



Emílio de Carvalho Silva

Microencapsulação de extrato de pequi rico em polifenóis: influência das variáveis do processo e do tipo de material de parede sobre a qualidade do produto em pó

Campinas
2013



Universidade Estadual de Campinas
Faculdade de Engenharia de Alimentos

Emílio de Carvalho Silva

**Microencapsulação de extrato de pequi rico em
polifenóis: influência das variáveis do processo e do
tipo de material de parede sobre a qualidade do
produto em pó**

Orientadora: Profa Dra Miriam Dupas Hubinger

Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos, UNICAMP, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Engenharia de Alimentos.

Este exemplar corresponde à versão final da dissertação de mestrado defendida pelo aluno Emílio de Carvalho Silva e orientado pela Profa. Dra. Miriam Dupas Hubinger.

Assinatura do Orientador:

Campinas
2013

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
biblioteca da Faculdade de Engenharia de Alimentos
Márcia Regina Garbelini Sevillano - CRB 8/3647

Si38m Silva, Emílio de Carvalho 1986.
Microencapsulação de extrato de pequi rico em polifenóis e carotenóides: influência das variáveis do processo e do tipo de material de parede sobre a qualidade do produto em pó / Emílio de Carvalho Silva – Campinas, SP: [s.n.], 2013.

Orientador: Míriam Dupas Hubinger
Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos

1.Nanofiltração. 2.*Caryocar brasiliense* Camb. 3.*Spray dryer*. 4.polifenóis. I. Hubinger, Míriam Dupas 1957. II. Universidade Estadual de Campinas. III. Título.

cars/bibfea

Informações para Biblioteca Digital

Título em inglês: Microencapsulation of pequi extract rich in polyphenols: the influence of process variables and type of wall material on the quality of powder product

Palavras-chave em inglês (Keywords): Nanofiltration, *Caryocar Brasiliense* Camb., Spray dryer, Polyphenols.

Titulação: Mestre em Engenharia de Alimentos

Área de concentração: Engenharia de Alimentos

Banca examinadora :

Prof. Dra Miriam Dupas Hubinger

Dra. Izabela Dutra Alvin

Dra. Vanessa Martins da Silva

Data da defesa: 06/09/2013

Programa de Pós Graduação: Programa em Engenharia de Alimentos.

Banca Examinadora

Esse exemplar corresponde a redação final da tese defendida em 06/09/2013 por Emílio de Carvalho Silva , aprovado pela comissão julgadora em 06/09/2013.

Prof. Dr. Míriam Dupas Hubinger(Orientadora)
Faculdade de Engenharia de Alimentos – UNICAMP

Prof. Dra. Izabela Dutra Alvin
ITAL

Dra. Vanessa Martins da Silva
UNICAMP

Dra. Ana Carla Kawazoe Sato
UNICAMP

Dra. Renata Valeriano Tonon
EMBRAPA

Dedicatória

Dedico todo este trabalho à minha família!!! Muito obrigado!!! Amo vocês demais da conta!!!

Agradecimentos

Eu gostaria de agradecer à Deus, que sempre me ilumina e me dá força e esperança. À minha família, meus pais, José Eustáquio e Maria da Conceição pelo apoio incondicional, carinho e força em todos os momentos e ao meu irmão pela companhia, dicas, boas conversas e carinho, amo vocês.

A minha namorada, pelo apoio, companheirismo e carinho.

À professora Dr^a Miriam Dupas Hubinger, pela oportunidade de aprendizado, orientação e paciência.

Ao professor Dr Carlos Grosso pela dicas, sugestões e aprendizado que foram bastante enriquecedoras.

À banca examinadora, prof^a Dr^a Izabela Dutra Alvin, Dr^a Vanessa Martins da Silva, Dr^a Ana Carla Kawazoe Sato, Dr^a Renata Valeriano Tonon, pelas correções e sugestões deste trabalho.

A todos os colegas de laboratório, das aulas, das peladas, das festas e bares. Valeu galera!!!!

Às colegas de laboratório Patricia e Zildene pelos auxílios e boas conversas.

À Capes, FAPESP e o CNPq pelo auxílio financeiro.

À UNICAMP e a FEA pela oportunidade de fazer parte desta instituição.

E a todos aqueles que de certa forma contribuíram para este trabalho,

Valeu.....

Resumo

O pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) é uma fruta do cerrado que apresenta alto teor de compostos fenólicos, carotenóides e alta atividade antioxidante. A microencapsulação dos polifenóis pode aumentar a sua estabilidade a fatores externos como luz e oxigênio, em relação a sua forma livre. Além disso, ajuda a reduzir os gostos indesejáveis. Este trabalho teve como objetivo estudar a microencapsulação dos compostos bioativos dos extratos aquosos do pequi. Foram preparados extratos aquosos de diferentes razões fruta:água (1:2 e 1:3) com os seguintes parâmetros fixados: 1 h de extração, 25 °C. Em seguida os extratos foram concentrados por nanofiltração, em uma membrana do tipo espiral com massa molecular de corte de 150 a 300 g/mol e área de 1,2 m², onde foram avaliadas as condições de processo via: fluxo de permeado (8,4 a 16,6 L/hm²) e índice de retenção (93 a 95%). Os extratos obtidos foram microencapsulados usando um secador do tipo *spray dryer*, com os seguintes parâmetros fixados: vazão de ar de secagem de 300 m³/h, vazão do ar comprimido de 1,85 m³/h e pressão do ar comprimido de 3 bar. Foi inicialmente investigada a influência de cinco tipos de materiais de parede (Maltodextrina 10 DE, Maltodextrina 20 DE, Xarope de Glicose, HiCap e Snow Flake) e sua respectiva concentração (0 a 20% p/p) na retenção de polifenóis. Posteriormente foram avaliados os efeitos da temperatura do ar de entrada (140 °C e 180 °C) e diferentes diâmetros de bico atomizadores (1,0 e 2,0 mm) na qualidade dos pós gerados. As microesferas obtidas foram caracterizadas em relação ao conteúdo de umidade, atividade de água, higroscopicidade, distribuição de tamanho e diâmetro médio de partículas, temperatura de transição vítrea e microestrutura. No geral, as partículas produzidas apresentaram formato esférico sem rachaduras ou poros quando atomizadas a 180 °C e formato mais irregular à 140 °C. Além disso, foram também determinados: a retenção de polifenóis, atividade antioxidante via DPPH e FRAP e a estabilidade a 45 °C por 49 dias. As micropartículas apresentaram retenção de polifenóis na ordem de 67 a 72% e atividade antioxidante de 42 a 68% de inibição via DPPH e 48 a 83 mg/g via FRAP. A estabilidade dos polifenóis ao longo do tempo

foi analisada via espectrofotometria e cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). A análise via CLAE se mostrou mais confiável e as partículas atomizadas apresentaram uma menor degradação com o tempo, em relação às amostras liofilizadas. Independentemente do modo de produção do extrato, a microencapsulação à 140 °C/1,0 mm foi mais adequada.

Palavras chave: Nanofiltração, *Caryocar brasiliense* Camb , *spray dryer*, polifenóis.

Abstract

Pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) is a Brazilian fruit with high levels of phenolic compounds and high antioxidant activity but its phytochemical aspects are little known. The bioactive compounds present in pequi could be added to formulated foods and beverages. However these compounds are generally unstable in liquid form and microencapsulation may increase its stability to external factors such as light and oxygen. This work aimed to study the extraction and the microencapsulation by spray-drying of polyphenols present in pequi. Aqueous extracts were prepared from different proportion of fruit:water (1:2 and 1:3), with the following parameters determined: 1 h of extraction at 25 °C. Then the extracts were concentrated by nanofiltration, in a spiral wound membrane with a molecular cut-off of 150 to 300 g/mol, and 1.2 m² of active area and the process conditions were evaluated by: permeate flux, wich varied from 8.4 to 16.6 L /h.m² and retention of phnolics index, wich varied from 93 to 95 %. The extracts were microencapsulated using a spray dryer with the following fixed parameters: drying air flow of 300 m³/h, compressed air flow of 1.85 m³/h and air pressure of 3 bar. The initial variables were: wall material concentration (0 to 20%) and type (maltodextrin 10 DE and 20 DE, Glucose Syrup, Hicap and Snow Flake). Highest polyphenols retention was the target. For the chosen condition: 15% of mixture - Snow Flake/maltodextrin 10 DE (1/3), drying temperature (140 °C and 180 °C) and nozzle diameter variation (1.0 and 2.0 mm) were investigated. The microspheres were characterized with respect to moisture content, water activity, hygroscopicity, size particle distribution and particle diameter, glass transition temperature and microstructure. In general, the spherical particles produced exhibited no cracks or pores when atomised at 180 ° C and were more irregular when atomised at 140 °C. Moreover, polyphenol retention, antioxidant activity by DPPH and FRAP and stability at 45 ° C for 49 days were also determined. The microparticles showed 67 to 72 % of polyphenol retention and antioxidant activity of 42 to 68 % inhibition by DPPH and 48 to 83 mg/g by FRAP. The polyphenols stability was analyzed by

spectrophotometer and high performance liquid chromatography (HPLC). The analysis by HPLC showed the most reliable and the atomized particles had lower degradation compared to lyophilized samples. Regardless of the method of production of the extract, microencapsulation using 140 °C/1.0 mm was more suitable.

Keywords: Nanofiltration, Caryocar Brasiliense Camb., spray dryer, polyphenols.

Sumário

Dedicatória	vii
Agradecimentos	ix
Resumo	xi
Abstract	xv
1 Introdução	1
2 Revisão Bibliográfica	5
2.1 Pequi	5
2.2 Compostos Bioativos	9
2.2.1 Compostos Fenólicos	9
2.2.2 Atividade antioxidante	10
2.3 Extratos Vegetais	11
2.4 Microencapsulação	13
2.4.1 Materiais de parede	14
2.4.2 Transição Vítrea	16
3 Objetivos	19
3.1 Objetivo Geral	19
3.1.1 Objetivos Específicos	19
4 Material e Métodos	21

4.1	Matéria-prima	21
4.2	Agentes encapsulantes	23
4.3	Etapas do trabalho	23
4.4	Preparo dos extratos aquosos de pequi	25
4.5	Processo de concentração	26
4.6	Análises realizadas nos extratos concentrados	27
4.6.1	Determinação do fluxo de permeado	27
4.6.2	Índice de retenção (R)	27
4.6.3	Determinação teor de sólidos solúveis	28
4.6.4	Determinação de umidade	28
4.6.5	Determinação de açúcares totais	28
4.6.6	Determinação de Fenólicos totais	28
4.6.7	Determinação de Fenólicos via Cromatografia Líquida de alta eficiência	29
4.6.8	Avaliação da atividade antioxidante	29
4.7	Microencapsulação por spray drying	31
4.8	Ensaio preliminares	32
4.8.1	Seleção do material de parede e da concentração adicionada	32
4.9	Avaliação da temperatura do ar de entrada e diâmetro do bico	32
4.9.1	Umidade e atividade água	33
4.9.2	Distribuição do tamanho de partículas	33
4.9.3	Retenção de Compostos Bioativos	33
4.9.4	Temperatura de Transição Vítrea	33
4.9.5	Morfologia	34
4.9.6	Higroscopicidade	34
4.10	Atividade antioxidante	35
4.10.1	DPPH	35
4.10.2	FRAP	35
4.11	Ensaio adicionais	35
4.12	Teste de estabilidade acelerado	36
4.12.1	Polifenóis Totais nos pós	36
4.12.2	Polifenóis por cromatografia líquida nos pós	36
4.13	Análise estatística	37

5	Resultados e discussão	39
5.1	Caracterização do extratos concentrados	39
5.2	Estudo da extração aquosa	42
5.3	Microencapsulação via <i>spray drying</i>	47
5.4	Ensaio preliminares	47
5.5	Conteúdo de umidade e atividade de água	49
5.6	Retenção de Polifenóis	51
5.7	Distribuição de tamanho	53
5.8	Morfologia	56
5.9	Higroscopicidade	64
5.10	Temperatura de Transição Vítrea	66
5.11	Atividade antioxidante	68
5.11.1	DPPH	68
5.11.2	FRAP	69
5.12	Teste de estabilidade acelerado à 45 °C	70
6	Conclusões	77
7	Sugestões para trabalhos futuros	81
	Referências Bibliográficas	83

Lista de Tabelas

2.1	Valores médios da composição química centesimal do pequi	9
4.1	Principais características e parâmetros de operação da membrana	26
5.1	Caracterização do extrato aquoso de pequi razão 1:3 (fruta/água). Valores médios e seus respectivos desvios padrões.	39
5.2	Caracterização do extrato aquoso de pequi razão 1:2 (fruta:água). Valores médios e seus respectivos desvios padrões.	41
5.3	Teor de açúcares.	41
5.4	Retenção de polifenóis nas microesferas produzidas com adição de 20% (p/p) de materiais de paredes.	48
5.5	Ensaio preliminares na etapa II	48
5.6	Conteúdo de umidade e atividade de água das partículas produzidas pelo extrato de razão 1:3 fruta:água	50
5.7	Conteúdo de umidade e atividade de água das partículas produzidas pelo extrato de razão 1:2 fruta:água	50
5.8	Retenção de polifenóis nas micropartículas produzidas a partir do extrato de razão 1:3 fruta:água	51
5.9	Retenção de polifenóis nas partículas produzidas a partir do extrato de razão 1:2 fruta:água	51
5.10	°Brix dos extratos.	52
5.11	Diâmetro médio das partículas produzidas pelo extrato de razão 1:3 fruta:água	53
5.12	Diâmetro médio das partículas produzidas pelo extrato de razão 1:2 fruta:água	53
5.13	Higroscopicidade das partículas produzidas a partir do extrato de razão 1:3 fruta:água	64

5.14	Higroscopicidade das partículas produzidas a partir do extrato de razão 1:2 fruta:água	65
5.15	Temperatura de transição vítrea de partículas armazenadas umidade relativa do ar de 0,226 à 25°C	66
5.16	Temperatura de transição vítrea de partículas armazenadas em umidade relativa do ar de 0,432 à 25°C	67
5.17	Atividade antioxidante via DPPH das amostras produzidas pelo extrato de razão 1:3 fruta:água	69
5.18	Atividade antioxidante via DPPH das amostras produzidas pelo extrato de razão 1:2 fruta:água	69
5.19	Atividade antioxidante das amostras via FRAP, produzidas pelo extrato de razão 1:3 fruta:água	70
5.20	Atividade antioxidante das amostras via FRAP, produzidas pelo extrato de razão 1:2 fruta:água	70
5.21	Parâmetros cinéticos da degradação dos polifenóis do extrato de pequi microencapsulado por <i>spray drying</i> e liofilizado armazenado a 45 °C . .	73

Lista de Figuras

2.1	Distribuição do pequi (Caryocar brasiliense Camb) no Brasil. Adaptado de Gois Aquino <i>et al.</i> 2008	5
2.2	Pequizeiro	7
2.3	Pequi	8
2.4	Estrutura química de flavonóide. Adaptado de Gülçin 2012	10
2.5	Estrutura química de não flavonóides. Adaptado de Gülçin 2012	11
2.6	Estrutura das micropartículas. Adaptado de Jafari <i>et al.</i> 2008	13
2.7	Transição de Fases em alimentos. Adaptado de Telis 2011	17
4.1	Pequi congelado	21
4.2	Etapas do trabalho	24
4.3	Sistema de filtração por membrana	26
4.4	Spray dryer utilizado nos ensaios de secagem	31
5.1	Extratos em ordem crescente de fator de concentração volumétrico.	42
5.2	:Curva de Fluxo de permeado e °Brix em relação ao fator de concentração	43
5.3	Curva do teor de polifenóis em relação ao fator de concentração	44
5.4	Permeado(P)/Extrato (A) /Concentrado (C)	45
5.5	Curva do teor de antioxidante (FRAP) em relação ao fator de concentração	46
5.6	Curva do teor de antioxidante (DPPH) em relação ao fator de concentração	46
5.7	Análise visual dos ensaios preliminares	48
5.8	Influência da atividade de água em alimentos. Adaptado de Roos (2002)	50
5.9	Distribuição do tamanho de partículas produzidas a partir do extrato de razão 1:3	55
5.10	Distribuição do tamanho de partículas produzidas a partir do extrato de razão 1:2	56

5.11	Microestrutura externa de partículas produzidas a partir do extrato de razão 1:3, atomizados por bico de 1,0 mm a 180 °C, (a) 1000X, (b) 2000X, (c) 5000X.	58
5.12	Microestrutura externa de partículas produzidas a partir do extrato de razão 1:3, atomizados por bico de 1,0 mm a 140 °C, (a) 1000X, (b) 2000X, (c) 5000X.	59
5.13	Microestrutura externa de partículas produzidas a partir do extrato de razão 1:3, atomizados por bico de 2,0 mm a 180 °C, (a) 1000X, (b) 2000X, (c) 5000X.	60
5.14	Microestrutura externa de partículas produzidas a partir do extrato de razão 1:3, atomizados por bico de 2,0 mm a 140 °C, (a) 1000X, (b) 2000X, (c) 5000X.	61
5.15	Microestrutura externa de partículas produzidas a partir do extrato de razão 1:2, atomizados por bico de 1,0 mm a 180 °C, (a) 1000X, (b) 2000X, (c) 5000X.	62
5.16	Microestrutura externa de partículas produzidas a partir do extrato de razão 1:2, atomizados por bico de 1,0 mm a 140 °C, (a) 1000X, (b) 2000X, (c) 5000X.	63
5.17	Amostras iniciais do teste de estabilidade acelerado	71
5.18	Cromatograma do extrato aquoso de pequi	71
5.19	Evolução do teor de polifenóis ao longo do tempo via espectrofotometria	72
5.20	Evolução do teor de polifenóis ao longo do tempo via cromatografia . .	72
5.21	Cinética de degradação dos polifenóis do extrato de pequi microencapsulado por <i>spray drying</i> a 180°C e liofilizado, estocado a 45°C	73
5.22	Amostras armazenadas durante 21 e 49 dias à 45 °C, no teste de estabilidade acelerado	74

Capítulo 1

Introdução

O Brasil é detentor de uma das maiores biodiversidades do mundo, apresentando grande potencial como produtor de matrizes vegetais com atividade biológica. No entanto, muito pouco tem sido realizado para transformar este potencial em uma realidade competitiva. O estudo de compostos bioativos presentes em extratos de frutos do cerrado como o pequi, assume importância considerável, uma vez que poderá ser potencialmente viável em algumas aplicações como: adição em alimentos formulados e bebidas ou utilização na produção de fitoterápicos, pela sua elevada atividade biológica.

O pequi é um fruto nativo do cerrado brasileiro e apresenta aspectos nutricionais bastante importantes. Contém alto teor de compostos bioativos (fenólicos e carotenóides), ácidos graxos, vitaminas C e do complexo B, além da alta atividade antioxidante (Machado, 2011; Oliveira *et al.*, 2008). Porém em sua forma livre estes compostos tendem a se degradar rapidamente. São sensíveis à variações de temperatura, luz, pH e concentração de oxigênio (Fang e Bhandari, 2011). É interessante transformar a fruta em um extrato que se torne uma matéria-prima homogênea para os compostos bioativos, já que no pequi, estes se encontram distribuídos nas diversas partes do fruto. Machado (2011) produziu extratos alcoólicos e aquosos de pequi e concentrou os compostos bioativos por nanofiltração, obtendo uma retenção de 97% de compostos fenólicos. Uma forma de manter os compostos bioativos estáveis por mais tempo é sua transformação em pó, a partir do extrato. Uma técnica que pode ser empregada para este fim é a microencapsulação por *spray drying*

Microencapsulação pode ser definida como uma tecnologia capaz de transformar materiais sólidos, líquidos e gasosos em micropartículas, que podem liberar seu conteúdo em diferentes condições. Na área de alimentos a utilização dessa técnica não é um novo conceito, e tem sido utilizada por mais de 60 anos por diversas razões.

De uma forma geral, as principais razões são: proteção, liberação controlada, permitir fácil manuseio do produto encapsulado e mascarar odores desagradáveis (Desai e Park, 2005). Diversas técnicas podem ser empregadas na microencapsulação, tais como: *spray drying*, *freeze drying*, *spray chilling*, *spray coating*, extrusão, extrusão centrífuga, leito fluidizado, co-cristalização, coacervação simples e complexa, evaporação de solvente e inclusão molecular. A seleção do método depende de propriedades físicas e químicas do material a ser encapsulado e do material de revestimento, do mecanismo de liberação dos compostos ativos e de fatores econômicos (Silva, 2011; Desai e Park, 2005). Dentre estes métodos o *spray drying* é o mais conhecido e usual na indústria de alimentos (Barbosa *et al.*, 2005). É um processo econômico e de secagem rápida (Fang e Bhandari, 2011; Desai e Park, 2005). No processo de secagem por *spray drying* as principais etapas que influenciam nas propriedades finais do pó são: atomização do líquido, afetada pelo tipo de bico atomizador e condições de operação; a etapa de contato entre o ar de secagem e a gotas, que tem como objetivo dispersar uniformemente as gotas dentro da câmara de secagem; a etapa de secagem e formação da partícula, afetada pela geometria, tamanho da câmara de secagem; a coleta do produto final, regulada pelo *design* da tubulação do ar de exaustão, dos ciclones e filtros (Masters, 2004).

Outro fator decisivo para a microencapsulação é a escolha do material de parede. Este material tem a função de envelopar e proteger o composto ativo, ou núcleo dando forma a microcápsula. Há diversas opções de material de parede, como as maltodextrinas, polissacarídeos e proteínas. Os carboidratos, em especial, têm funções interessantes como: baixo custo, grande número de polímeros existentes e propriedades físico químicas desejáveis (Lakkis, 2007). Diversos trabalhos elencam a maltodextrina e seus *blends* como boa opção de material de parede (Barbosa *et al.*, 2005; Bakowska-Barczak e Kolodziejczyk, 2011; Silva, 2011; Munin e Edwards-Lévy, 2011; Gallardo *et al.*, 2013).

