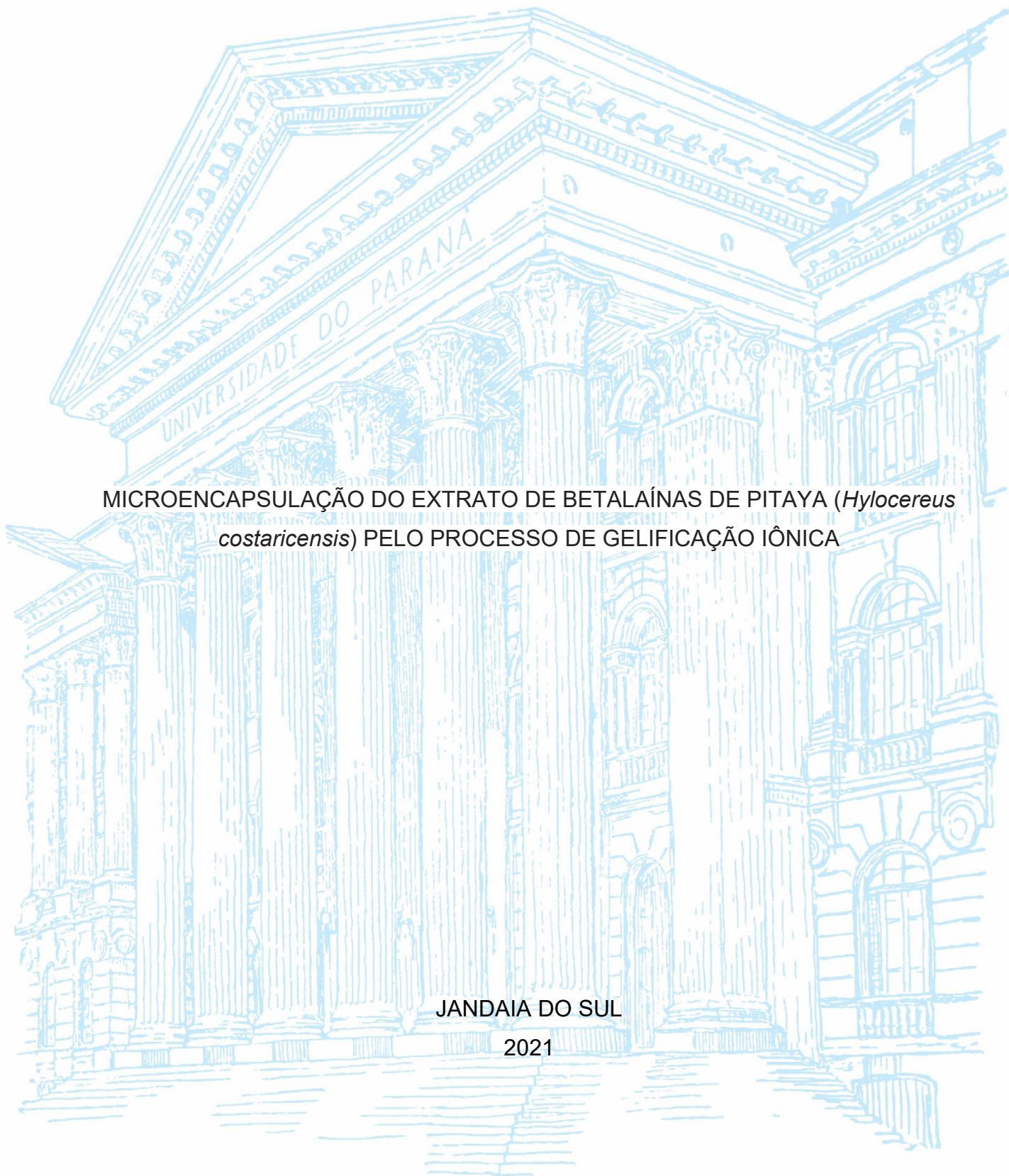


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

LARISSA RESENDE MATHEUS

MICROENCAPSULAÇÃO DO EXTRATO DE BETALAÍNAS DE PITAYA (*Hylocereus costaricensis*) PELO PROCESSO DE GELIFICAÇÃO IÔNICA

JANDAIA DO SUL  
2021



LARISSA RESENDE MATHEUS

MICROENCAPSULAÇÃO DO EXTRATO DE BETALAÍNAS DE PITAYA (*Hylocereus costaricensis*) PELO PROCESSO DE GELIFICAÇÃO IÔNICA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Alimentos, curso de Engenharia de Alimentos, Campus Avançado de Jandaia do Sul, Universidade Federal do Paraná.

Orientadora: Profa. Dra. Leomara Floriano Ribeiro

JANDAIA DO SUL

2021

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Bibliotecas/UFPR  
Biblioteca do Campus Jandaia do Sul  
Bibliotecária: Layane Feifer Calixto Janjacomo – CRB 9/1711

M427m Matheus, Larissa Resende  
Microencapsulação do extrato de betalaínas de pitaya  
(*Hylocereus Costaricensis*) pelo processo de gelificação iônica /  
Larissa Resende Matheus. - Jandaia do Sul, 2021.  
36 f.

Orientadora: Pro<sup>fa</sup>. Dra. Leomara Floriano Ribeiro  
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal do  
Paraná. Campus Jandaia do Sul. Curso de Graduação em Engenharia de  
Alimentos.

1. Quitosana. 2. Bioativos. 3. Microencapsulação. 4. Emulsificação. I.  
Ribeiro, Leomara Floriano. II, Título. III. Universidade Federal do  
Paraná.

CDD: 615.4



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

PARECER Nº  
PROCESSO Nº  
INTERESSADO:

02/2021/UFPR/R/1A  
23075.038658/2021-59  
UFPR/R/1A/CCEAL - COORDENAÇÃO DO CURSO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS -  
JANDAIA

TERMO DE APROVAÇÃO

LARISSA RESENDE MATHEUS

MICROENCAPSULAÇÃO DO EXTRATO DE BETALAINAS DE PITAYA (HYLOCEREUS COSTARICENSIS) PELO PROCESSO DE GELIFICAÇÃO IÔNICA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial a obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Alimentos no curso de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal do Paraná, aprovado pela seguinte banca examinadora:

Orientador: Dra. Leomara Floriano Ribeiro  
Curso de Engenharia de Alimentos, UFPR

Dra. Leda Maria Saragiotto Colpini  
Curso de Engenharia de Alimentos, UFPR

Dra. Luana Carolina Bosmuler Züge  
Curso de Engenharia de Alimentos, UFPR

Jandaia do Sul, 28 de julho de 2021.



Documento assinado eletronicamente por LEDA MARIA SARAGIOTTO COLPINI, PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR, em 28/07/2021, às 15:39, conforme art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



Documento assinado eletronicamente por LUANA CAROLINA BOSMULER ZUGE, PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR, em 28/07/2021, às 15:39, conforme art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



Documento assinado eletronicamente por LEOMARA FLORIANO RIBEIRO, PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR, em 28/07/2021, às 15:40, conforme art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



A autenticidade do documento pode ser conferida [aqui](#) informando o código verificador 3680474 e o código CRC 5EFA3A6F.

# MICROENCAPSULAÇÃO DO EXTRATO DE BETALAÍNAS DE PITAYA (*Hylocereus costaricensis*) PELO PROCESSO DE GELIFICAÇÃO IÔNICA

Larissa Resende Matheus; Leomara Floriano Ribeiro

## RESUMO

As betalaínas são compostos de coloração vermelho/violeta encontrados em pitaya (*Hylocereus costaricensis*). Estes compostos podem ter potencial tecnológico e serem utilizados como corantes para a indústria de alimentos, porém, há indícios que as betalaínas apresentam instabilidade ao serem submetidas à determinados fatores como a luz, a presença de oxigênio, as alterações de pH e as mudanças de temperatura. A encapsulação é um dos processos que podem auxiliar na manutenção da estabilidade destes compostos, pois consiste na formação de uma cápsula comestível, constituída por material encapsulante, envolta de um composto específico. Neste sentido, o presente estudo teve como objetivo desenvolver cápsulas do extrato de betalaínas de pitaya (*Hylocereus costaricensis*), empregando a técnica de gelificação iônica utilizando quitosana como agente encapsulante, bem como caracterizá-las física, química e estruturalmente. O extrato de betalaínas foi caracterizado e posteriormente as cápsulas foram elaboradas com base em diferentes formulações, contando com dois controles (C1 e C2) e três ensaios (E1, E2 e E3). As cápsulas foram avaliadas em relação ao aspecto visual, propriedades físicas (rendimento, diâmetro médio e higroscopicidade), microscopia eletrônica de varredura (MEV), bem como eficiência de encapsulação (EE), solubilidade, compostos fenólicos totais em equivalente de ácido gálico (EAG) e digestibilidade gastrointestinal simulada. O extrato de betalaínas continha 13 °Brix de sólidos solúveis e um perfil bioativo baseado na determinação de betalaínas totais ( $45,75 \pm 0,51 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ ), compostos fenólicos totais ( $69,96 \pm 0,86 \text{ mg EAG } 100 \text{ g}^{-1}$ ) e atividade sequestrante ABTS ( $831,33 \pm 8,90 \text{ } \mu\text{M trolox } \text{g}^{-1}$ ). O processo de encapsulação apresentou rendimento em torno de 89 %. As cápsulas eram esféricas ovaladas com diâmetro médio de 5,71 a 7,06 mm, com higroscopicidade máxima variando em torno de 50 a 60%. As cápsulas foram liofilizadas a fim de preservar os compostos. A EE foi determinada para as cápsulas úmidas (74,71 e 79,81%) e liofilizadas (71,33 e 77,66%). As cápsulas úmidas apresentaram solubilidade, em torno de 96%, e as liofilizadas, variaram de 60 a 70%. Os compostos fenólicos totais (CFT) das cápsulas apresentaram em média 565 mg EAG  $100 \text{ g}^{-1}$ . Ao comparar os resultados de CFT para o extrato de betalaínas e as cápsulas, pode-se observar que houve um aumento considerável devido a presença da quitosana. No estudo da digestibilidade gastrointestinal simulada pode-se observar que as cápsulas em todos os ensaios tiveram baixa bioacessibilidade, em torno de 2,3%. Com base no exposto, conclui-se que a gelificação iônica com quitosana resultou em cápsulas promissoras para aplicações em produtos alimentícios, sendo que a cápsula com quitosana de alta massa molecular se destacou em relação as demais cápsulas.

Palavras-Chave: Perfil bioativo. Quitosana. Interações iônicas.

