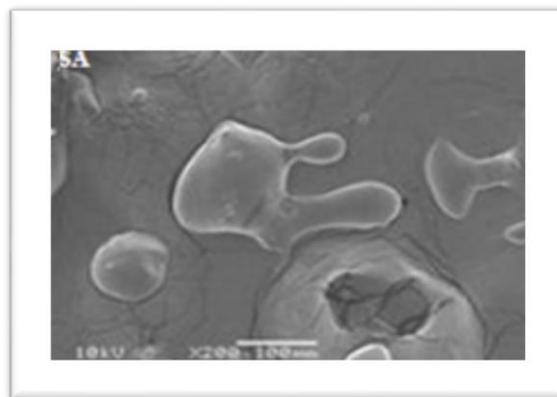


FIGURA 34 - MICROPARTÍCULAS DE SUCO DE PITANGA ROXA MICROENCAPSULADA COM GOMA ARÁBICA E SECAGEM POR LIOFILIZAÇÃO. FONTE: RUTZ, (2013).

A liofilização para secagem das cápsulas obtidas por coacervação de ferro utilizando como polímero a carboximetilcelulose foi utilizada por Araújo (2011), (Figura 35). A desuniformidade das cápsulas pode ser explicada pelo fato da liofilização ter sido empregada para a secagem das amostras, visto que esta técnica emprega condições de alto vácuo (KAUSHIK & ROOS, 2007; FANG & BHANDARI, 2010).

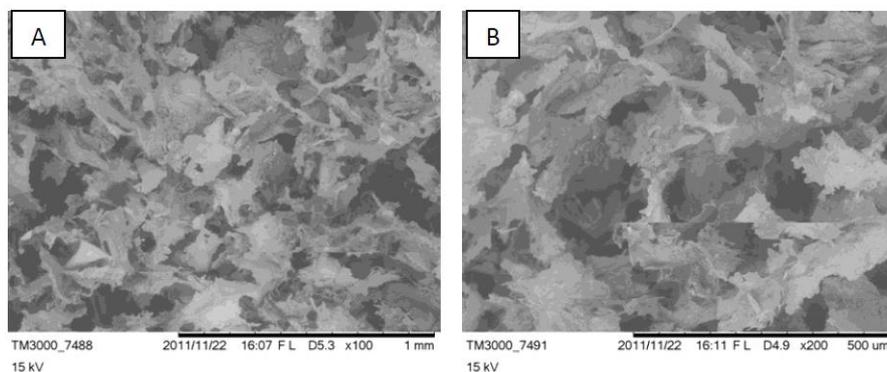


FIGURA 35 - MICROGRAFIAS OBTIDAS POR MEV DE MICROCÁPSULAS COACERVADAS DE FERRO E SECAGEM POR LIOFILIZAÇÃO EM MAGNITUDE DE 100 X(A) E 200X (B). FONTE: ARAÚJO, 2011.

A encapsulação de extrato fenólicos de amora preta (*Rubus fruticosus*) em matrizes de β -ciclodextrina, quitosana, xantana e hidrogel de xantana e quitosana, pelo método de liofilização foi avaliada por Rosa (2012). Os encapsulados apresentaram características distintas ao extrato fenólico na sua forma pura, o que foi comprovado pelas técnicas de MEV, DSC e TGA, ocorrendo a formação de cápsulas de formato característico com as matrizes

quitosana e xantana. A eficiência de encapsulação dos compostos foi dependente do revestimento utilizado.

5.3.2 Análises Térmicas

Com o objetivo de confirmar a microencapsulação e avaliar a estabilidade térmica dos produtos formados a partir da microencapsulação da polpa de amora-preta por cocervação e *spray-dryer*, foram realizadas análises térmicas para verificar a estabilidade dos compostos a determinada temperatura.



FIGURA 36 - EQUIPAMENTO SDT Q600 UTILIZADO PARA EFETUAR AS ANÁLISES TÉRMICAS.

Foi utilizado o equipamento SDT Q600, (Figura 36) para a realização das análises Termogravimétricas. Utilizou-se uma quantidade de amostra média de 4 mg para cada amostra, sendo a variação de peso devido ao volume de cada amostra necessária para preencher as cápsulas. As amostras sofreram variação de temperatura de 20 °C a 500 °C utilizando-se uma atmosfera de nitrogênio, a uma taxa de aquecimento de 10 °C/min.

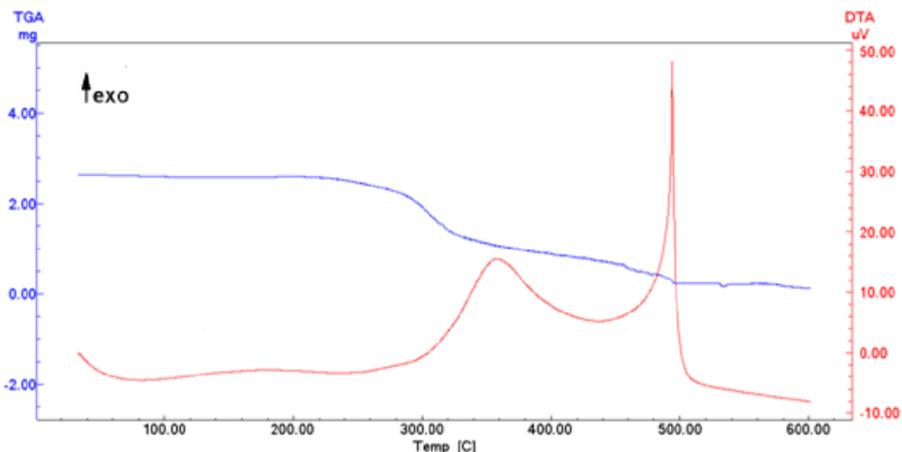


FIGURA 37 – CURVA TERMOGRAVIMÉTRICA DE MALTODEXTRINA PURA EM ATMOSFERA DE AR SINTÉTICO (10 °C/MIN, 100 ML/MIN, 30 °C – 600 °C, VARIAÇÃO DA MASSA VERSUS TEMPERATURA). FONTE: MÜLLER, (P. S. 2011)

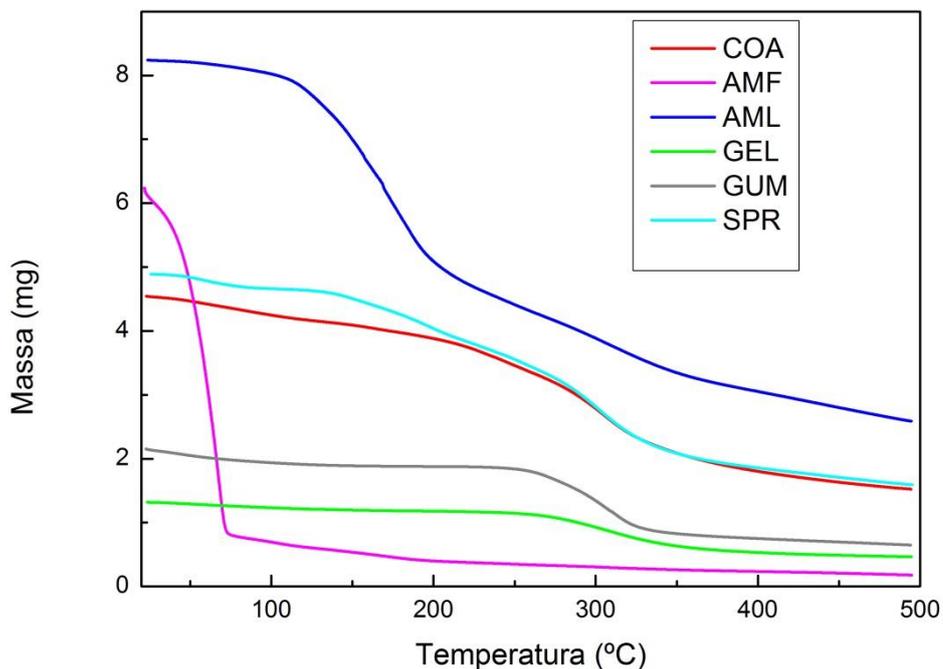


FIGURA 38 – CURVAS TERMOGRAVIMÉTRICAS: COA - MICROENCAPSULADO DA POLPA DE AMORA COM GELATINA E GOMA ARÁBICA POR COACERVAÇÃO, AMF - POLPA DE AMORA *IN NATURA*, AML – POLPA DE AMORA LIOFILIZADA, GEL – GELATINA EM PÓ, GUM – GOMA ARÁBICA EM PÓ, SPR – MICROENCAPSULADO DE POLPA DE AMORA COM MALTODEXTRINA POR *SPRAY DRYER*, EM ATMOSFERA DE NITROGÊNIO (10°C/MIN, 20-500°C, VARIAÇÃO DE MASSA VERSUS TEMPERATURA).

Analisando-se a curva termogravimétrica da polpa de amora *in natura*, (figura 38 - AMF), observa-se que ocorrem dois eventos de decomposição térmica. Um evento entre 30 °C e 74 °C ($\Delta m=86,41\%$), com $T_p=68$ °C, referente à eliminação da umidade e degradação dos compostos bioativos presentes, como por exemplo, as antocianinas. Em seguida, um segundo evento de decomposição térmica a partir dos 100 °C até 500 °C, ($\Delta m=10,85\%$), referentes à perda de água residual e sugerindo-se a decomposição dos açúcares presentes na polpa, como a frutose que se degrada a partir de 103°C, segundo Merck Index, resultando em 2,73% de massa residual.

Analisando-se a curva termogravimétrica da polpa de amora liofilizada (Figura 38 – AML), observa-se que ocorrem três eventos de decomposição térmica. Um evento entre 30 °C e 90 °C ($\Delta m=2,38\%$), pois a partir de 60 °C inicia-se a degradação das antocianinas. Em seguida o segundo evento de decomposição térmica entre 100 °C e 200 °C, ($\Delta m=40\%$), com $T_p=168$ °C, referente à perda de umidade e açúcares presentes. O terceiro evento térmico entre 270 °C e 378 °C ($\Delta m=20\%$), com $T_p=310$ °C. Continua-se existindo uma decomposição térmica até o final da temperatura de análise resultando em 31,32% de massa residual.