A forma da microcápsula gerada é essencial para o desenvolvimento de novos produtos e sua respectiva aplicação. A funcionalidade, as propriedades de escoamento do pó estão intimamente ligados a sua microestrutura. Além disso, a distribuição do tamanho das partículas também pode ser considerada importante em vários aspectos, podendo influenciar no sabor, cor e textura do produto. Uma maneira de verificar a forma da microcápsula se dá pela realização de testes físicos como análise de diâmetro médio das partículas e morfologia (Shahidi e Han, 1993).

Neste contexto, o foco principal deste estudo é a obtenção das condições de microencapsulação de extratos de pequi por *spray drying*. Para isso, foi inicialmente

investigada a influência de alguns materiais de parede e sua respectiva concentração na retenção de polifenóis. Posteriormente, o efeito da temperatura de entrada do ar de secagem e a utilização de diferentes diâmetros de bico foram avaliados na obtenção de pós, onde foram investigados critérios físicos e químicos que interferem na qualidade e sua estabilidade à estocagem a 45°C.

Capítulo 2

Revisão Bibliográfica

2.1 Pequi

O pequi é um fruto originário do pequizeiro, que é uma planta classificada como oleaginosa ou frutífera, em razão das suas características e formas de aplicação do fruto, que vão desde a culinária até a produção de cosméticos. As espécies conhecidas como pequizeiro, e nomes derivados pertencem à família *Caryocaraceae*, composta de 25 espécies reunidas em dois gêneros, *Caryocar* e *Anthodiscus* (Oliveira *et al.*, 2008).

O pequi é encontrado em todo o cerrado brasileiro, que inclui diversos estados tais como o Pará, Distrito Federal, São Paulo, Minas Gerais, entre outros, como apresentado na Figura 2.1.



Figura 2.1: Distribuição do pequi (*Caryocar brasiliense* Camb) no Brasil. Adaptado de Gois Aquino *et al.* 2008

O pequizeiro apresenta porte variando entre arbóreo a arbustivo, com altura variável entre 8 e 12 m de altura, de tronco tortuoso com até 5 metros de altura, dependendo das características do ambiente (Oliveira *et al.*, 2008; Carvalho, 2009) (Figura 2.2).



Figura 2.2: Pequizeiro

Sua floração e frutificação dependem da região (Carvalho, 2009). Em geral, a floração ocorre de agosto a novembro, já a frutificação ocorre de novembro a fevereiro (Alves *et al.*, 2008).

Os frutos são globulosos do tipo drupáceo, de casca fina verde acinzentada, com 4 a 6 lóculos. Retirada a casca há o mesocarpo interno, bastante fibroso. No lóculo há a polpa, o endocarpo e a semente. A polpa apresenta coloração de amarelada a alaranjada sendo oleosa e comestível. O endocarpo, que é duro e espinhoso, protege a semente ou amêndoa, que é revestida por um tegumento fino, sendo também uma porção comestível (Carvalho, 2009; Alves *et al.*, 2008) (Figura 2.3).

De acordo com Rocha *et al.* (2008), a exploração econômica do pequi é atualmente considerada uma prática ambientalmente sustentável.

Essa exploração, que se dá de maneira extrativista, tem grande importância sócio-econômica que pode ser verificada em toda a cadeia de produção do fruto, desde a

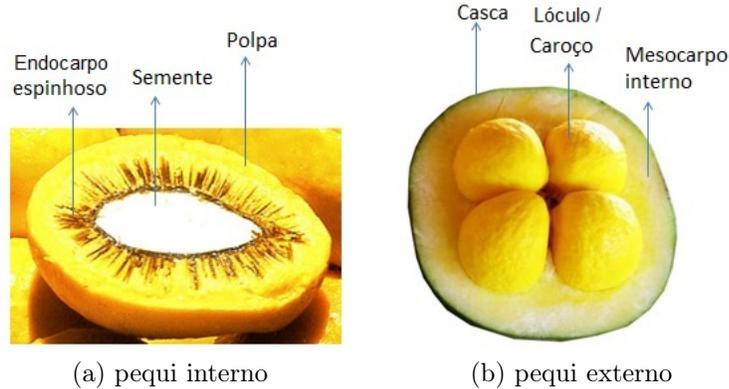


Figura 2.3: Pequi

coleta, até a comercialização, tanto do fruto “in natura” quanto dos produtos derivados (Rocha *et al.*, 2008). No Brasil, em 2010, foram produzidas 5.786 toneladas de pequi, conforme registro do IBGE (IBGE, 2010).

Sobre a utilização do pequi e seus derivados, podem-se elencar diversas aplicações em diversas áreas, desde a culinária até o uso em cosméticos. A polpa do pequi é muito apreciada na alimentação regional. Sua semente pode ser "consumida *in natura*" ou pode ser utilizada na preparação de licores (Carvalho, 2009; Lima *et al.*, 2007).

O pequi apresenta alto teor de lipídeos, carboidrato e vitamina C (2.1). A polpa do fruto apresenta características físico químicas bastante interessantes. Possui teor de vitamina C superior aos encontrados em frutos cítricos como a laranja-da-bahia e o limão-galego (Oliveira *et al.*, 2008). A amêndoa é rica em lipídeos e minerais. Em relação aos lipídeos, há predomínio dos ácidos graxos insaturados (Lima *et al.*, 2007).

Outro ponto positivo do pequi, que vem sendo destacado por diversos autores é o alto teor de compostos bioativos com propriedades antioxidantes (Lima *et al.*, 2007; Machado, 2011).

Os compostos fenólicos fazem parte de um grupo de metabólitos de plantas. Apresentam uma alta atividade biológica, tais como: antioxidante, anti-inflamatória além de funções anti-virais (Fang e Bhandari, 2010). Segundo Lima *et al.* (2007) a polpa do pequi apresenta teores de fenólicos totais superiores aos encontrados na maioria das polpas de frutas consumidas no Brasil como açaí, goiaba, abacaxi e acerola.

Assim, ao serem incluídos na alimentação humana, por meio de cápsulas, por exemplo, estes compostos possibilitam vários benefícios, como citados anteriormente.

Tabela 2.1: Valores médios da composição química centesimal do pequi .

Constituintes	TACO (2010) ¹	Santos <i>et al.</i> (2010) ²
Umidade (%)	65,90	56,53
Cinzas (%)	0,80	1,1
Proteínas (%)	2,30	4,6
Lipídeos (%)	18	63,3
Vitamina C (mg/100g)	8,30	N/A ³
Fibra alimentar (%)	19	N/A
Carboidratos (%)	13	N/A

¹Dados analíticos médios para a variedade *Caryocar brasiliense* Camb. na fruta fresca (base úmida).

²Dados analíticos médios para a variedade *Caryocar brasiliense* Camb. na fruta fresca (base seca).

³N/A = Não analisado.

2.2 Compostos Bioativos

2.2.1 Compostos Fenólicos

Presente no reino vegetal, compostos fenólicos ou polifenóis contabilizam uma vasta gama de compostos com mais de 800 estruturas químicas, o que representa mais de 4000 compostos individuais. Estes compostos são produtos secundários do metabolismo das plantas. Todos os polifenóis apresentam um ou mais anéis de benzeno ligados a uma ou mais hidroxilas (Shahidi e Naczk, 2004; Sellappan *et al.*, 2002).

Grande atenção tem sido dada aos polifenóis, devido ao seu alto potencial biológico. São capazes de exibir ações antioxidantes por meio de seqüestro de espécies radicalares de oxigênio, inibição da proliferação celular, bem como exibir ação como agente antibiótico, antialergênico e anti-inflamatório (Shahidi e Naczk, 2004; Munin e Edwards-Lévy, 2011).

A quantificação do teor de polifenóis totais baseia-se na determinação espectrofotométrica (Georgé *et al.*, 2005). No entanto determinação individual dos fenólicos é ainda um desafio analítico devido à diversidade destes compostos. Sua determinação pode ser feita mediante cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) ou via cromatografia líquida de alta eficiência associada à espectrometria de massa (Schieber *et al.*, 2001). Roesler *et al.* (2008) trabalharam com o preparo de diferentes extratos de pequi (*Caryocar B. Camb.*), avaliaram a capacidade antioxidante desses extratos e caracterizaram alguns componentes por espectrometria de massa com ionização acoplada.

Chisté *et al.* (2012) trabalharam com a identificação e quantificação de compostos fenólicos do pequiá (*Caryocar villosum*), por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a espectrometria de massa HPLC-DAD-MS/MS.

2.2.2 Atividade antioxidante

Antioxidantes podem ser definidos biologicamente como substâncias sintéticas ou naturais adicionadas aos produtos, para prevenir ou retardar a sua deterioração pela ação do oxigênio no ar (Huang *et al.*, 2005).

Em alimentos, os antioxidantes são adicionados para minimizar as mudanças no sabor, aroma, cor ou valor nutritivo. Os antioxidantes podem proteger o organismo contra danos causados por radicais livres e doenças degenerativas. Antioxidantes sintéticos geralmente utilizados na indústria são eficazes e estáveis, mas seu uso é limitado em muitos países, porque eles não são considerados completamente seguros para a saúde humana (Deladino *et al.*, 2008). Assim, pesquisas têm valorizado o desenvolvimento e aplicação de antioxidantes advindos de fontes naturais, como os compostos fenólicos.

Com relação aos antioxidantes naturais, os compostos fenólicos são os de maior destaque. Segundo Lima (2008) os compostos fenólicos podem ser divididos em 2 grande grupos; os flavonóides e os não flavonóides.

Os flavonóides são basicamente formados por um núcleo flavona, que consiste em um arranjo de 15 átomos de carbono composto de 3 anéis, como ilustrado na Figura 2.4 (Gülçin, 2012).

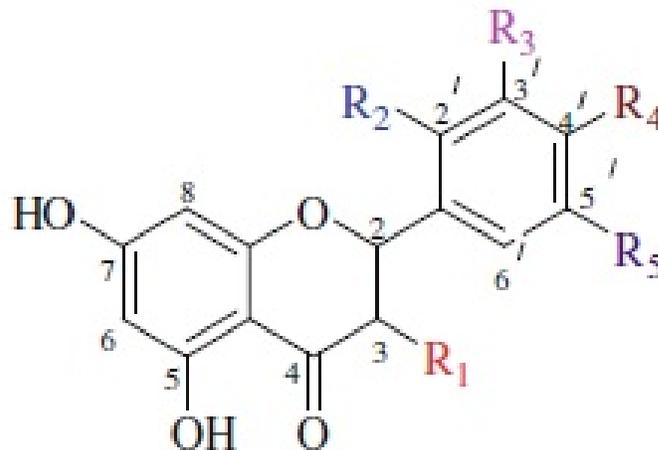


Figura 2.4: Estrutura química de flavonóide. Adaptado de Gülçin 2012

Os ácidos fenólicos (não flavonóides) são derivados de ácidos carboxílicos aromáticos, que englobam os ácidos dos grupos benzóico e cinâmico, como ilustrado na Figura 2.5.

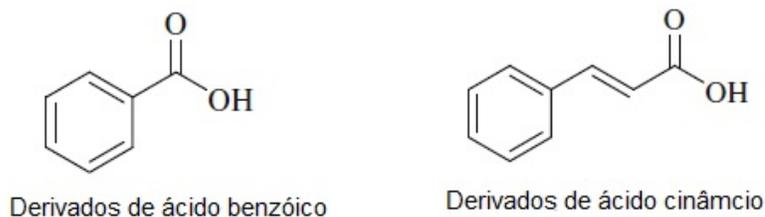


Figura 2.5: Estrutura química de não flavonóides. Adaptado de Gülçin 2012

Diversos estudos relatam a capacidade antioxidante de diversas frutas e extratos vegetais. Lima *et al.* (2007); Roesler *et al.* (2007); Machado (2011) observaram em seus respectivos trabalhos que o pequi é uma fonte rica em carotenóides e polifenóis que por sua vez apresentam boa capacidade antioxidante. Chisté *et al.* (2012) detectaram a capacidade antioxidante do piquiá *Caryocar villosum*. Park *et al.* (2012) compararam as capacidades antioxidantes do kiwi convencional e orgânico.

2.3 Extratos Vegetais

Extratos vegetais podem ser definidos como preparações líquidas ou em pó obtidas da extração dos princípios ativos de matrizes vegetais por diversas metodologias. Podem sofrer tratamentos prévios (inativação enzimática, moagem, etc.) para posterior etapa envolvendo um solvente, que tem como objetivo concentrar as substâncias, aumentar a estabilidade e conservação de alguns dos ativos efetivamente envolvidos nos efeitos terapêuticos, retirando-se ou minimizando-se a presença de compostos indesejáveis (Marques, 2005).

Devido à alta demanda pela utilização de ingredientes naturais, os extratos vegetais estão cada vez mais em foco. Sinônimos de naturais, os extratos vegetais podem ser encontrados em vários produtos nas mais diversas aplicações e seu consumo atrai cada vez mais pessoas que buscam um estilo de vida saudável (Brasil, 2010).

Além disso, inúmeros extratos vegetais contêm compostos bioativos os quais têm atraído a atenção das indústrias de alimentos e de fármacos, pois podem ser utilizados em formulações de alimentos funcionais, de produtos nutracêuticos e de cosméticos. Martins *et al.* (2013) trabalharam com otimização de condições de extração e avaliação

de atividade antioxidante da fruta de lobo *Solanum lycocarpum*. Jorge *et al.* (2013) avaliaram o efeito do tempo, temperatura e da concentração do etanol para otimização da extração de fenólicos no figo da índia e a caracterização dos extratos com relação à atividade antioxidante por diferentes métodos (ABTS, DPPH, e oxidação lipídica).

Com relação a trabalhos com identificação ou concentração de compostos bioativos do extrato de pequi podem-se citar os autores: Lima *et al.* (2007); Roesler *et al.* (2007); Porto (2008); Machado *et al.* (2012); Chisté *et al.* (2012).

Uma tecnologia limpa que pode ser empregada na concentração de compostos bioativos é a separação por membranas. A menor produção de efluentes e a possibilidade de seu tratamento, a redução no consumo de energia e de produtos químicos constituem fatores interessantes na utilização dessa tecnologia. A microfiltração é o processo de separação com membranas que mais se aproxima da filtração clássica. É muito utilizado para clarificação de vinhos, cervejas e sucos, pois além de preservar os compostos ativos termolábeis, esta tecnologia evita e minimiza as perdas por sabor e cor dos produtos (Habert *et al.*, 2006). Gomes *et al.* (2013) trabalharam com microfiltração de suco de melancia utilizando membrana cerâmica, com área de 0,022 m² e avaliaram a influência da vazão e temperatura no teor de licopeno e na capacidade antioxidante. O teor de licopeno e a capacidade antioxidante aumentaram 402,8% e 416,3% respectivamente.

A ultrafiltração é um processo de separação por membranas intermediário à microfiltração e a nanofiltração. Pode ser utilizado quando se deseja clarificar, concentrar e fracionar soluções contendo macromoléculas. Diaz-Reinoso *et al.* (2011) utilizaram duas membranas de ultrafiltração em série com massa molar de corte (MMC) de 5 e 10 kDa com o objetivo de concentrar compostos fenólicos de extrato de folhas de *Castanea sativa*. A utilização das membranas em série aumentou em cerca de 18 % a concentração dos fenólicos no produto final.

A nanofiltração é caracterizada, normalmente, pelas separações de sais divalentes e solutos orgânicos de massa molar média (entre 500 e 2000 Daltons), apresentando seletividade intermediária entre a ultrafiltração e a osmose inversa. Nessa área podem-se citar: Nwuha (2000) que avaliou a estabilidade de seis diferentes membranas de nanofiltração para posterior concentração de extratos de chá verde com baixo teor de cafeína. Mello *et al.* (2010^b) que trabalharam com concentração de extratos aquosos e etanólicos de própolis, avaliando a retenção de flavonóides e compostos fenólicos durante o processo de nanofiltração.

2.4 Microencapsulação

A encapsulação pode ser definida como um processo para reter uma substância dentro de outra produzindo assim partículas com diâmetros da ordem de poucos nanômetros a poucos micrômetros. A substância que é encapsulada pode ser chamada de núcleo, agente ativo ou fase interna. A substância encapsulante pode ser chamada de revestimento, material de suporte, material de parede, fase externa ou matriz (Zuidam e Nedović, 2009).

As duas principais estruturas são: microcápsula e microesfera (figura 2.6).

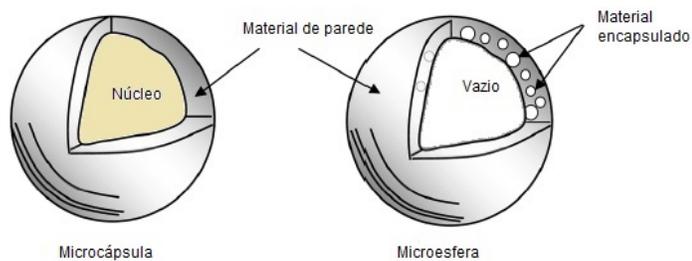


Figura 2.6: Estrutura das micropartículas. Adaptado de Jafari *et al.* 2008

A microcápsula é geralmente produzida por coacervação complexa, secagem em leiteo fluidizado, co-extrusão ou inclusão molecular, e tem elevada carga de núcleo como, por exemplo, 90 % do peso da cápsula total. Já nas microesferas, que são produzidas principalmente por *spray drying*, o material do núcleo é disperso por toda a estrutura de parede e a área central é ocupada pelo vazio resultante da expansão das partículas durante os últimos estágios do processo de secagem. Microesferas produzidas por este processo geralmente apresentam carga de núcleos de 20-30 % do peso total da cápsula (Jafari *et al.*, 2008).

Os possíveis benefícios de ingredientes microencapsulados na indústria de alimentos podem ser: facilidade de manuseio, maior estabilidade durante o processamento e do produto final, redução do off-flavour, liberação controlada, dentre outros (Zuidam e Nedović, 2009).

A encapsulação pode ser realizada por vários métodos. A seleção do processo de microencapsulação é governada pelas propriedades físicas e químicas do núcleo, do material de parede e da aplicação pretendida (Desai e Park, 2005).

Spray drying é um dos mais antigos processos de encapsulação. A secagem por

atomização é normalmente conseguida por dissolução, emulsificação ou dispersão do agente ativo numa solução aquosa de material de suporte, seguida pela atomização e pulverização da mistura em uma câmara quente. Durante este processo um filme é formado na superfície das gotas, retardando a perda de moléculas do agente ativo para o meio (Gharsallaoui *et al.*, 2007).

A atomização do fluido de alimentação em gotículas pode ser feita utilizando pressão ou energia centrífuga. Os tipos de atomizadores podem ser divididos em: pneumáticos, bico pressurizado, disco rotativo, duplo fluido e bico sônico. Na atomização ocorre a redução do tamanho da gota que facilita a transferência de calor entre a superfície das gotas e o ar de secagem, de modo a favorecer a transferência de massa.

As características finais do pó obtido por *spray drying* dependem de algumas variáveis de processo, tais como: características do líquido atomizado (teor de sólidos, viscosidade), tipo e mecanismo de funcionamento do bico atomizador, e as características do ar de secagem. Assim é importante definir bem as condições de secagem para que se possa estabelecer uma relação entre seus efeitos e as características do pó obtido.

Quando se trata de secagem de extratos e sucos de frutas, os pós resultantes costumam apresentar alguns problemas de manipulação, tais como pegajosidade (*stickiness*) e alta higroscopicidade, decorrentes da presença de açúcares e ácidos de baixo peso molecular, que apresentam uma baixa temperatura de transição vítrea. Isso pode acarretar danos não só às características do pó obtido, como também ao processo de secagem. Assim o uso de aditivos (agentes carreadores) a fim de aumentar a temperatura de transição vítrea do produto, facilitando a secagem e as operações de transporte e armazenamento, é fundamental (Bhandari *et al.*, 1993).

A escolha do método de microencapsulação e materiais de revestimento são interdependentes. O material de parede utilizado em produtos alimentares deve ser de qualidade alimentar e capaz de atuar como barreira para o agente ativo (Zuidam e Nedović, 2009).

2.4.1 Materiais de parede

Um material de parede deve atender a vários requisitos, entre os quais se pode citar: boas propriedades reológicas, não ser reativo com o material a ser encapsulado, capacidade de manter e proteger o material ativo dentro de sua estrutura durante o processamento ou a armazenagem, capacidade de liberar o núcleo mediante o gatilho de liberação desejado. Como geralmente nenhum material de revestimento único atende a

todos os critérios listados, torna-se indispensável o uso de misturas (Zuidam e Nedović, 2009).

Entre os ingredientes alimentícios disponíveis, os principais materiais de parede utilizados são: carboidratos incluindo amidos hidrolisados, modificados, gomas com propriedades emulsificantes e proteínas (Jafari *et al.*, 2008).

2.4.1.1 Amidos Hidrolisados

Estes materiais de parede oferecem a vantagem de serem relativamente baratos, não proporcionam sabor doce, apresentarem baixa viscosidade em altas concentrações e boa proteção contra o oxigênio. O grau de proteção está diretamente relacionado a dextrose equivalente (DE) do amido hidrolisado (Jafari *et al.*, 2008).

Os produtos da hidrólise do amido como: maltodextrina e o xarope de milho diferem entre si com relação ao peso molecular e podem ser classificados de acordo com a dextrose equivalente (DE) que está relacionada ao grau de polimerização (DP), sendo $DE = 100/DP$. A maltodextrina consiste em um polissacarídeo formado por ligações α -(1-4) de D-glicose e apresenta DE menor que 20. Já a hidrólise do amido com valores de DE entre 20 e 60 resulta em uma mistura de moléculas denominada xarope de milho (Shahidi e Han, 1993).

Em geral, produtos de maior DE são menos permeáveis ao oxigênio e resultam em pós com maior eficiência de encapsulação. Estes ingredientes, no entanto, não possuem quaisquer propriedades emulsionantes e resultam tipicamente na retenção pobre de *flavours* durante a secagem. Portanto, é desejável utilizá-los em combinação com materiais emulsionantes tais como: amido modificado, goma arábica ou proteínas (Jafari *et al.*, 2008).