# MICROENCAPSULATION OF PITAYA BETALAINS EXTRACT (*Hylocereus costaricensis*) BY IONIC GELIFICATION PROCESS

Larissa Resende Matheus; Leomara Floriano Ribeiro

## ABSTRACT

Betalains are red/violet-colored compounds found in pitaya (*Hylocereus costaricensis*). These compounds may have technological potential and be used as dyes for the food industry, however, there is evidence that betalains present instability when subjected to certain factors such as light, the presence of oxygen, pH changes, and temperature changes. Encapsulation is one of the processes that can help maintain the stability of these compounds, as it consists in the formation of an edible capsule, consisting of an encapsulating material, surrounded by a specific compound. In this sense, the present study aimed to develop betalain extract capsules from pitaya (*Hylocereus costaricensis*), using the ionic gelation method using chitosan as an encapsulating agent, as well as to characterize them physically, chemically and structurally. The betalain extract was characterized and subsequently the capsules were prepared based on different formulations, with two controls (C1 and C2) and three assays (E1, E2 and E3). The capsules were evaluated for visual appearance, physical properties (yield, mean diameter and hygroscopicity), scanning electron microscopy (SEM), as well as encapsulation efficiency (EE), solubility, total phenolic compounds in gallic acid equivalent (EAG) and simulated gastrointestinal digestibility. The betalain extract contained 13 °Brix of soluble solids and a bioactive profile based on the determination of total betalains ( $45.75 \pm 0.51 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$ ), total phenolic compounds ( $69.96 \pm 0.86 \text{ mg EAG } 100 \text{ g}^{-1}$ ) and ABTS hijacking activity ( $831.33 \pm 8.90 \text{ } \mu\text{M trolox g}^{-1}$ ). The encapsulation process presented an efficiency around 89 %. The capsules were spherical oval with a mean diameter of 5.71 to 7.06 mm, with maximum hygroscopicity ranging from around 50 to 60 %. Capsules were lyophilized in order to preserve the compounds. EE was determined for wet (74.71 and 79.81%) and lyophilized (71.33 and 77.66%) capsules. Wet capsules showed solubility around 96% and lyophilized ones ranged from 60 to 70 %. The total phenolic compounds (CFT) of the capsules had an average of 565 mg EAG 100 g<sup>-1</sup>. When comparing the CFT results for the betalain extract and the capsules, it can be seen that there was a considerable increase due to the presence of chitosan. In the study of simulated gastrointestinal digestibility, it can be observed that the capsules in all tests had low bioaccessibility, around 2.3%. Based on the above, it is concluded that the ionic gelation with chitosan resulted in promising capsules for applications in food products, and the capsule with high molecular mass chitosan stood out in relation to the other capsules.

Keywords: Bioactive profile. Chitosan. Ionic interactions.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 – FLUXOGRAMA DAS ETAPAS DA ENCAPSULAÇÃO POR GELIFICAÇÃO IÔNICA.....	14
FIGURA 2 – FLUXOGRAMA DAS ETAPAS REALIZADAS NA DIGESTÃO GASTROINTESTINAL SIMULADA .....	17
FIGURA 3 – TEOR DE SÓLIDOS SOLÚVEIS NA POLPA E NO EXTRATO CONCENTRADO DE PITAYA.....	19
FIGURA 4 – CÁPSULAS DO PROCESSO DE GELIFICAÇÃO IÔNICA.....	21
FIGURA 5 – GRÁFICO DA HIGROSCOPICIDADE EM FUNÇÃO DO TEMPO.....	25
FIGURA 6 – MICROGRAFIAS DAS CÁPSULAS CONTROLE COM E SEM QUITOSANA .....	26
FIGURA 7 – MICROGRAFIAS DAS CÁPSULAS COM QUITOSANA .....	27
FIGURA 8 - TEOR DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS ANTES E DURANTE AS FASES DA DIGESTIBILIDADE GASTROINTESTINAL SIMULADA.....	28
FIGURA 9 - BIOACESSIBILIDADE DAS CÁPSULAS DE BETALAÍNAS.....	30

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – PROPORÇÕES DE AGENTES ENCAPSULANTES EM CADA ENSAIO .....	13
TABELA 2 – PERFIL DE COMPOSTOS BIOATIVOS DO EXTRATO CONCENTRATO DE PITAYA.....	19
TABELA 3 – PARÂMETROS FÍSICOS DAS CÁPSULAS DE BETALAÍNAS .....	22
TABELA 4 – EFICIÊNCIA DE ENCAPSULAÇÃO DAS CÁPSULAS ÚMIDAS E LIOFILIZADAS .....	23
TABELA 5 – SOLUBILIDADE DAS CÁPSULAS DE BETACIANINAS ÚMIDAS E LIOFILIZADAS .....	24
TABELA 6 – COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS PARA AS SOLUÇÕES DE QUITOSANA .....	29

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>10</b>
<b>2</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>11</b>
2.1	MATERIAL .....	11
2.2	DETERMINAÇÃO DE SÓLIDOS SOLÚVEIS .....	12
2.3	PERFIL DE COMPOSTOS BIOATIVOS .....	12
2.3.1	Determinação de betalaínas totais .....	12
2.3.2	Determinação de compostos fenólicos totais .....	12
2.3.3	Atividade sequestrante de radical ABTS <sup>•+</sup> .....	13
2.4	PROCESSO DE ENCAPSULAÇÃO .....	13
2.5	CARACTERIZAÇÃO DAS CÁPSULAS DE BETALAÍNAS .....	14
2.5.1	Aspecto visual .....	14
2.5.2	Diâmetro médio das cápsulas .....	15
2.5.3	Umidade .....	15
2.5.4	Rendimento .....	15
2.5.5	Solubilidade .....	15
2.5.6	Eficiência de encapsulação .....	15
2.5.7	Higroscopicidade .....	16
2.5.8	Microscopia Eletrônica de Varredura .....	16
2.6	DIGESTIBILIDADE GASTROINTESTINAL SIMULADA .....	16
2.6.1	Preparo dos fluidos simulados .....	17
2.6.2	Digestibilidade gastrointestinal simulada .....	17
2.6.3	Bioacessibilidade .....	18
2.7	ANÁLISES ESTATÍSTICAS .....	18
<b>3</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	<b>18</b>
3.1	PERFIL DE COMPOSTOS BIOATIVOS .....	18
3.2	CARACTERIZAÇÃO DAS CÁPSULAS .....	20
3.3	ESTUDO DA DIGESTIBILIDADE GASTROINTESTINAL SIMULADA .....	28
<b>4</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>31</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>32</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Os compostos bioativos exercem funções importantes no organismo devido a sua atividade antioxidante, que retarda a velocidade de oxidação através da inibição dos radicais livres. Esses compostos são encontrados em vegetais como frutas e hortaliças, podendo ser empregados em diversos processos e produtos, dentre eles como pigmentos na indústria alimentícia, assim aumentando a atratividade por agregar cor aos alimentos (LIMBERAKI et al., 2012; SKROVANKOVA et al., 2015; SANTOS-BUELGA, GONZÁLES-PARAMÁS, 2019).

Dentre as classes de compostos bioativos, estão as betalaínas. Estruturalmente, as betalaínas são divididas em dois grupos, as betacianinas - coloração vermelha/violeta - e as betaxantinas - coloração amarela/alaranjada. As betacianinas são compostas por ácido betalâmico e ciclo-3,4-dihidroxifenilalanina, já as betaxantinas tem estrutura composta de ácido betalâmico e aminoácidos ou aminas (STRACK et al., 2003; GONÇALVES, 2018; QIN et al., 2020).

As estruturas das betalaínas são estáveis na faixa de pH de 3-7, mas sua coloração pode sofrer alterações, de vermelho para amarelo, quando as condições do meio estão alcalinas. Nos últimos anos, estudos mostraram que as betalaínas apresentam atividades antioxidantes (QIN et al., 2020), anti-inflamatórias (GONÇALVES, 2018; QIN et al., 2020), antiproliferativas (CUNHA et al., 2018), antimicrobianas (GONZÁLES-PARAMÁS, 2019; QIN et al., 2020), entre outros.

Entretanto, fatores como o pH, a exposição à luz e a temperatura prejudicam a estabilidade das betalaínas, acarretando a degradação deste composto e, conseqüentemente, minimizando suas propriedades (CUNHA et al., 2018; GONÇALVES, 2018). A fim de atenuar possíveis degradações provenientes do método de processamento e/ou armazenamento, a encapsulação vem sendo estudada e empregada como meio de proteção de vários compostos, em especial, os compostos bioativos.

Há diferentes processos de encapsulação, como por *spray-drying* (BICUDO et al., 2014), *freeze-drying* (BICUDO et al., 2014; CHAI et al., 2018), método de anti-solvente supercrítico e a utilização de dióxido de carbono supercrítico (ZHAO et al., 2016; FRANÇA et al., 1999). Como alternativa às técnicas tradicionais, a gelificação iônica é uma possibilidade porque consiste no gotejamento de uma solução aniônica sobre uma solução catiônica, resultando em cápsulas, conhecidas como microesferas,

as quais são estabilizadas através da remoção de água por processo de secagem (VOS et al., 2009; ROCHA, 2017).

O método se mostra eficiente, simples e apresenta menor custo por não necessitar de equipamentos especializados, solventes orgânicos ou altas temperaturas. Na técnica de gelificação iônica podem ser empregados diversos materiais encapsulantes, como gelatina, alginato de sódio, quitosana, entre outros (VOS et al., 2009; ARRIOLA et al., 2019). A quitosana é polissacarídeo amino derivado da desacetilação da quitina, sendo um composto natural e biodegradável (LIMA, 2015).

As características físicas e químicas da quitosana permitem a formação de géis e auxiliam na resistência mecânica, capacidade filmogênica, entre outras (LIMA, 2015). Neste sentido, as propriedades da quitosana podem auxiliar na estabilidade as microcápsulas por reforçar a capacidade protetora, tornando possível o desenvolvimento de produtos com compostos bioativos estáveis, sejam em formulações líquidas ou sólidas (ROCHA, 2017; ARRIOLA et al., 2019).

Com base no exposto, o presente trabalho teve como objetivo encapsular o extrato de betalaínas de pitaya (*Hylocereus costaricensis*) por meio da técnica de gelificação iônica utilizando quitosana como agente encapsulante bem como caracterizar as cápsulas física, química e estruturalmente.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 MATERIAL**

As amostras de pitaya (*Hylocereus costaricensis*) foram doadas por um produtor do município de Jandaia do Sul, Paraná. As frutas foram previamente lavadas em água corrente e sanitizadas em uma solução 100 ppm de hipoclorito de sódio por 20 minutos. As frutas foram separadas em frações de casca e de polpa com semente. Em seguida, as frações foram acondicionadas em embalagens plásticas, ao abrigo da luz e armazenadas à -18 °C em freezer. No momento da realização das análises, as amostras foram descongeladas e filtradas. Na sequência, a polpa filtrada foi evaporada em rotaevaporador (Marconi, modelo MA120/THV) a 40 °C por 3 horas, formando um extrato de betalaínas, com resultados expressos em base de betacianinas, em seguida, armazenado em frascos de vidro âmbar sob refrigeração.

## 2.2 DETERMINAÇÃO DE SÓLIDOS SOLÚVEIS

Os sólidos solúveis totais foram determinados por refratometria utilizando um refratômetro ABBE (Astral científica). O teor de sólidos solúveis (°Brix) do extrato foi determinado antes e depois da rotaevaporação.

## 2.3 PERFIL DE COMPOSTOS BIOATIVOS

### 2.3.1 Determinação de betalaínas totais

O conteúdo de betalaínas foi expresso com base no teor de betacianinas totais do extrato segundo metodologia de Castro-Muñoz et al. (2014), com adaptações. O extrato foi diluído na proporção de 1:50 (v/v) e a absorvância foi determinada a 535,5 nm em espectrofotômetro UV-Visível (Astral Científica). A concentração total de betacianinas (BC) foi calculada por meio da equação (1).

$$BC (mgL^{-1}) = \frac{A (MM)1000(FD)}{\epsilon l} \quad (1)$$

Onde:

A – Absorvância (nm)

FD – Fator de diluição

MM - Massa molecular (550 g mol<sup>-1</sup>)

ε - Coeficiente de extinção molar (60000 L mol<sup>-1</sup> cm)

l - Comprimento do percurso ótico da cubeta (1 cm)

### 2.3.2 Determinação de compostos fenólicos totais

A determinação dos compostos fenólicos foi realizada, em duplicata, segundo Singleton e Rossi (1965), com modificações. Em tubos, foram adicionados 60 µL de amostra, 3.000 µL de água destilada e 300 µL de reagente Folin-Ciocalteu (Dinâmica), esperou-se 3 minutos e foram adicionados 900 µL de carbonato de sódio (15%) e 1.740 µL de água destilada. As soluções foram analisadas em espectrofotômetro UV-Visível (Astral Científica) a 765 nm. O ácido gálico - AG (Sigma-

Aldrich) foi usado como padrão e os resultados foram expressos em miligramas de equivalentes de ácido gálico por 100 g de amostra ( $\text{mg EAG } 100\text{g}^{-1}$ ), com curva padrão em um intervalo de 25 a 800 mg de AG  $\text{L}^{-1}$ .