Analisando-se a curva termogravimétrica da gelatina (Figura 38 – GEL), pode-se observar que apresenta dois eventos de decomposição térmica, o primeiro em torno de 100 °C referente à perda de água, seguida do próximo evento de decomposição térmica entre 200 °C e 440 °C, sendo referente ao início de sua degradação, com $T_p=308$ °C ($\Delta m=.56\%$), finalizando a análise com 35% de massa residual.

A goma arábica apresenta dois eventos de decomposição térmica, o primeiro entre 30 °C a 60 °C, sendo $T_p=40$ °C, e o segundo evento entre 230 °C e 370 °C, e sua maior perda de massa ocorre entre 250 °C a 320 °C ($\Delta m=46,5\%$), resultando em 30% de massa residual na temperatura final de análise.

A maltodextrina pura apresenta 3 eventos de decomposição térmica. O primeiro entre 30 °C e 100 °C e é característico da perda de umidade, sendo o pico a aproximadamente 80 °C, o segundo evento entre 200 °C e 440 °C, sendo o correspondente ao pico a 358 °C, e um terceiro evento devido à

decomposição do material carbonáceo da maltodextrina na faixa entre 440 °C e 520 °C (Figura 37) (MÜLLER, 2011).

A curva característica de uma mistura física, geralmente, é composta por picos referentes ao polímero utilizado como material encapsulante e ao composto encapsulado (MURA *et al*, 1996).

Analisando-se a curva termogravimétrica obtida para o microencapsulado obtido pela coacervação complexa entre a gelatina e goma arábica (Figura 38 – COA), pode-se observar dois eventos de decomposição térmica. O primeiro evento encontra-se entre 50 °C e 130 °C, com $T_p=80$ °C ($\Delta m=7\%$), referente à eliminação de umidade e compostos bioativos. O segundo evento de degradação térmica encontra-se entre 200 °C e 380 °C, com $T_p=305$ °C ($\Delta m=51,7\%$). Por volta dos 100 °C a degradação mantém-se branda, reduzindo-se a perda de massa na região de 105 °C a 185 °C, referente à perda dos açúcares presentes na polpa de amora. Houve um aumento na estabilidade da degradação térmica do complexo formado por estes componentes com a polpa de amora, sugerindo-se que houve a formação de uma microestrutura. Isso se deve a formação de uma matriz polimérica entre a gelatina e goma arábica com a polpa de amora, capaz de proteger estes compostos na microencapsulação, reduzindo a degradação térmica das antocianinas ocorridas na região de 60 °C da polpa in natura.

A curva termogravimétrica para o microencapsulado por *spray dryer* (figura 38 – SPR) demonstrou três eventos de decomposição térmica. O primeiro encontra-se entre 30 °C e 100 °C, com $T_p=55$ °C ($\Delta m=4,7\%$), referente à degradação de alguns compostos bioativos e eliminação da umidade. O segundo entre 137 °C e 216 °C, com $T_p=198$ °C ($\Delta m=15,6\%$) referente à degradação dos açúcares, demonstrando que houve eficiência na microencapsulação pela maltodextrina existindo uma interação molecular capaz de reduzir a perda de massa ocorrida devido à degradação dos açúcares, que ocorria em maior intensidade na polpa de amora-preta. O terceiro evento de decomposição térmica encontra-se entre 243 °C e 360 °C, com $T_p=300$ °C, ($\Delta m=41\%$), conforme anexo J.

A termogravimetria demonstrou correlação entre a degradação térmica e a manutenção das características de antocianinas e compostos fenólicos, sendo que nos processos por *spray dryer* e coacervação a degradação pelo

aumento de temperatura foi menor e a manutenção dos compostos fenólicos e antocianinas foi maior em relação à polpa *in natura*.

6 - CONCLUSÃO

Em relação à polpa de amora in natura, o produto resultante obtido pelo método do *spray dryer* foi mais eficiente na manutenção nos teores de antocianinas, resultando em (53 ± 1) mg cianidina-3-glicosídeo/100 g, sendo que o método da coacervação resultou em $(10,5 \pm 0,5)$ mg cianidina-3-glicosídeo/100 g em relação ao valor inicial de antocianinas de $(164,3 \pm 0,4)$ mg cianidina-3-glicosídeo/100 g da polpa de amora.

Em relação à manutenção da cor, a amostra microencapsulada obtida por coacervação obteve uma coloração tendendo ao azul, característico das antocianinas em pH alcalino, podendo ser comprovado pelo valor colorimétrico de b^* , que pelo teste –“t” demonstrou que os valores são idênticos em relação ao produto microencapsulado por coacervação diluído e a polpa in natura. O composto microencapsulado por *spray dryer* obteve valor mais alto para a^* tendendo mais ao vermelho, característico das antocianinas em pH ácido, devido ao processo que não altera o pH inicial da polpa permanecendo ácido.

As microestruturas formadas foram analisadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) e verificou-se que no método de *spray dryer* formaram microesferas de tamanho variados, com diâmetros variando de 3,5 a 9,5 μm e as partículas formadas mantiveram a superfície lisa. Pelo método de coacervação as características microscópicas apresentaram uma estrutura complexa, com aspecto disforme, com a formação de mínimas microcápsulas de tamanho variando de 4 a 12 μm , imersas numa mesma matriz polimérica.

A termogravimetria concluiu aumento da estabilidade térmica em relação à perda de massa dos produtos obtidos pela coacervação e *spray dryer* em relação à degradação térmica sofrida pela polpa *in natura*, ocorrendo menores perdas dos compostos bioativos, compostos fenólicos e antocianinas.

Concluiu-se que a coacervação não demonstrou ser um processo tão eficiente na microencapsulação da polpa de amora-preta pois obteve os menores teores de antocianinas e menor eficiência de microencapsulação de compostos fenólicos em relação ao processo de *spray dryer*, o qual formou melhor proteção devido às microcápsulas formadas que protegeram esses compostos contra a degradação. O produto final obtido pela

microencapsulação por *spray dryer* foi mais eficiente na manutenção das antocianinas do que pela microencapsulação por coacervação, devido aos tratamentos empregados nos processos que afetam a estabilidade das antocianinas. No processo de *spray dryer* ocorre somente o aumento de temperatura sendo que no processo de coacervação ocorre além da temperatura o aumento de pH seguido de acidificação, ocasionando uma menor estabilidade na manutenção das antocianinas.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDALLA, A. E.; ROOZEN, J. P. Effect of plant extracts on the oxidative stability of sunflower oil and emulsion. **Food Chemistry**, v. 64, p. 323-329, 1999.

AIAG. Measurement Systems Analysis, 3a ed. Detroit: Chrysler Corporation, Ford Motor Company and General Motors Corporation, 2002.

ALKEMA, S.; SEAGER, S.L.; "The chemical pigments of plants"; **Journal of Chemical Education**; 1982, 59, p. 183.

ALMEIDA, Jacqueline Florio. Atividade antioxidante e microencapsulação de extrato etanólico de tomilho (*Thymus vulgaris* L.). Trabalho de Conclusão de Curso – Bacharelado em Química - UTFPR Campus Pato Branco, 2014.

ALONSO, A. M.; DOMINGUEZ, C.; GUILLEN, D. A.; BARROSO, C. G. Determination of antioxidant activity of wine byproducts and its correlation with poly phenolic content. **Journal of Agriculture and Food chemistry**, 50 (21), 5832-5836, 2002.

AMICI, E.; TETRADIS-MERIS, G.; TORRES, P.C.; JOUSSE, F. Alginate gelation in microfluidic channels. **Food Hydrocolloids**, v.22,p. 97-104, 2008.

ANDERSEN, O.M.; CABRITA, L.; FOSSEN, T.. Colour and stability of pure anthocyanins influenced by pH including the alkaline region. **Journal of Food Chemistry**, v.63, n.4, p. 435-440, 1998.

ANDRADE-WARTHA, E. R. S. **Propriedades antioxidantes de clones do pedúnculo de caju (*Anacardium occidentale* L.):** efeito sobre a lipoperoxidação e enzimas participantes do sistema antioxidante de defesa do organismo animal. 2007. 111 p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo.

AHN, M. R.; KUMAZAWA, S.; HAMASAKA, T.; BANG, K. S.; NAKAYAMA, T. Antioxidant Activity and constituents of propolis collected in various areas of Korea. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 24, p. 7286-7292, nov. 2004.

ANTUNES, L. E. C.; CHALFUN, N. N. J.; REGINA, M. de A.; HOFFMANN, A. Blossom and ripening periods of blackberry varieties in Brazil. **Journal of the American Pomological Society**, University Park, v. 54, n. 4, p. 164-168, 2000.

ANTUNES, L.E.C. **Amora-preta: nova opção de cultivo no Brasil.** Ciência Rural, v.32, n.1, p. 151-158, Santa Maria, 2002.

ANTUNES, L.E.C.; DUARTE FILHO, J.; SOUZA, C.M. **Conservação pós-colheita de frutos de amoreira-preta**. Pesquisa Agropecuária Brasileira. Brasília, v.38, n. 3, p. 412-419, 2003.

ARAÚJO, Aline Luvielmo - Microencapsulação do Ferro através da técnica de coacervação complexa. 2011. 45 f. Trabalho de diplomação em engenharia química. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.

ARSHADY, R. Microcapsules for food. **Journal of Microencapsulation**, v.10, p.413-435, 1993.

ARSHADY, R. Microspheres and microcapsules a survey of manufacturing techniques – Part II: coacervation. **Polymer Engineering and Science**, v.30, n.15, p. 905-914, 1990.

ARUOMA, O. I. Methodological considerations for characterizing potential antioxidant actions of bioactive components in plant foods. **Mutation Research**, 523-524, 9-20, 2003.

ASCHERI, D. P. R.; MARQUEZ, M. O. M.; MARTUCCI, E. T., Microencapsulação de óleo essencial de laranja: seleção de material de parede. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, n. 23, p. 1-6, 2003.