2.4.1.2 Amidos modificados

Produtos a base de amido são geralmente seguros para o consumo humano. Amidos nativos apresentam geralmente uma baixa solubilidade em água, o que tem limitado sua aplicação (Sweedman *et al.*, 2012; Yan e Zhengbiao, 2010). Modificações no amido com a finalidade de aumentar a solubilidade em água podem ser feitas por meio de modificações estruturais, hidrolisando o amido em moléculas menores, ou por meio da adição de grupamentos químicos como acetato ou anidro octenil-succínico (OSA)(Sweedman *et al.*, 2012). Quando adicionados do grupamento OSA, os amidos adquirem uma característica anfifílica e assim podem ser utilizados em diversas aplicações. Amidos OSA

são bastante difundidos comercialmente e têm sido utilizados como substitutos de alguns polímeros, tais como goma arábica e algumas proteínas (Sweedman *et al.*, 2012). Silva (2011) utilizou combinação de amido modificado e maltodextrina na encapsulação de antocianina da casca de jabuticaba.

2.4.2 Transição Vítrea

Estudos de transição de fase em alimentos têm sua importância destacada no controle e aperfeiçoamento de processos e produtos (Roos, 1995).

A transição vítrea é um fenômeno reversível que ocorre em materiais amorfs ou em regiões amorfs em materiais semi-cristalinos. No estado vítreo as moléculas exibem um arranjo, um grau de imobilidade similar aos sólidos cristalinos. Já no estado amorfo a mobilidade molecular aumenta radicalmente e o material apresenta propriedades mecânicas tipicamente viscoeláticas (Schuck *et al.*, 2012; Telis, 2011).

A transição do estado vítreo para o amorfo e vice-versa é denominada transição vítrea. Essa transição ocorre em uma faixa de temperatura caracterizada pela temperatura vítrea (T_g) (Figura 2.7). A T_g é também dependente do conteúdo de água, ou seja, uma mudança do estado vítreo para o amorfo pode ocorrer não apenas em função do aumento da temperatura, mas também como consequência de um aumento no teor de água e atividade de água (Telis, 2011).

A maioria dos sólidos solúveis presentes em extratos e sucos de frutas são sólidos de baixo peso molecular. Estão presentes açúcares como: glucose e frutose, bem como ácidos orgânicos como: cítrico, málico dentre outros. Quando submetidos ao processo de rápida remoção de água, como o de atomização por *spray drying* por exemplo, esses materiais resultam em matrizes amorfs que podem sofrer efeitos da transição vítrea como: pegajosidade, colapso e compactação que afetam a manipulação e estocagem destes produtos. Uma estratégia para evitar ou minimizar esses efeitos é a adição de polímeros com alta T_g como as maltodextrinas, proteínas, dentre outros (Jaya e Das, 2009).

Tonon (2009) avaliou a estabilidade do suco de açaí em pó produzido com diferentes agentes carreadores, por meio da construção de isoterms de sorção e determinação da temperatura de transição vítrea. Davidov-Pardo *et al.* (2012) otimizaram a formulação de material de parede na encapsulação de fenólicos de extrato de semente de uva e utilizaram a calorimetria diferencial de varredura (DSC) para caracterizar as formulações otimizadas.

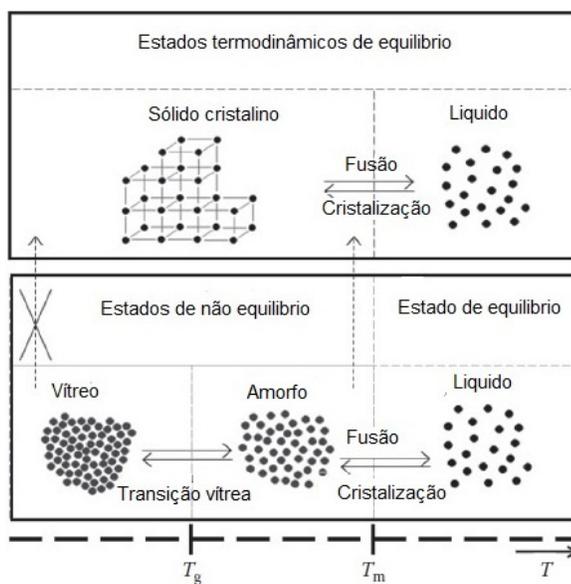


Figura 2.7: Transição de Fases em alimentos. Adaptado de Telis 2011

Capítulo 3

Objetivos

3.1 Objetivo Geral

Este trabalho tem como objetivo geral estudar a microencapsulação, por *spray drying*, de compostos bioativos dos extratos aquosos do pequi, obtidos por nanofiltração.

3.1.1 Objetivos Específicos

- Obter extratos aquosos de pequi, concentrados por nanofiltração, rico em polifenóis;
- Avaliar a influência do uso de diferentes materiais de parede: maltodextrina, xarope de glicose e amidos modificados (Snow Flake® e Hicap®) na encapsulação de polifenóis;
- Avaliar o efeito da temperatura do ar de secagem e do diâmetro do bico atomizador nas características das microesferas, obtidos por *spray drying*;
- Caracterizar as microesferas quanto a umidade, atividade de água, distribuição de tamanho, higroscopicidade, temperatura de transição vítrea e morfologia;
- Quantificar o teor de polifenóis e a atividade antioxidante nas microesferas obtidas.
- Analisar a estabilidade dos polifenóis nas microesferas quando armazenadas à 45 °C por 7 semanas.

Capítulo 4

Material e Métodos

4.1 Matéria-prima

Para realização dos experimentos utilizou-se pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) congelado (fruta descascada com polpa e endocarpo íntegros), adquirido na Cooperativa Grande Sertão (Montes Claros, MG, Brasil). O fruto *in natura* não foi utilizado, pois se encontra disponível apenas nos meses de janeiro, fevereiro e março. As frutas congeladas foram armazenadas em freezer, à $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$, até o preparo dos extratos (Figura 4.1).



Figura 4.1: Pequi congelado

4.2 Agentes encapsulantes

Os materiais de parede utilizados foram: Maltodextrina 10 DE, Maltodextrina 20 DE, xarope de glicose MOR-REX[®] 1930, Snow Flake[®] e HiCap[®] 100 da empresa Ingredion Brasil Ingredientes Industriais Ltda (Mogi-Guaçu, Brasil).

4.3 Etapas do trabalho

O trabalho foi dividido em 6 etapas para um melhor controle e execução das tarefas conforme ilustrado na Figura 4.2.

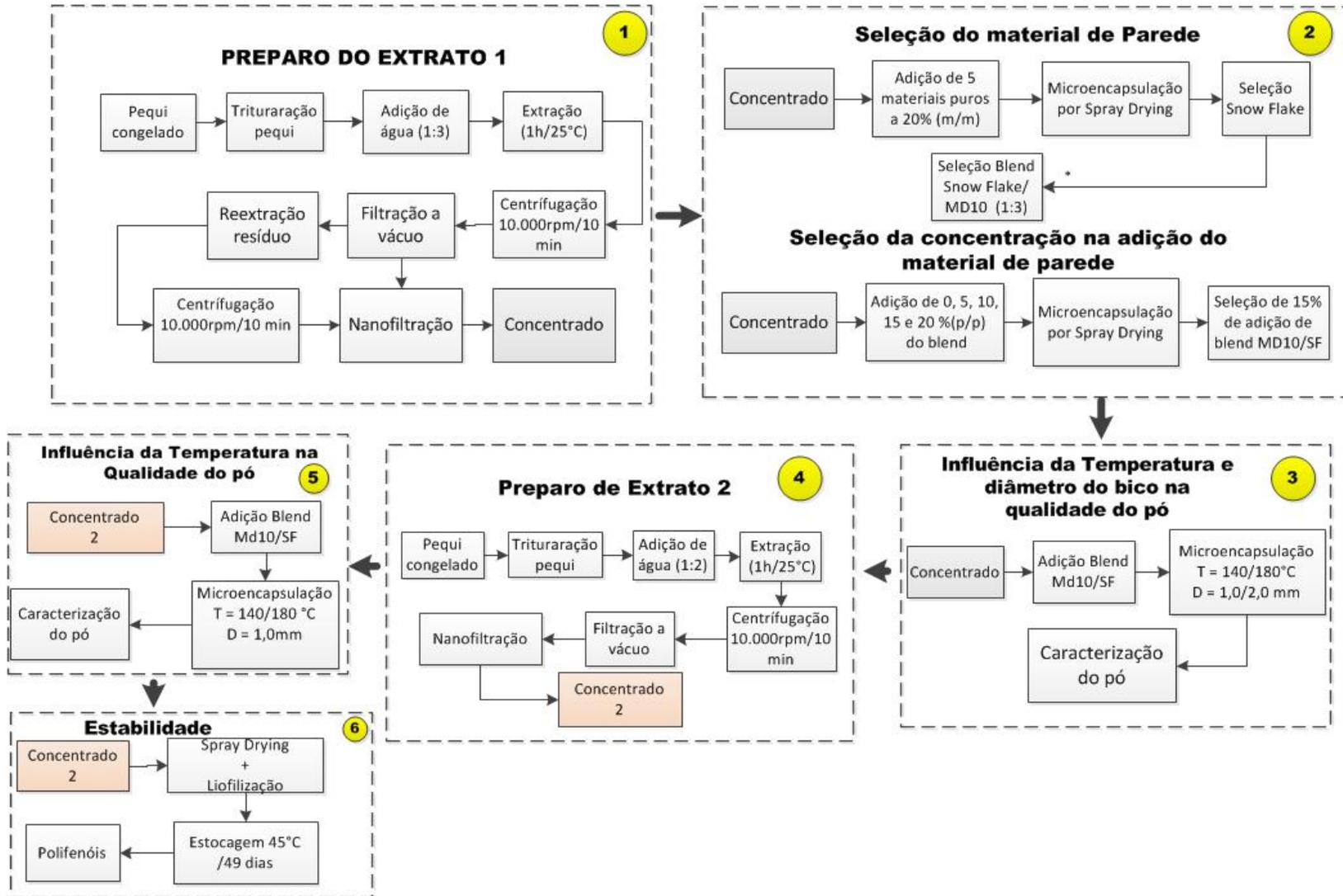


Figura 4.2: Etapas do trabalho

Na etapa 1, foi preparado o extrato de razão fruta água 1:3 com reextração, conforme metodologia desenvolvida por Machado (2011). Na 2 foram selecionados os agentes carreadores puros, a serem adicionados na concentração de 20 % (p/p). Ainda na etapa 2 foram realizados ensaios a fim de minimizar o teor de material de parede adicionado. Definindo-se o material de parede e sua concentração foi avaliado então o efeito do bico atomizador e da temperatura do ar de entrada nas propriedades físicas e químicas dos pós (etapa 3). A partir dos resultados dessa etapa julgou-se interessante investigar melhor o efeito da temperatura nas propriedades físicas e químicas dos pós. Foi então preparado um novo extrato, de razão fruta:água (1:2), sem a etapa de reextração (etapa 4). Na etapa 5 foi investigado o efeito da temperatura do ar de entrada sobre a qualidade do pó gerado. Por fim, na etapa 6 estudou-se a estabilidade à 45 °C dos polifenóis nas micropartículas produzidas na etapa 5. Além disso, para efeito de comparação, parte do extrato produzido na etapa 5 foi liofilizado nesta etapa, e essas amostras foram encaminhadas para análise de estabilidade.

4.4 Preparo dos extratos aquosos de pequi

Para maior aproveitamento do fruto, foram produzidos extratos a partir da polpa e da semente de pequi. De acordo com Roesler *et al.* (2007); Lima *et al.* (2007); Machado (2011) foi constatado que o extrato aquoso de polpa e semente possui alto conteúdo de fenóis totais.

Para obtenção do extrato aquoso cada fração da fruta foi cortada em pedaços pequenos, misturada em um liquidificador industrial (modelo LT-2,0 SUPER-N, marca Skymser, Brusque, SC) com água destilada na proporção de 1:3 (p/p) fruta:água e homogeneizada com auxílio de agitador mecânico com velocidade de 750 rpm, por 1 hora à temperatura de 25 °C. A seguir o material foi centrifugado a 10000 rpm por 10 min em uma centrífuga (modelo Allegra 25R Centrifuge, marca Beckman Coulter, São Bernardo do Campo, SP) e em seguida filtrado a vácuo em papel filtro e o resíduo novamente extraído nas mesmas condições, conforme Machado (2011).

Visando um aumento no teor de sólidos na etapa de extração, foi produzido outro extrato onde a proporção de fruta:água foi alterada para 1:2, e a etapa de reextração foi retirada. Os demais procedimentos seguiram a mesma ordem da produção do extrato de razão fruta:água 1:3.

4.5 Processo de concentração

Os extratos aquosos, de duas razões de fruta:água distintos, obtidos na etapa anterior foram concentrados por nanofiltração em módulo espiral modelo HL2521TF (GE Osmonics, Minnetonka, EUA) (Figura 4.3) cujas principais características estão descritas na Tabela 4.1. As condições de operação foram: temperatura de 25 °C, pressão de 7 bar e fator de concentração de no mínimo 1,5.

Tabela 4.1: Principais características e parâmetros de operação da membrana

Modelo	HL2521TF
Material	Poliamida e Polissulfona
Área (m ²)	1,2
Massa molar de corte - MMC (g/mol)	150 a 300
Pressão máxima de operação (bar)	30
Pressão típica de operação (bar)	7
Temperatura máxima (°C)	50
Faixa de pH durante a operação	3,0 a 9,0
Faixa de pH para limpeza	1,0 a 10,0
Fluxo típico de operação (L/(h.m ²))	12 a 20



Figura 4.3: Sistema de filtração por membrana

4.6 Análises realizadas nos extratos concentrados

Durante o processo de concentração foram retiradas amostras para análise de fluxo de permeado e avaliação de polifenóis totais e atividade antioxidante do concentrado.

Amostras de extrato concentrado foram caracterizadas com relação ao índice de retenção de polifenóis, teor de sólidos solúveis, sólidos totais, açúcares totais, fenólicos por espectrofotometria e CLAE, capacidade antioxidante por DPPH e FRAP.

4.6.1 Determinação do fluxo de permeado

O fluxo de permeado é um importante parâmetro no processo de filtração por membranas, já que fluxos muito baixos nas condições de processo escolhidas podem inviabilizar o método. Os extratos centrifugados foram colocados no tanque encamisado e processados em sistema aberto (o concentrado voltava para o tanque de alimentação enquanto o permeado era eliminado) até o fim do processo. Amostras do produto permeado foram coletadas em intervalos regulares, de 0,2 unidades de fatores de concentração específicos (1,2 a 2,6 para o extrato de razão fruta:água 1:3 e 1,2 a 2,0 para o extrato de razão fruta:água 1:2) e o volume e tempo foram medidos para o cálculo do fluxo de permeado, de acordo com a equação 4.1.

$$J = V_p \frac{A}{t} \quad (4.1)$$

onde: J = Fluxo de permeado (L/h.m²) V_p = Volume do permeado (L) t = tempo (h) A = área da membrana (m²)

4.6.2 Índice de retenção (R)

O índice de retenção indica a capacidade da membrana em reter um determinado componente, sob determinadas condições de operação. Pode ser definido pela equação 4.2 (Cheryan, 1998).

$$R(\%) = \left(1 - \frac{C_p}{C_a}\right) * 100 \quad (4.2)$$

onde: R = índice de retenção do composto em porcentagem; C_p = concentração do permeado; C_a = concentração da alimentação.

4.6.3 Determinação teor de sólidos solúveis

O teor de sólidos solúveis (° Brix) dos extratos concentrados foi determinado antes da etapa de atomização, pela leitura direta em refratômetro digital (modelo DR-A1, marca ATAGO, Atago, Saitama, Japão). A quantificação dos sólidos solúveis nos extratos de pequi foi realizada por meio da média \pm desvio padrão de pelo menos três replicatas.

4.6.4 Determinação de umidade

A análise de umidade foi realizada em estufa a 70 °C a vácuo de até 220 mmHg até peso constante conforme Instituto Adolfo Lutz (1985).

4.6.5 Determinação de açúcares totais

Os açúcares totais foram determinados pelo método fenol - ácido sulfúrico de acordo com Dubois *et al.* (1956), modificado por Hodge (1962). A amostra foi diluída para proporção de 1:250 com água destilada. Uma alíquota da amostra diluída (0,5 mL) foi adicionada de 0,5 mL de solução de fenol (5% em água) e 2,5 mL de ácido sulfúrico. A mistura foi agitada e decorridos trinta minutos as absorbâncias foram lidas em espectrofotômetro (modelo SQ-2800 UV/VIS, marca UNICO, United Products & Instruments Inc., Nova Jersey, Estados Unidos) a 490 nm. Para a quantificação dos açúcares totais foi construída uma curva padrão utilizando glicose e frutose (1:1) na faixa de concentração de 0,01 - 0,1 g/L. A quantidade de açúcares foi expressa em g de açúcares totais/100g de matéria prima .

4.6.6 Determinação de Fenólicos totais

A determinação de polifenóis totais nos extratos foi feita segundo método colorimétrico de Folin Ciocalteau (Swain e Hillis, 1959) citado por (Machado, 2011; Silva, 2011), que é baseado no princípio da reação de redução dos ácidos fosfomolibdico e fosfotúngstico, em meio alcalino a óxidos de molibdênio e tungstênio pelos compostos fenólicos, formando assim um complexo de cor azul.

Os extratos aquosos foram analisados puros. Uma alíquota de 40 μ l da amostra foi adicionada a 200 μ l do reagente Folin Cicalteau. Decorridos três minutos, foram acrescentados 600 μ l de solução aquosa de carbonato de sódio a 20% (p/p). Após duas horas as absorbâncias das soluções foram lidas em espectrofotômetro a 765 nm. Como branco,

para calibrar o espectrofotômetro, foi utilizada uma alíquota de 40 μl do solvente do extrato acrescida de solução de Folin Cicalteau e de carbonato de sódio nas mesmas concentrações e condições citadas anteriormente. Para a quantificação dos compostos fenólicos totais foi construída uma curva padrão utilizando ácido gálico na faixa de concentração de 0 - 750 $\mu\text{g/ml}$. A quantidade de compostos fenólicos foi expressa em μg de ácido gálico/ml de extrato. A quantificação dos compostos fenólicos nos extratos de pequi foi realizada por meio da média \pm desvio padrão de pelo menos três replicatas.

4.6.7 Determinação de Fenólicos via Cromatografia Líquida de alta eficiência

A análise foi realizada no cromatógrafo Dionex (UltiMate 3000 Standard LC, Califórnia, EUA), controlado pelo Software Chromeleon 6.8, equipado com injetor automático e detector de arranjo de diodos (Dionex), sendo feita a detecção em 271 e 367 nm. Para a separação dos compostos fenólicos presentes nos extratos foi utilizada uma coluna de fase reversa Poroshell 120 EC-C18 (100 mm x 4,6 mm e 2,7 μm) à 29 °C. O fluxo da fase móvel foi de 0.9 ml/min e o volume de injeção de 10 μL . A fase móvel foi constituída por água:ácido fórmico (99.5:0.5 v/v, solvente A) e acetonitrila:ácido fórmico (99.5:0.5, v/v, solvente B) com gradiente linear iniciando em 99:1 para 50:50 em 50 minutos, seguindo até 1:99 em 5 minutos mantendo-se essa concentração por 5 minutos. Adaptado de Chisté *et al.* (2012).

A identificação dos compostos fenólicos foi feita por comparação dos tempos de retenção e pelos espectros de absorção, utilizando-se padrões de ácido gálico.

4.6.8 Avaliação da atividade antioxidante

A atividade antioxidante foi analisada utilizando-se duas metodologias distintas, DPPH e FRAP, para melhor quantificação e comparação.

4.6.8.1 Avaliação da atividade sequestrante de radical DPPH

A atividade sequestrante de radicais livres dos extratos foi determinada utilizando-se 1,1-difenil-2-picrilidrazil (DPPH) de acordo com a metodologia de Rufino (2007).

O método baseia-se na redução do DPPH (que tem coloração púrpura) pela ação de antioxidantes presentes na amostra, formando difenilpicril-hidrazina, de coloração amarela. Com o passar do tempo há desaparecimento da coloração original do DPPH

e redução de sua absorção, podendo a mesma ser monitorada pela leitura em espectrofotômetro a 515 nm. A partir das leituras de absorção obtidas determina-se a porcentagem de atividade antioxidante ou seqüestradora de radicais livres e/ou a porcentagem de DPPH remanescente no meio reacional. As amostras dos extratos foram diluídas em água destilada na proporção de 1:1 extrato:solvente. Uma alíquota de 0,1 ml da amostra diluída foi adicionada a 3,9 ml de solução DPPH. Após 60 minutos sob abrigo da luz foi feita a leitura das absorbâncias das amostras em espectrofotômetro a 515 nm. Como controle foi utilizada uma alíquota de 0,1 ml de água acrescida de solução DPPH. O etanol foi utilizado como branco, para calibrar o espectrofotômetro. A determinação da atividade antioxidante foi realizada por meio da média \pm desvio padrão de pelo menos três replicatas.

A capacidade de seqüestrar radicais livres foi expressa em equivalente de Trolox e como percentual de inibição de oxidação do radical e calculado conforme a equação 4.3.

$$PI(\%) = 1 - \frac{A(0) - A(t)}{A(0)} \times 100 \quad (4.3)$$

onde: $PI(\%)$ = Porcentagem de inibição; $A(0)$ = Absorbância do controle (solução de DPPH sem antioxidante); $A(t)$ = Absorbância da amostra em solução.

4.6.8.2 Método de Redução do Ferro - FRAP

Foi utilizada a metodologia descrita por Rufino (2006) por mostra-se eficiente e reprodutível para quantificação da atividade antioxidante em frutas. É baseado na habilidade de redução do ferro. Em meio ácido, o complexo férrico tripiridiltriazina é reduzido a sua forma ferrosa de intensa cor azul na presença de antioxidantes, causando um aumento na absorbância a 595 nm.