### 2.3.3 Atividade sequestrante de radical ABTS<sup>•+</sup>

A atividade sequestrante de radical ABTS<sup>•+</sup> da amostra foi realizada de acordo Re et al. (1999), com modificações. Alíquotas de 90  $\mu\text{L}$  das amostras foram transferidas para tubos de ensaio com 9.000  $\mu\text{L}$  do radical ABTS<sup>•+</sup>, previamente preparado, após 6 minutos da reação, as amostras foram analisadas a 734 nm em espectrofotômetro UV-Visível (Astral Científica). O solvente álcool etílico foi usado como branco e a curva de calibração foi realizada com o padrão Trolox (6-Hidroxi-2,5,7,8-tetrametilchroman-2-ácido carboxílico) (Sigma-Aldrich) na concentração de 50 a 1000  $\mu\text{M}$  e os resultados foram expressos em  $\mu\text{M trolox g}^{-1}$ .

## 2.4 PROCESSO DE ENCAPSULAÇÃO

O processo de encapsulação foi realizado por meio da técnica de gelificação iônica de acordo com Kanokpanont et al. (2017), com modificações. O extrato de betalaínas foi encapsulado utilizando alginato de sódio e quitosana, como agentes encapsulantes, conforme proporções definidas com base em ensaios experimentais preliminares (TABELA 1).

TABELA 1 – PROPORÇÕES DE AGENTES ENCAPSULANTES EM CADA ENSAIO

<b>Materiais de parede</b>	<b>C1</b>	<b>C2</b>	<b>E1</b>	<b>E2</b>	<b>E3</b>
Alginato de sódio	2,5%	2,5%	2,5%	2,5%	2,5%
Quitosana comercial	-	-	0,1%	-	-
Quitosana alta massa molecular (600 – 800 kDa)	-	-	-	0,1%	-
Quitosana média massa molecular (137 – 240 kDa)	-	-	-	-	0,1%

Nota: C1 – controle sem extrato e quitosana; C2 – controle com extrato de betalaínas e sem quitosana; E1 – ensaio com extrato de betalaínas e quitosana comercial; E2 – ensaio com extrato de betalaínas e quitosana de alta massa molecular; E3 – ensaio com extrato de betalaínas e quitosana de média massa molecular.

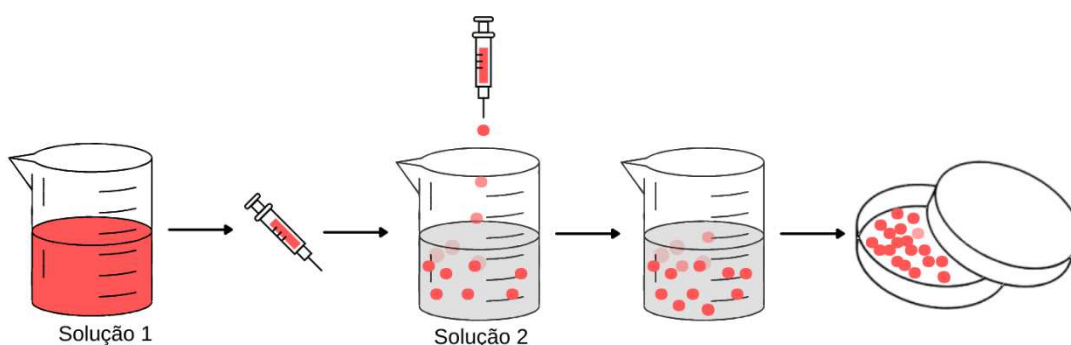
Fonte: A autora (2021).

Os controles C1 e C2 foram preparados com 100 mL de solução contendo 5% de cloreto de cálcio,  $\text{CaCl}_2$  (Dinâmica), homogeneizados em agitador magnético (Centaur) por 1 hora. As soluções de quitosana usadas nos ensaios com os extratos de betalaínas foram previamente preparadas com 0,5% de ácido acético e

homogeneizadas em agitador magnético por 24 horas. Os ensaios E1, E2 e E3 foram preparados com 100 mL de solução contendo 5% de  $\text{CaCl}_2$  e quitosana nas diferentes proporções (TABELA 1).

A FIGURA 1 mostra o esquema do processo da encapsulação por gelificação iônica, em que as soluções gelificantes preparadas para os ensaios continham 75 mL de extrato e 2,5% (m/v) de alginato de sódio (Dinâmica). As soluções foram agitadas em agitador magnético por 2 horas.

FIGURA 1 – FLUXOGRAMA DAS ETAPAS DA ENCAPSULAÇÃO POR GELIFICAÇÃO IÔNICA



Fonte: A autora (2021).

Para C1, utilizou-se água ao invés de extrato na solução. As soluções gelificantes foram gotejadas sobre cada solução de cloreto de cálcio e permaneceram sob agitação por 10 minutos. Na sequência, as cápsulas foram lavadas com água destilada para retirar o excesso de reagentes, e por conseguinte, parte das cápsulas foram armazenadas a 4 °C ao abrigo da luz para caracterização e parte foi liofilizada e mantida a -18 °C ao abrigo de luz.

## 2.5 CARACTERIZAÇÃO DAS CÁPSULAS DE BETALAÍNAS

### 2.5.1 Aspecto visual

O aspecto visual qualitativo foi determinado avaliando-se os parâmetros de cor, tamanho, homogeneidade e presença de bolhas de ar, logo após o processo de encapsulação de todos os ensaios.

### 2.5.2 Diâmetro médio das cápsulas

O diâmetro médio das cápsulas foi determinado com base na média de cinco amostras com medidas em posições aleatórias usando paquímetro digital.

### 2.5.3 Umidade

As cápsulas foram colocadas em cadinhos de porcelana e mantidas a 105 °C em estufa de secagem (SolidSteel/SSDcr-110L) até massa constante. A análise foi realizada em duplicata.

### 2.5.4 Rendimento

O rendimento das cápsulas de betalaínas foi determinado segundo García-Lucas (2016), com adaptações. O rendimento baseia-se na razão entre a massa de cápsulas formadas e a massa de extrato de betalaínas.

### 2.5.5 Solubilidade

A solubilidade das cápsulas foi determinada de acordo com Cano-Chauca et al. (2005), com modificações. As cápsulas foram dispersas em água destilada, na concentração 1:10 (m/v), em seguida agitadas por 5 minutos, e centrifugadas (Solab científica/SL-700) a 3500 rpm por 20 minutos. Na sequência, alíquotas de 2,5 mL foram transferidas para cadinhos previamente preparados e conduzidos para a estufa de secagem (SolidSteel/SSDcr-110L) por 5 horas. A análise de solubilidade das cápsulas foi realizada em duplicata.

### 2.5.6 Eficiência de encapsulação

A eficiência de encapsulação foi realizada antes e após a liofilização, segundo Selamat et al. (2009), com rompimento de 0,5 g das cápsulas em 5 mL de citrato de sódio 10% (m/v). Logo em seguida, o pH foi ajustado para 8,0 utilizando uma solução de hidróxido de sódio 0,1 mol L<sup>-1</sup>. A mistura foi agitada em vórtex (Even) por 2 minutos. Na sequência, 5 mL de etanol 99,5% foram adicionados à mistura dos tubos e a

agitação foi mantida por mais 2 minutos. A mistura foi centrifugada a 4000 rpm por 20 minutos e o teor de betacianinas foi determinado antes e depois deste procedimento. O valor de eficiência de encapsulação foi determinado por meio da equação (2).

$$\text{Eficiência de encapsulação (\%)} = \left( \frac{BT - BS}{BT} \right) * 100 \quad (2)$$

Onde:

BT - Quantidade de betacianinas totais (mg 100 g<sup>-1</sup>) após a ruptura de uma quantidade conhecida de microcápsulas

BS - Quantidade de betacianinas da superfície (mg 100 g<sup>-1</sup>) contida na mesma quantidade de microcápsulas.

#### 2.5.7 Higroscopicidade

A higroscopicidade foi determinada segundo Goula et al. (2008) com modificações. Em torno de 0,25 g das cápsulas foram colocadas, separadamente, em recipiente hermeticamente fechado com solução saturada de KCl (85% UR) e mantido a 25 °C até estabilidade na determinação da massa. A análise foi realizada em duplicata.

#### 2.5.8 Microscopia Eletrônica de Varredura

Para esta análise foi utilizado um microscópio eletrônico (Tescan, LMU-Vega3), onde a amostra foi espalhada sobre uma fita de carbono dupla face, posteriormente seca.

### 2.6 DIGESTIBILIDADE GASTROINTESTINAL SIMULADA

A digestibilidade das cápsulas de betalaínas foi realizada de acordo com Bornhorst et al. (2013), com modificações.

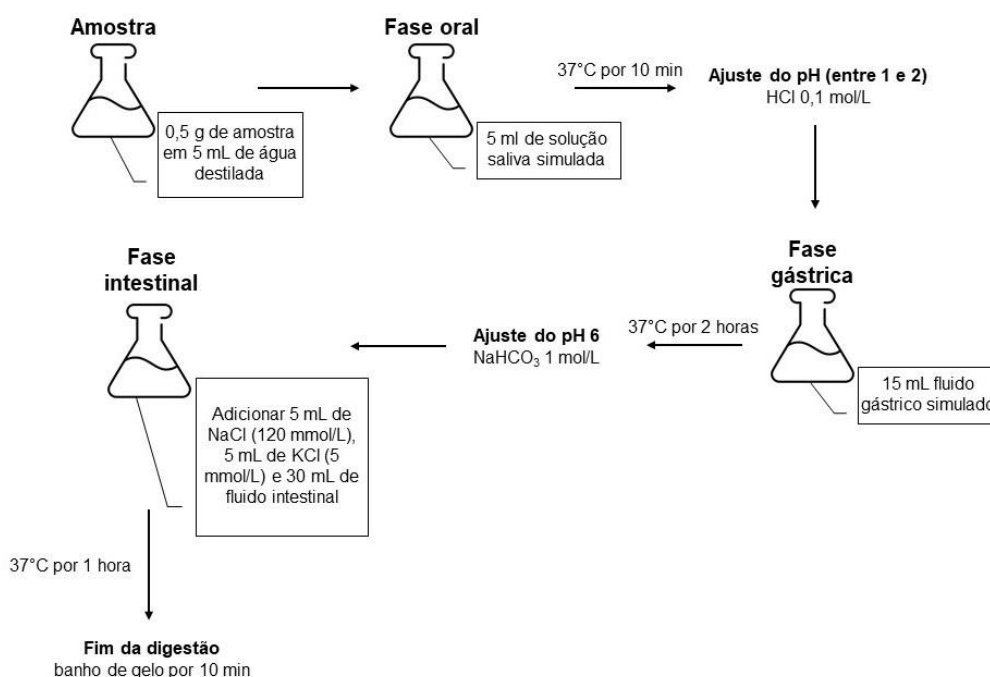
### 2.6.1 Preparo dos fluidos simulados

Para a fase oral preparou-se uma solução salina contendo 0,5 mL de  $\alpha$ -amylase, 0,0117 g de cloreto de sódio (NaCl), 0,0149 g de cloreto de potássio (KCl) e 0,21 g de bicarbonato de sódio ( $\text{NaHCO}_3$ ) em balão volumétrico de 100 mL. A fase gástrica foi preparada com 0,8 g de pepsina em 250 mL de solução NaCl ( $0,03 \text{ mol L}^{-1}$ ). Enquanto o fluido intestinal simulado continha 0,7143 g de pancreatina e 4,2857 g de sais biliares em 500 mL de solução de  $\text{NaHCO}_3$  ( $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ). Todas as soluções foram preparadas no dia da análise e mantidas a  $37^\circ\text{C}$  em estufa BOD (Caltech/serie EI08) até o momento de uso.