AZEREDO, Henriette Monteiro Cordeiro. Encapsulation: applications to food technology. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 16, n. 1, p. 89-97, jan./mar. 2005.

BE MILLER, J. N.; WHISTLER, R. L. Carbohydrates. In: FENNEMA, O.R. **Food Chemistry**. 3ed. Cap.4, p.157-224. 1996.

BARBOSA, Shirley Janaine. Qualidade de suco em pó de mistura de frutas obtido por *spray drying*. Dissertação (Mestrado) Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal no Semiárido, Universidade Estadual de Montes Claros- Unimontes, 2010.

BARROS, Frederico A. R. de; STRINGHETA, Paulo C. Microencapsulamento de Antocianinas. **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**. Brasília, n. 36, p. 18-24, jan/jun. 2006.

BATYCKY R P, HANES J, LANGER R E, EDWARDS D A. A theoretical model of erosion and macromolecular drug release from biodegrading microspheres. **Journal of Pharmaceutical Science** 86:1.464-1.477.1997.

BHANDARI, B.R. et al. Spray drying of concentrated fruit juices. **Drying Technology**, v.11, n.5, p.1081-1092,1993.

BHANDARI, B.; FANG, Z.. Encapsulation of polyphenols: a review. **Food Science and Technology**, v. 21, p. 510-523, 2010.

BIBVIRT. Biblioteca Virtual do Estudante Brasileiro. USP – Universidade de São Paulo. Disponível em: www.bibvirt.futuro.usp.br/especiais/frutasno-brasil/araca.html>. Acesso em: 08/01/2005.

BORDI, F.; CAMETTI, C.; PARADOSSI, G. Conformational changes of xanthan in salt-free aqueous solutions: a low-frequency electrical conductivity study. **The Journal of Physical Chemistry**, 1996, 100, 7148-7154.

BOSS, E.E.; FILHO, R.M.; TOLEDO, E.C.V. Freeze drying process: real time model and optimization. **Chemical engineering and Processing**, v. 43, p. 1475-1485, 2004.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Science and Technology-Lebensmittel-Wissenschaft&Technologie**, London, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.

BRASILEIRO, Joana Sofia Lima. Microencapsulação de compostos bioativos: inovação em diferentes áreas. Dissertação de Mestrado em Ciências Farmacêuticas. Universidade Fernando Pessoa. Faculdade de Ciências da Saúde, Porto, 2011.

BROUILLARD, R., **Chemical structure of anthocyanin**. In: MARKAKIS, P., Anthocyanin as Food Colors. London: Academic Press, p. 1-40, 1982.

BURGUNDY GOLD LTD. Chemical Based Microencapsulation Technologies. Microencapsulation Innovations c/o Burgundy Gold Ltd, 2011. Disponível em: <http://www.microencapsulationinnovations.com/Chemical.html#Coacervation>

BRAZEL, C.S. Microencapsulation: offering solutions for the food industry. **Cereal Foods World**, v.44, n.6, p.388-393, 1999.

CAPOCASA, F.; SCALZO, J.; MEZZETTI, B.; BATTINO, M. Combining quality and antioxidant attributes in the strawberry: The role of genotype. **Food Chemistry**, 111, 872-878, 2008.

CARVALHO FILHO, M. A. S. **Preparação e estudo termoanalítico dos cinamatos de terras raras, exceto (escândio), no estado sólido**. Tese de Doutorado, Universidade Estadual Paulista. Araraquara, 2000.

CASTAÑEDA-OVANDO, A., PACHECO-HERNÁNDEZ, M. L., PÁEZ-HERNÁNDEZ, M. E., RODRÍGUEZ, J. A., GALÁN-VIDAL, C. A., Chemical studies of anthocyanins: A review, **Food Chemistry**, v. 113, 859–871, 2009.

CELESTINO, S. M. C. Princípios de Secagem de Alimentos - Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2010. p. 33-46.

CEREDA, M., VILPOUX, O. F. **Tecnologia, usos e potencialidades de tuberosas amiláceas latino americanas**. São Paulo: Fundação Cargill, v.3, p. 711, 2003.

CHERIEGATE, Ana Paula de Souza Corrêa. Análise microestrutural da polpa de amora-preta (*Rubbus spp.*) co- cristalizada por sacarose. Dissertação de mestrado de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2012.

CHIM, J. F. Caracterização de compostos bioativos em amora-preta (*Rubus SP.*) e sua estabilidade no processo e armazenamento de geléias convencional e light. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) Faculdade de Agronomia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2008.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G.L.; BONATTO, P. S. Fundamentos de Cromatografia. Campinas, SP, 2006.

CORDEIRO, R. A. Preparação e caracterização de microesferas para liberação controlada de fármacos em Oftalmologia. Relatório da cadeira de projeto do curso de Engenharia Biomédica da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra. Coimbra, 2007.

COZZOLINO, S. M. F. Biodisponibilidade de nutrientes. Ed. Manole Ltda, 2009. 1172 p.

DEGÁSPARI, C. H.; WASZCZYNSKYJ, N. Propriedades antioxidantes de compostos fenólicos. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 5, n. 1, p. 33-40, 2004.

DELADINO, L.; ANBINDER, P.S.; NAVARRO, A.S.; MARTINO, M.N. Microstructure of minerals and yerba mate extract co-crystallized with sucrose. **Journal of Food Engineering**, v. 96, p. 410-415, 2009.

DEPYPERE, F. et al. Food powder microencapsulation: principles, problems and opportunities. **Applied Biotechnology Food Science and Policy**, v.1, n.2, p.75-94, 2003.

DONG, W., BODMEIER, R., Encapsulation of lipophilic drugs within enteric microparticles by a novel coacervation method, **International Journal of Pharmaceutics**, v. 326, 128–138, 2006.

DZIEZAK, J.D. Microencapsulation and encapsulated ingredients. **Food Technology**, v.42, n.4, p.136-151, 1988.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. Embrapa Clima Temperado Sistemas de Produção. Disponível em <<http://www.embrapa.br>>. Acesso em 10 set. 2008.

ERTESVÁG, H.; VALLA, S. Biosynthesis and applications of alginates, **Polymer Degradation and Stability**, v. 59, p. 85-91, 1998.

FALCÃO, A. P. et al. Índice de polifenóis, antocianinas totais e atividade antioxidante de um sistema modelo de geléia de uvas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**., Campinas, v. 27, n. 3, p. 637-642, 2007.

FAN-CHIANG, H-J.; WROLSTAD, R. Anthocyanin pigment composition of blackberries. **Journal of Food Science**, Chicago, v.70, n.3, p. 198-202, 2005.

FANG, Z.; BHANDARI, B. Encapsulation of polyphenols: A Review. *Trends in Food Science & Technology*, v. 21, p. 510-523, 2010.

FAVARO, M. M. A. Extração, estabilidade e quantificação de antocianinas de frutas típicas brasileiras para aplicação como corantes. Tese de Mestrado Universidade Estadual de Campinas. Campinas – SP, 2007.

FENNEMA, O. R. Química de los alimentos. 2º edição. Zaragoza: Acribia, 2000. 1258 p.

FERRARI, C. C.; RIBEIRO, C.P.; AGUIRRE, J. M. Secagem por atomização de polpa de amora-preta usando maltodextrina como agente carreador. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.15, n.2, p. 157-165, 2012.

FILHO, S.; PEREIRA, A. P. S.; BAYMA, J. C. Alelo químico produzido pela gramínea forrageira *Brachiaria humidicola*. *Planta Daninha*, Londrina, v. 23, n. 1, p. 25-32, 2005.

FITZSIMONS, S. M.; MULVIHILL, D. M.; MORRIS, E. R. Large enhancements in thermogelation of whey protein isolate by incorporation of very low concentrations of guar gum. **Food Hydrocolloids**, v. 22, p. 576-586, 2008.

FRANCIS, F. J. Food colorants: anthocyanins. **Critical Review of Food Science and Nutrition**, v. 28, p. 273-314, 1989.

GACESA, P. Alginates. **Carbohydrate Polymers**, v. 8, p. 161–182, 1988.

GEORGE, M.; ABRAHAM, E. T. Polyionic hydrocolloids for the intestinal delivery of protein drugs: Alginate and chitosan – a review. **Journal of Controlled Release**, v.114, p.1-14, 2006.

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.

GIBBS, B.F.; KERMASHA, S.; ALLI, I.; MULLIZAN, C.N. Encapsulation in the food industry: a review. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v.50, p.213-224, 1999

GIUSTI, M. M. & WROLSTAD, R. E. Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. In WROLSTAD, R.E. (Ed.). **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**. New York: Wiley, 2001.

GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R. E. Acylated anthocyanins from edible sources and their applications in food systems, **Biochemical Engineering Journal**, v 14,217–225, 2003.

GIRON, D. Applications of thermal analysis and coupled techniques in pharmaceutical industry. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 68, p. 335-357, 2002.

GOMBOTZ, W. R.; WEE, S. F. Protein release from alginate matrices. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 31, p. 267-285, 1998.

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

GUERRA, JOÃO PAULO VAN TOL AMARAL. Coacervação em sistemas aquosos contendo xantana, polietilenoamina e dodecil sulfato de sódio. Trabalho de Conclusão de Curso de Química Bacharelado, Florianópolis, 2008.

GUILHEME, M. R. Desenvolvimento de hidrogéis superabsorventes para uso eficiente de água. 125f. Tese (Doutorado em Ciências) Departamento de Química, Centro de Ciências Exatas, Universidade Estadual de Maringá. Maringá, 2006.

HAWKES, P. W.; SPENCE, J.C.H. **Scanning Electron Microscopy, In Science of Microscopy**, New York: Springer, 2007.

HAMESTER, L.; DUNIN-ZUPANSKI, M.; KINDLEIN JÚNIOR, W.; ROLDO, L. **Caracterização e Aplicação de Microcápsulas de Macela em Peças Cerâmicas**. Porto Alegre, RS, 2006.

HAMINIUK, Charles Windson Isidoro. Comportamento Reológico e Fracionamento Péctico das Polpas Integrais de Araçá (*Psidium cattleianum* sabine) e Amora-preta (*Rubus* spp). Dissertação de Mestrado Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2005.