Para preparo do reagente FRAP misturou-se 25 ml de tampão acetato 0,3 M (pH 3,6), 2,5 ml de uma solução de 2,4,6-Tris(2-piridil)-s-triazina (TPTZ) 10 mM (preparada com HCl 40 mM) e 2,5 ml de uma solução aquosa de cloreto férrico 20 mM. As amostras dos extratos aquosos foram diluídos em água destilada, na proporção 1:10 extrato: solvente. Uma alíquota de 90 μ L de cada amostra foi transferida para tubos de ensaio, juntamente 270 μ L de água destilada e 2,7 mL do reagente FRAP recém preparado. Esta mistura foi homogeneizada e mantida em banho-maria à 37 °C. Após 30 minutos, foi realizada a leitura a 595 nm em espectrofotômetro. O reagente FRAP foi utilizado como branco para calibrar o espectrofotômetro. Para a quantificação da atividade antioxidante foi construída uma curva padrão, utilizando soluções aquosas

de Fe (II) na faixa de concentração de 0 - 500 μ M Trolox. A determinação da atividade antioxidante foi realizada por meio da média \pm desvio padrão de pelo menos três replicatas, e foi expressa em μ M Trolox/ml de extrato.

4.7 Microencapsulação por spray drying

A secagem por atomização foi realizada em um secador laboratorial com sistema de atomização em bicos - mini spray dryer - marca Labplant, modelo SD06 (Hunmanby, Reino Unido) como ilustrado na figura 4.4. A câmara de secagem possui 215 mm x 500 mm e o atomizador utilizado foi do tipo duplo fluido com orifício de 1,0 e 2,0 mm de diâmetro. A alimentação do secador foi realizada através da bomba peristáltica, com vazão de 15 mL/min. A temperatura de saída do ar foi monitorada, para observar sua variação em função das condições estabelecidas na alimentação do secador e das características do produto final. A vazão do ar de secagem foi fixada em 300 m³/h; pressão do ar comprimido fixa em 3 bar e a vazão do ar comprimido de 1,85 m³/h. A temperatura do ar de secagem do foi avaliada em 140 e 180 °C.



Figura 4.4: Spray dryer utilizado nos ensaios de secagem

4.8 Ensaios preliminares

Na etapa de ensaios preliminares foi feita a seleção do material de parede, além da determinação da concentração de sólidos a ser adicionada nos extrato aquosos. Para essa etapa foi utilizado o extrato de razão de sólidos 1:3.

4.8.1 Seleção do material de parede e da concentração adicionada

Para a seleção do material de parede (etapa 2) foram testados os seguintes materiais de paredes puros: Maltodextrina 10 DE, Maltodextrina 20 DE, Xarope de Glicose, Snow Flake e Hicap, além do blend de Snow Flake:MD10 (1:3) que foram adicionados ao extrato concentrado na proporção de 20% (p/p). Utilizou-se temperatura de ar de entrada de 180 °C e bico atomizador de 1,0 mm. Foi realizada a análise de retenção de polifenóis totais a fim de definir qual material utilizar. Feita a seleção do material de parede, foram realizados testes para minimizar o teor de material de parede adicionado. Foi avaliada a adição de 0, 5, 10, 15 e 20% de material de parede onde foi realizado inspeção visual e retenção de polifenóis totais para definir a concentração de agente carreador a ser utilizada.

4.9 Avaliação da temperatura do ar de entrada e diâmetro do bico

Após a definição do material de parede e da concentração a ser adicionada, avaliou-se o efeito da temperatura do ar de entrada (140 °C e 180 °C) e diâmetro do bico atomizador (1,0 mm e 2,0 mm) na qualidade dos pós gerados. Para essa etapa foi utilizado o extrato de razão de fruta:água 1:3 preparado conforme metodologia descrita no item 4.4. Após preparo do extrato concentrado, mediu-se o teor de sólidos solúveis do extrato, e adicionaram-se 15 % (p/p) de material de parede, sendo mantidos sob agitação magnética, até a completa dissolução. Os pós obtidos foram caracterizados em relação à: teor de umidade, atividade de água, retenção de compostos bioativos, distribuição de tamanho de partícula, morfologia, higroscopicidade, temperatura de transição vítrea e capacidade antioxidante via DPPH e FRAP.

4.9.1 Umidade e atividade água

A umidade das amostras foi determinada por gravimetria, em estufa com circulação de ar à 105 °C por 24 horas A.O.A.C. (1997). A atividade de água foi avaliada em um higrômetro digital Aqualab modelo series 3TE (Decagon, Pullman, EUA) à 25 °C.

4.9.2 Distribuição do tamanho de partículas

A análise é baseada no espalhamento estático da luz. Foi realizada no equipamento Laser Mastersizer (modelo Mastersizer 2000 - Malvern Instruments Ltd., Malvern, U.K). O diâmetro médio foi determinado considerando-se o diâmetro médio de uma esfera de mesmo volume (Diâmetro de De Brouckere $D_{4,3}$). Para essa análise, uma pequena quantidade do produto em pó foi dispersa em etanol 99,5% e submetida a quatro leituras e o cálculo feito com base na equação 4.4.

$$D_{4,3} = \frac{\sum_{i=1}^n n \times d_i^4}{\sum_{i=1}^n n \times d_i^3} \quad (4.4)$$

Onde: d_i = o diâmetro das partículas; n = número de partículas.

4.9.3 Retenção de Compostos Bioativos

A retenção de polifenóis totais após a etapa de *spray drying* foi determinado, em relação a base seca, de acordo com a equação 4.5, conforme Fang e Bhandari (2011).

$$IR(\%) = \frac{Y_p}{Y_{alim}} \times 100 \quad (4.5)$$

onde: IR (%) = Índice de retenção de polifenóis (%); Y_p = teor de polifenóis no pó (mg/100g); Y_{alim} = teor de polifenóis na alimentação (mg/100g).

4.9.4 Temperatura de Transição Vítrea

Para a determinação da temperatura de transição vítrea, as amostras foram colocadas em cápsulas de alumínio e acondicionadas em dessecadores contendo soluções saturadas de acetato de potássio (umidade relativa de 22,6%) e carbonato de potássio (umidade relativa de 43,2%), à 25 °C. Após atingirem o equilíbrio, as cápsulas foram hermeticamente fechadas, pesadas e então submetidas a análises de calorimetria diferencial de varredura (DSC).

Os pós foram analisados em um calorímetro TA-MDSC-2920 (TA Instruments, New Castle, EUA) com resfriamento controlado por um resfriador mecânico RCS (Refrigerated Cooling Accessory), operando com gás nitrogênio e utilizando hélio como gás de purga, com vazão constante de 25 ml/min.

A calibração do equipamento foi feita com Índio ($T_{fuso} = 156,6\text{ °C}$) e uma verificação com azobenzol ($T_{fuso} = 68,0\text{ °C}$) foi realizada. Nestes ensaios, 1 a 5 mg de amostra foram resfriadas a -70 °C , mantidas isotermicamente por 3 minutos e em seguida aquecidas até 100 °C , a uma taxa de aquecimento de 10 °C/min . Este aquecimento foi realizado duas vezes para cada amostra. As análises foram realizadas em triplicata e a temperatura de transição vítrea foi determinada com o auxílio do software Universal Analysis 2.6 (TA Instruments, New Castle, USA).

4.9.5 Morfologia

As análises de microscopia eletrônica de varredura foram realizadas de acordo com os procedimentos descritos por Rosemberg e Young (1993). As amostras foram fixadas em porta-espécimes metálicos (stubs) de 12 mm de diâmetro e 10 mm de altura, através do uso de fita adesiva de dupla face convencional e recobertas utilizando-se processo de evaporação de ouro a vácuo em um aparelho metalizador Sputter Coater POLARON SC7620, VG Microtech (Uckfield, Inglaterra) a uma taxa de recobrimento de $0,17\text{ Å/mA.volt.s}$, por 180 segundos, com corrente de 3 mA, 1 Volt, portanto espessura de 92 Å . As amostras metalizadas foram mantidas em um suporte fechado, dentro de um dessecador, até o momento da observação no microscópio eletrônico de varredura LEO 440i - 6070 (LEICA Electron Microscopy Ltd., Cambridge, Inglaterra), operando com 15 kV e corrente de feixe igual a 100 pA. A aquisição das imagens foi realizada pelo LEO software, versão 3.01.

4.9.6 Higroscopicidade

A higroscopicidade foi determinada de acordo com a metodologia descrita por Cai e Corke (2000), com algumas modificações. Pesou-se 1 g de amostra, em triplicata, que foi acondicionado em recipiente hermético contendo solução saturada de NaCl (umidade relativa de 75,3%). Após uma semana, as amostras foram pesadas e a higroscopicidade expressa em g de umidade adsorvida por 100 g de massa seca da amostra.

4.10 Atividade antioxidante

A atividade antioxidante foi analisada utilizando-se duas metodologias distintas, DPPH e FRAP, para melhor quantificação e comparação de forma semelhante a realizada no caso dos extratos.

4.10.1 DPPH

As amostras dos pós encapsulados foram dissolvidas em água na proporção de 1:10, amostra:solvente. Uma alíquota de 0,1 ml da amostra dissolvida foi adicionada a 3,9 ml de solução DPPH. Após 55 minutos de reação, sob abrigo de luz, foi realizada uma centrifugação à 3000 rpm por 2 minutos, para deposição do material suspenso e depois foi feita a leitura das absorbâncias das amostras em espectrofotômetro a 515 nm em 60 minutos. Após essa etapa seguiu-se o mesmo procedimento da análise dos extratos, conforme item 4.6.8.1

4.10.2 FRAP

As amostras dos pós encapsulados foram quebradas em água na proporção de 1:20, amostra:solvente. Após essa etapa seguiu-se o mesmo procedimento da análise dos extratos, de acordo com o item 4.6.8.2

4.11 Ensaios adicionais

Após o resultado obtido na etapa 3, decidiu-se avaliar melhor o efeito da temperatura nas propriedades dos pós gerados. Para isso, foi produzido outro extrato de razão fruta:água (1:2) sem a etapa de reextração, conforme metodologia descrita no item 4.5. Após o preparo do extrato concentrado, mediu-se o seu teor de sólidos solúveis. Adicionou-se material de parede até atingir o mesmo °Brix das amostras descritas no item 4.9. Os pós obtidos foram caracterizados em relação à: teor de umidade, atividade de água, retenção de compostos bioativos, distribuição de tamanho de partícula, morfologia, higroscopicidade, temperatura de transição vítrea, capacidade antioxidante via DPPH e FRAP, conforme descrito anteriormente. Além disso, foi avaliada a estabilidade acelerada dos polifenóis à 45 °C durante 49 dias.

4.12 Teste de estabilidade acelerado

Para avaliação da estabilidade foram selecionadas as amostras atomizadas a partir do extrato de razão fruta:água 1:2. Além disso, com o objetivo de se avaliar o efeito dos agentes carreadores na estabilidade do extrato de pequi em pó, parte do extrato de razão fruta:água 1:2 foi liofilizado, sem a adição destes agentes. O processo foi realizado em um liofilizador Terroni LS3000 (São Carlos, Brasil), disponível no Laboratório de Engenharia de Bioprocessos (Faculdade de Engenharia de Alimentos, UNICAMP).

As amostras foram armazenadas à 45 °C em BOD, em cápsulas que permitiam o contanto com o ambiente, durante 49 dias, sendo retiradas amostras a cada 7 dias para determinação do teor de polifenóis totais por espectrofotometria e quantificação do teor de ácido gálico por cromatografia líquida.

A constante de velocidade de reação (K) e o tempo de meia-vida ($t_{1/2}$) foram determinados conforme o modelo da cinética de primeira ordem, de acordo com as Equações 4.6 e 4.7:

$$-\ln \frac{C}{C_o} = K \times t \quad (4.6)$$

$$t_{(1/2)} = \frac{\ln 2}{K} \quad (4.7)$$

onde: C = concentração de polifenóis no tempo t (mg/g m.s. extrato); C_o = concentração inicial de polifenóis (mg/g m.s. extrato); t = tempo de reação (dias).

4.12.1 Polifenóis Totais nos pós

Para o cálculo do teor de fenólicos totais das amostras em pó, micropartículas foram dissolvidas em água na proporção de 1:10, amostra:água. Após essa etapa seguiu-se o mesmo procedimento da análise dos extratos conforme item 4.6.6. A determinação dos polifenóis foi realizada por meio da média \pm desvio padrão da duplicata, e foi expressa em mg/L de extrato.

4.12.2 Polifenóis por cromatografia líquida nos pós

Para o cálculo do teor de fenólicos das amostras em pó, micropartículas foram dissolvidas em água na proporção de 1:10, amostra:água. Após essa etapa as amostras foram filtradas em filtro de seringa de nylon, diâmetro 13 mm, poro 0,45 μ m e partir

daí foram injetadas no cromatógrafo seguindo o mesmo procedimento do item 4.6.7. A determinação dos polifenóis foi realizada por meio da média \pm desvio padrão da duplicata, e foi expressa em mg/L de extrato.

4.13 Análise estatística

Os resultados foram analisados por Análise de Variância utilizando-se o Software Statistica 8,0 (Statsoft, Tulsa, EUA). O Teste de Tukey foi utilizado para a análise de diferença de médias, com $p \leq 0,05$.

Capítulo 5

Resultados e discussão

5.1 Caracterização do extratos concentrados

A Tabela 5.1 apresenta a caracterização do extrato aquoso de pequi preparado na razão 1:3 (fruta:água) e do produzido de acordo com a metodologia desenvolvida por Machado (2011). Os dados apresentados correspondem a uma média de, no mínimo, três determinações, com seu desvio padrão.

Tabela 5.1: Caracterização do extrato aquoso de pequi razão 1:3 (fruta/água). Valores médios e seus respectivos desvios padrões.

Constituintes	Extrato razão 1:3 (b.u) ¹	Extrato razão 1:3 (b.s) ²
Umidade (%)	97,53 ± 0,044	-
Cinzas (%)	0,025 ± 0,0057	1,03 ± 0,23
Proteínas (%)	0,52 ± 0,077	21,41 ± 3,07
Lipídios (%)	0,29 ± 0,031	11,99 ± 1,38
Carboidratos (%)	1,61	65,55
°Brix	2,5 ± 0,1	-

¹Base úmida. ²Base seca.

As características do extrato de pequi (razão 1:3 fruta:água) estão de acordo com Machado (2011), fato que sugere a grande robustez do processo. O extrato apresenta alto teor de umidade, mas quando os dados são analisados em base seca percebe-se consideráveis níveis de carboidratos e proteínas que podem influenciar as etapas subsequentes do processo.

Para tentar minimizar o teor de umidade dos extratos, e aumentar o teor de sólidos totais, foi preparado um novo extrato com razão 1:2, sem a etapa de reextração.

A caracterização desse novo extrato encontra-se na tabela 5.2. Os dados apresentados correspondem a uma média de no mínimo três determinações, com seu desvio padrão.

Tabela 5.2: Caracterização do extrato aquoso de pequi razão 1:2 (fruta:água). Valores médios e seus respectivos desvios padrões.

Constituintes	Extrato razão 1:2 b.u ¹	Extrato razão 1:2 b.s ²
Umidade (%)	95,31 ± 0,031	-
Cinzas (%)	0,057 ± 0,011	1,23 ± 0,22
Proteínas (%)	0,302 ± 0,019	6,45 ± 0,32
Lipídios (%)	0,230 ± 0,127	4,91 ± 0,13
Carboidratos (%)	4,096	87,39
°Brix	4,5 ± 0,1	-

¹Base úmida. ²Base seca.

Comparando-se os valores de umidade dos extratos, percebe-se que houve um aumento de cerca de 80% no teor de sólidos. Isso se deve ao aumento da razão fruta:água, de 1:3 para 1:2 e a retirada da etapa de reextração. Por outro lado, pode-se perceber um decréscimo no teor de proteínas e lipídeos no extrato de maior teor de sólidos, fato que sugere a perda durante alguma etapa do processo de obtenção do extrato, pela variabilidade da matéria prima ou ainda uma menor extração de proteínas e lipídeos na ausência da etapa de reextração. No processo de produção do extrato, uma vez que não foi detectada a presença de proteínas e lipídeos no permeado da nanofiltração, acredita-se que essa perda deve ter ocorrido durante a etapa de centrifugação.

Apesar do alto teor de umidade do extrato, este apresenta um alto teor de carboidratos. Para melhor caracterizar os carboidratos foi feito a análise de açúcares por metodologia Fenol-Sulfúrico, cujos resultados são apresentados na Tabela 5.3.

Tabela 5.3: Teor de açúcares.

Constituinte	b.u ¹	b.s ²
Açúcares extrato 1:3 (%)	1,747 ± 0,216	69,95 ± 1,63
Açúcares extrato 1:2 (%)	3,606 ± 0,617	76,33 ± 1,03

¹Base úmida. ²Base seca.

A partir desses dados, pode-se comparar o teor de carboidratos obtidos por diferença e o teor de açúcares obtido por espectrofotômetro. Há uma diferença de cerca de 8% entre os valores, no caso do extrato de razão 1:3 fruta:água e de cerca de 12% no caso do extrato de razão 1:2 fruta:água. A partir desses resultados, reafirma-se a presença

do alto teor de açúcares no extrato, fator que sugere a necessidade da utilização de agentes carreadores na etapa de secagem por *spray drying*.

Com relação à extração dos compostos bioativos de pequi, pode-se citar Roesler *et al.* (2007) que reportaram que os extratos alcoólico e aquoso de polpa e semente (processados por 20 minutos à 25 °C) possuem alto conteúdo de compostos fenólicos; Lima (2008) que demonstrou alta atividade antioxidante em extratos aquosos e alcoólicos de polpa e semente de pequi (processados por 1h à 25 °C); e Porto (2008) que relatou que o extrato alcoólico da polpa (processado por 24h à 25 °C) apresentou alto teor de polifenóis.

5.2 Estudo da extração aquosa

A Figura 5.1 ilustra as amostras de extrato de pequi concentrado, em ordem crescente com relação ao fator de concentração. Pela análise da Figura 5.1, pode-se perceber um aumento na intensidade da cor amarela ao longo do processo de concentração do extrato, que está diretamente ligado ao aumento no teor de sólidos totais do extrato.

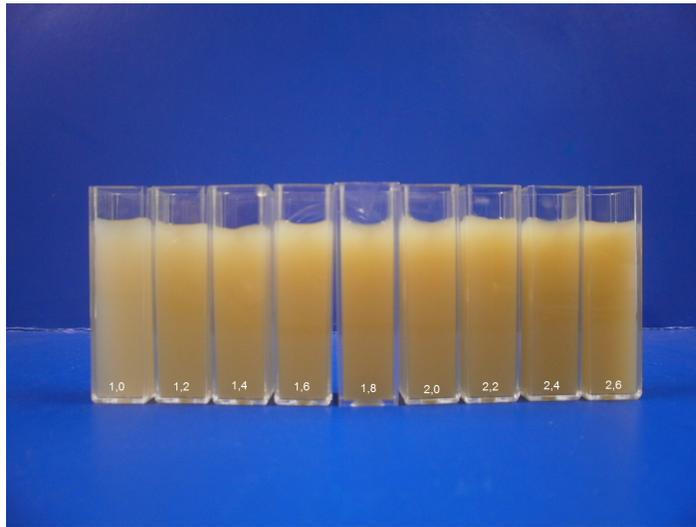


Figura 5.1: Extratos em ordem crescente de fator de concentração volumétrica.

Observou-se pela Figura 5.2, que houve um aumento linear no teor de sólidos solúveis em relação ao fator de concentração, em ambos os casos. Já com relação ao fluxo, houve um perfil de queda logarítmico no caso do extrato preparado com razão 1:3 de fruta:água e um decaimento mais acentuado no caso do extrato preparado com razão 1:2 de fruta:água. Este fato pode ser atribuído aos fenômenos de polarização por

concentração e *fouling*, que foi mais acentuado no extrato com maior teor de sólidos (razão 1:2 de fruta:água). Comportamento análogo foi observado por Cissé *et al.* (2011) utilizando uma membrana de nanofiltração plana de 2,5 m² à 35 °C, durante o estudo de processos de nano e ultrafiltração para concentração de antocianinas do extrato de *Hibiscus sabdariffa L.*

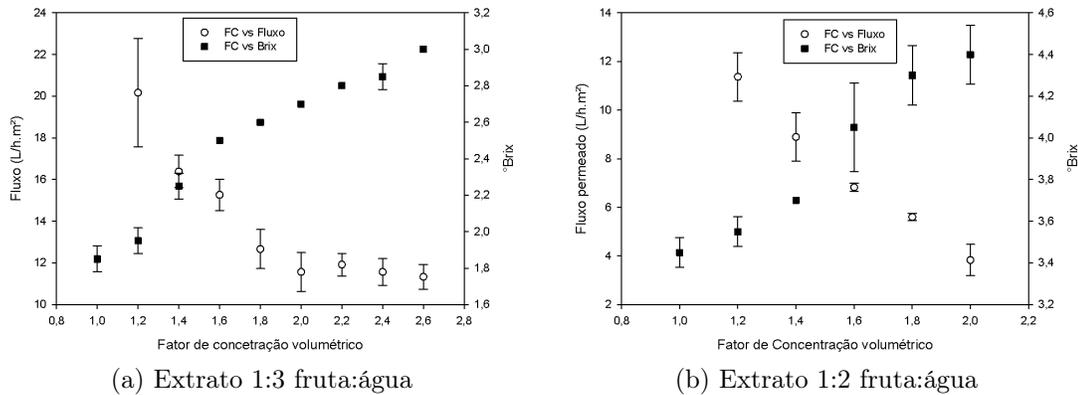


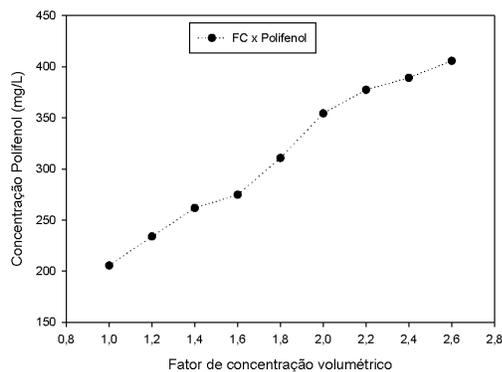
Figura 5.2: :Curva de Fluxo de permeado e °Brix em relação ao fator de concentração

O fluxo médio de permeado obtido no presente trabalho foi de 16,62 L/h m² utilizando 25 °C e 700 kPa na concentração do extrato com menor teor de sólidos e de 8,04 L/h m² quando se utilizou as mesmas condições para concentração do extrato de maior teor de sólidos.