### 2.6.2 Digestibilidade gastrointestinal simulada

O processo digestivo das cápsulas foi realizado com os fluidos simulados da fase oral, gástrica e intestinal, em duplicata, conforme as etapas apresentadas na FIGURA 2.

FIGURA 2 – FLUXOGRAMA DAS ETAPAS REALIZADAS NA DIGESTÃO GASTROINTESTINAL SIMULADA



Fonte: A autora (2021).

Ao finalizar o processo de digestão, as amostras foram mantidas em banho de gelo por 10 minutos e, em seguida, foram centrifugadas (SolidSteel/SSBuc-6L) a 6000 rpm durante 10 minutos. Em todas as etapas (fase oral, gástrica e intestinal) foram coletadas alíquotas para a determinação do teor de compostos fenólicos totais, como descrito no item 2.3.2.

### 2.6.3 Bioacessibilidade

A bioacessibilidade foi determinada para o teor de betalaínas totais antes da digestão e após a digestão intestinal, como equação (3).

$$\text{Bioacessibilidade (\%)} = \left( \frac{D}{I} \right) * 100 \quad (3)$$

Onde:

D - Conteúdo de betalaínas totais (expressos em betacianinas) após a digestão intestinal;

I - Conteúdo inicial de betalaínas totais (expressos em betacianinas) antes da digestão.

## 2.7 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os resultados foram expressos como média  $\pm$  desvio padrão. Os dados foram analisados pela análise de variância (ANOVA). As diferenças significativas entre as médias foram analisadas pelo teste *Tukey*, com  $p \leq 0,05$ . Os programas estatísticos Origin Pro 8.0 (Northampton, MA 01060, U.S.A.) e Minitab v. 19 (Minitab, Inc. USA) versão avaliação foram utilizados para a análises dos resultados.

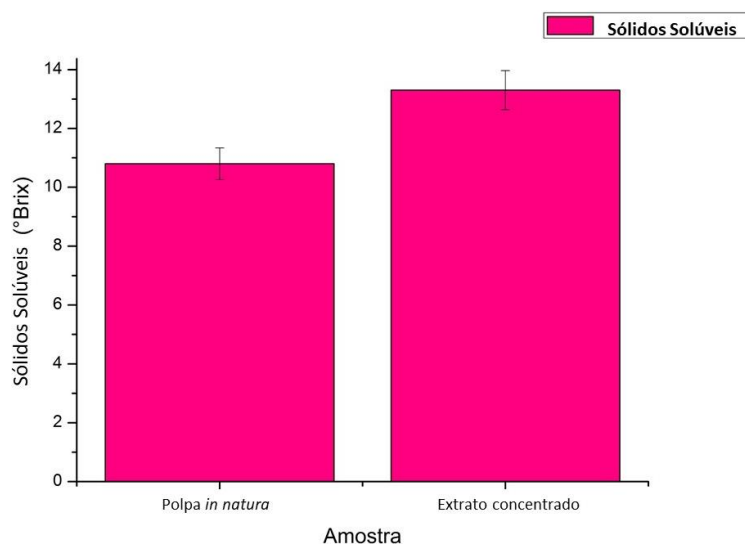
## 3 RESULTADOS

### 3.1 PERFIL DE COMPOSTOS BIOATIVOS

Para a obtenção do extrato concentrado de betalaínas realizou-se a evaporação do conteúdo de água da polpa de pitaya e os valores dos sólidos solúveis

foram determinados antes e depois do processo de concentração, e os resultados estão apresentados na FIGURA 3.

FIGURA 3 – TEOR DE SÓLIDOS SOLÚVEIS NA POLPA E NO EXTRATO CONCENTRADO DE PITAYA



Fonte: A autora (2021).

A polpa *in natura* e o extrato concentrado de pitaya apresentaram teor de sólidos solúveis de 10,8 e 13,3 °Brix, respectivamente (FIGURA 3). É importante ressaltar que os sólidos solúveis não só indicam a presença de sólidos como açúcares, ácidos orgânicos e pigmentos dependendo da característica da amostra como também contribuem para a determinação do grau de maturidade das frutas. Os valores obtidos estão próximos aos obtidos em outros estudos, como apresentado por Cordeiro et al (2015) e Jeronimo (2016) que obtiveram 13,14°Brix e 11,40 °Brix, respectivamente, para a polpa de pitaya vermelha.

Na sequência, determinou-se o perfil de compostos bioativos no extrato concentrado de pitaya por diferentes ensaios, entre eles, o teor de betalaínas totais com resultados expresso em betacianinas totais, teor de compostos fenólicos totais expresso em equivalente de ácido gálico (EAG) e atividade sequestrante de radical ABTS<sup>•+</sup> expresso com base no padrão Trolox, conforme TABELA 2.

TABELA 2 – PERFIL DE COMPOSTOS BIOATIVOS DO EXTRATO CONCENTRADO DE PITAYA

Extrato de betalaínas	Teor de betacianinas (mg 100 g <sup>-1</sup> )	Compostos fenólicos (mg EAG 100g <sup>-1</sup> )	ABTS (µM trolox g <sup>-1</sup> )
	45,75 ± 0,51	69,96 ± 0,86	831,33 ± 8,90

Fonte: A autora (2021).

As betalaínas estão entre compostos bioativos majoritários do extrato concentrado de pitaya. Neste sentido, ao determinar o teor de betalaínas no extrato obteve-se  $45,75 \pm 0,51$  mg  $100\text{ g}^{-1}$  (TABELA 2). Este resultado encontra-se de acordo com estudos como o de Utpott et al. (2020) que relataram em média 48 mg  $100\text{ g}^{-1}$ , e próximo do estudo de Esquivel, Stintzing e Carle (2007) que determinaram em média 57,1 mg  $100\text{ g}^{-1}$ .

Em relação ao teor de compostos fenólicos totais, o extrato concentrado de pitaya apresentou cerca de  $69,96 \pm 0,86$  mg EAG  $100\text{ g}^{-1}$ . Na literatura há divergência em relação ao teor de compostos fenólicos totais para pitaya, como pode ser observado nos resultados dos estudos de Coutinho (2020) que obteve 110,83 mg  $100\text{ g}^{-1}$ , García-Cruz et al. (2017) que encontraram 53,75 mg EAG  $100\text{ g}^{-1}$ , Lima et al. (2013) que determinaram para espécies *Hylocereus costaricensis* cerca de 23,15 mg EAG  $100\text{ g}^{-1}$ , Abreu et al. (2012) e Rodrigues (2010) que obtiveram os valores de 77,22 e 101,8 mg EAG  $100\text{ g}^{-1}$ , respectivamente.

As diferenças entre os valores encontrados podem ser decorrentes das diferentes espécies de pitaya, estágio de maturação, condições climáticas bem como demais interferentes que podem contribuir para as alterações do desenvolvimento dos metabólitos secundários (DIAS, 2016).

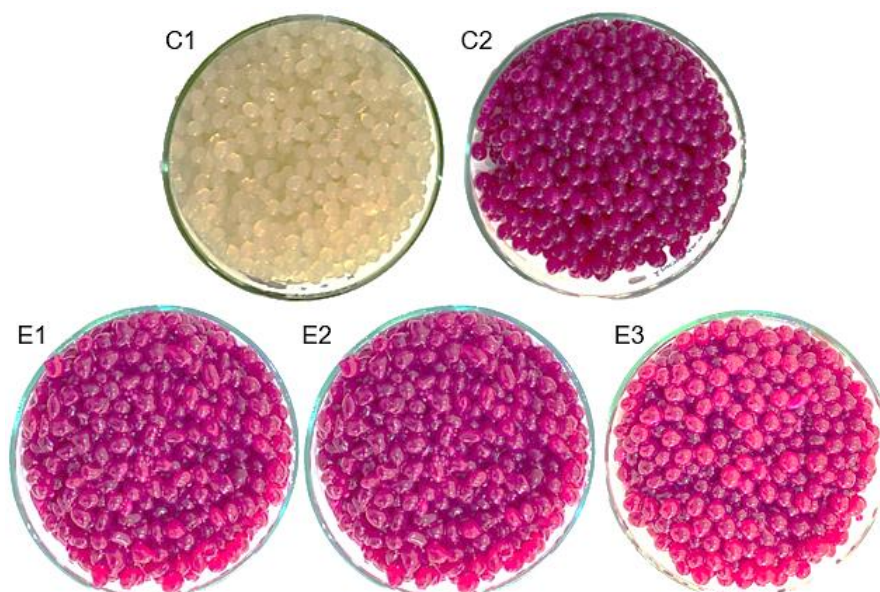
Segundo Esquivel, Stintzing e Carle (2007) e Garcia-Cruz et al. (2017) a presença dos compostos bioativos, betalaínas e compostos fenólicos, podem conferir propriedades antioxidantes ao extrato concentrado de pitaya. Desta forma, ao realizar a atividade sequestrante de radical ABTS<sup>•+</sup> foi possível obter cerca de  $831,33 \pm 8,90$   $\mu\text{M}$  trolox  $\text{g}^{-1}$ . O resultado do presente estudo está acima dos valores que constam na literatura para pitaya, como observado por García-Cruz et al. (2016)  $4,91 \pm 0,28$   $\mu\text{mol}$  trolox  $\text{g}^{-1}$ , por Beltrán-Orozco et al. (2009)  $11,0 \pm 0,20$   $\mu\text{M}$  trolox  $\text{g}$  e por Wu et al. (2006) 28,3  $\mu\text{M}$  trolox  $\text{g}^{-1}$  para pitaya vermelha.

Com base no exposto, o extrato concentrado de pitaya apresentou pigmentos com perfil bioativo que podem ser explorados em diferentes aplicações tecnológicas, entre elas a encapsulação por gelificação iônica.

### 3.2 CARACTERIZAÇÃO DAS CÁPSULAS

Após o processo de encapsulação, as cápsulas foram avaliadas qualitativamente quanto aos aspectos visuais de acordo com a FIGURA 4.

FIGURA 4 – CÁPSULAS DO PROCESSO DE GELIFICAÇÃO IÔNICA



Nota: C1 – controle sem extrato e quitosana; C2 – controle com extrato de betalaínas e sem quitosana; E1 – ensaio com extrato de betalaínas e quitosana comercial; E2 – ensaio com extrato de betalaínas e quitosana de alta massa molecular; E3 – ensaio com extrato de betalaínas e quitosana de média massa molecular.

Fonte: A autora (2021).