HARBORNE, J. B.; Comparative biochemistry of the flavonoids, Academic Press: London, **1967**.

HARBORNE, J. B.; The Flavonoids: advanced in research since 1986, Champmanand Hall: New York, 5th edition, **1994**.

HASLAM, E. Practical Polyphenolics: From Structure to Molecular Recognition and Physiological Action. Cambridge University Press, Cambridge, UK, 1998.

HASSIMOTO, N. M. A. et al. Physico-chemical characterization a and bioactive compounds of blackberry fruits (*Rubus* sp.) grown in Brazil. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, v. 28, p. 702-708, 2008.

HIRSCH, Gabriela Elisa. Valor nutricional e capacidade antioxidante de diferentes genótipos de amora-preta (*Rubus* sp.). Dissertação de Mestrado Ciencia e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Maria, UFSM, RS. Santa Maria, 2011.

HORST, B. L. **Microencapsulação do corante natural antocianina em matriz polimérica de quitosana e quitosana/alginato através das técnicas de impregnação, coacervação e spray drying**. Dissertação de Mestrado, em Química UFSC, Florianópolis, 2009.

HUANG, D.; OU, B.; PRIOR, R. L. The Chemistry behind antioxidant capacity assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. Washington, v. 53, p. 1841-1856. 2005.

HUANG, Y.; YU, H.; XIAO, C. Effects of Ca^{2+} crosslinking on structure and properties of waterborne polyurethane-carboxymethylated guar gum films. **Carbohydrate Polymers**, Article in Press, 2006.

HUNTERLAB. **Applications Note**. v. 13, n. 2, 2001. Disponível em: <<http://www.hunterlab.com>> Acesso em: 14/8/2006.

IONASHIRO, M. **Fundamentos da termogravimetria, análise térmica diferencial e calorimetria exploratória diferencial**. São Paulo: Editora Giz, 2005.

JACKMAN, R. L., SMITH, J.L., **Anthocyanins and betalains**. In: Natural food colorants, London: Blackie Academic, 183-241, 1992.

JACOBS, I. C.; MASON, N. S. Polymer delivery systems concepts. In *Polymeric Delivery Systems*; El-Nokaday; M. A. , Piatt, D. M., Charpentier, B. A. eds.; American Chemical Society: Washington, 1993; p. 1-17.

JACQUES, A. C. *Estabilidade de compostos bioativos em polpa congelada de amora-preta (rubus fruticosus) cv. Tupy*. Tese de Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial Faculdade de Agronomia. Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, 2009.

JACQUES, A. C.; ZAMBIAZI, R. C.. Fitoquímicos em amora-preta (*Rubus* spp). Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 32, n. 1, p. 245-260, jan./mar. 2011.

JACKSON, L.S.; LEE, K. Microencapsulation and the food industry. **LWT – Food Science and Technology**, v.24, p.289-297,1991.

JANNA, O. A., KHAIRUL, A. K., MAZIAH, M., Anthocyanin stability studies in *Tibouchinasemidecandra* L., **Food Chemistry**, v. 101, 1640–1646, 2007.

JANSSON, P.E.; KENNE, L.; LINDBERG, B. Structure of the extracellular polysaccharide from *Xanthomonas campestris*. *Carbohydrate Research*, 1975, 45, 275-285.

JONES, S.A., et al. Application of conductivity studies and polyelectrolyte theory to the conformation and order-disorder transition of xanthan polysaccharide. **European Biophysics Journal**, 1987, 15, 185-191.

JOHN, J. A.; SHAHIDI, F. Phenolic compounds and antioxidant activity of Brazil nut (*Bertholletia excelsa*). **Journal of Functional Foods**, v. 2, n. 3, p. 196-209, 2010.

JURD, L.; GEISSMAN, T.A. Absorption Spectra of Metal Complex of Flavonoid Compounds. **The Journal of Organic Chemistry**, v.21, p.1395-1401, 1956.

JURD, L. Review of polyphenol condensation reaction and their possible occurrence in the aging of wines. **American Journal of Enology and Viticulture**, 20:191-195, 1969.

KÄHKÖNEN, M.P.; HOPIA, A.I.; VUORELA, H.J.; RAUHA, J.-P.; PIHLAJA, K.; KUJALA, T.S.; HEINONEN, M. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.47, p.3954-3962, 1999.

KAPLAN, D.L. Biopolymers from renewable resources. Berlin: Springer, 1998.

KARAKAYA S. Bioavailability of phenolic compounds. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**; 44(6):453-64, 2004.

KAUSHIK, V.; ROSS, Y. H. Limonene encapsulation in freeze-drying of gum Arabic-sucrose-gelatin systems. **LWT- Food Science and Technology**, v. 40, p. 1381-1391, 2007.

KENYON, M.M. Modified starch, maltodextrin and corn syrup solids as wall materials for food encapsulation. In: RISCH, S.J.; REINECCIUS, G. A. **Encapsulation and controlled release of food ingredients**. ACS Symposium Series, 590. Washington, DC: ACS, 1995. p.42-50.

KING, A. H. Flavor encapsulation with alginates. In: RISH, S. J.; REINECCIUS, G. A. **Flavor Encapsulation**. Washington, DC: ACS, p. 122-125, 1988.

KING, A. H. Encapsulation of food ingredients: a review of available technology, focusing on hydrocolloids. In: RISH, S. J.; REINECCIUS, G. A. **Encapsulation and controlled release of food ingredients**. ACS Symposium. Series, 590. Washington, DC: ACS, 1995. p. 26-39.

KONG, J.M.; CHIA, L.S.; GOH, N.K.; CHIA, T.F.; BROUILLARD, R. Analysis and biological activities of anthocyanins. **Phytochemistry**, v. 64, n5, p.923-933, 2003.

KROYER, G.; HEGEDUS, N. Evaluation of bioactive properties of pollen extracts as functional dietary food supplement. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, Kidlington Oxford, v. 2, n. 3, p. 171-174, 2001.

KRUIF, C. G.; WEINBRECK, F.; VRIES, R. Complex coacervation of proteins and anionic polysaccharides. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 9, p 340-349, 2004.

KYNGMI MS, EBELER E. Flavonoid effects on DNA oxidation at low concentrations relevant to physiological levels. **Food and Chemical Toxicology Journal**, 2008;46:96-104.

LAINE, P., KYLLI, P., HEINONEN, M., JOUPPILA, K. Storage stability of microencapsulated cloudberry (*Rubus chamaemorus*) phenolics. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v.56, p.11251-11261, 2008.

LEMES, Gislaine Franco. Estabilidade da cor e teor de vitamina C do iogurte elaborado com corantes de betalaína microencapsulados em Spray Dryer. Trabalho de Conclusão de Curso - Curso Superior de Tecnologia de Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, Campus Campo Mourão, 2013.

LEON, L.; HERBERT, A. L e JOSEPH, L. K. The theory and practice of industrial pharmacy. Bombay, Varghese Publishing House. 1990. P. 315-324.

LEWIS, C. E., WALKER, J. R. L., LANCASTER, J. E., Effect of polysaccharides on the colour of anthocyanins, **Food Chemistry**, v. 54, 315-319, 1995.

LINHARD R. Biodegradable polymers for controlled release of drugs. *In*: Rosoff M. Controlled release of drugs: Polymers and aggregate systems. **VCH Publisher Inc.**, p. 53-85. 1998.

MACHADO, Franciele; ROSA, Gabriele. Estabilidade das antocianinas presentes na amora-preta (*Rubus spp*) após o processo de secagem. Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA) – Engenharia Química.2012.

MACZ-POP, G. A.; RIVAS-GONZALO, J. C.; PÉREZ-ALONSO, J. J.; GONZALÉZPARAMÁS, A. M.; “Natural occurrence of free anthocyanina glycones in beans (*Phaseolus vulgaris*L.)”; **Food Chemistry**; 2006, 94(3), p. 448.

MAFART, P. Processos físicos de conservación. Ingeniería Industrial Alimentaria. Espanha: Editorial Acribia, p. 253-275, 1994.

MALACRIDA, C. R., MOTTA, S., Antocianinas em suco de uva: Composição e estabilidade, Boletim do CEPPA, v. 24, n. 1, 59-82, 2006.

MARQUES, L.G; SILVEIRA, A.M.; FREIRE, J.T. Freeze-drying characteristics of tropical fruits. **Drying Technology**, v. 24, p. 457-463, 2006.

MASTERS, K. **Spray drying handbook**. 3.ed. New York: John Wiley & Sons Inc, 1979, 687p.

MC DOUGALL, G. J., FYFFE, S., DOBSON, P., STEWART, D., Anthocyanins from red cabbage – stability to simulated gastrointestinal digestion, **Phytochemistry**,v. 68, 1285–1294, 2007.

MINUSSI, R. C.; ROSSI, M.; BOLOGNA, L.; CORDI, L.; ROTILIO, D.; PASTORE, G. M.; DURÁN, N. Phenolic compounds and total antioxidant potential of commercial wines. **Food Chemistry**, Oxon, v. 82, n. 3, p. 409-416, 2003.

MOLYNEUX, P. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity Songklanakarin. **Journal of Science and Technology**, v. 26, 2004.

MOREIRA, Germano Eder Gadelha. Obtenção de caracterização de extrato microencapsulado de resíduo agroindustrial de acerola. Dissertação de Mestrado, UFRN, Programa de Pós-graduação em Engenharia Química da Universidade Federal do rio Grande do Norte, Natal, 2007.

MOTA, R.V. Caracterização do suco de amora-preta elaborado em extractor caseiro. **Revista de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, no. 26, v.2, abr-jun, p. 303-308, 2006. a

MOTA, R.V. Caracterização física e química de geléia de amora-preta. **Ciência Tecnologia Alimentos**, v.26, n.3, p.539-543, 2006. b

MOZAFARI, M.R.; KHOSRAVI-DARANI, K.; BORAZAN, G.G.; CUI, J.; PARDAKHTY, A.; YURDUGUL, S. Encapsulation of food ingredients using nanoliposome technology. **Journal of Food Properties**, v. 11, p. 833-844, 2008.