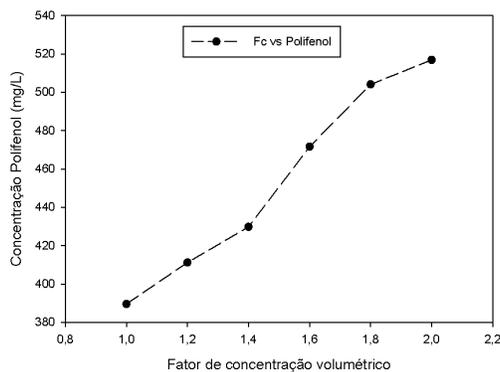
Prudêncio *et al.* (2012) trabalharam com nanofiltração à 22 ± 1 °C e 600 kPa, utilizando uma membrana de mesma massa molecular de corte do presente trabalho e área de filtração de 0,9 m². A queda do fluxo apresentou comportamento análogo e ,além disso, o fluxo médio de 22,8 L/h m². Já Mello *et al.* (2010^a) obtiveram fluxo médio de 25 L/h m², utilizando 20 °C e 500 kPa na concentração de extrato aquoso de própolis.

A Figura 5.3 ilustra a tendência de crescimento no teor de polifenóis durante o processo de concentração. Pode-se observar um aumento quase linear no teor de polifenóis em relação ao fator de concentração em ambos os casos.

O aumento no conteúdo de polifenóis do extrato preparado com a relação 1:3 fruta:água, foi de cerca de 100%, bem maior que o aumento obtido por Machado *et al.* (2012), de cerca de 47%. Essa diferença deve ser atribuída ao fator de concentração volumétrico: 1,5 em Machado *et al.* (2012) e 2,6 neste trabalho.



(a) Extrato 1:3 fruta:água



(b) Extrato 1:2 fruta:água

Figura 5.3: Curva do teor de polifenóis em relação ao fator de concentração

Outro fator que contribuiu para o aumento do teor de polifenóis foi o índice de retenção desse composto ao longo do processo de concentração. Esse índice foi de cerca de 93% quando se trabalhou com o extrato de razão fruta:água 1:3 e de cerca de 95% quando se trabalhou com o extrato de razão 1:2. Os altos índices de retenção demonstram a boa seletividade da membrana para os compostos fenólicos. Esses valores são próximos ao obtido por Machado *et al.* (2012), que foi de cerca de 97%.

A Figura 5.4 ilustra os produtos obtidos no processo de nanofiltração do extrato de pequi. Pode-se notar que o processo gerou um permeado límpido, transparente e sem coloração, semelhante ao que Mello (2013) obteve quando trabalhou com concentração por nanofiltração de própolis utilizando a mesma membrana.

Com relação à atividade antioxidante, observa-se pelas Figuras 5.5 e 5.6 que houve aumento quase linear desta propriedade, nas 2 metodologias analisadas, em relação ao fator de concentração de ambos os extratos.

Percebe-se que tanto pelo método FRAP quanto pelo DPPH, a expressão da capacidade antioxidante dos extratos preparados com razão fruta:água 1:2 foi maior. Isso já era esperado, visto que o teor de sólidos e consequentemente a concentração de polifenóis foi maior nesse extrato.

Além disso, pode-se notar a diferença em relação à ordem de grandeza dos valores apresentados nas Figuras 5.5 e 5.6, fato que pode ser associado aos diferentes mecanismos de reação envolvidos. Enquanto no DPPH é medida a capacidade dos extratos em sequestrar o radical DPPH e reduzir o Fe^{+3} , no método FRAP é detectada a presença de compostos com potencial redox menores que 0,7 V (o potencial redox Fe^{+3} -TPTZ). As-

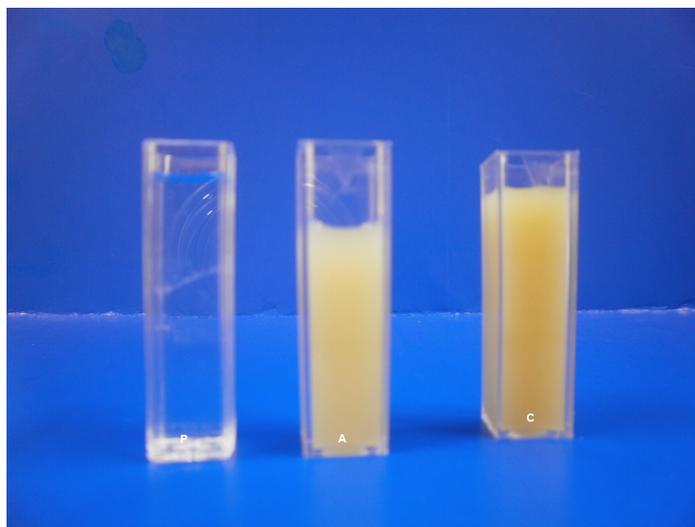
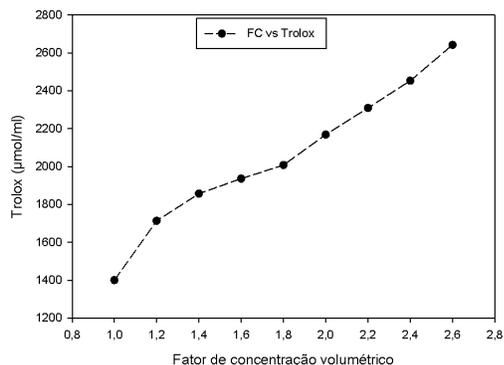


Figura 5.4: Permeado(P)/Extrato (A) /Concentrado (C)

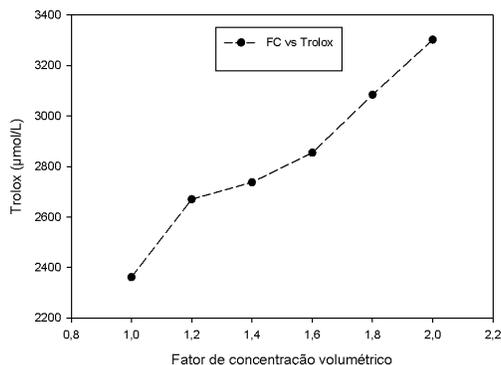
sim O FRAP avalia um mecanismo de transferência simples de elétrons, porém possui reduzida capacidade de detectar compostos que agem por transferência de hidrogênio. Já o método DPPH detecta os compostos que podem atuar tanto por redução direta, via transferência de elétrons, quanto por captura de radicais via transferência de átomos de hidrogênio (Prior *et al.*, 2005). A utilização de mais de um método para medir a capacidade antioxidante em sistemas complexos e confirmar o potencial antioxidante dos extratos é recomendada.

Na literatura são encontrados diversos tipos de métodos que reportam a capacidade antioxidante dos mais variados extratos vegetais. A maneira de expressar a capacidade antioxidante, mesmo dentro de uma única metodologia, pode ser feita de mais de uma forma. O FRAP, por exemplo, pode ser dado em: concentração de sulfato ferroso/quantidade de extrato, ou concentração em Trolox/quantidade de extrato. O DPPH da mesma maneira pode ser expresso em: EC_{50} (tempo necessário para reduzir em 50% a concentração inicial do radical DPPH), ou % de inibição. Assim, a comparação dos resultados obtidos no presente trabalho, com dados da literatura foi bastante difícil.

Porto (2008) trabalhou com extratos aquoso e alcoólico de pequi e obteve, pelo método DPPH, 20% de inibição utilizando concentração de 10 mg de extrato alcoólico seco/ ml de etanol e 15% de inibição utilizando 10 mg de extrato aquoso seco/ ml de água. Já Lima (2008) pelo mesmo método, encontrou 5% de inibição para o extrato alcoólico (metanol) e 55% de inibição para o extrato aquoso, nas mesmas con-

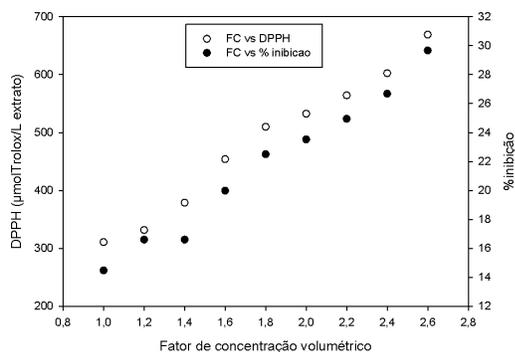


(a) Extrato 1:3 fruta:água

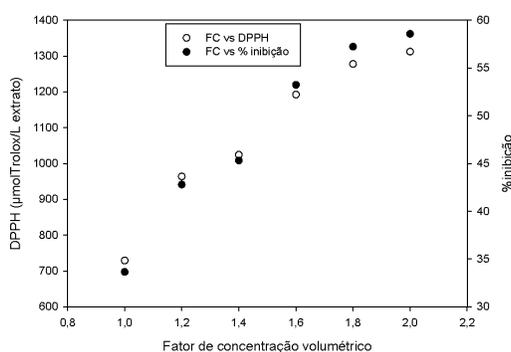


(b) Extrato 1:2 fruta:água

Figura 5.5: Curva do teor de antioxidante (FRAP) em relação ao fator de concentração



(a) Extrato 1:3 fruta:água



(b) Extrato 1:2 fruta:água

Figura 5.6: Curva do teor de antioxidante (DPPH) em relação ao fator de concentração

centrações de Porto (2008). Estes autores não analisaram a atividade antioxidante dos extratos pelo método FRAP. Já no presente trabalho, utilizando o extrato de razão 1:3 fruta:água obtiveram-se valores de 10 a 30% de inibição. Quando se trabalhou com o extrato de razão 1:2 fruta:água valores de 33 a 58% foram encontrados.

Com relação ao FRAP, Sekhon-Loodu *et al.* (2013) avaliaram a atividade antioxidante em extratos de casca de maçã congelados e secos em estufa. Para a amostra seca encontraram 802,0 mg Trolox/L extrato, valor próximo aos extratos preparados no presente trabalho. Já para a amostra congelada, esse valor foi bem maior, 3976,4 mg Trolox/L extrato. Essa diferença se deve provavelmente à degradação provocada pelo calor na secagem por estufa. Isso é evidenciado pelo teor de polifenóis das amostras,

cerca de 830 mg equivalente de ácido clorogênico/L extrato para o extrato de casca de maçã seco e de 3370,1 mg equivalente de ácido clorogênico/L extrato para o congelado.

5.3 Microencapsulação via *spray drying*

A produção das micropartículas foi realizada, em duplicata, seguindo a metodologia do item 4.7. O tempo de duração das secagens foi em média de 25 minutos.

5.4 Ensaios preliminares

Na etapa de ensaios preliminares, foi investigada a seleção do material de parede, além da determinação da concentração de sólidos a ser adicionada nos extrato aquosos. Para essa etapa foi utilizado o extrato de razão de sólidos 1:3, temperatura de ar de secagem de 180 °C e atomizador de 1,0 mm.

Na etapa I, foram produzidos os extratos concentrados de razão fruta:água (1:3) com a etapa de reextração. Na etapa II foram selecionados os agentes carreadores, a serem adicionados na concentração de 20 % (p/p) (Silva, 2011; Tonon *et al.*, 2008). Nessa etapa foi realizada análise de retenção de polifenóis totais dos pós obtidos. Inicialmente foram utilizados os materiais de parede puros, sendo que os amidos modificados (Snow Flake e Hicap) apresentaram as maiores retenções de polifenóis. Com isso foi avaliada a retenção de polifenol da mistura de Snow Flake:Maltodextrina 10DE (1:3). Os resultados encontram-se na Tabela 5.4. Para a evolução do trabalho, decidiu-se trabalhar com a mistura, visto que a maltodextrina 10 DE apresenta importante papel contra oxidação (Reineccius, 1989) e ainda exibe custo bastante inferior ao dos amidos modificados.

Ainda na etapa II foram realizados ensaios a fim de se reduzir o teor de sólidos de material de parede adicionados. Testaram-se concentrações de sólidos adicionados desde 0 até 20% (p/p) com intervalos regulares de 5% (p/p). Constatou-se que os pós não grudavam no ciclone a partir de 15% (p/p) de sólidos adicionados de acordo com análises visuais, ilustradas pela Figura 5.7. A Tabela 5.5 resume as condições dos ensaios preliminares bem como as observações realizadas.

De acordo com a condição obtida nos ensaios preliminares, etapa II (adição de 15% (p/p) da mistura Snow Flake® /Md10 (1/3)), avaliou-se o efeito da temperatura de entrada e diâmetro do bico atomizador na qualidade dos pós (etapa III).

Tabela 5.4: Retenção de polifenóis nas microesferas produzidas com adição de 20% (p/p) de materiais de paredes.

Agente carreador	Retenção (%)
MD10 ²	51,84 ± 3,43 ^B
MD20 ³	51,81 ± 4,24 ^B
Glu 1930 ⁴	51,69 ± 3,17 ^B
HiCap®	54,22 ± 3,08 ^{A B}
MD10:Snow Flake®	59,41 ± 1,55 ^A
Snow Flake®	62,10 ± 1,45 ^A

¹Letras diferentes indicam diferença estatisticamente significativa entre as amostras produzidas com diferentes agentes carreadores (p < 0.05).

²MD 10 = Maltodextrina de dextrose equivalente igual a 10. ³MD 20 = Maltodextrina de dextrose equivalente igual a 20. ⁴Glu 1930 = Xarope de glicose

Tabela 5.5: Ensaio preliminares na etapa II

Agente carreador	% (p/p) adicionado	TE ¹ (°C)	TS ² (°C)	Obs ³
Md10 ⁴	20	180	107	baixo rendimento
Md20 ⁵	20	180	104	baixo rendimento
Glu 1930 ⁶	20	180	100	baixo rendimento
Snow Flake®	20	180	102	bom rendimento
HiCap®	20	180	99	bom rendimento
Snow Flake® /Md10 (1/3)	20	180	98	bom rendimento
Snow Flake® /Md10 (1/3)	15	180	98	bom rendimento
Snow Flake® /Md10 (1/3)	10	180	94	baixo rendimento
Snow Flake® /Md10 (1/3)	5	180	94	baixo rendimento
Extrato puro	0	180	-	rendimento nulo

¹Temperatura de entrada ²Temperatura de saída ³Observações ⁴Maltodextrina 10 DE

⁵Maltodextrina 20 DE ⁶Xarope de Glicose



Figura 5.7: Análise visual do ensaios preliminares

Em virtude dos resultados obtidos na etapa III, decidiu-se investigar melhor o efeito da temperatura nas propriedades físico químicas das microesferas produzidas a partir de um novo extrato de razão fruta:água 1:2 sem a etapa de reextração(etapas IV e V).

As micropartículas produzidas nas etapas III e V, por *spray drying*, foram caracterizadas de acordo com o conteúdo de umidade, atividade de água, higroscopicidade, distribuição de tamanho e diâmetro médio de partículas, morfologia, temperatura de transição vítrea, teor de polifenóis e atividade antioxidante.

Por fim avaliou-se a estabilidade à 45 °C, por 49 dias, dos polifenóis presentes nas microesferas obtidas na etapa V.

5.5 Conteúdo de umidade e atividade de água

Pela análise do teor de umidade pode-se determinar o teor de sólidos totais que é utilizado para estimar o custo e o valor comercial do produto em pó. A água tem um importante papel nas características físico químicas dos alimentos. O teor de umidade pode ser relacionado à disponibilidade (avaliada pela atividade de água) e mobilidade da água (avaliada pela transição vítrea) e conseqüentemente à estabilidade e propriedades físicas do pó. Assim a determinação da umidade é uma das primeiras avaliações que se deve realizar quando se trabalha com produtos em pó (Schuck *et al.*, 2012). A Figura 5.8 descreve o comportamento da taxa de crescimento/degradação de alguns parâmetros em função da atividade de água. Pela Figura 5.8 nota-se que abaixo de 0,7 quase todos os microorganismos têm seu crescimento inibido; mas por outro lado, em valores baixos de atividade de água (abaixo de 0,2), a oxidação lipídica ocorre mais facilmente (Roos, 2002; Schuck *et al.*, 2012).

As Tabelas 5.6 e 5.7 apresentam os valores de umidade e atividade de água das partículas produzidas neste trabalho. Para o extrato de razão fruta:água 1:3 (Tabela 5.6) verificou-se que as partículas que apresentaram menor atividade de água foram as produzidas com maior temperatura e maior diâmetro de bico. A utilização de temperaturas mais altas resulta em um maior gradiente de temperaturas entre o produto atomizado e o ar de secagem, acarretando em uma maior transferência de calor, e conseqüentemente, uma maior evaporação de água do produto, ocasionando umidades mais baixas. Rattes e Oliveira (2007) trabalharam com encapsulação de diclofenaco de sódio e encontraram o mesmo efeito da temperatura sobre a umidade.

Para o extrato de razão fruta:água 1:2 (Tabela 5.7) verificou-se o mesmo efeito da temperatura sobre a umidade e atividade de água das partículas.

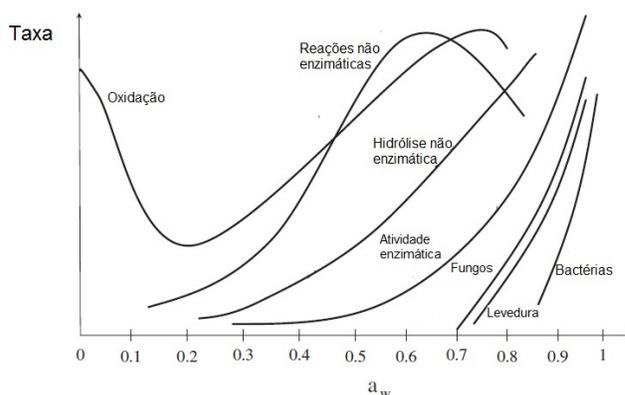


Figura 5.8: Influência da atividade de água em alimentos. Adaptado de Roos (2002)

Tabela 5.6: Conteúdo de umidade e atividade de água das partículas produzidas pelo extrato de razão 1:3 fruta:água

Bico (mm)	Umidade		a_w ¹	
	Temperatura (°C)		Temperatura (°C)	
	140	180	140	180
1,0	4,39 ± 0,042 ^{A a}	2,01 ± 0,046 ^{B a}	0,317 ± 0,0061 ^{A a}	0,251 ± 0,004 ^{B a}
2,0	2,90 ± 0,086 ^{A b}	1,61 ± 0,056 ^{B b}	0,281 ± 0,0035 ^{A b}	0,239 ± 0,006 ^{B b}

¹Atividade de água

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre as temperaturas (letras maiúsculas). Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre os bicos utilizados (letras minúsculas). $p \leq 0,05$

Tabela 5.7: Conteúdo de umidade e atividade de água das partículas produzidas pelo extrato de razão 1:2 fruta:água

Bico (mm)	Umidade		a_w ¹	
	Temperatura (°C)		Temperatura (°C)	
	140	180	140	180
1,0	4,01 ± 0,033 ^A	1,84 ± 0,081 ^B	0,333 ± 0,0079 ^A	0,255 ± 0,0045 ^B

¹Atividade de água

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre as temperaturas utilizadas (letras maiúsculas). $p \leq 0,05$

Hogan *et al.* (2001) observaram que amostras de óleo de soja encapsulado por spray drying à 180 °C, com caseinato de sódio combinado com maltodextrina e xarope de milho, com diferentes DE, apresentaram valores de umidade entre 1 e 3% e que esses valores não foram afetados pelos diversos materiais de parede.

5.6 Retenção de Polifenóis

A retenção de polifenóis foi calculada conforme item 4.9.3. De acordo com os valores apresentados nas Tabelas 5.8 e 5.9, os valores de retenção de polifenóis para as microesferas avaliadas, foram de cerca de 68 a 73%.

Tabela 5.8: Retenção de polifenóis nas micropartículas produzidas a partir do extrato de razão 1:3 fruta:água

Retenção de Polifenóis (%)		
Bico (mm)	Temperatura (°C)	
	140	180
1	71,48 ± 1,45 ^{A a}	72,24 ± 0,60 ^{A a}
2	68,52 ± 0,67 ^{A b}	68,18 ± 1,40 ^{A b}

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre as temperaturas (letras maiúsculas). Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre os bicos utilizados (letras minúsculas). $p \leq 0,05$

Tabela 5.9: Retenção de polifenóis nas partículas produzidas a partir do extrato de razão 1:2 fruta:água

Retenção de polifenóis (%)		
Bico (mm)	Temperatura (°C)	
	140	180
1	72,35 ± 0,73 ^A	67,3 ± 0,83 ^B

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre as temperaturas utilizadas (letras maiúsculas). $p \leq 0,05$

Quando se trabalhou com o extrato de razão 1:3 fruta:água, observou-se um efeito significativamente estatístico ($p \leq 0,05$) apenas para o diâmetro do bico, sendo que o diâmetro menor acarretou uma maior retenção de polifenóis, como apresentado na Tabela 5.8. Entretanto muitos trabalhos citam o efeito significativo da temperatura quando se trabalha com compostos termosensíveis como os polifenóis. Assim foi preparado um novo extrato com maior teor de sólidos, mantendo-se o teor de sólido solúvel do extrato utilizado na alimentação do *spray drying* constante e variando a relação sólidos solúveis do extrato/Sólidos do material de parede adicionado (SSE/SMP). Utilizou-se apenas o bico de 1,0 mm e avaliaram-se as temperaturas de 140 e 180 °C. Percebeu-se que as cápsulas produzidas resultaram em micropartículas com a mesma faixa de retenção de polifenóis, mas a temperatura exerceu efeito estatisticamente significativo a ($p \leq 0,05$).