A coloração dos encapsulados obtidos em E1, E2 e E3 foram semelhantes, apresentando cor rosa claro, quando comparados ao controle C2. A diferença entre os ensaios e o controle pode ser dada pela presença de quitosana de diferentes massas moleculares e o pH da solução, pois a quitosana foi previamente solubilizada em ácido acético (KLUGE; PRECZENHAK, 2016). A estrutura do hidrocoloide, assim como sua estabilidade e interação em soluções de pH mais baixos, pode ter influenciado à coloração dos encapsulados onde a quitosana foi empregada (RINAUDO, 2006).

A presença de pequenas bolhas de ar nos ensaios foi mínima e podem ter sido decorrentes do processo de homogeneização com o agente gelificante. Além disso, foi possível observar que as cápsulas controle, C1 e C2, apresentaram maior perda de líquido do que os ensaios em que a quitosana foi empregada como agente encapsulante.

Em relação aos parâmetros físicos, as cápsulas foram caracterizadas quanto ao diâmetro, umidade e rendimento (TABELA 3). No caso do diâmetro houve diferença estatística ao nível de 5% entre o diâmetro das cápsulas dos ensaios (E) e dos controles (C), com valores variando entre 5,71 e 7,06 mm.

TABELA 3 – PARÂMETROS FÍSICOS DAS CÁPSULAS DE BETALAÍNAS

Amostra	Diâmetro (mm) <sup>1</sup>	Umidade (g 100g <sup>-1</sup> ) <sup>2</sup>	Rendimento (%) <sup>2</sup>
C1	6,14 <sup>bc</sup> ± 0,89	94,71 <sup>a</sup> ± 0,04	96,84 <sup>a</sup> ± 0,03
C2	5,71 <sup>c</sup> ± 0,04	88,48 <sup>d</sup> ± 0,04	90,47 <sup>b</sup> ± 0,03
E1	6,51 <sup>ab</sup> ± 0,11	90,14 <sup>b</sup> ± 0,18	88,20 <sup>d</sup> ± 0,21
E2	7,06 <sup>a</sup> ± 0,03	90,45 <sup>b</sup> ± 0,05	88,95 <sup>c</sup> ± 0,06
E3	6,61 <sup>ab</sup> ± 0,12	89,32 <sup>c</sup> ± 0,25	87,62 <sup>d</sup> ± 0,29

Nota: C1 – controle sem extrato e quitosana; C2 – controle com extrato de betalaínas e sem quitosana; E1 – ensaio com extrato de betalaínas e quitosana comercial; E2 – ensaio com extrato de betalaínas e quitosana de alta massa molecular; E3 – ensaio com extrato de betalaínas e quitosana de média massa molecular. Os resultados estão expressos como média ± desvio padrão: <sup>1</sup>(n= 5), <sup>2</sup>(n = 2). Letras diferentes entre os ensaios na mesma coluna apresentam diferença estatística entre si (Teste de *Tukey*,  $p \leq 0,05$ ).

Fonte: A autora (2021).

O diâmetro das cápsulas depende dos fatores ligados ao gotejamento como o diâmetro do orifício bem como o processo de mistura envolvendo a viscosidade da solução, a distância entre a saída e a solução de endurecimento e a massa mínima capaz de quebrar a tensão superficial da solução. O aumento da viscosidade da solução ocorreu devido a combinação química dos materiais de parede, e com isso, esferas de maior diâmetro puderam ser formadas (ROCHA, 2017).

As cápsulas apresentaram teores de umidade de 88,48 a 94,71 g 100 g<sup>-1</sup>. A amostra C1 apresentou o maior teor de umidade (94,71 g 100 g<sup>-1</sup>) decorrente da formulação conter apenas água e alginato de sódio. Em relação aos ensaios contendo extrato de pitaya e quitosana pode-se observar que os ensaios E1 e E2 não apresentaram diferença entre si e com os teores de umidade acima de 90 g 100 g<sup>-1</sup>. Estudos relataram teores de umidade semelhantes aos encontrados neste estudo, como Ferreira (2018) que encontrou para microcápsulas de extrato de beterraba obtidas por gelificação iônica, o teor de 92,69% de umidade, e Rocha (2017) que obteve umidade entre 93,40 e 96,56% para encapsulados de suco de tomate aplicando a mesma técnica.

O processo de encapsulação foi avaliado com base no rendimento, em que os valores obtidos foram entre 87 e 96%, aproximadamente. Assim como o diâmetro das cápsulas, o rendimento apresentou diferença estatística ao nível de 5% entre as amostras, porém nos ensaios com quitosana houve similaridade entre E1 e E3. As diferenças para o rendimento entre os controles e os ensaios podem ser explicadas pela maior complexidade de interação entre os compostos das formulações por apresentarem quitosana, ácido acético, alginato de sódio e cloreto de cálcio, influenciando principalmente a viscosidade da solução, que por consequência

interfere na quantidade formada de cápsulas e perdas ao longo do processo. O processo de encapsulação apresentou resultado semelhante ao de outros estudos para o rendimento, como de Fujiwara (2012) que obteve 94,87% no processo de encapsulação de estigmasterol por gelificação iônica e no estudo de Velloso (2008) que mostrou rendimentos acima de 70% para as cápsulas formuladas com alginato e quitosana contendo ácido retinóico e óleo de babaçu.

As cápsulas foram ainda avaliadas quanto a eficiência do processo de encapsulação por meio de análises de eficiência de encapsulação (EE) e de solubilidade, as quais foram realizadas tanto para as cápsulas recém preparadas (úmidas) quanto para as cápsulas liofilizadas. As cápsulas foram liofilizadas com o intuito de ampliar a durabilidade com mínima degradação dos compostos bioativos. Os cálculos de eficiência de encapsulação (EE) foram baseados no teor de betacianinas, desta forma, C1 não foi considerado.

Na TABELA 4 pode-se observar que não houve diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) entre os ensaios analisando somente os resultados para as cápsulas úmidas (74 a 79%) e liofilizadas (71 e 77%). No entanto, houve diferença quanto ao tipo de cápsula, úmida e liofilizada, para todos os ensaios.

TABELA 4 – EFICIÊNCIA DE ENCAPSULAÇÃO DAS CÁPSULAS ÚMIDAS E LIOFILIZADAS

Amostra	Eficiência Encapsulação – cápsula úmida (%)	Eficiência Encapsulação – cápsula liofilizada (%)
C2	79,81 <sup>aA</sup> ± 0,56	71,33 <sup>aB</sup> ± 0,33
E1	74,71 <sup>aA</sup> ± 8,79	72,27 <sup>aA</sup> ± 9,30
E2	78,35 <sup>aA</sup> ± 0,01	77,10 <sup>aB</sup> ± 0,33
E3	78,86 <sup>aA</sup> ± 1,13	77,66 <sup>aB</sup> ± 1,20

Nota: C2 – controle com extrato de betalaínas e sem quitosana; E1 – ensaio com extrato de betalaínas e quitosana comercial; E2 – ensaio com extrato de betalaínas e quitosana de alta massa molecular; E3 – ensaio com extrato de betalaínas e quitosana de média massa molecular. Os resultados estão expressos como média ± desvio padrão (n = 2). Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística entre os ensaios (Teste *Tukey*,  $p \leq 0,05$ ). Letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença estatística entre as cápsulas úmidas e liofilizadas (Teste *Tukey*,  $p \leq 0,05$ ).

Fonte: A autora (2021).

A eficiência da encapsulação depende de fatores como o tipo de agente encapsulante empregado, da natureza do composto bioativo (hidrofóbico ou hidrofílico), da complexação entre a matriz bioativa e do encapsulante, bem como do tipo processo de encapsulação. Analisando os resultados do presente estudo, percebe-se que os valores de EE em torno de 70% deve-se a hidroflicidade tanto das betalaínas quanto dos agentes encapsulantes, visto que ativos hidrofílicos são mais

desafiadores de encapsular por gelificação iônica do que os hidrofóbicos e apresentam menor eficiência de encapsulamento (KUROZAWA; HUBINGER, 2017).

Entretanto, a hidrofiliidade é um parâmetro importante para a solubilidade das cápsulas em água. Neste sentido, a solubilidade das cápsulas úmidas e liofilizadas estão apresentadas na TABELA 5.

TABELA 5 – SOLUBILIDADE DAS CÁPSULAS DE BETACIANINAS ÚMIDAS E LIOFILIZADAS

Amostra	Solubilidade cápsula úmida (%)	Solubilidade cápsula liofilizada (%)
<b>C1</b>	98,67 <sup>aA</sup> ± 0,10	79,34 <sup>aB</sup> ± 0,18
<b>C2</b>	96,23 <sup>bA</sup> ± 0,34	69,01 <sup>bB</sup> ± 1,57
<b>E1</b>	96,67 <sup>bA</sup> ± 0,23	67,00 <sup>bcB</sup> ± 0,74
<b>E2</b>	96,39 <sup>bA</sup> ± 0,10	62,95 <sup>cdB</sup> ± 0,52
<b>E3</b>	96,97 <sup>bA</sup> ± 0,08	60,78 <sup>dB</sup> ± 1,94

Nota: C1 – controle sem extrato e quitosana; C2 – controle com extrato de betalaínas e sem quitosana; E1 – ensaio com extrato de betalaínas e quitosana comercial; E2 – ensaio com extrato de betalaínas e quitosana de alta massa molecular; E3 – ensaio com extrato de betalaínas e quitosana de média massa molecular. Os resultados estão expressos como média ± desvio padrão (n = 2). Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística entre os ensaios (Teste *Tukey*,  $p \leq 0,05$ ). Letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença estatística entre as cápsulas úmidas e liofilizadas (Teste *Tukey*,  $p \leq 0,05$ ).

Fonte: A autora (2021).

Para as cápsulas úmidas não houve diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) entre os ensaios contendo betalaínas, apenas houve divergência em relação ao controle C1, que por conter apenas água tem solubilidade maior, em torno de 99%. Em relação as cápsulas liofilizadas, houve diminuição nos valores da solubilidade, em relação às úmidas, para todos os ensaios.

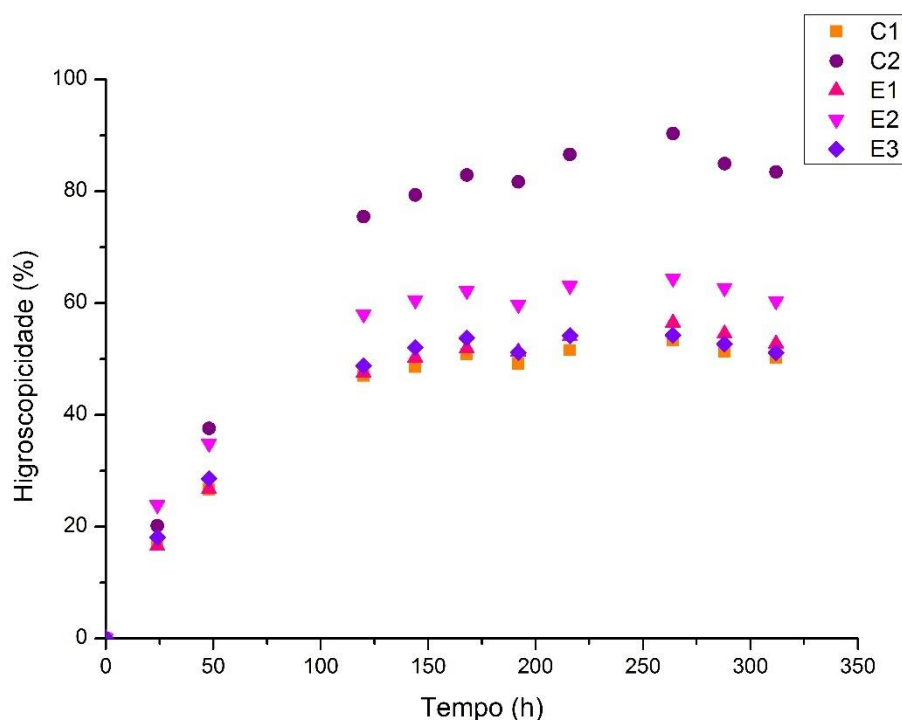
Como as cápsulas liofilizadas têm maior porosidade devido a remoção de água por sublimação e maior relação área de superfície/volume poderia haver maior interação com o solvente e conseqüentemente melhorar os resultados de solubilidade, entretanto, o que ocorreu foi a diminuição dos percentuais. Pode-se inferir que a ausência de água dificultou a ruptura mecânica do complexo betalaínas-alginato-quitosana-cloreto de cálcio porque com a presença da água haveria o aumento da permeabilidade do sistema e auxiliaria de forma eficiente na transferência de massa por difusão.