MÜLLER, Priscila Schultz. Microencapsulação de óleo essencial de laranja. Dissertação de Pós Graduação em Tecnologia de Alimentos Universidade do Paraná. CURITIBA, 2011.

MURA, P.; MANDERIOLI, A.; BRAMANTI, G.; FURLANETTO, S.; PINZAUTI, S. NAWAR, W. W. Lipids. FENNEMA, O. **Food Chemistry**. 3.ed. New York: Marcel Dekker, 1996.

NAWAR, W. W. Lipids. In: FENNEMA, O. R. (Ed.). **Food chemistry**. 3. ed. New York: M. Dekker, 1996.

NETO, H. J. L. Obtenção do tomate seco através do uso de um sistema solar alternativo de baixo custo. 42 f. Tese (Mestrado em Engenharia mecânica) – Programa de Pós- Graduação em Engenharia Mecânica, Universidade Federal do Rio grande de Norte. Natal, 2008.

NESTERENKO, ALLA; ALRIC, ISABELLE; SILVESTRE, FRANÇOISE; DURRIEU, VANESSA. Vegetable proteins in microencapsulation: a review of recent interventions and their effectiveness. (In Press: 2013) **Industrial Crops and Products**, vol. 42 . pp. 469-479.

NORI, M. P.; FAVARO-TRINDADE, C. S.; ALENCAR, S. M.; THOMAZINI, M.; BALIEIRO, J. C. C.; CASTILLO, C. J. C. Microencapsulation of propolis extract by complex coacervation. **Food Science and Technology: LWT**; v. 44, n. 2,

p. 429-435, 2011.

OLIVEIRA A. F.; CRISTIANO, C. M. Z.; ANDREANI, L.; PORTO, L. C.; SOLDI, V. Estudos cinéticos de degradação térmica de blends formadas por carboximetilcelulose/goma guar ou hidroxipropilmetilcelulose. Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais, p 8191-8200, 2006.

ONG HUI LIN, R. N.; KUMAR, H. D.; ROZMAN, M.; Azemi Mohd. Noor. Grafting of sodium carboxymethylcellulose (CMC) with glycidyl methacrylate and desenvolvimento de UV curable coating from CMC-g-GMA induzido por iniciadores fotônicos. **Carbohydrate Polymers**, v.59, p. 59-69, 2005.

OU, B.; HAMPSCH-WOODILL, M.; FLANAGAN, J.; DEEMER, E. K.; PRIOR, R. L.; HUANG, D. Novel fluorometric assay for hydroxyl radical prevention capacity using fluorescein as the probe. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 50, 2772-2777, 2002.

PARK, Y. K.; KOO, M. H.; SATO, H. H.; CONTADO, J. L. Estudo de alguns componentes da própolis coletada por *Apis mellifera* no Brasil. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, v. 38, n. 4, p. 1235-1259, 1995.

PASCHEL, A. Gomas: una aproximación a la industria de alimentos. **Revista Amazónica de investigación alimentaria**, v.1, p. 1-8, 2001.

PENICHE, C.; HOWLAND, I.; CARRILLO, O.; ZALDIVAR, C.; ARGÜELLES-MONAL, W. Formation and stability of shark liver oil loaded chitosan/calcium alginate capsules. **Food Hydrocolloids**, v. 18, p. 865-871, 2004.

PINELI, LÍVIA DE LACERDA DE OLIVEIRA. *Qualidade e potencial antioxidante in vitro* de morangos in natura e submetidos a processamentos. Tese de doutorado Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília. Brasília, 2009.

PITOMBO, R.N.M. Relações entre água e propriedades mecânicas da carne liofilizada. Tese de livre docência, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, p 58, 1998.

PODSEDEK, A. Natural antioxidants capacity of brassica vegetables: a review. *J Food Compos Anal* 2007;40:1-11.

POLAK, R.; PITOMBO, R. N. M. Care during freeze-drying of bovine pericardium tissue to be used as a biomaterial. A comparative study. *Cryobiology*, v. 63, p61-66, 2011.

POLING, E.B. Blackberries. **Journal of Small Fruit and Viticulture.**, v. 14, n. 1-2, p. 38-69, 1996.

PRIOR, R. L. Fruits and vegetables in the prevention of cellular oxidative damage. **The American Journal of Clinical Nutrition.**, Arkansas, v. 78, n.3, p. 570-578, 2003.

PSZCZOLA, D. Encapsulated ingredients: providing the right fit. **Food Technology**, v.52, n.12, p.70-77, 1998.

PULIDO, R.; BRAVO, L.; SAURA-CALIXTO, F. Antioxidant activity of dietary as determined by a modified ferric reducing antioxidant power assay. **Journal Agriculture and Food Chemistry**, v. 48, p. 3396-3402, 2000.

QV. X. Y.; ZENG, Z. P.; JIANG, J. G. Preparation of lutein microencapsulation by complex coacervation method and its physicochemical properties and stability. **Food Hydrocolloids**, v. 25, p. 1596-1603, 2011.

RÉ, M. I. Cápsulas inteligentes. **Ciência Hoje**, v. 27, n.162, p. 24-29, 2000.

RÉ, M. I. Microencapsulation by spray drying. **Drying Technology**, v. 16, p. 1195-1236, 1998.

RE R., PELLEGRINI N., PROTEGGENTE A., PANNALA A., YANG M., RICE-EVANS C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine*, v. 26, n.9/10, 1231–1237, 1999.

REDDY, T. T.; TAMMISHETTI, S. Free radical degradation of guar gum. *Polymer Degradation and Stability*, v. 86, p. 455-459, 2004.

REINECCIUS, G.A. Carbohydrates for flavor encapsulation. **Food Technology**, v.51, n.3, p.144-146,149, 1991.

REINECCIUS, G.A. Spray-drying of food flavors. In: RISCH, S. J.; REINECCIUS, G.A. **Flavour encapsulation**. ACS Symposium Series, 370. Washington, DC: ACS, 1998. P.55-66.

REYES-CARMONA, J.; YOUSEF, G. G.; MARTÍNEZ-PENICHE, R. A.; LILA, M. A. Antioxidant capacity of fruit extracts of blackberry (*Rubus sp*) produced in different climatic regions. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 70, n. 7, p. 497-503, 2005.

RISCH, S.J. Encapsulation: overview of uses and techniques. In: RISCH, S.J.; REINECCIUS, G.A. **Encapsulation and controlled release of foodingredients**. ACS Symposium. Series, 590. Washington, DC: ACS, 1995. p.2-7.

ROBIN, J.P.; MERCIER, C.; CHARBONNIERE, R.; GUILBOT, A. A. Lintnerized starches. Gel filtration and enzymatic studies of insoluble residues from prolonged acid treatment of potato starch. **Cereal Chemistry**, v. 51, p.389-, 1974.

ROSA, C. G. da. **Microencapsulação e extratos metanólicos de amora-preta (*Rubus Fruticosus*) e ácido gálico**. 111f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial. Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, 2012.

ROSENBERG, M.; KOPELMAN, I.J.; TALMON, Y. Factors affecting retention in spray-drying microencapsulation of volatile materials. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.38, p.1288-1294, 1990.

ROSENBERG, M.; TALMON, Y.; KOPELMAN, I. J.; The microstructure of spray dried microcapsules. **Food microstructure**. v. 7, p. 15-23, 1988.

RUFINO, M. do S. M. Propriedades funcionais de frutas tropicais brasileiras não tradicionais. Tese (Doutorado em Agronomia). Universidade Federal Rural do Semi-Árido. Pró-Reitoria de Pós-Graduação. Mossoró (RN), 2008.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S. de; MORAIS, S. M. de; SAMPAIO, C. de G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. **Determinação da atividade antioxidante total em frutas pelo método de redução do ferro (FRAP)**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2006. 4p. (Embrapa Agroindústria Tropical. Comunicado Técnico, 125)

RUFINO, M. S. M. et al. **Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2007a. 4p. (Embrapa Agroindústria Tropical. Comunicado Técnico, 127)

RUFINO, M. S. M. et al. **Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre ABTS**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2007b. 4p. (Embrapa Agroindústria Tropical. Comunicado Técnico, 128)

RUTZ, JOSIANE KUHN. Caracterização e Microencapsulação de Suco de Pitanga Roxa (*Eugenia uniflora* L.). Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) - Faculdade de Agronomia "Eliseu Maciel", Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, 2013.

SALGADO, M. S. O emprego de amora framboesa, mirtilo e morango na redução do risco de doenças. In: Anais do seminário brasileiro de pequenas frutas. 1.^a ed., p. 35, maio 2003.

SANTOS, A. B.; FERREIRA, V. P.; GROSSO, C. R. F. Microcápsulas: uma alternativa viável. **Biotecnologia, ciência e desenvolvimento**. Brasília, ano 3, n. 16, p. 26-30, 2001.

SANTOS, A.B., FÁVARO-TRINDADE, C.S., GROSSO, C.R.F.. Preparo e caracterização de microcápsulas de oleoresina de páprica obtidas por atomização. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.25, n.2, p. 322–326, 2005.

SCHERI, D. P. R.; MARQUEZ, M. O. M.; MARTUCCI, E. T. Microencapsulação de óleo essencial de laranja: seleção de material de parede. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, v. 23, p. 1-6, 2003.

SCHMITT, C.; SANCHEZ, C.; DESOBRY-BANON, S.; HARDY, J. Structure and

techno functional properties of protein-polysaccharide complexes: A review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v, 38, p 689-753, 1998.

SCHROOYEN, P.M.; VAN DER MEER, R.; DE KRUIF, C.G. Microencapsulation: its application in nutrition. **Journal of Proceeding of the Nutrition Society**, v. 60, p. 475-479, 2001.

SELLAPPAN, S.; AKOH, C. C.; KREWER, G. Phenolic compounds and antioxidant capacity of Georgia-grown blueberries and blackberries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. V. 50, p. 2432-2438, 2002.