A Tabela 5.10 ilustra a variação do °Brix do extrato após a adição do material de parede e a diferença na SSE/SMP.

Tabela 5.10: °Brix dos extratos.

	°Brix Extrato 1:3 fruta:água	°Brix Extrato 1:2 fruta:água
Antes adição do MP ¹	2,50 ± 0,1	4,50 ± 0,15
Após adição do MP ¹	17,5 ± 0,1	17,5 ± 0,1
Relação SSE ² /SMP ³ (p/p)	1:6	1:3

¹Material de parede ²Sólidos solúveis do extrato ³Sólidos do material de parede

Aparentemente a menor razão SSE/SMP e conseqüentemente a maior quantidade de material de parede adicionado pode servir de barreira para a transferência de calor tornando o material ativo menos sensível ao aumento da temperatura.

O valor médio da retenção de polifenóis encontrado no trabalho é superior ao relatado por Rocha (2009), cerca de 20 a 30%, que trabalhou com produção, caracterização, estabilidade e aplicação de micropartículas de licopeno produzidas por *spray drying* e coacervação complexa. O autor atribui a baixa retenção à alta temperatura de entrada utilizada (180 °C).

Ersus e Yurdagel (2007) avaliaram o efeito da temperatura e do tipo do material de parede na retenção de antocianinas e encontraram valores retenção desse ativo na faixa de 17 a 24 % e observaram que valores de temperaturas do ar de entrada maiores que 160 °C acarretaram perdas no teor de antocianinas dos pós formados. Couto *et al.* (2012) avaliaram condições de secagem (vazão de alimentação, vazão do ar de secagem, temperatura do ar de entrada) no teor de polifenóis e atividade antioxidante do extrato de alecrim e obtiveram baixas retenções de polifenóis (12 a 17%) e de taninos (5 a 8%). Os autores observaram que para os polifenóis apenas o efeito da vazão do ar de secagem foi significativo, já para os taninos todas as 3 variáveis exerceram efeito significativo.

Shu *et al.* (2006) estudaram a microencapsulação de extrato de tomate por *spray drying* e variaram parâmetros como a relação material de parede:recheio, pureza do material de recheio, proporção massa de gelatina:massa de sacarose e temperatura de entrada do ar no *spray dryer*. Como resultados obtiveram uma faixa de eficiência de encapsulação de 12,1 a 82,2%. O menor valor de encapsulação foi encontrado quando se trabalhou com o extrato de tomate bruto com 6% de pureza do licopeno. Quando a pureza do licopeno aumentou para 52% sua eficiência aumentou para 81% nas mesmas condições operacionais. Os autores desconhecem o motivo exato da redução da eficiência de encapsulação, mas acreditam que outros compostos presentes no extrato bruto

podem ter interagido com o material de parede, diminuindo sua efetividade.

Já Fang e Bhandari (2011) trabalharam com microencapsulação de compostos bioativos da *Myrica rubra* por *spray drying* e encontraram retenções altíssimas de polifenóis (cerca de 96%) e de antocianinas (cerca de 94%). A razão sólidos recheio:sólidos do material de parede foi de 1:1, temperatura de entrada de 150 °C e vazão de alimentação suficiente para manter a temperatura de saída até 80 °C. Os autores relacionam a temperatura de saída menor que 80 °C à alta retenção dos compostos bioativos.

5.7 Distribuição de tamanho

Todas as micropartículas foram analisadas quanto à distribuição de tamanho e diâmetro médio das partículas, conforme item 4.9.2.

Nas Tabelas 5.11 e 5.12 estão apresentados os diâmetros médios das partículas através do diâmetro $D_{[4,3]}$ e as Figuras 5.9 e 5.10 mostram as curvas de distribuição dessas partículas.

Tabela 5.11: Diâmetro médio das partículas produzidas pelo extrato de razão 1:3 fruta:água

Bico (mm)	Diâmetro médio (μm)	
	Temperatura (°C)	
	140	180
1	$9,64 \pm 0,449$ ^{A a}	$10,55 \pm 0,302$ ^{B a}
2	$7,51 \pm 0,227$ ^{A b}	$10,04 \pm 0,417$ ^{B a}

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre as temperaturas (letras maiúsculas). Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre os bicos utilizados (letras minúsculas). $p \leq 0,05$

Tabela 5.12: Diâmetro médio das partículas produzidas pelo extrato de razão 1:2 fruta:água

Bico (mm)	Diâmetro médio (μm)	
	Temperatura (°C)	
	140	180
1	$10,05 \pm 0,011$ ^A	$11,98 \pm 0,238$ ^B

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre as temperaturas utilizadas (letras maiúsculas). $p \leq 0,05$

De maneira geral, as partículas apresentaram uma faixa grande de tamanho, com diâmetros variando entre 0,11 a 120 microns com formação de um pico predominante

de tamanho entre 8 e 20 μm , e picos menores constituídos por partículas com diâmetro de aproximadamente 1 μm além de partículas de tamanhos maiores variando entre 100 a 200 μm (Figuras 5.9 e 5.10). Em geral partículas de spray dryer apresentam uma ampla variedade de tamanho. Finney *et al.* (2002) comparou o efeito de diferentes atomizadores e temperaturas nas propriedades físicas de encapsulados de flavours e observou grande variabilidade no tamanho das partículas produzidas pelo atomizador duplo fluido. No presente trabalho encontramos uma variação máxima entre os diâmetros médios na ordem de 5 microns, o que não é expressivo devido a larga faixa de tamanho das partículas. Mesmo assim os valores de diâmetros médios indicam uma tendência de aumento com o aumento da temperatura, como pode ser observado nas Tabelas 5.11 e 5.12. De acordo com Reineccius (2001), processos realizados em condições de maiores taxas de secagem, ou seja, maiores temperaturas produzem partículas maiores que aqueles realizados com menores taxas. Na secagem com elevadas temperaturas a taxa de evaporação é maior acarretando a formação mais imediata de uma estrutura externa, evitando que as partículas encolham durante a secagem. Já em temperaturas de ar de secagem mais baixas, a partícula torna-se mais encolhida apresentando diâmetro menor. Tonon *et al.* (2008); Kurozawa *et al.* (2009); Nijdam e Langrish (2006), trabalharam com secagem por *spray drying*, e obtiveram o mesmo efeito da temperatura sobre o diâmetro médio das partículas produzidas.

O aumento da temperatura para 180 °C não resultou em diferença significativa entre os diâmetros médios dos bicos ($p \leq 0,05$). Já quando se aumentou o diâmetro do bico atomizador à 140 °C houve uma diminuição do diâmetro médio das partículas. Este fato pode ter acontecido devido a uma baixa transferência de calor entre o ar de secagem e o produto atomizado na câmara de secagem quando se trabalhou à 140 °C.

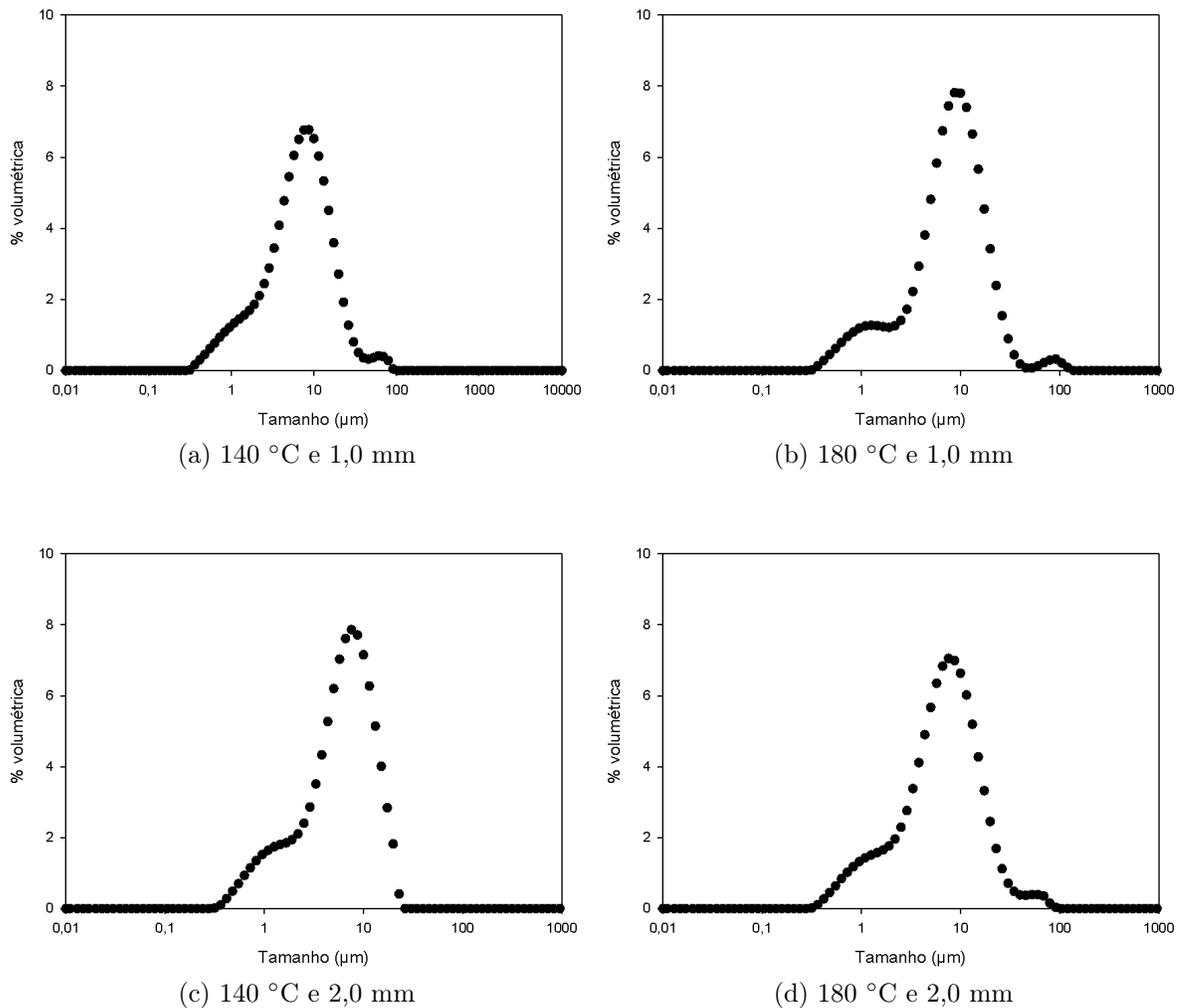


Figura 5.9: Distribuição do tamanho de partículas produzidas a partir do extrato de razão 1:3

Frascareli *et al.* (2012) avaliaram a microencapsulação de óleo de café torrado por *spray drying* utilizando goma arábica como material de parede e temperatura do ar de secagem entre 150 e 190 °C e observaram comportamento análogo em relação a distribuição de tamanho das partículas. Esses autores verificaram a formação de um pico na região de partículas com diâmetro de aproximadamente 1 μm, um segundo pico na região de partículas com diâmetro de 10 μm e um terceiro pico composto por partículas variando entre 40 e 100 μm. De acordo com os autores, as partículas menores podem penetrar dentro dos espaços entre partículas maiores enquanto a presença de

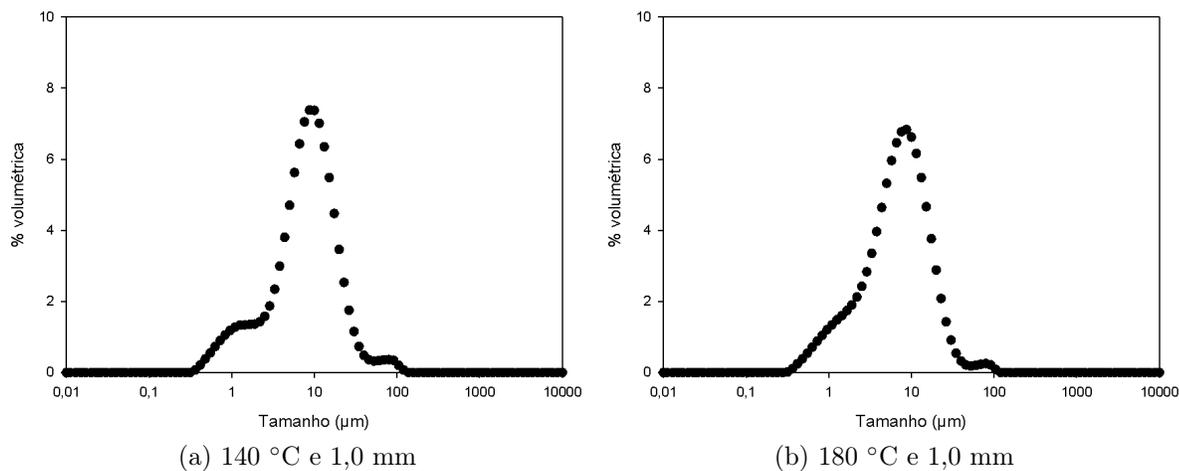


Figura 5.10: Distribuição do tamanho de partículas produzidas a partir do extrato de razão 1:2

partículas maiores pode estar associada à formação de aglomerados, onde a formação de ligações ou pontes irreversíveis levam à formação de partículas de tamanho maior. Carneiro (2011) avaliou diferentes tipos de material de parede na microencapsulação de óleo de linhaça por *spray drying* e observou a mesma tendência de distribuição de tamanho de partículas, quando utilizou a razão 1:3 Capsul:Maltodextrina 10DE.

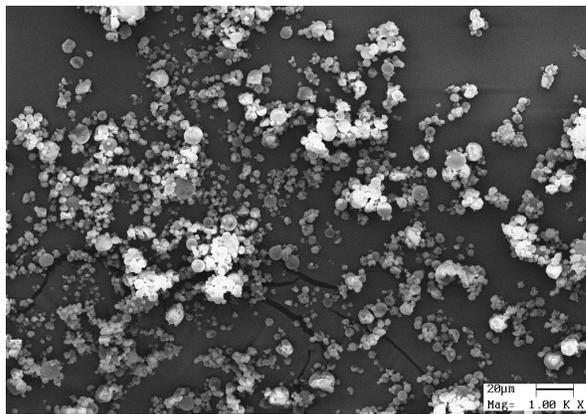
5.8 Morfologia

Como pode ser observado nas Figuras 5.11 a 5.16, em geral, as microesferas apresentaram uma vasta variedade de tamanhos além do formato esférico e irregular, sendo estas características típicas de partículas produzidas por *spray drying*. Conforme Ré (1998), a presença das rugosidades em micropartículas se deve provavelmente ao encolhimento das gotas nos estágios iniciais de secagem.

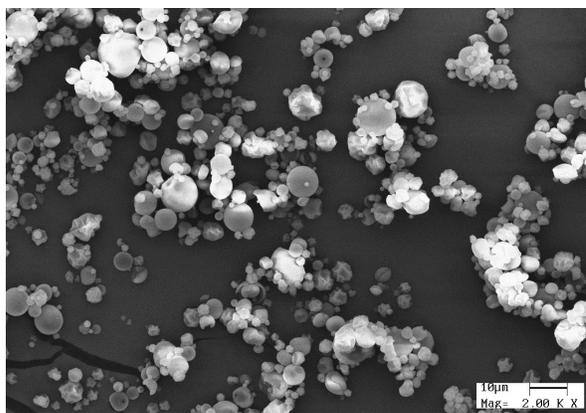
De acordo com as Figuras 5.12, 5.14 e 5.16, a grande maioria das partículas atomizadas à 140 °C apresentaram uma superfície altamente rugosa. Já pelas Figuras 5.11, 5.13 e 5.15, pode-se verificar que uma grande parcela das partículas apresentou superfície lisa. Isso indica que o aumento da temperatura favorece a obtenção de partículas com superfície lisa.

De acordo com as Figuras 5.12 e 5.14 percebe-se um ligeiro aumento na rugosidade das partículas em função do aumento no diâmetro do bico atomizador. Entretanto

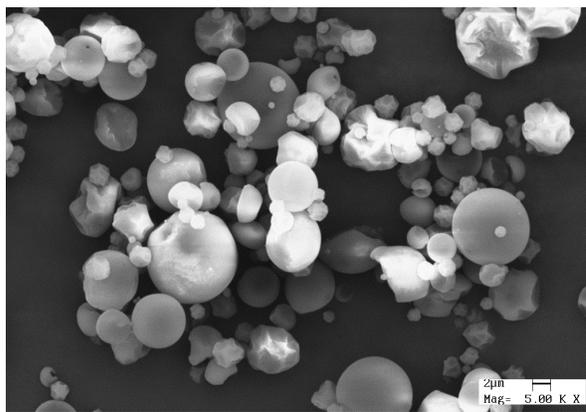
quando se comparam as Figuras 5.11 e 5.13 parece não haver diferença entre as superfícies das partículas o que sugere que o efeito do diâmetro do bico não foi pronunciado quando foram utilizadas altas taxas de secagem.



(a)

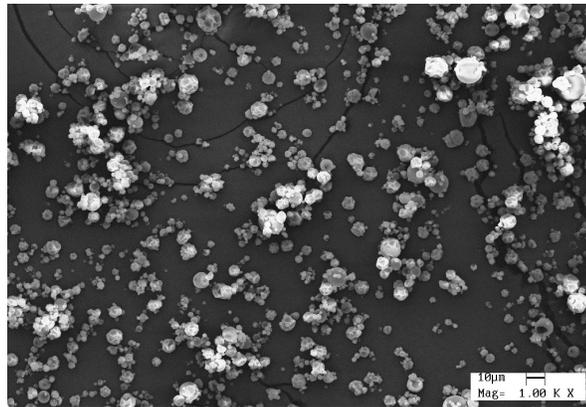


(b)

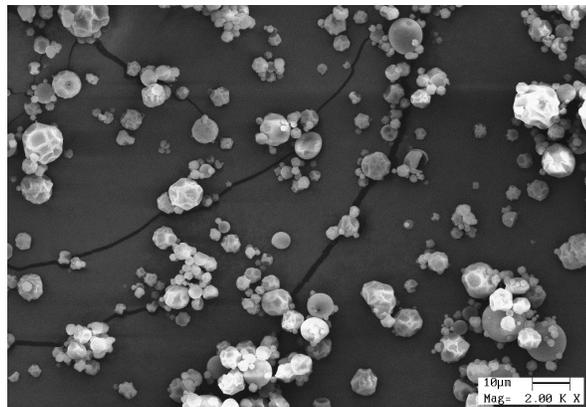


(c)

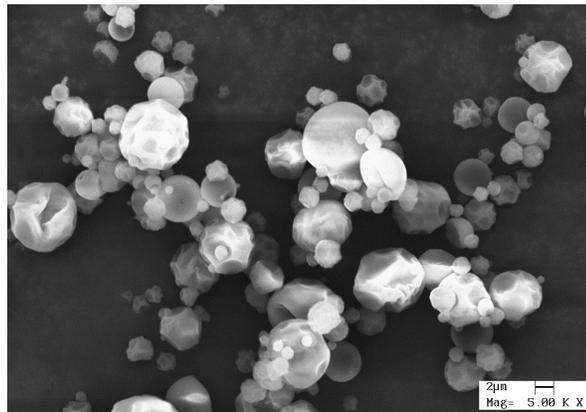
Figura 5.11: Microestrutura externa de partículas produzidas a partir do extrato de razão 1:3, atomizados por bico de 1,0 mm a 180 °C, (a) 1000X, (b) 2000X, (c) 5000X.



(a)

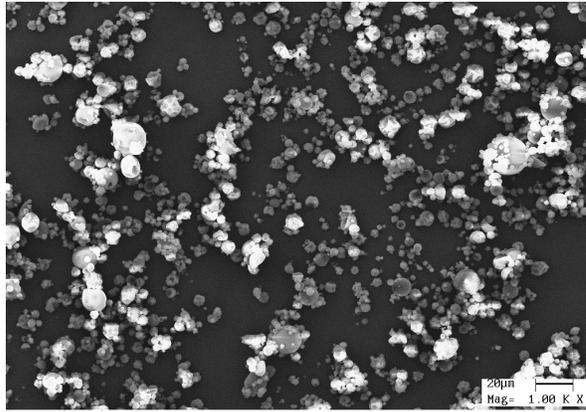


(b)

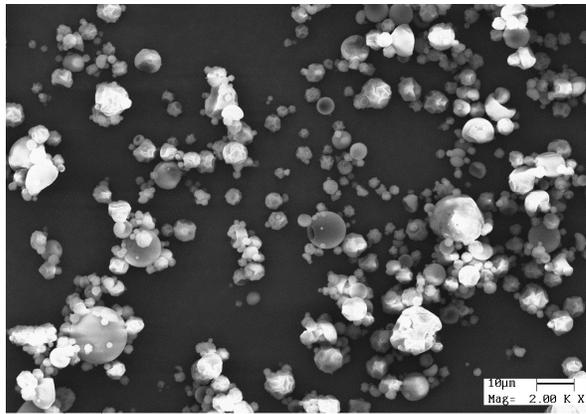


(c)

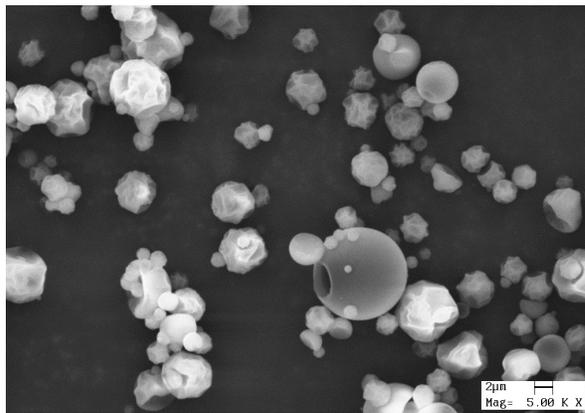
Figura 5.12: Microestrutura externa de partículas produzidas a partir do extrato de razão 1:3, atomizados por bico de 1,0 mm a 140 °C, (a) 1000X, (b) 2000X, (c) 5000X.