A análise da solubilidade das cápsulas resulta em informações relevantes para melhor aplicabilidade em diversos produtos alimentícios, pois quanto maior a solubilidade maior será a disponibilidade deste no meio, e quando pouco solúvel ocorrerá de maneira mais lenta a acessibilidade ao composto.

Apesar dos resultados de solubilidade para as cápsulas liofilizadas serem menores em relação as cápsulas úmidas, não houve diferença estatística para a eficiência de encapsulação entre elas, e como o processo de liofilização acarreta mínimas alterações aos compostos bioativos todas as demais análises foram executadas apenas com as cápsulas liofilizadas.

Na sequência, os resultados da análise de higroscopicidade podem ser visualizados na FIGURA 5. As cápsulas foram submetidas a solução saturada de cloreto de potássio (85% UR), em que os ensaios E1, E2 e E3 apresentaram elevados teores de higroscopicidade, com variação máxima de 50 a 60%, devido a hidrofiliicidade dos materiais e da condição de saturação, porém com percentuais abaixo da variação máxima das cápsulas controle C2, com variação de 70 a 90%.

FIGURA 5 – GRÁFICO DA HIGROSCOPICIDADE EM FUNÇÃO DO TEMPO



Nota: C1 – controle sem extrato e quitosana; C2 – controle com extrato de betalaínas e sem quitosana; E1 – ensaio com extrato de betalaínas e quitosana comercial; E2 – ensaio com extrato de betalaínas e quitosana de alta massa molecular; E3 – ensaio com extrato de betalaínas e quitosana de média massa molecular.

Fonte: A autora (2021).

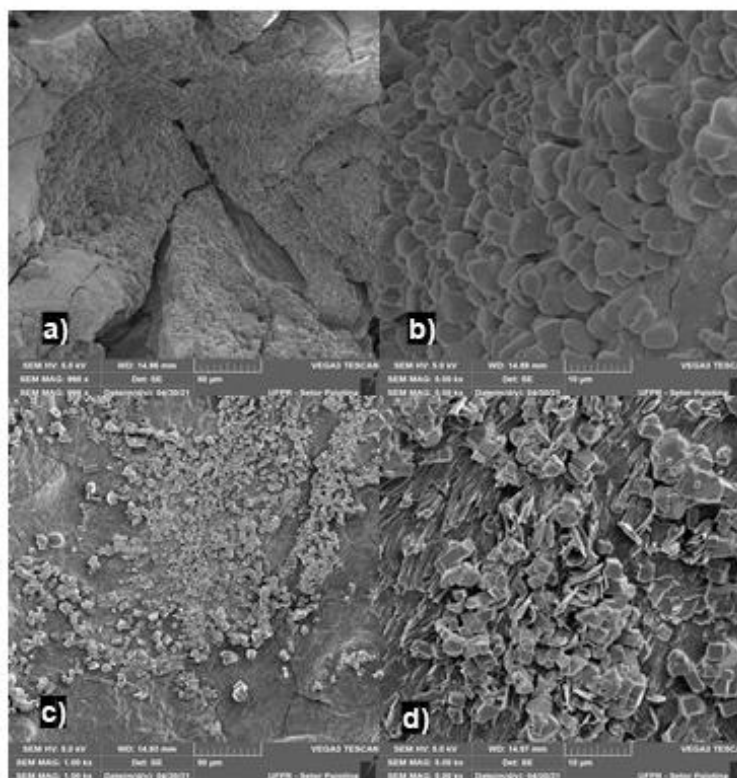
Inicialmente, as cápsulas controle (C1 e C2) apresentaram um comportamento semelhante as cápsulas dos ensaios (E1, E2 e E3) com rápida absorção de água, todavia em função do tempo, percebeu-se que as cápsulas E1 e E3 exibiram as

menores faixas de variação dos teores de higroscopicidade em relação ao controle C2 que continha betalaínas sem quitosana, como agente encapsulante. Além disso, a partir de 120 h (5 dias), todos os ensaios mostraram tendência a estabilidade e mantiveram o teor de higroscopicidade constante.

A higroscopicidade de encapsulados é um importante parâmetro, uma vez que a presença de água pode influenciar o comportamento do material durante armazenamento, na oxidação dos compostos bioativos, vida de prateleira, aglomeração das cápsulas, entre outros (COSTA et al, 2020).

Em relação a avaliação estrutural das cápsulas realizou-se a análise de microscopia eletrônica de varredura tanto para as cápsulas controle (FIGURA 6) quanto para as cápsulas de betalaínas (FIGURA 7).

FIGURA 6 – MICROGRAFIAS DAS CÁPSULAS CONTROLE COM E SEM QUITOSANA



Nota: Controle 1 – controle sem extrato e quitosana: (a) com ampliação de 1000x e (b) com ampliação de 5000x; Controle 2 – controle com extrato e quitosana: (c) com ampliação de 1000x e (d) com ampliação de 5000x.

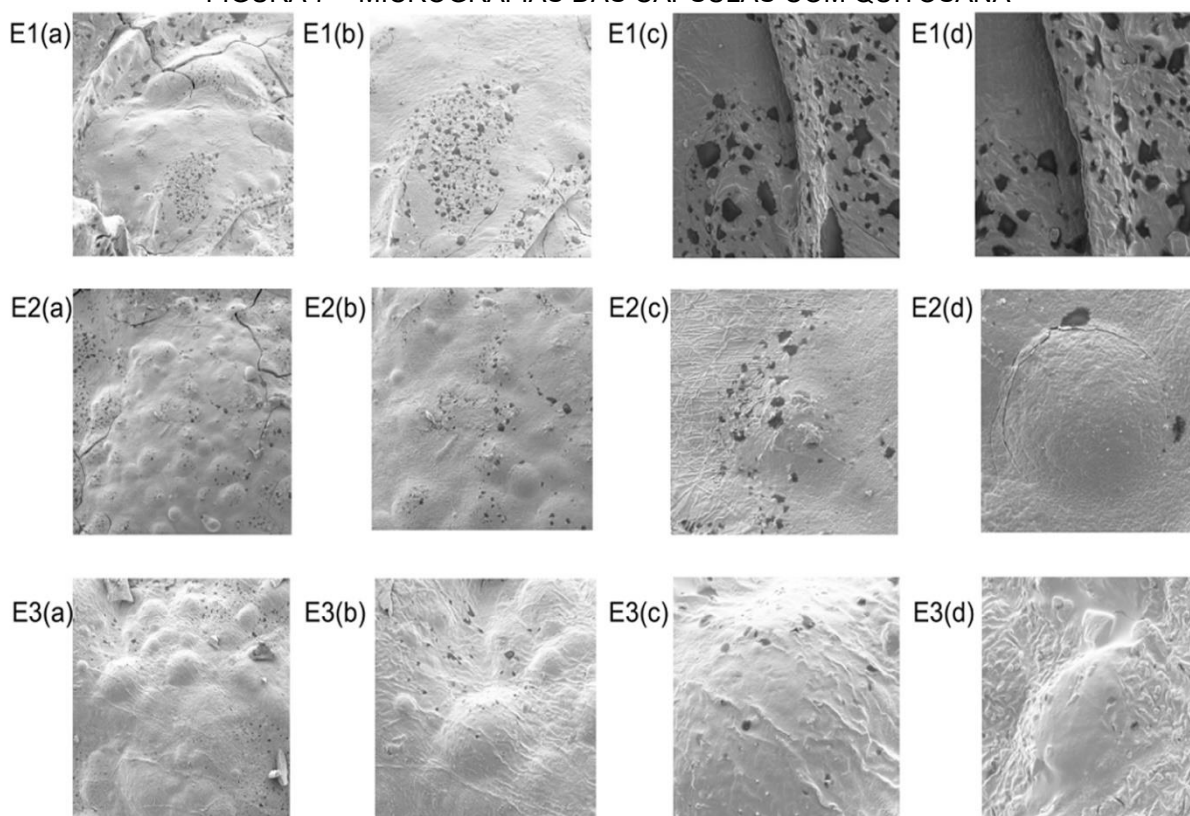
Fonte: A autora (2021).

Na FIGURA 6 foi possível observar que C1 (a) e (b) apresentou estrutura porosa e com fissuras homogêneas referente apenas aos compostos sólidos provenientes do alginato de sódio e do cloreto de cálcio que compõem essa cápsula.

Enquanto na micrografia de C2 (c) e (d) pode-se avaliar que a presença de extrato de betalaínas contribuiu para a verificação de grânulos irregulares e fissuras comprometendo a proteção do composto bioativo.

Na FIGURA 7 constam as micrografias para as cápsulas dos ensaios E1, E2 e E3. As micrografias das cápsulas com quitosana comercial (E1) apresentaram fissuras decorrentes do processo de liofilização, poros, pigmentos impregnados na superfície das partículas em virtude das interações iônicas/catiônicas do processo de encapsulação.

FIGURA 7 – MICROGRAFIAS DAS CÁPSULAS COM QUITOSANA



Nota: E1 – cápsulas com quitosana comercial com ampliação: (a) 500x (b) 1000x, (c) 3000x e (d) 5000x; E2 – cápsulas com quitosana de alta massa molecular com ampliação: (a) 500x (b) 1000x, (c) 3000x e (d) 5000x; E3 – cápsulas com quitosana de média massa molecular com ampliação: (a) 500x (b) 1000x, (c) 3000x e (d) 5000x

Fonte: A autora (2021).