SEERAM, N. P.; ADAMS, L. S.; ZHANG, Y.; LEE, R.; SAND, D.; SCHEULLER, H. S.; HEBER, D. Blackberry, black raspberry, blueberry, cranberry, red raspberry, and strawberry extracts inhibit growth and simulate apoptosis of human cancer cells in vitro. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v. 54, n.25, p. 9329-9339, 2006.

SELAMAT, S. N.; MUHAMAD, I. I.; SARMIDI, M. R. **Encapsulation of Tocopherol and Tocotrienol in Vitamin-E Using Spray Drying Technique**. The 3rd South East 33 Asian Technical University Consortium (SEATUC) Symposium, Institute IbnuSina, UTM Skudai, Johor, 2009.

SERRAINO, I.; DUGO, L.; DUGO, P.; MONDELLO, L.; MAZZON, E.; DUGO, G.; CAPUTI, A. P.; CUZZOCREA, S. Protective effects of cyanidin-3-O-glucoside from blackberry extract against peroxynitrite-induced endothelial dysfunction and vascular failure. **Life Sciences**, Amsterdam. v. 73, p. 1097-1114, 2003.

SEVERO, J.; GALARÇA, S. P.; AIRES, R. F.; CANTILLANO, R. F. F.;ROMBALDI, C. V.; SILVA, J. A. Avaliação de compostos fenólicos, antocianinas, vitamina C e capacidade antioxidante em mirtilo armazenado em atmosfera controlada. **Brazilian Journal of Food and Technology**, Pelotas, II SSA, 2009. Edição Especial.

SHAHIDI, F.; JANITHA, P. K.; WANASUNDARA, P. D. Phenolic antioxidants. **Rev. Food Science Nutrition**. Curitiba, v. 32, n. 1, p. 67-103, 1992.

SHAHIDI, F.; HAN, X. Q. Encapsulation of food ingredients. **Critical reviews in Food Science and Nutrition**, v 33, n.6, p.501-547, 1993.

SILVA, C.; RIBEIRO, A.; FERREIRA, D.; VEIGA, F. Administração oral de peptídeos e proteínas: II. Aplicação de métodos de microencapsulação **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 39, n. 1 São Paulo, 2003.

SILVA, A.T.C.; MARTINEZ, K.C.L.; BRITO, A.B. N.; GUILIETTI, M. Separation of glucose and fructose by freezing crystallization. **Journal of Crystallography Research Technology**, v.45, n.10, p.1032-1034, 2010.

SINGLETON, V. L.; JOSEPH, A.; ROSSI, J. Colorimetry of total phenolics with phosphomolibdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of**

Enology and Viticulture, v. 16, p. 144-149, 1965.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. **Methods in Enzymology**, v. 299, p. 152–178, 1999.

SKERGET, M.; KOTNIK, P.; HADOLIN, M.; HRAS, A. R., SIMONIC, M.; KNEZ, Z. Phenols, proanthocyanins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. **Food Chemistry**, Davis, v. 89, n. 4, p. 191-198, 2005.

SMIDSROD, O. Molecular basis for some physical properties of alginates in the gel state. **Faraday Discussions of the Chemical Society**, v. 57, p. 263-274, 1974.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, v.15, n.1, p.71-81, 2002.

SPARKS, R.E. Microencapsulation, In: Kirk-Othmer encyclopedia of chemical technology, 3 ed. New York: John Wiley, v.15, p.470-493. 1981.

SUAVE, J.; DALL'AGNOL, E. C.; PEZZIN, A. P. T.; SILVA, D. A. K.; *MEIER, M. M.; SOLDI, V.2 . Microencapsulação: Inovação em diferentes áreas. **Revista Saúde e Ambiente / Health and Environment Journal**, v. 7, n. 2, dez. 2006.

TAKAHASHI, A. I. *Obtenção e caracterização de complexos binários e ternários de sinvastatina e ciclodextrinas*. 2009. 99f. Dissertação (Mestrado em fármacos e medicamentos)- Faculdade de Ciência Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo.

TELEKI, Alexandra; HITZFELD, Andrea; EGGERSDORFER, Manfred. 100 Years of Vitamins: The Science of Formulation is the Key to Functionality. **KONA Powder and Particle Journal** n.30 , 2013.

THEVENET, F. Acacia gums: natural encapsulation agent for food ingredients. In: RISCH, S.J.; REINECCIUS, G.A. **Encapsulation and controlled release of food Ingredients**. ACS Symposium Series, 590. Washington: ACS, 1995. P.51-90.

TONON, R. V.; BRABET, C.; HUBINGER M. D. Influência da temperatura do ar de secagem e da concentração do agente carreador sobre as propriedades físico-químicas do suco de acai em pó. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, 29 (2): 444-450, abr-jun, 2009.

THIES, C. How to make microcapsules. Lecture and Laboratory Manual. St. Louis. Missouri. 1995.

TRINDADE, C. S. F.; PINHO, S. C.; ROCHA, G. A. Revisão: Microencapsulação de ingredientes alimentícios. **Brazilian Journal of Food**

Technology, v. 11, n. 2, p. 103-112, 2008.

TRUBIANO, P. C.; LACOURSE, N. L. Emulsion-stabilizing starches. In: RISCH, S. J.; REINECCIUS, G. A. **Flavor encapsulation**. ACS Symposium Series, 370. Washington, DC: ACS, 1988. P.45-54.

TÜRKER, N.; ERDOGDU, F.; "Effects of pH and temperature of extraction medium on effective diffusion coefficient of anthocyanin pigments of black carrot (*Daucus carota* var. L.)"; **Journal of Food Engineering**; 2006, 76(4), p. 579.

VEDANA, M. I. S. Efeito do processamento na atividade antioxidante de uva. Dissertação de Mestrado em Tecnologia de Alimentos – Programa de Pós Graduação em Tecnologia de Alimentos – Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2008. 87p.

VERVIC, R.J. **Coacervation for flavor encapsulation**. Disponível em: <http://www.rtdodge.com/coacer.html>. Acesso em: 5 maio 2004.

VILA JATO J L. **Tecnologia farmacêutica**: Aspectos fundamentais de los sistemas farmacêuticos y operaciones básicas. v. 1. Ed. Sintesis Editorial, Madri, Espanha. 1999.

VOGLER INGREDIENTES LTDA., Dossie gomas. As gomas exudadas de plantas. **Food ingredients Brasil**, n. 17, 2011.a

VOGLER INGREDIENTES LTDA., A Gelatina e seus benefícios para a saúde humana. **Food ingredients Brasil**, n. 18, 2011.b

WANG, Y.; KIMURA, K.; DUBIN, P. L.; JAEGER, W. Polyelectrolyte-Micelle Coacervation: Effects of Micelle Surface Charge Density, Polymer Molecular Weight, and Polymer/Surfactant Ratio. **Macromolecules**, v. 33, p. 3324-3331, 2000.

WENDLANDT, W. W. **Thermal analysis**. New York: John Wiley & Sons, 1986.

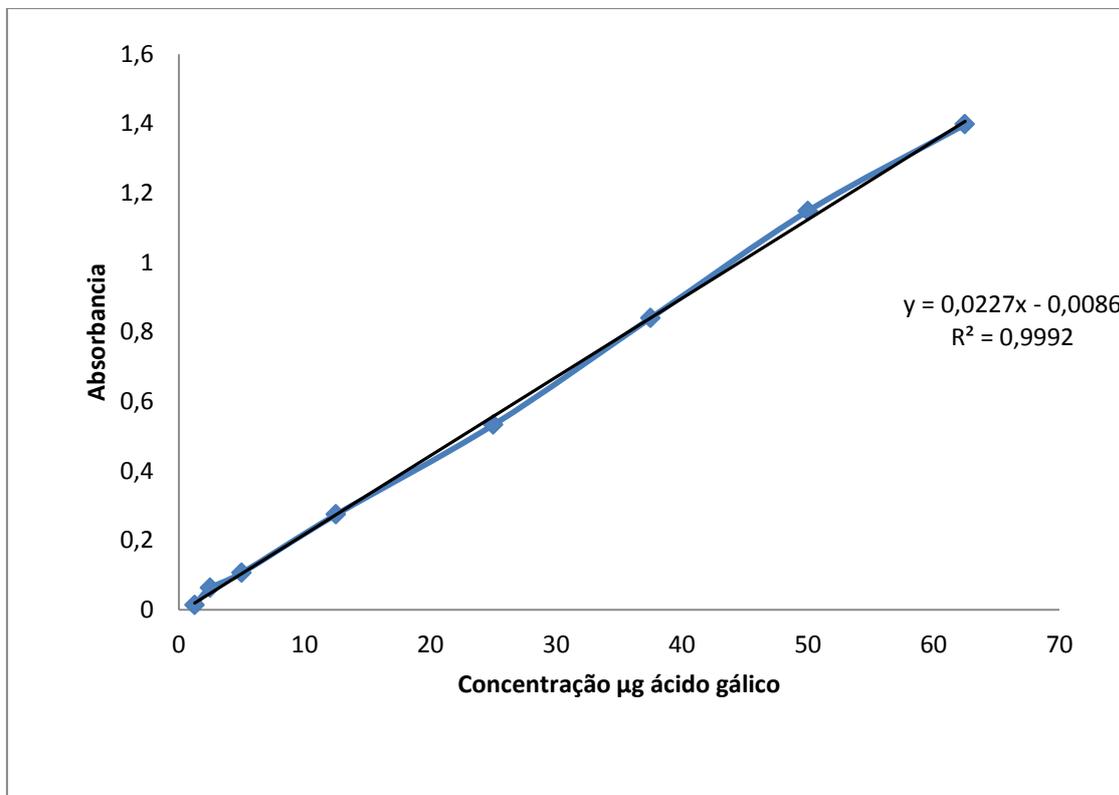
WILSON, N. e SHAH, N. P. Microencapsulation of vitamins. **ASEAN Food Journal**, 14 , p. 1-14, 2007.

WROLSTAD R.E., DURST R. W., LEE J. Tracking color and pigment changes in anthocyanin products. **Trends Food Sci Technol**, 2005.16: 423–428.