(a)

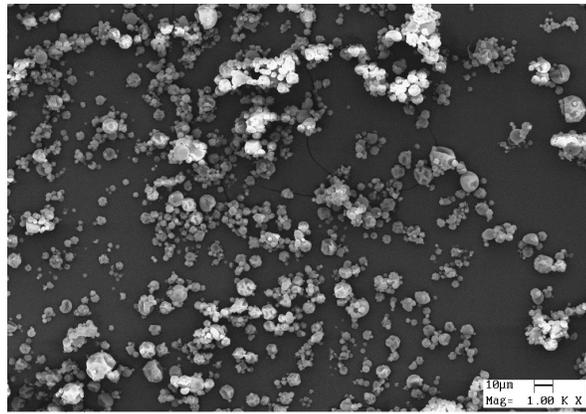


(b)

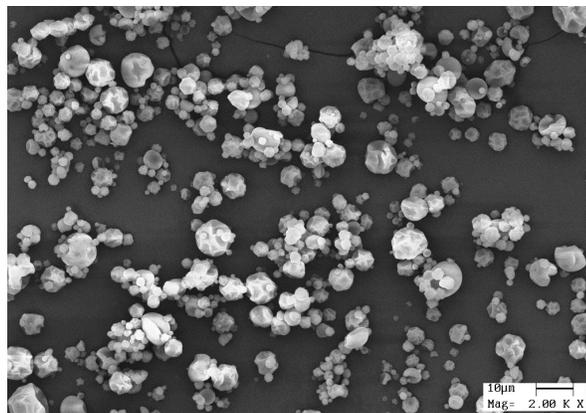


(c)

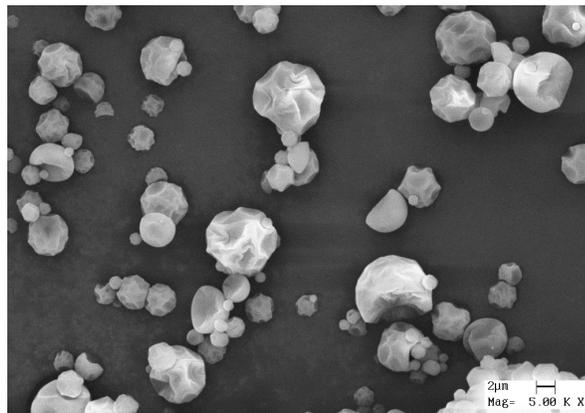
Figura 5.13: Microestrutura externa de partículas produzidas a partir do extrato de razão 1:3, atomizados por bico de 2,0 mm a 180 °C, (a) 1000X, (b) 2000X, (c) 5000X.



(a)

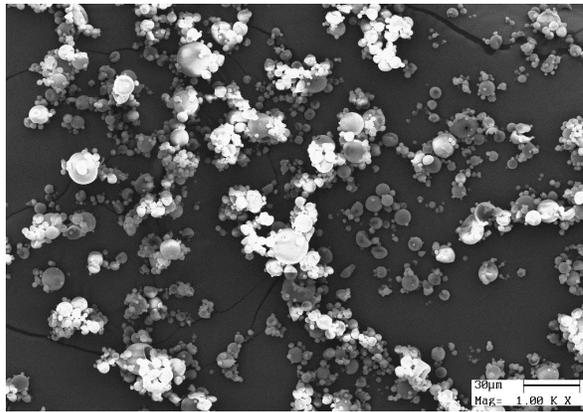


(b)

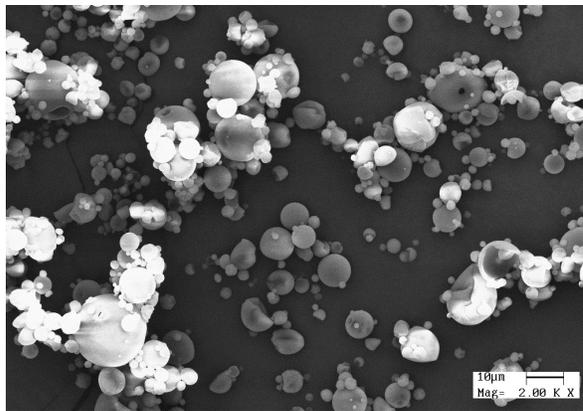


(c)

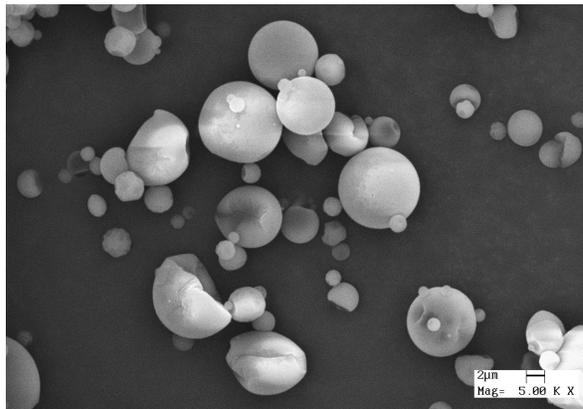
Figura 5.14: Microestrutura externa de partículas produzidas a partir do extrato de razão 1:3, atomizados por bico de 2,0 mm a 140 °C, (a) 1000X, (b) 2000X, (c) 5000X.



(a)

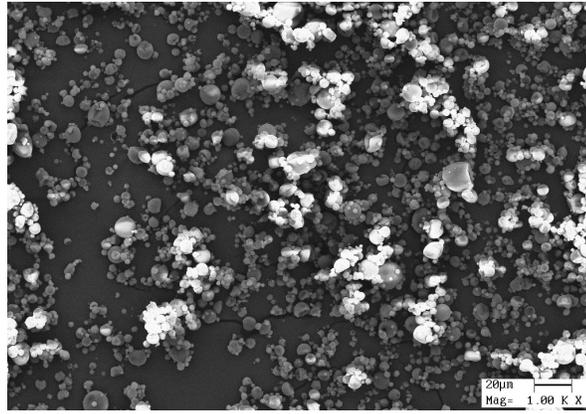


(b)

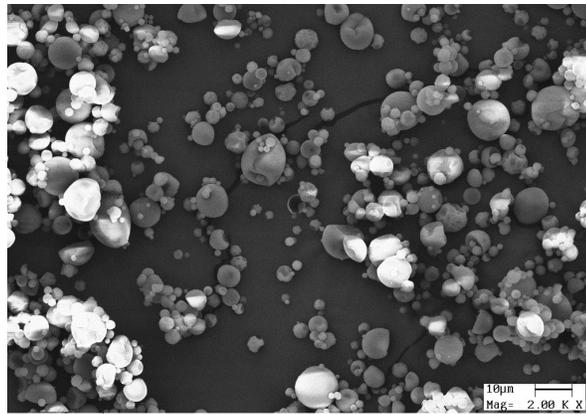


(c)

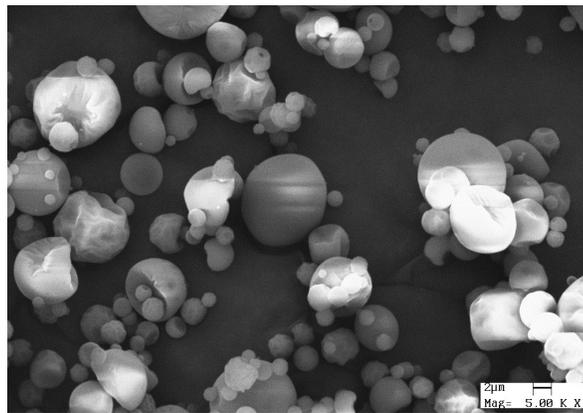
Figura 5.15: Microestrutura externa de partículas produzidas a partir do extrato de razão 1:2, atomizados por bico de 1,0 mm a 180 °C, (a) 1000X, (b) 2000X, (c) 5000X.



(a)



(b)



(c)

Figura 5.16: Microestrutura externa de partículas produzidas a partir do extrato de razão 1:2, atomizados por bico de 1,0 mm a 140 °C, (a) 1000X, (b) 2000X, (c) 5000X.

Resultados semelhantes foram obtidos por Alamilla-Beltrán *et al.* (2005), que trabalharam com alterações morfológicas de partículas de maltodextrina produzidas sob diferentes temperaturas do ar de secagem, em *spray dryer*. De acordo com os autores, as diferentes taxas de secagem utilizadas podem ter levado à diferenças na morfologia dos pós obtidos. Além disso, sugerem que partículas produzidas sob temperaturas mais baixas apresentem parede mais flexível e as produzidas sob maiores temperaturas apresentem parede mais rígida. Tonon *et al.* (2008) também observaram o mesmo efeito nas paredes da partículas quando utilizaram temperaturas mais altas, na produção de microesferas de açaí em pó por *spray drying*. De acordo com os autores, quando a taxa de secagem é maior, no caso de altas temperaturas de entrada, a perda de água por evaporação se torna mais rápida, resultando na formação de parede lisa e rígida.

Segundo Rosenberg *et al.* (1985), a superfície rugosa das micropartículas pode causar um efeito negativo sobre as propriedades de escoamento dos produtos em pó. Além disso, a maior superfície de contato das partículas rugosas pode torná-las mais suscetíveis à reações de degradação como a oxidação, por exemplo. No caso das partículas de extrato de pequi de razão água:fruta 1:2, entretanto, caso a morfologia tenha exercido alguma influência sobre a degradação dos polifenóis, esta foi superada pelo efeito da temperatura, uma vez que maiores temperaturas resultaram em partículas menos rugosas, mas com maior degradação de polifenóis.

5.9 Higroscopicidade

As Tabelas 5.13 e 5.14 apresentam os resultados obtidos para higroscopicidade das partículas produzidas.

Tabela 5.13: Higroscopicidade das partículas produzidas a partir do extrato de razão 1:3 fruta:água

Higroscopicidade (g.água/100g b.s.)		
Bico (mm)	Temperatura (°C)	
	140	180
1	12,23 ± 0,087 ^{A a}	13,83 ± 0,37 ^{B a}
2	14,43 ± 0,017 ^{A b}	14,46 ± 0,58 ^{A a}

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre as temperaturas (letras maiúsculas). Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre os bicos utilizados (letras minúsculas). $p \leq 0,05$

Tabela 5.14: Higroscopicidade das partículas produzidas a partir do extrato de razão 1:2 fruta:água

Higroscopicidade (g.água/100g b.s.)		
Bico (mm)	Temperatura (°C)	
	140	180
1	17,70 ± 0,73 ^A	18,09 ± 0,14 ^A

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre as temperaturas utilizadas (letras maiúsculas). $p \leq 0,05$

Quando se trabalhou com o extrato de razão 1:3 fruta:água, observou-se um efeito estatisticamente significativo ($p \leq 0,05$) para o diâmetro do bico apenas quando utilizada a temperatura de °C. Pelas Figuras 5.12, 5.14 nota-se que partículas secas nessa temperatura parecem ter sido morfologicamente afetadas pelo bico atomizador de 2,0 mm de diâmetro, apresentando maiores rugosidades do que as partículas secas com o bico de 1,0 mm de diâmetro. Outro aspecto importante que sugere a mudança morfológica das partículas secas à 140 °C pode ser observado na Tabela 5.11, onde se observa a tendência da diminuição do diâmetro médio menor para as partículas secas com bico atomizador de maior diâmetro. Assim sugere-se que as partículas atomizadas a 140 °C com bico de 2,0 mm tenham maior rugosidade, apresentando maior área superficial e conseguindo assim absorver mais água do ambiente, fato que caracteriza a maior higroscopicidade.

Na temperatura de 180 °C, a higroscopicidade seguiu o mesmo comportamento da morfologia e da distribuição de tamanho, não sendo significativamente afetada pelo diâmetro do bico atomizador.

Quando se avalia a temperatura, percebe-se que houve efeito significativo apenas quando se trabalhou com o bico de 1,0 mm de diâmetro. Em geral, quanto menor o teor de umidade dos pós, maior sua capacidade de absorver umidade do ambiente e, portanto, maior sua higroscopicidade. Tonon *et al.* (2008) estudando a secagem de açaí por *spray drying*, observaram que quando se aumentava a temperatura de entrada do secador, diminuía a umidade do pó e aumentava a higroscopicidade. Já Silva (2011) estudando a microencapsulação de extrato de jabuticaba por *spray drying*, não observou efeito significativo da temperatura na higroscopicidade, dentro das condições utilizadas.

Pela Tabela 5.14 nota-se que houve um aumento na higroscopicidade, mas não houve mais diferença significativa ($p \leq 0,05$) da temperatura na higroscopicidade dos pós secos com bico atomizador de 1,0 mm. Há de se notar pela Tabela 5.3 o maior teor de açúcares presente no extrato utilizado, e pela Tabela 5.10 que há uma mudança na relação

SSE/SMP. Assim o aumento no teor de açúcares e a diminuição no teor de sólidos adicionados como material de parede favoreceram o aumento da higroscopicidade, fator que pode ter compensado o efeito da variação de temperatura. Tonon *et al.* (2008) verificaram que a concentração de agente carreador foi a variável que mais influenciou na higroscopicidade do produto final, sendo que os maiores valores de higroscopicidade foram obtidos quando se utilizaram as menores concentrações de material de parede, assim como obtido no presente trabalho.

5.10 Temperatura de Transição Vítea

As Tabelas 5.15 e 5.16 apresentam os resultados de temperatura de transição vítea (T_g) das micropartículas armazenadas em ambientes com umidade relativa do ar controlada, de 0,226 (armazenados em acetato de potássio) e 0,432 (armazenados em carbonato de potássio) respectivamente à 25°C. Os valores de T_g obtidos para o extrato de pequi em pó estão na mesma faixa dos obtidos por Tonon (2009).

Tabela 5.15: Temperatura de transição vítea de partículas armazenadas umidade relativa do ar de 0,226 à 25°C

Amostra	T ¹ ar de entrada (°C)	Diâmetro (mm)	T _g ² (°C)	SSE/SMP ³	°Brix
a	140	1,0	69,13 ± 4,22 ^A	1/6	17,5
b	140	2,0	68,99 ± 5,14 ^A	1/6	17,5
c	180	1,0	70,18 ± 3,51 ^A	1/6	17,5
d	180	2,0	71,72 ± 3,11 ^A	1/6	17,5
e	140	1,0	67,09 ± 0,90 ^A	1/3	17,5
f	180	1,0	69,06 ± 1,88 ^A	1/3	17,5
Liofilizada	-	-	11,19 ± 0,64	-	-
MP ⁴ puro	-	-	74,03 ± 3,07	-	-

¹Temperatura de entrada ²Temperatura de transição vítea ³Relação sólidos solúveis do extrato/sólidos do material de parede ⁴Material de parede

De acordo com as tabelas 5.15 e 5.16 percebe-se que valores da T_g não sofreram mudanças drásticas em função da alteração do diâmetro do bico atomizador nem da temperatura do ar de entrada, principalmente nas amostras armazenadas em menores valores de umidade relativa. Já quando se comparam as mesmas amostras nas duas umidades relativas, percebe-se um grande decréscimo da T_g na maior atividade de água. Isso confirma o forte efeito plasticizante da água, como esperado. Este mesmo efeito foi verificado por outros autores, trabalhando com diversas frutas. Goula e Adamo-

Tabela 5.16: Temperatura de transição vítrea de partículas armazenadas em umidade relativa do ar de 0,432 à 25°C

Amostra	T ¹ entrada (°C)	Diâmetro (mm)	T _g ² (°C)	SSE/SMP ³	°Brix
a	140	1,0	56,52 ± 6,46 ^A	1/6	17,5
b	140	2,0	43,65 ± 3,56 ^B	1/6	17,5
c	180	1,0	58,73 ± 3,35 ^A	1/6	17,5
d	180	2,0	55,25 ± 2,09 ^A	1/6	17,5
e	140	1,0	30,88 ± 1,58 ^C	1/3	17,5
f	180	1,0	31,57 ± 0,21 ^C	1/3	17,5
Liofilizada	-	-	-17,99 ± 2,62	-	-
MP ⁴ puro	-	-	71,92 ± 0,98	-	-

¹Temperatura de entrada ²Temperatura de transição vítrea ³Relação sólidos solúveis do extrato/sólidos do material de parede ⁴Material de parede

poulos (2010) utilizaram 4 diferentes temperaturas e 4 diferentes razões sólidos do suco concentrado/sólidos material de parede e avaliaram a secagem do suco concentrado de laranja. Na análise da T_g do pó, foi reportado que a T_g diminuía a medida que as amostras eram armazenadas em ambientes com maior umidade relativa. Tonon *et al.* (2009) obtiveram diferentes isotermas de sorção para diferentes materiais de parede na produção de açaí em pó e perceberam que a medida que a umidade relativa aumentava a T_g diminuía. Goula *et al.* (2008) avaliaram isotermas de sorção de polpa de tomate secas por *spray dring* em diferentes temperaturas e relataram que a T_g diminuía, a medida que as amostras eram armazenadas em ambientes com maior umidade relativa.

Fang e Bhandari (2012) avaliaram a eficiência de isolado proteico de soro e maltodextrina 10 DE na secagem de suco de *bayberry* e perceberam que quando utilizavam a maltodextrina como material de parede, a T_g aumentava à medida que a razão sólidos do material de parede:sólidos do extrato aumentava. Pode-se perceber comportamento análogo neste trabalho quando se comparam os valores da T_g das amostras (a), (e) e (b), (f) apresentados nas Tabela 5.16.

Há de se notar também o baixíssimo valor da T_g das amostras liofilizadas em comparação às atomizadas. Esse fato pode ser explicado pela não utilização de material de parede no caso da liofilização. Sil (2006) trabalharam com diagrama de fase de polpa de Camu-camu (*Myrciaria dubia*) e encontraram menores valores de T_g para a polpa liofilizada sem maltodextrina, confirmando a influência da adição de um agente carreador na melhora da qualidade do pó. Mosquera *et al.* (2012) observaram que adicionando maltodextrina e goma arábica à polpa de morango antes da etapa de liofilização,

favorecia-se a estabilidade dos pós formados uma vez que diminuía a higroscopicidade e aumentava a Tg.

5.11 Atividade antioxidante

A atividade antioxidante das amostras em pó foi analisada, utilizando-se duas metodologias distintas, DPPH e FRAP.

5.11.1 DPPH

Os resultados obtidos para atividade antioxidante determinada pelo método de captura dos radicais livres, DPPH, das micropartículas produzidas estão apresentados nas Tabelas 5.17 e 5.18

Pode-se observar que a faixa de valores encontrada foi estreita para todas as condições experimentais, variando de 41,8 até 42,7 % de inibição para o extrato de razão de fruta:água 1:3, e de 67,99 até 69,8 % de inibição para o extrato de razão de fruta:água 1:2. Assim, verificou-se que não houve efeito da temperatura e do diâmetro do bico atomizador na atividade antioxidante dos pós via DPPH ($p \leq 0,05$). Para o mesmo extrato, verifica-se que a atividade antioxidante dos pós nas diferentes condições de secagem se manteve praticamente constante.

Já quando comparamos a atividade antioxidante dos pós produzidos pelos diferentes extratos, percebe-se que houve um aumento na resposta, porcentagem de inibição das micropartículas produzidas a partir do extrato de razão fruta:água 1:2. Esse fato pode ser atribuído à maior atividade antioxidante do extrato ilustrado na Figura 5.6, e também a maior relação SSE/SMP utilizada.

Bakowska-Barczak e Kolodziejczyk (2011) utilizaram diferentes temperaturas e materiais de parede na encapsulação de compostos bioativos de groselha-preta e verificaram que não houve diferença significativa ($p \leq 0,05$) na atividade antioxidante, via DPPH, em função da variação da temperatura, quando utilizaram a maltodextrina 18 DE. Já Krishnaiah *et al.* (2012) que trabalharam com microencapsulação de compostos bioativos de noni, (*MorindacitrifoliaL*), utilizando diversas temperaturas e materiais de parede, verificaram que a medida que a temperatura do ar de entrada aumentou de 90 para 140 °C a porcentagem de inibição diminuiu.

Tabela 5.17: Atividade antioxidante via DPPH das amostras produzidas pelo extrato de razão 1:3 fruta:água

Bico (mm)	DPPH (%inibição)		DPPH (Trolox mg/ml)	
	Temperatura (°C)		Temperatura (°C)	
	140	180	140	180
1,0	42,1 ± 1,54 ^{A a}	42,1 ± 1,15 ^{A a}	0,122 ± 0,004 ^{A a}	0,123 ± 0,003 ^{A a}
2,0	41,8 ± 1,42 ^{A a}	42,7 ± 1,74 ^{A a}	0,121 ± 0,004 ^{A a}	0,124 ± 0,005 ^{A a}

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre as temperaturas (letras maiúsculas). Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre os bicos utilizados (letras minúsculas). $p \leq 0,05$

Tabela 5.18: Atividade antioxidante via DPPH das amostras produzidas pelo extrato de razão 1:2 fruta:água

Bico (mm)	DPPH (%inibição)		DPPH (Trolox mg/ml)	
	Temperatura (°C)		Temperatura (°C)	
	140	180	140	180
1,0	69,83 ± 1,03 ^A	67,99 ± 3,73 ^A	0,201 ± 0,002 ^A	0,196 ± 0,005 ^A

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre as temperaturas utilizadas (letras maiúsculas). $p \leq 0,05$

5.11.2 FRAP

Os resultados obtidos para atividade antioxidante determinada pelo método da capacidade redutora do ferro, FRAP, das partículas produzidas estão apresentados nas Tabelas 5.19 e 5.20

Observa-se o mesmo comportamento, via DPPH, para atividade antioxidante via FRAP. Nota-se um aumento na atividade antioxidante, cerca de 70%, apenas quando comparamos os pós produzidos pelos diferentes extratos. Esse fato pode ser atribuído mais uma vez à maior atividade antioxidante do extrato de razão fruta:água 1:2, e também à maior relação SSE/SMP utilizada.