Pelas micrografias das cápsulas com quitosana de alta (E2) e média (E3) massa molecular foi possível identificar perfil semelhante quanto a morfologia em relação a presença de formatos regulares, nuances esféricas com leves fissuras e poucos pigmentos externos. Nas ampliações de 5000x, E2(d) e E3(d), pode-se observar que houve a formação de uma estrutura de cápsula de proteção contendo

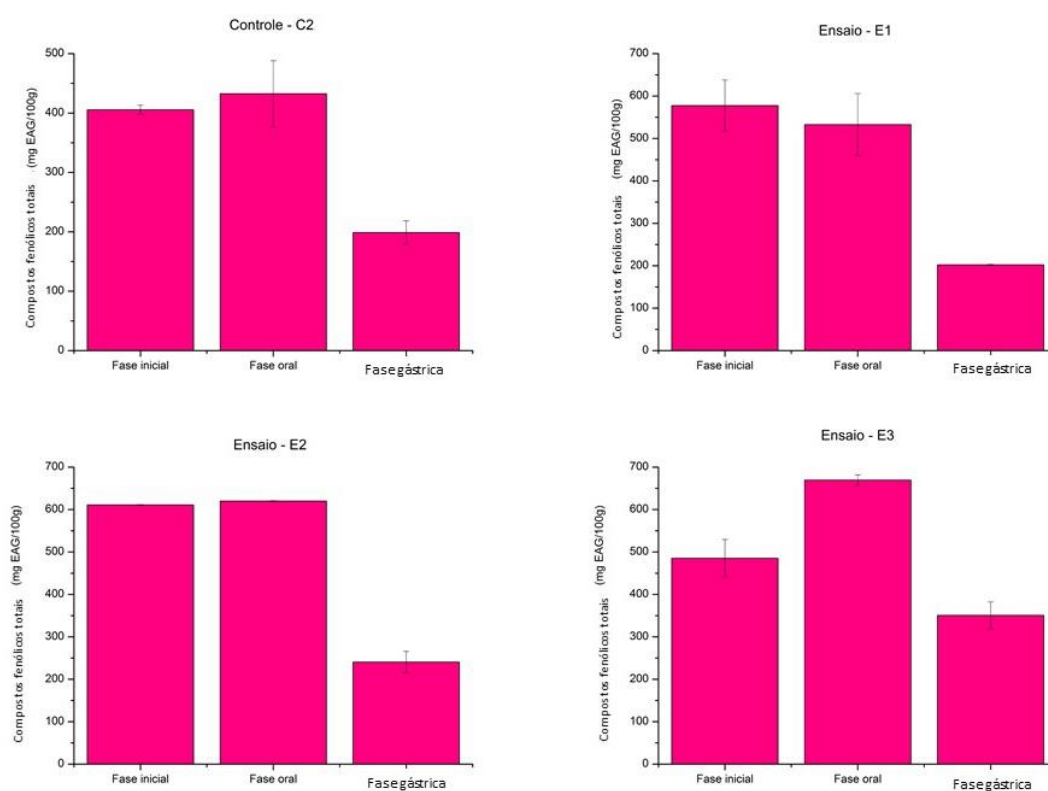
provavelmente o composto bioativo. Apesar das cápsulas E2 e E3 terem sido submetidas aos mesmos processos que as demais, não apresentaram o mesmo comportamento estrutural devido a composição e complexação.

A partir do exposto, as cápsulas de extrato concentrado de pitaya apresentaram resultados satisfatórios, podendo ser utilizadas para futuros estudos e aplicações.

### 3.3 ESTUDO DA DIGESTIBILIDADE GASTROINTESTINAL SIMULADA

Nos alimentos, os compostos bioativos geralmente estão presentes na matriz e precisam ser liberados durante a digestão antes de serem absorvidos no trato gastrointestinal. Desta forma, os compostos bioativos expressos com base em compostos fenólicos totais e betalaínas totais das cápsulas foram estudados antes e durante as fases de digestibilidade gastrointestinal simulada (FIGURA 8).

FIGURA 8 - TEOR DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS ANTES E DURANTE AS FASES DA DIGESTIBILIDADE GASTROINTESTINAL SIMULADA



Nota: C2 – controle com extrato e sem quitosana; E1 – ensaio com quitosana comercial; E2 – ensaio com quitosana de alta massa molecular; E3 – ensaio com quitosana de média massa molecular

Fonte: A autora (2021).

Mediante a apresentação dos resultados pode-se observar que as cápsulas de betalaínas C2, E1 e E2 tiveram desempenho semelhante com diminuição do teor de compostos fenólicos totais apenas na fase gástrica, diferente das cápsulas E3 que apresentaram variação no comportamento entre as fases inicial, oral e gástrica. Para todas cápsulas não houve detecção e quantificação do teor de compostos fenólicos totais na fase intestinal, isto porque os compostos fenólicos mais comuns nos alimentos nem sempre são os mais ativos biologicamente, em virtude da baixa atividade intrínseca, baixa absorção intestinal ou pela rápida metabolização e excreção (OLIVEIRA; BASTOS, 2011).

O controle C2 não apresentou quitosana em sua composição, mas as demais cápsulas que continham este agente encapsulante podem ter seus resultados de compostos fenólicos totais em todas as fases afetados, visto que ao comparar com o teor de compostos fenólicos totais (CFT) do extrato concentrado de pitaya ( $69,96 \pm 0,86$  mg EAG  $100g^{-1}$ ), houve um aumento significativo.

Na TABELA 6 constam os valores de CFT para as quitosanas de diferentes massas moleculares em que houve diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) entre todas.

TABELA 6 – COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS PARA AS SOLUÇÕES DE QUITOSANA

<b>Agente encapsulante</b>	<b>Compostos fenólicos totais (mg AG <math>100g^{-1}</math>)</b>
Quitosana comercial	$1532,11^a \pm 102,41$
Quitosana alta massa molecular (600 – 800 kDa)	$1304,31^b \pm 27,68$
Quitosana média massa molecular (137 – 240 kDa)	$964,13^c \pm 18,89$

Os resultados estão expressos como média  $\pm$  desvio padrão ( $n = 2$ ). Letras diferentes entre os ensaios na mesma coluna apresentam diferença estatística entre si (Teste de Tukey,  $p \leq 0,05$ ).

Fonte: A autora (2021).

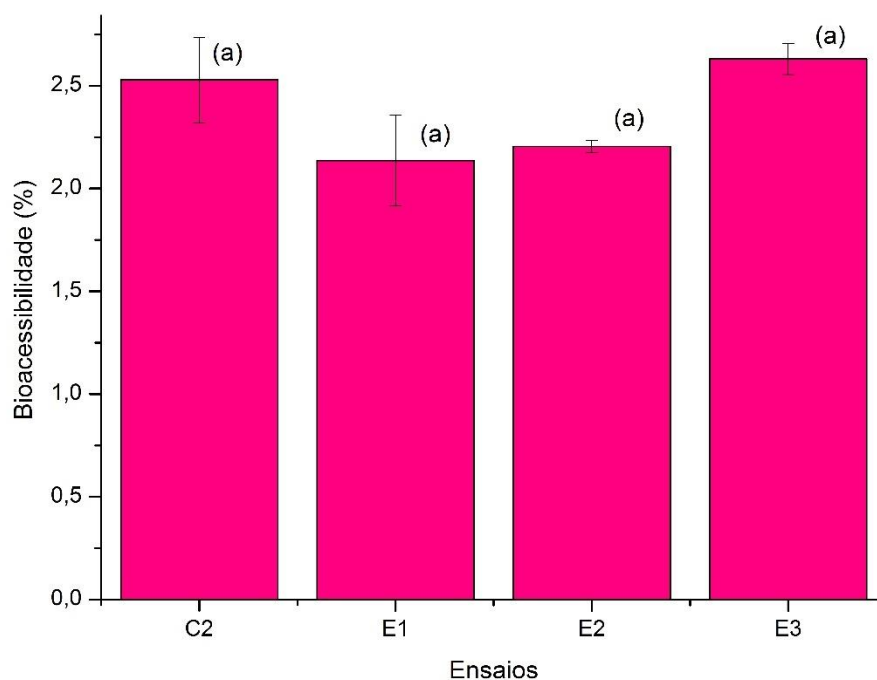
Além disso, pode-se observar que a quitosana comercial e de alta massa molecular apresentaram os maiores teores de CFT e foram os agentes encapsulantes usados nas cápsulas E1 e E2 as quais tiveram os maiores valores CFT,  $577,58$  e  $611,00$  mg EAG  $100 g^{-1}$ , respectivamente, na fase inicial, conforme FIGURA 8. Sabe-se ainda que a quitosana e seus oligômeros são materiais bioativos naturais, com propriedades biológicas favoráveis, devido a sua baixa toxicidade, biocompatibilidade, alta suscetibilidade à biodegradação, propriedades mucoadesivas e uma importante capacidade de aumentar a permeabilidade de compostos, colaborando assim com os resultados obtidos (HANNA; SAAD, 2019; NAH; JEONG, 2021).

As betalaínas totais foram avaliadas em termos de bioacessibilidade, que consiste na fração de um composto potencialmente disponível para posterior captação

e absorção intestinal, ou seja, fração de betalaínas presentes nas cápsulas a serem liberadas e absorvidas.

Na FIGURA 9 constam os resultados para as cápsulas e pode-se observar que não houve diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) entre os ensaios na determinação de betalaínas totais com média de 2,3% de bioacessibilidade.

FIGURA 9 - BIOACESSIBILIDADE DAS CÁPSULAS DE BETALAÍNAS



Nota: C2 – controle com extrato e sem quitosana; E1 – ensaio com quitosana comercial; E2 – ensaio com quitosana de alta massa molecular; E3 – ensaio com quitosana de média massa molecular  
Fonte: A autora (2021).

A bioacessibilidade dos compostos bioativos pode diferir muito da concentração total na matriz alimentar, porque alguns compostos podem ser mal liberados e solubilizados, ou serem degradados antes de atingir o local de absorção, ou seja, a fase intestinal, como por exemplo, as antocianinas que a porção bioacessível pode ser inferior a 10% (REIN et al, 2013), ou para compostos fenólicos totais que a porção pode variar entre 5 e 10% do total (CLIFFORD, 2004).

Além disso, a bioacessibilidade pode ser influenciada por sinergismos e antagonismos dos diferentes componentes, propriedades físico-químicas, como pH e temperatura. De forma geral, uma compreensão completa das mudanças que ocorrem

durante o processo digestivo é importante para a determinação da bioacessibilidade e estimativa da biodisponibilidade e bioatividade (REIN et al, 2013).

#### **4 CONCLUSÃO**

Conclui-se com o presente estudo que foi possível encapsular compostos bioativos, como as betalaínas de pitaya, por meio do processo de gelificação iônica com quitosana como agente encapsulante. As cápsulas com quitosana de alta massa molecular (600 – 800 kDa) apresentaram os resultados mais promissores em termos de eficiência de encapsulação, solubilidade, morfologia, perfil de compostos fenólicos totais e bioacessibilidade de betalaínas totais durante a digestibilidade gastrointestinal simulada. Portanto, pode-se inferir que as cápsulas de betalaínas de pitaya tem potencial de aplicação em produtos alimentícios como corantes naturais.