WSSA. Weed science society of America. Disponível: www.wssa.org. Acesso: 17/05/2005.

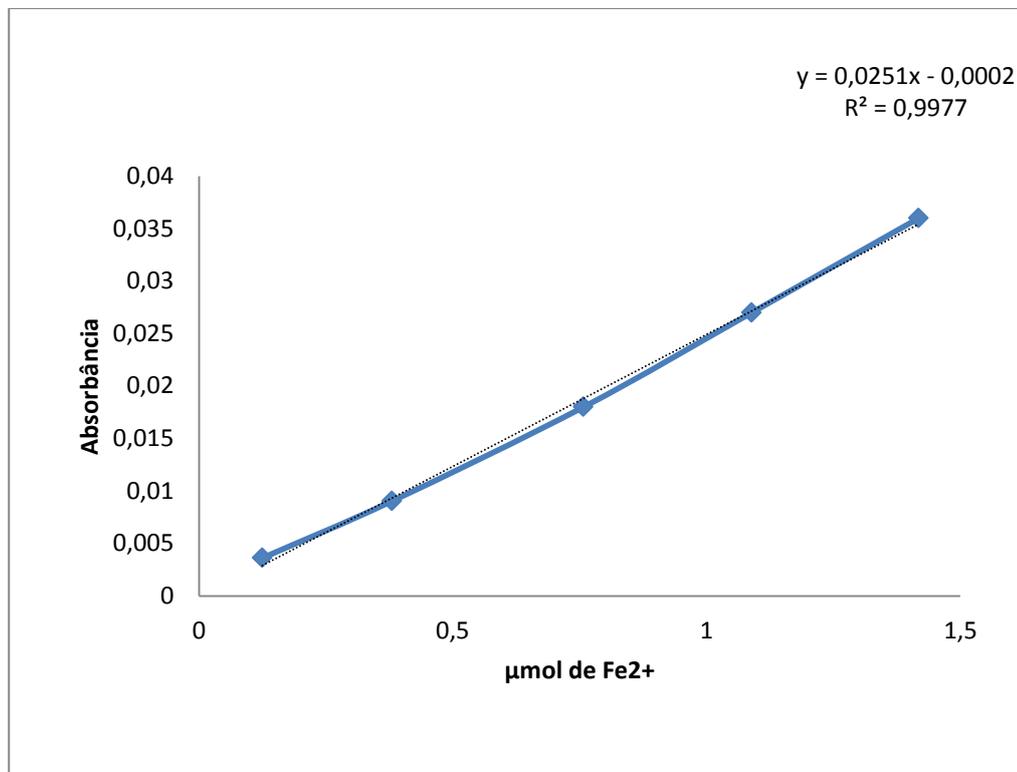
ZHENG, W.; WANG, S. Y. Antioxidant Activity and Phenolic Compounds in Selected Herbs. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.49, n.11, p. 5165-5170, 2001.

ANEXO A



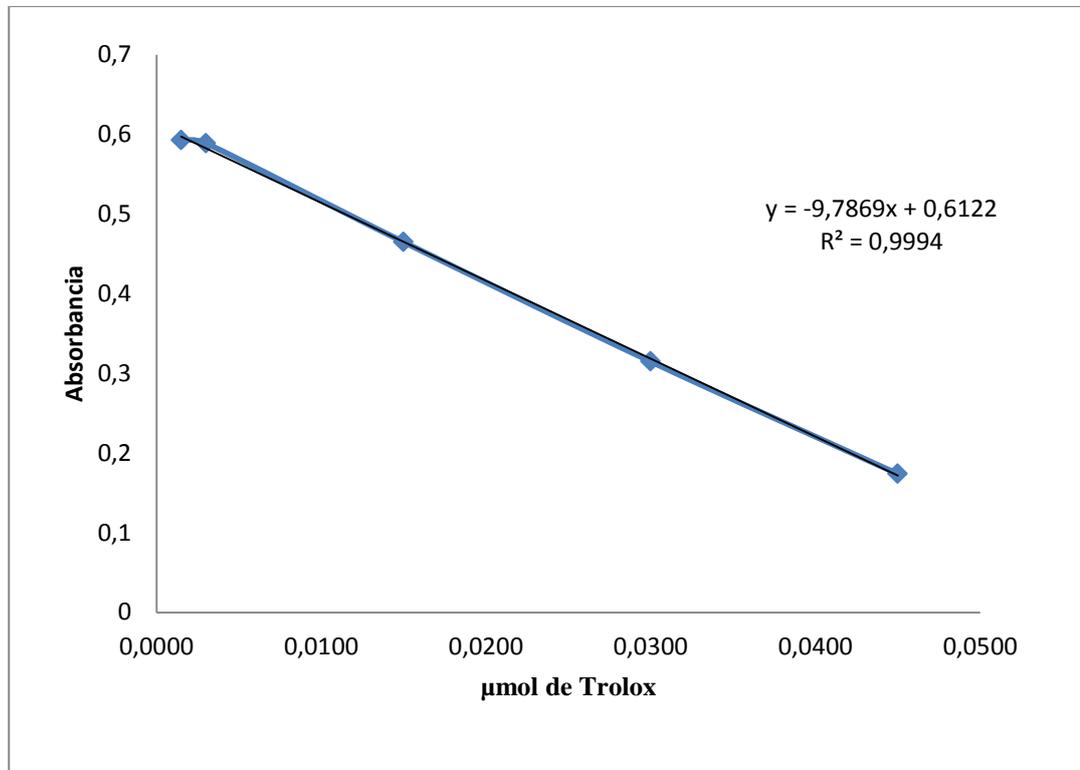
Curva de calibração para o cálculo de teor de compostos fenólicos para polpa de amora.

ANEXO B



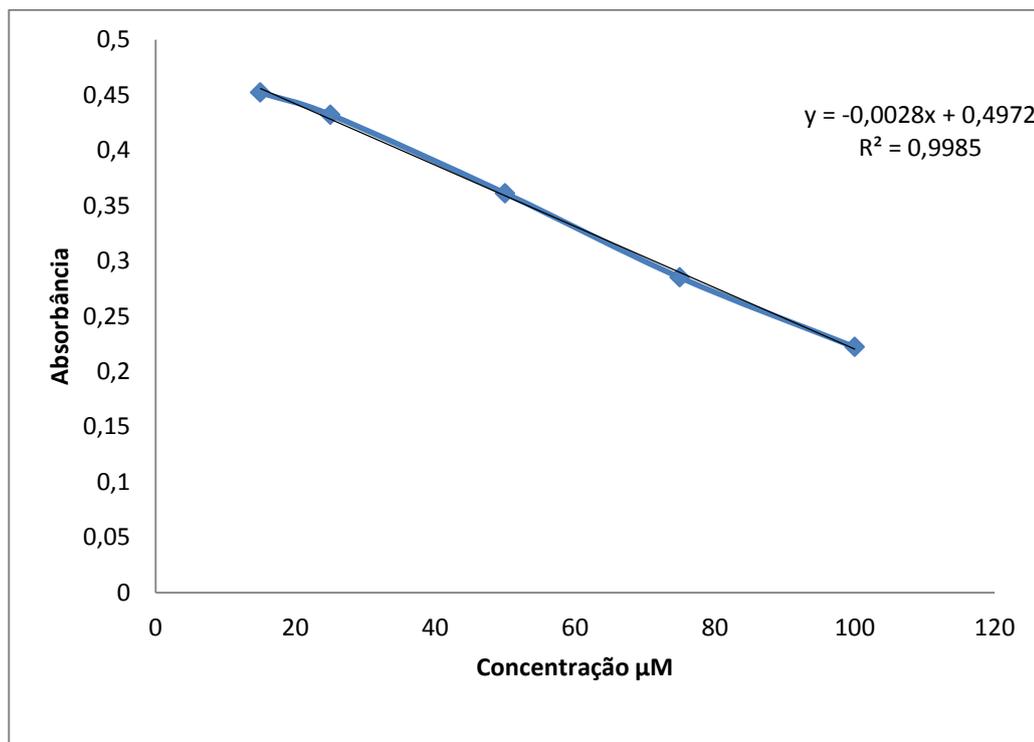
Curva de calibração para o cálculo da atividade antioxidante FRAP para polpa de amora.

ANEXO C



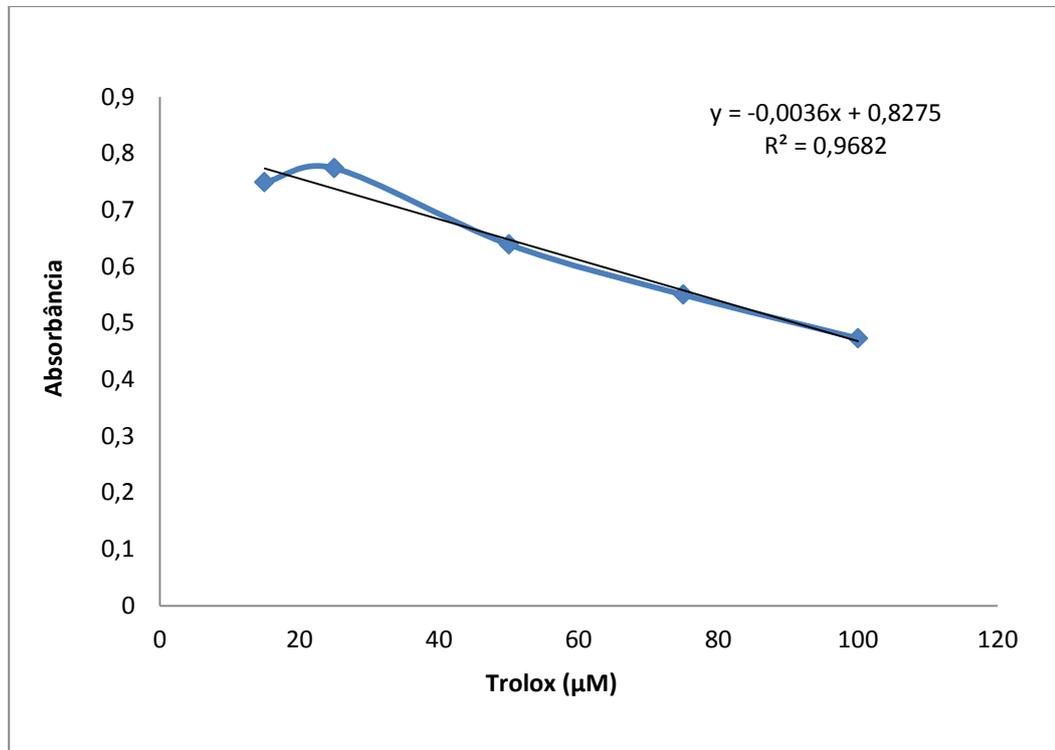
Curva de calibração para o cálculo da atividade antioxidante ABTS para polpa de amora.

ANEXO D



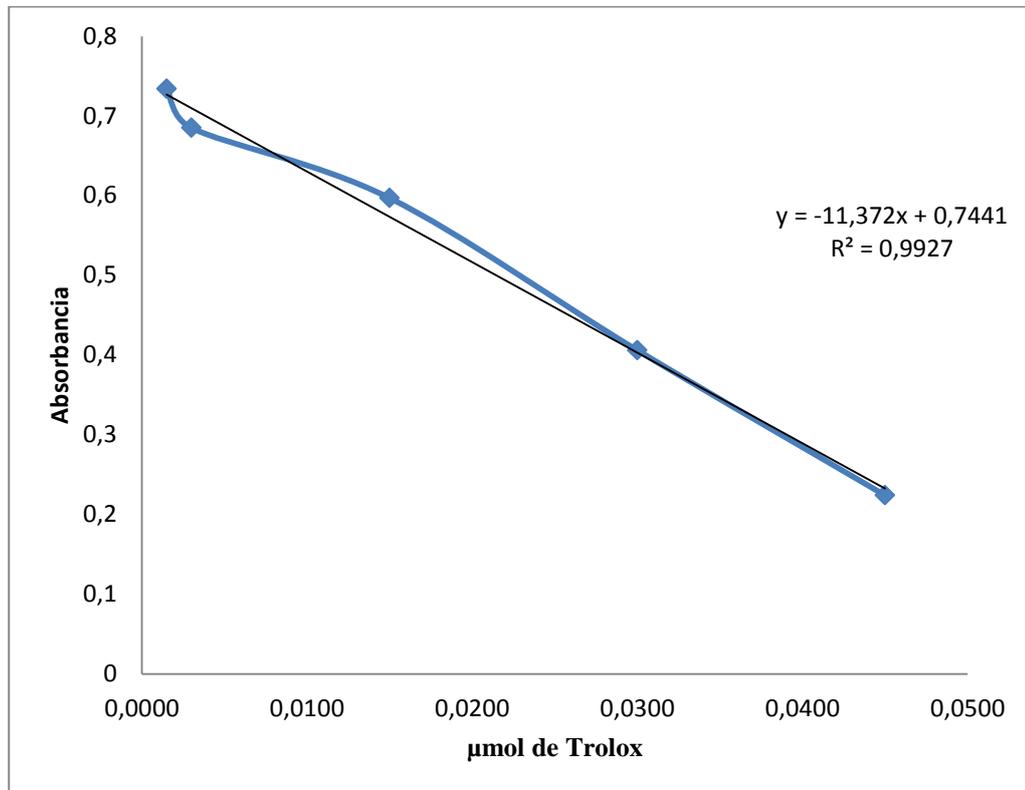
Curva de calibração para o cálculo da atividade antioxidante DPPH - trolox para polpa de amora.

ANEXO E



Curva de calibração de antioxidante DPPH - trolox para o microencapsulado de polpa de amora com maltodextrina por *spray dryer*.

ANEXO F



Curva de calibração de ABTS, para o microencapsulado de polpa de amora com maltodextrina por *spray dryer*.

ANEXO G

Teste-t: duas amostras presumindo variâncias equivalentes

α^*	<i>Polpa líquida</i>	<i>Spray dryer dissolv.</i>
Média	-0,74	11,89666667
Variância	0,0196	3,33333E-05
Observações	3	3
Variância agrupada	0,009816667	
Hipótese da diferença de média	0	
gl	4	
Stat t	-156,2054337	
P(T<=t) uni-caudal	5,03753E-09	
t crítico uni-caudal	2,131846786	
P(T<=t) bi-caudal	1,00751E-08	
t crítico bi-caudal	2,776445105	

VERDADEIRO

α^*	<i>Polpa líquida</i>	<i>Coacerva dissolv</i>
Média	-0,74	8,326666667
Variância	0,0196	0,000533333
Observações	3	3
Variância agrupada	0,010066667	
Hipótese da diferença de média	0	
gl	4	
Stat t	-110,6752304	
P(T<=t) uni-caudal	1,9984E-08	
t crítico uni-caudal	2,131846786	
P(T<=t) bi-caudal	3,99681E-08	
t crítico bi-caudal	2,776	

VERDADEIRO

α^*	<i>Spray dryer dissolv.</i>	<i>Coacerva dissolv</i>
Média	11,89666667	8,326666667
Variância	3,33333E-05	0,000533333
Observações	3	3
Variância agrupada	0,000283333	
Hipótese da diferença de média	0	
gl	4	
Stat t	259,7556544	
P(T<=t) uni-caudal	6,58898E-10	
t crítico uni-caudal	2,131846786	
P(T<=t) bi-caudal	1,3178E-09	
t crítico bi-caudal	2,776445105	

VERDADEIRO

ANEXO H

Teste-t: duas amostras presumindo variâncias equivalentes

<i>b*</i>	<i>Polpa líquida</i>	<i>Spray dryer dissolv.</i>
Média	1,43	3,336666667
Variância	0,0052	0,000133333
Observações	3	3
Variância agrupada	0,002666667	
Hipótese da diferença de média	0	
gl	4	
Stat t	-45,22057054	
P(T<=t) uni-caudal	7,15093E-07	
t crítico uni-caudal	2,131846786	
P(T<=t) bi-caudal	1,43019E-06	
t crítico bi-caudal	2,776445105	

VERDADEIRO

<i>b*</i>	<i>Polpa líquida</i>	<i>Coacerva dissolv</i>
Média	1,43	1,43
Variância	0,0052	3,33333E-05
Observações	3	3
Variância agrupada	0,002616667	
Hipótese da diferença de média	0	
gl	4	
Stat t	0,079808688	
P(T<=t) uni-caudal	0,470111389	
t crítico uni-caudal	2,131846786	
P(T<=t) bi-caudal	0,940222779	
t crítico bi-caudal	2,776445105	

FALSO

<i>b*</i>	<i>Spray dryer dissolv.</i>	<i>Coacerva dissolv</i>
Média	3,336666667	1,426666667
Variância	0,000133333	3,33333E-05
Observações	3	3
Variância agrupada	8,33333E-05	
Hipótese da diferença de média	0	
gl	4	
Stat t	256,2533902	
P(T<=t) uni-caudal	6,95663E-10	
t crítico uni-caudal	2,131846786	
P(T<=t) bi-caudal	1,39133E-09	
t crítico bi-caudal	2,776445105	

VERDADEIRO

ANEXO I

Teste-t: duas amostras presumindo variâncias equivalentes

<i>L*</i>	<i>Polpa líquida</i>	<i>Spray dryer dissolv.</i>
Média	10,83333333	22,95333333
Variância	3,33333E-05	3,33333E-05
Observações	3	3
Variância agrupada	3,33333E-05	
Hipótese da diferença de média	0	
gl	4	
Stat t	-2571,040256	
P(T<=t) uni-caudal	6,86571E-14	
t crítico uni-caudal	2,131846786	
P(T<=t) bi-caudal	1,37314E-13	
t crítico bi-caudal	2,776445105	

VERDADEIRO

<i>L*</i>	<i>Spray dryer dissolv.</i>	<i>Coacerva dissolv</i>
Média	22,95333333	24,36666667
Variância	3,33333E-05	3,33333E-05
Observações	3	3
Variância agrupada	3,33333E-05	
Hipótese da diferença de média	0	
gl	4	
Stat t	-299,8132752	
P(T<=t) uni-caudal	3,71266E-10	
t crítico uni-caudal	2,131846786	
P(T<=t) bi-caudal	7,42533E-10	
t crítico bi-caudal	2,776445105	

VERDADEIRO

<i>L*</i>	<i>Polpa líquida</i>	<i>Coacerva dissolv</i>
Média	10,83333333	24,36666667
Variância	3,33333E-05	3,33333E-05
Observações	3	3
Variância agrupada	3,33333E-05	
Hipótese da diferença de média	0	
gl	4	
Stat t	-2870,853532	
P(T<=t) uni-caudal	4,41649E-14	
t crítico uni-caudal	2,131846786	
P(T<=t) bi-caudal	8,83297E-14	
t crítico bi-caudal	2,776445105	

VERDADEIRO

ANEXO J - Tabela de eventos térmicos

	1° Evento térmico	Tp*	Δm^{**}	2° Evento térmico	Tp	Δm	3° Evento térmico	Tp	Δm	Massa residual
Amora <i>in natura</i>	30-74°C	68°C	86,41%	100-500°C	200°C	10,85%	-	-	-	2,73%
Amora liofilizada	30-90°C	68°C	2,38%	100-200°C	168°C	40%	270-378°C	310°C	20%	31,32%
Gelatina	60-100°C	60°C	11%	200-440°C	300°C	41,6%	-	-	-	35,38%
Goma arábica	30-60°C	40°C	-	230-370°C	300°C	46,5%	-	-	-	29,71%
Maltodextrina	30-100°C	80°C	9,23%	200-440°C	358°C	41,6%	440-520°C	480°C	33,17%	16%
Coacervado	50-130°C	80°C	7%	200-380°C	305°C	51,7%	-	-	-	33,55%
Spray Dryer	30-100°C	55°C	4,7%	137-216°C	198°C	15,6%	246-360°C	300°C	41%	32,72%

(*)Tp = Temperatura de pico (**) Δm = variação de massa