## REFERÊNCIAS

- ABREU, W. C.; LOPES, C. O.; PINTO, K. M.; OLIVEIRA, L. A.; CARVALHO, G. B. M.; BARCELO, M. F.P. Physicochemical characteristics and total antioxidant activity of red and white pitaya. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v. 71, n.4, 2012.
- ARRIOLA, N. D.; CHATER, P. I.; WILCOX, M.; LUCINI, L.; ROCCHETTI, G.; DALMINA, M.; PEARSON, J. P.; AMBONI, D. M. C. Encapsulation of stevia rebaudiana Bertonii aqueous crude extracts by ionic gelation – Effects of alginate blends and gelling solutions on the polyphenolic profile. **Food Chemistry**, n.275, p.123-134, 2019.
- BELTRÁN-OROZCO, M.C. et al. Ascorbic acid, phenolic content, and antioxidant capacity of red, cherry, yellow and white types of pitaya cactus fruit (*Stenocereus stellatus Riccobono*). **Agrociencia**, v.43, n.2, 2009.
- BICUDO, M. O. P.; RIBANI, R. H.; BETA, T. Anthocyanins, Phenolic Acids and Antioxidant Properties of Juçara Fruits (*Euterpe edulis M.*) Along the On-tree Ripening Process. **Plant Foods for Human Nutrition**, n.69, v.2, p.142–147, 2014.
- BORNHORST, G. M.; SINGH, R. P.; HALDMAN, D. R. Rate kinetics of bread bolus disintegration during in vitro digestion. **Food Biophysics**, v. 8, p.50–59, 2011.
- CANO-CHAUCA, M. STRINGHETA, P. C.; RAMOS, A. M.; CAL-VIDAL, J. Effect of the carriers on the microstructure of mango powder spray drying and its functional characterization. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 6, n. 4, p. 420-428, 2005.
- CASTRO-MUÑOZ, R.; BARRAGA-HUERTA, B. E.; YANEZ-FERNANDEZ, J. Use of gelatin-maltodextrin composite as an encapsulation support for clarified juice from purple cactus pear (*Opuntia stricta*). **LWT- Food Science and Technology**. p. 1-7, 2014.
- CHAI, J.; JIANG, P.; WANG, P.; JIANG, Y.; LI, D.; BAO, W.; LIU, B.; LIU, B.; ZHAO, L.; NORDE, W.; YUAN, Q.; REN, F.; LI, Y. The intelligent delivery systems for bioactive compounds in foods: Physicochemical and physiological conditions, absorption mechanisms, obstacles and responsive strategies. **Food Science and Technology**, n.78, p.144–154, 2018.
- CLIFFORD, M.N. Diet-derived phenols in plasma and tissues and their implication for health. **Planta Med.**, v. 70, p. 1103-1114, 2004.
- CORDEIRO, M.H.M.; SILVA, J. M.; MIZOBUTSI, G. P.; MIZOBUTSI, E. H.; MOTA, W. F. Caracterização Física, Química e Nutricional da Pitaia-Rosa de Polpa Vermelha. **Rev. Bras. Frutic.**, v. 37, n. 1, p. 020-026, 2015.
- COSTA, T.V.; SILVA, J. J.; SANTOS, M. L.; SILVA, L. T. S.; CHAVES, M. A. Uma Perspectiva para Otimização do Encapsulamento de Açaí com Proteínas do Soro de Leite em Spray-dryer. **Anais do Congresso Internacional da Agroindústria**, 2020.

COUTINHO, A. M. **Caracterização físico-química e avaliação da atividade antioxidante de polpas de pitaias (*Hylocereus undatus* e *Hylocereus costaricensis*) in natura e congeladas**. Dissertação (título de mestre), Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, 2020.

CUNHA, L. C. M.; MONTEIRO, M. L. G.; COSTA-LIMA, B. R. C.; GUEDES-OLIVEIRA, J. M. Effect of microencapsulated extract of pitaya (*Hylocereus costaricensis*) peel on color, texture and oxidative stability of refrigerated ground pork patties submitted to high pressure processing. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, n 49, p. 136-145, 2018.

DIAS, P. S. M. **Composição Centesimal, Atividade Antioxidante, Teor de Compostos Fenólicos e Ecotoxicidade da Polpa de Frutos de Pitaia Branca (*Hylocereus undatus*) e Pitaia Vermelha (*Hylocereus polyrhizus*)**. Trabalho de conclusão de graduação (graduação em Farmácia), Universidade Federal de Juiz de Fora, 2016.

ESQUIVEL, P.; STINTZING, F. C.; CARLE, R. Phenolic compound profiles and their corresponding antioxidant capacity of purple pitaya (*Hylocereus sp.*) genotypes. **Z. Naturforsch**, Tübingen, v. 62, p. 636-644, fev./mar. 2007.

FERREIRA, L.P.C. **Microencapsulação de Extrato de Beterraba pelo Processo de Gelificação Iônica**. Dissertação (mestrado em Ciências da Nutrição). Programa de Pós-Graduação em Ciência da Nutrição, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão-Sergipe, 2018.

FUJIWARA, G. M. **Microencapsulação de estigmasterol utilizando alginato de sódio, quitosana e amido**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2012.

GARCÍA-CRUZ, L. Betalains and phenolic compounds profiling and antioxidant capacity of pitaya (*Stenocereus spp.*) fruit from two species (*S. Pruinosis* and *S. stellatus*). **Food Chemistry**, v. 234, p. 111-118. 2017.

GARCÍA-CRUZ, L.; VALLE-GUADARRAMA, S.; SALINAS-MORENO, Y.; LUNA-MORALES, C. C. Postharvest quality, soluble phenols, betalains content, and antioxidant activity of *Stenocereus pruinosus* and *Stenocereus stellatus* fruit. Postharvest. **Biol. Technol.**, v. 111, p. 69–76, 2016.

GARCÍA-LUCAS, K.A.; MÉNDEZ-LAGUNAS, L. L.; RODRÍGUEZ-RAMÍREZ, J.; CAMPANELLA, O. H.; PATEL, B. K.; BARRIADA-BERNAL, L. G. Physical properties of spray dried *Stenocereus griseus* pitaya juice powder. **Journal of Food Process Engineering**, v.40, 2016.

GONÇALVES, B. S. G. **Pigmentos naturais de origem vegetal: Betalaína**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade do Algarve, 2018.

GOULA, A. M.; KARAPANTSIOS, T. D.; ACHILIAS, D. S.; ADAMAPOULOS, K. G. Water sorption isotherms and glass transition temperature of spray dried tomato pulp. **Journal of Food Engineering**, p. 723-737, 2008.

HANNA, D. H.; SAAD, G. R. Encapsulation of ciprofloxacin within modified xanthan gum- chitosan based hydrogel for drug delivery. **Bioorganic Chemistry**, v.84, p. 115-124, 2019.

JERONIMO, M. C. **Caracterização química, físico-química, atividade antioxidante e avaliação dos efeitos citotóxicos da pitaiá-vermelha [*Hylocereus undatus* (haw.) Britton & Rose] cultivada no Brasil**. Dissertação (mestrado em Ciências da Saúde), Universidade Federal de Brasília. 2016

KANOKPANONT, S.; YAMDECH, R.; ARAMWIT, P. Stability enhancement of mulberry-extracted anthocyanin using alginate/chitosan microencapsulation for food supplement application. **Artif. Cells Nanomed. Biotechnol.**, v.46, p. 773-782, 2018.

KLUGE, R.A.; PRECZENHAK, A.P. Betalaínas em beterraba minimamente processada: perdas e formas de preservação. **Ver. Iber. Tecnología Postcosecha**, v.17, p. 175-192, 2016.

KUROZAWA, L.E.; HUBINGER, M.D. Hydrophilic food compounds encapsulation by ionic gelation. **Food Science**, v.15, p. 50-55, 2017.

LIMA, C. A.; FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; COHEN, K. O.; GUIMARÃES, T. G. Características físico-químicas, polifenóis e flavonoides amarelos em frutos de espécies de pitaiás comerciais e nativas do Cerrado. **Rev Bras Fruti**, v. 35, n. 2, p. 565-570, 2013.

LIMA, C. F. Potenciais Aplicações da Quitosana nas Áreas de Biotecnologia, Agroindústria e Farmacêutica. 41 f. Monografia de graduação (Engenharia de Alimentos) - Universidade de São Paulo - Escola de Engenharia, Lorena, 2015.

LIMBERAKI, E.; ELEFThERIOU, P.H.; VAGDATLI, E.; KOSTOGLU, V.; PETROU, C. H. Serum antioxidant status among young, middle-aged and elderly people before and after antioxidant rich diet. **Hippokratia**, n.16, v.1, p.420-425, 2012.

FRANÇA, L. F.; REBER, G.; MEIRELES, M. A. A.; MACHADO, N. T.; BRUNNER, G. Supercritical extraction of carotenoids and lipids from buriti (*Mauritia flexuosa*), a fruit from the Amazon region. **Journal of Supercritical Fluids**, v.14, p.94-102, 1999.

OLIVEIRA, D.M.; BASTOS, D.H.M. Biodisponibilidade de ácidos fenólicos. **Quim Nova**, v. 34, n. 6, 1051-6, 2011.

NAH, J. W.; JEONG, G. W. Preparation and encapsulation techniques of chitosan microsphere for enhanced bioavailability of natural antioxidants. **Carbohydrate Research**, v.500, 2021.

- QIN, Y.; LIU, Y.; ZHANG, X.; LIU, J. Development of active and intelligent packaging by incorporating betalains from red pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) peel into starch/polyvinyl alcohol films. **Food Hydrocolloids**, v. 100, 2020.
- 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**, 26, 1231–1237, 1999.
- REIN, M.J. et al. Bioavailability of bioactive food compounds: a challenging journey to bioefficacy. **Br. J. Clin. Pharmacol**, v.75, p. 588-602, 2013.
- RINAUDO, M. Chitin and Chitosan: Properties and applications. **Prog. Polym. Sci.** v. 31, pp. 603-632, 2006.
- ROCHA, L.C.R. **Desenvolvimento de micropartículas contendo suco de tomate via gelificação iônica**. 2017. 87 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Materiais) – Universidade Federal de Lavras, Lavras – Minas Gerais.
- RODRIGUES, L. J. Desenvolvimento e processamento mínimo de pitaiá nativa (*Selenicereus setaceus* Rizz.) do cerrado brasileiro. 2010. 164 f. Tese (Doutorado em Ciências dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras. 2010.
- SANTOS-BUELGA, C.; GONZÁLEZ-PARAMÁS, A. M. Anthocyanins. **Reference Module in Food Science**, p.1–12, 2019..
- 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 Ibnu Sina, UTM Skudai, Johor, 2009.
- SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology Viticulture**, v.16, p. 144-158, 1965.
- SKROVANKOVA, S.; SUMCZYNSKI, D.; MLCEK, J.; JURIKOVA, T.; SOCHOR, J. Bioactive Compounds and Antioxidant Activity in Different Types of Berries. **International Journal of Molecular Sciences**, n.16, p.24673-24706, 2015.
- STRACK, D.; VOGT, T.; SCHLIEMANN, W. Recent advances in betalain research. **Phytochemistry**, v.62, p. 247-269, 2003.
- UTPOTT, M.; ASSIS, R. Q.; PAGNO, C. H.; KRIGGER, S. P.; RODRIGUES, E.; RIOS, A. O.; FLÔRES, S. H. Evaluation of the Use of Industrial Wastes on the Encapsulation of Betalains Extracted from Red Pitaya Pulp (*Hylocereus polyrhizus*) by Spray Drying: Powder Stability and Application. **Food and Bioprocess Technology**, v.13, p. 1940-1953, 2020.
- VELLOSO, F. T. **Desenvolvimento e caracterização de microcápsulas de alginato e quitosana contendo ácido retinóico e óleo de babaçu**. Dissertação (mestrado

em ciências farmacêuticas) - Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco. Recife, 2008.

VOS, P.; BUCKO, M.; GEMEINER, P.; NAVRÁTI, M.; SVITEL, J.; FAAS, M.; STRAND, B. L.; SKJAK-BRAEK, G.; MORCH, Y. A.; VIKARTOVSLÁ, A.; LACÍK, I.; KOLLÁRIKOVÁ, G.; ORIVE, G.; PONCELET, D.; PEDRAZ, J. L.; ANSORGE-SCHUMACHER, M. B. Multiscale requirements for bioencapsulation in medicine and biotechnology. **Biomaterials**, n.30, p.2559-2570, 2009.

WU, L.; HSU, H.W.; CHEN, Y.C.; CHIU, C.C.; LIN, Y.I.; HO, J. A. Antioxidant and antiproliferative activities of red pitaya. **Food Chemistry**, v. 95, pp. 319-327, 2006.

ZHAO, L.; TEMELLI, F. Preparation of anthocyanin-loaded liposomes using an improved supercritical carbon dioxide method. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, n.39, p.119-128, 2017.