Tabela 5.19: Atividade antioxidante das amostras via FRAP, produzidas pelo extrato de razão 1:3 fruta:água

Bico (mm)	FRAP - Trolox mg/g	
	Temperatura (°C)	
	140	180
1	49,44 ± 0,94 ^{A a}	48,49 ± 0,83 ^{A a}
2	48,22 ± 0,32 ^{A a}	47,24 ± 1,09 ^{A a}

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre as temperaturas (letras maiúsculas). Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre os bicos utilizados (letras minúsculas). $p \leq 0,05$

Tabela 5.20: Atividade antioxidante das amostras via FRAP, produzidas pelo extrato de razão 1:2 fruta:água

Bico (mm)	FRAP - Trolox mg/g	
	Temperatura (°C)	
	140	180
1	82,75 ± 1,67 ^A	83,43 ± 2,21 ^A

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre as temperaturas utilizadas (letras maiúsculas). $p \leq 0,05$

5.12 Teste de estabilidade acelerado à 45 °C

Para avaliação da estabilidade foram selecionadas as amostras atomizadas a partir do extrato de razão fruta:água 1:2, por terem maior teor de polifenóis. Além disso, para efeito de comparação liofilizou-se uma amostra do extrato puro, de razão fruta:água 1:2, para acompanhar a evolução no teor de polifenóis ao longo do tempo de armazenamento. A Figura 5.17 ilustra as amostras que foram selecionadas para o teste de estabilidade acelerado.

Os compostos fenólicos presentes no pequi (*Caryocar brasiliense*) foram tentativamente identificados por comparação do UV-visível com os padrões disponíveis e dados da literatura. O tempo de retenção, UV-visível de 10 padrões (ácido gálico, catequina, ácido 4-hidrobenczoico, ácido p-cumárico, ácido cafeico, ácido elágico, ácido ferrúlico, luteonina, quercitina e rutina) forma utilizados na identificação (dados não apresentados).

A Figura 5.18 ilustra o cromatograma do extrato aquoso de pequi. Observa-se que apareceram muitos picos sem identificação. Shahidi *et al.* (2007) citam que os



Figura 5.17: Amostras iniciais do teste de estabilidade acelerado

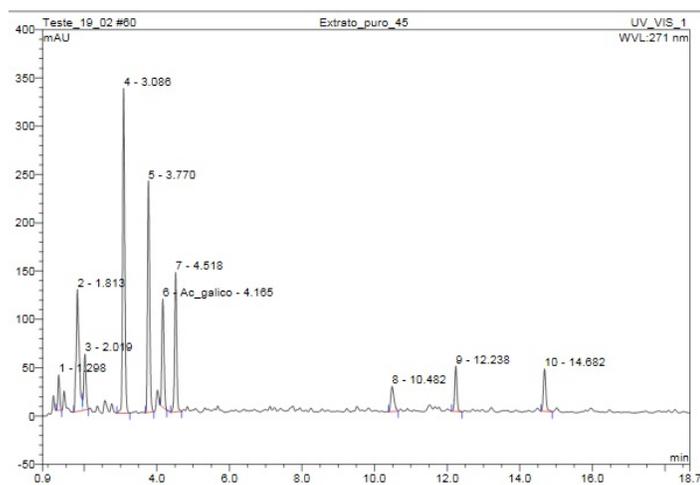


Figura 5.18: Cromatograma do extrato aquoso de pequi

compostos fenólicos presentes nos vegetais se encontram predominantemente na forma de glicosídeos, necessitando de tratamento prévio para romper essas ligações e permitir uma melhor identificação dos compostos. Assim os picos foram quantificados como equivalente em ácido gálico.

Lima (2008) avaliou o perfil de fenólicos presentes nos extratos aquosos da polpa e amêndoa do pequi (*Caryocar Brasiliense*) por CLAE, utilizando 31 padrões entre 280 e 530 nm. Em ambos os extratos, verificou a presença de ácido elágico, gálico, 4-hidrobencóico e p-cumárico.

Roesler *et al.* (2008) avaliaram a capacidade antioxidante do pequi (*Caryocar Brasiliense*) e caracterizaram alguns componentes via ionização por eletro-spray associada a espectrometria de massa. Foi realizada uma extração etanólica e posterior liofilização da amostra onde foram identificados os compostos: ácido gálico, quínico, quercitina e

quercitina 3-O-arabinose.

As Figuras 5.19 e 5.20 apresentam o comportamento do teor de polifenóis, ao longo dos 49 dias da análise de estabilidade acelerada, pelas duas diferentes metodologias, via espectrofotometria, conforme item 4.12.2 e cromatografia líquida conforme item 4.12.2.

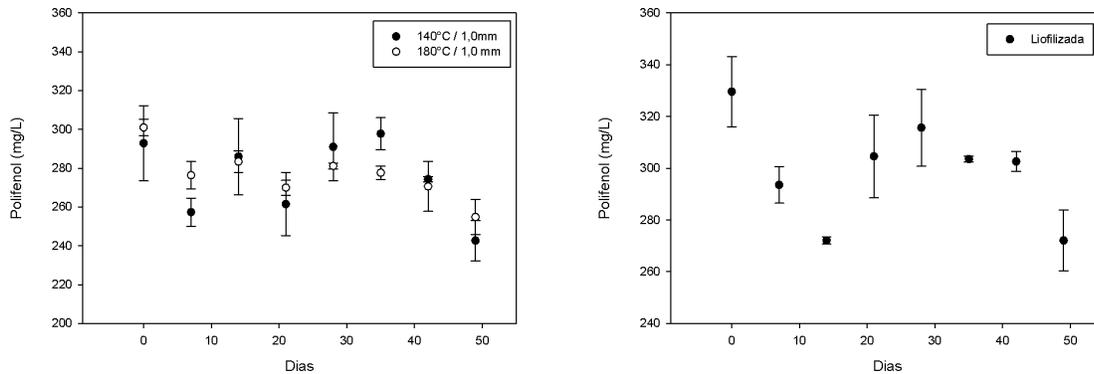


Figura 5.19: Evolução do teor de polifenóis ao longo do tempo via espectrofotometria

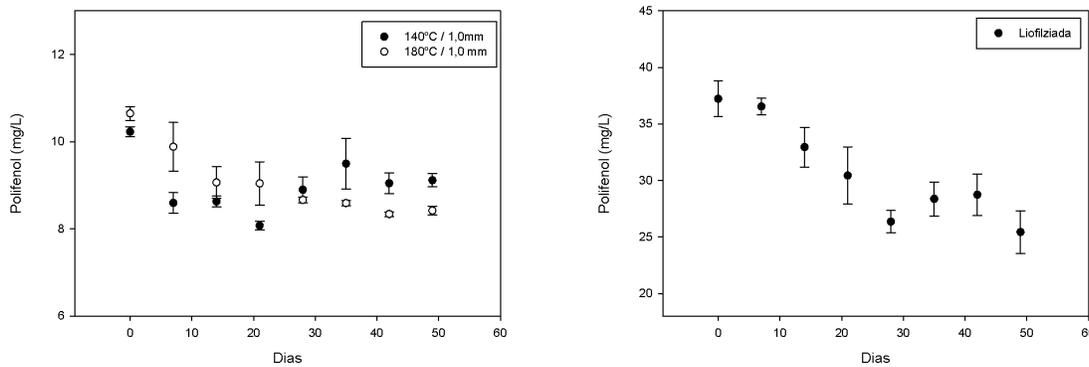


Figura 5.20: Evolução do teor de polifenóis ao longo do tempo via cromatografia

Comparando o comportamento do teor de fenólicos das Figuras 5.19 e 5.20, nota-se uma maior tendência de degradação das amostras analisadas por cromatografia. Isso provavelmente se deve ao maior grau de pureza das amostras e também à maior especificidade da análise via CLAE.

Saézn *et al.* (2009) estudaram a microencapsulação, por *spray drying*, de compostos bioativos de cactus (*Opuntia ficus-indica*) por espectrofotometria e avaliaram a estabi-

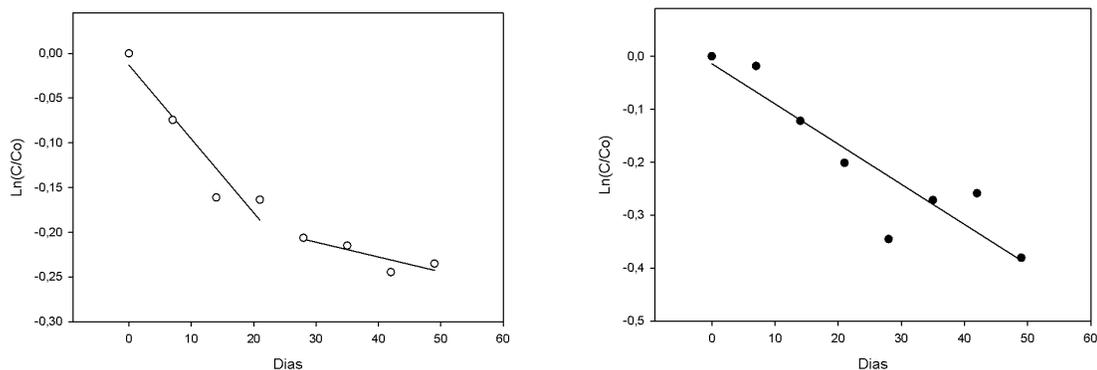


Figura 5.21: Cinética de degradação dos polifenóis do extrato de pequi microencapsulado por *spray drying* a 180°C e liofilizado, estocado a 45°C

lidade destes compostos à 60°C durante 44 dias. Verificou-se que o perfil de degradação de polifenóis foi irregular, assim como no presente trabalho.

A Figura 5.21 ilustra a cinética de degradação dos polifenóis do extrato de pequi micronecapsulado por *spray drying* e liofilizado. As partículas produzidas por *spray drying* apresentaram duas cinéticas de primeira ordem distintas, assim foram calculados dois valores de k e de $t_{1/2}$, para cada uma das amostras. Entretanto, o tempo real de meia-vida dos polifenóis foi estimado como o tempo no qual a concentração de polifenóis presente nas amostras caiu pela metade. Estes valores estão apresentados na Tabela 5.21.

Tabela 5.21: Parâmetros cinéticos da degradação dos polifenóis do extrato de pequi microencapsulado por *spray drying* e liofilizado armazenado a 45 °C

Amostra	tempo	K (1/dias)	t meia vida (dias)	R ²	t meia vida real (dias)
spray 180 °C	t<ta	0,050	13,8	0,904	
spray 180 °C	t>ta	0,012	59,2	0,715	21,6
Liofilizada	-	0,053	12,9	0,845	12,9

Tonon (2009) comparou a estabilidade de amostras de suco de açaí microencapsuladas por *spray drying* e liofilizadas e observou que a taxa de degradação de antocianinas no material não encapsulado foi bem maior, assim como no presente trabalho. Segundo a autora, o tempo de meia vida das antocianinas presentes no suco de açaí atomizado, estocado a 25 °C e umidade relativa de 32,8%, variou entre 2,2 e 3,4 anos, enquanto no suco liofilizado essa degradação ocorreu em cerca de 9 meses. A maior taxa de

degradação no material liofilizado pode ser atribuída a ausência do material protetor (material de parede) e assim à maior exposição dos polifenóis ao oxigênio.

Quando se analisa a Figura 5.19 percebe-se um comportamento bastante diferente na evolução do teor de polifenóis com o tempo, principalmente para a amostra liofilizada. O aumento da temperatura juntamente à presença de açúcares e proteínas, podem resultar na reação de Maillard (escurecimento não enzimático). Essa reação ocorre em geral durante o processamento de alimentos a altas temperaturas ou durante a estocagem por períodos prolongados, sendo que o máximo escurecimento ocorre geralmente em atividades de água entre 0,5 e 0,75, apesar de acima de uma a_w de 0,2 já começar a ocorrer um aumento na velocidade da reação de Maillard (Figura 5.8) (Damodaran *et al.*, 2008; Roos, 2002). Assim produtos derivados desta reação podem estar influenciando na quantificação de polifenóis via *Folin-Ciocalteu*.

Por espectrofotometria, a evolução dos polifenóis ao longo do tempo, teve um comportamento irregular, não apresentando uma tendência clara de queda. Já por cromatografia os resultados apresentaram uma maior tendência de queda, refletindo mais adequadamente o que de fato deveria ocorrer.

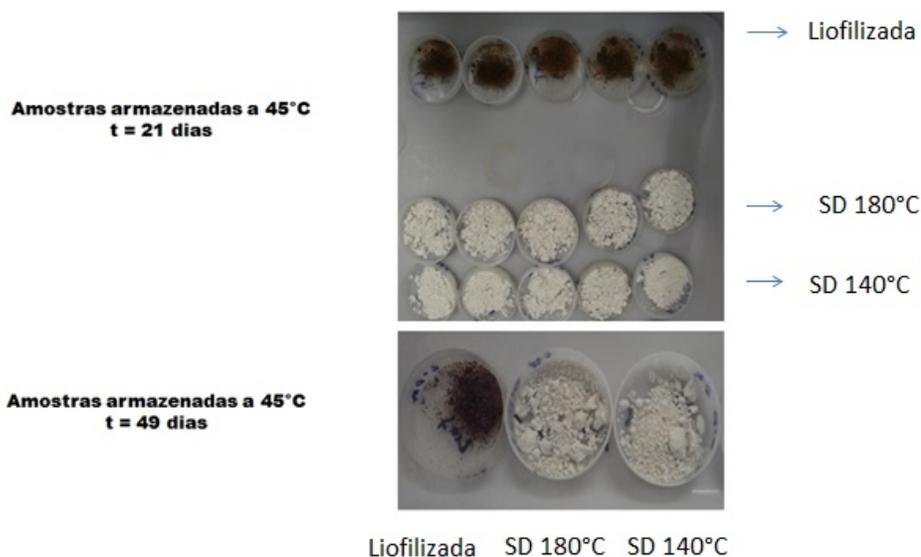


Figura 5.22: Amostras armazenadas durante 21 e 49 dias à 45 °C, no teste de estabilidade acelerado

A Figura 5.22 ilustra a aparência das amostras durante armazenamento de 21 e 49 dias à 45 °C. Comparando as amostras estocadas por 21 e 49 dias com as amostras iniciais, percebe-se uma mudança na coloração, principalmente para as amostras liofi-

lizadas, que se tornaram mais escuras, favorecendo assim a hipótese da ocorrência de escurecimento não enzimático.

Garcia-Alonso *et al.* (2009) trabalharam com avaliação da estabilidade de compostos bioativos, a 8, 22 e 37 °C por 12 meses, de sucos de tomate armazenados em diferentes embalagens. No geral, foi observado que o teor de fenólicos e flavonóides das amostras se mantiveram estáveis ao longo do armazenamento, entretanto um ligeiro aumento no teor de fenólicos totais pôde ser observado nas amostras que foram armazenadas a 37 °C após 8 meses. Além disso, Giovanelli e Paradiso (2002) trabalharam com secagem em bandeja e avaliação da estabilidade, à 20 e 37 °C por 5 meses, de polpa de tomate de diferentes umidades finais. Os autores verificaram que o teor de fenólicos totais de polpa de tomate se manteve estável quando armazenados à 4 e 20 °C, mas aumentou progressivamente quando armazenado a 37 °C, e sugere que esse efeito tenha ocorrido devido à formação de derivados da reação de Maillard, que foram capazes de interagir com o reagente de *Folin-Ciocalteu*.

A microencapsulação pode ser considerada um processo eficiente na proteção de compostos sensíveis, como os polifenóis, durante a estocagem. Mas há de se tomar cuidado com a metodologia utilizada para avaliação dos polifenóis, pois como se pode perceber no trabalho a tendência de degradação destes compostos ao longo do tempo foi bastante diferente quando avaliados via espectrofotometria e cromatografia líquida.

Capítulo 6

Conclusões

Baseado nos resultados obtidos, este trabalho apresenta as seguintes conclusões:

- Os extratos aquosos de pequi apresentaram elevado teor de compostos fenólicos e a relação fruta:água foi decisiva tanto para as propriedades químicas do extrato, teor de fenólicos, atividade antioxidante, quanto para as propriedades de processo, fator de concentração e fluxo de permeado. O extrato com maior teor de sólidos (razão 1:2 fruta:água) apresentou fator de concentração volumétrico de 2,0, fluxo médio de 8 L/h.m², além de, teor de polifenóis da ordem de 530 mg de equivalente em ácido gálico/L, atividade antioxidante de cerca de 3400 μ mol Trolox/L (FRAP) e cerca de 60 % de inibição (DPPH). Já o outro extrato, (razão 1:2 fruta:água) apresentou fator de concentração volumétrico de 2,6, fluxo médio de 16 L/h.m², além de, teor de polifenóis da ordem de 400 mg de equivalente em ácido gálico/L, atividade antioxidante de cerca de 2700 μ mol Trolox/L (FRAP) e cerca de 30 % de inibição (DPPH).
- A mistura maltodextrina:Snow Flake (3:1), adicionada em 15% (p/p) ao extrato de razão 1:3 fruta:água, se mostrou mais adequada para encapsulação de polifenóis do extrato de pequi, quando comparada aos materiais de paredes puros.
- A temperatura exerceu efeito estatisticamente significativo ($p < 0,05$) sobre a retenção de polifenóis apenas quando a relação sólidos do extrato/sólidos de material de parede adicionado foi maior, (1:2).
- No geral houve boa retenção de polifenóis nos pós, tanto para os atomizados a partir do extrato de razão 1:3 fruta:água, quanto para o de razão 1:2 fruta:água, com cerca de 67 a 72% de retenção.

- A atividade antioxidante, via DPPH e FRAP nos pós não apresentaram diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) em relação à variação da temperatura e diâmetro do bico.
- A avaliação da estabilidade dos polifenóis, ao longo do tempo via CLAE, se mostrou mais confiável do que a análise via espectrofotometria, uma vez que apresentou um perfil de queda mais regular.
- O tempo de meia vida, da amostra microencapsulada a 180 °C com bico atomizador de 1,0 mm (21,6 dias) foi maior que da amostra liofilizada (12,9 dias), fato que demonstra a viabilidade da técnica na proteção de compostos sensíveis, como os polifenóis.
- A condição de temperatura de ar de entrada 140 °C aliada ao bico atomizador de 1,0mm se mostrou mais adequada para produção de micropartículas, independentemente do modo de produção do extrato.

Capítulo 7

Sugestões para trabalhos futuros

- Investigar outras relações de fruta:água para produção de extrato de pequi com maior teor de sólidos totais.
- Trabalhar com maiores fatores de concentração de nanofiltração ou com o processo de osmose reversa para maior concentração do extrato.
- Avaliar a eficiência de utilização do permeado do processo de concentração por membranas como solvente extrator para minimizar os resíduos.
- Investir em outros materiais de parede para maior retenção de polifenóis.
- Investigar a purificação do extrato para melhor identificação dos picos no cromatograma.
- Investigar outras temperaturas e o efeito do material de parede no teste de estabilidade.
- Aplicar o pó do extrato de pequi produzido como ingrediente em alimentos e avaliar a estabilidade e a biodisponibilidade dos compostos fenólicos nestes produtos.

Referências Bibliográficas

- State diagrams of freeze-dried camu-camu (*Myrciaria dubia* (HBK) Mc Vaugh) pulp with and without maltodextrin addition. *Journal of Food Engineering*, 77(3):426 – 432, 2006.
- Alamilla-Beltrán, L., Chanona-Pérez, J., Jiménez-Aparicio, A. e Gutiérrez-López, G. Description of morphological changes of particles along spray drying. *Journal of Food Engineering*, 67(1):179–184, 2005.
- Alves, J., Cibele Cristina de Oliveira, Vilela de Resende, R. e Cruvinel, M. Estabilidade da microestrutura e do teor de carotenóides de pós obtidos da polpa de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) liofilizada. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 28(4), 2008.
- A.O.A.C. Official methods of analysis. *Association of Official Analytical Chemists: Washington, DC*, 1997.
- Bakowska-Barczak, A. e Kolodziejczyk, P. Black currant polyphenols: Their storage stability and microencapsulation. *Industrial Crops and Products*, 34(2):1301–1309, 2011.
- Barbosa, M., Borsarelli, C. e Mercadante, A. Light stability of spray-dried bixin encapsulated with different edible polysaccharide preparations. *Food Research International*, 38(8):989–994, 2005.
- Bhandari, B., Senoussi, A., Dumoulin, E. e Lebert, A. Spray drying of concentrated fruit juices. *Drying Technology*, 11(5):1081–1092, 1993.
- Brasil, F. I. Food Ingredients Brasil. Extratos Vegetais. <http://www.revista-fi.com/materias/120.pdf> [último acesso em maio de 2011], 2010.

- Carneiro, H. C. F. Dissertação de Mestrado em Engenharia de Alimentos. Microencapsulação de óleo de linhaça por spray drying: influência da utilização de diferentes combinações de materiais de parede. Universidade Estadual de Campinas Faculdade de Engenharia de Alimentos., 2011.
- Carvalho, P. Comunicado Técnico 230, 2009.
- Cheryan, M. *Ultrafiltration and microfiltration handbook*. CRC press, 1998.
- Chisté, R. C., Freitas, M., Mercadante, A. Z. e Fernandes, E. The potential of extracts of *Caryocar villosum* pulp to scavenge reactive oxygen and nitrogen species. *Food Chemistry*, 135(3):1740 – 1749, 2012.
- Cissé, M., Vaillant, F., Pallet, D. e Dornier, M. Selecting ultrafiltration and nanofiltration membranes to concentrate anthocyanins from roselle extract (*Hibiscus sabdariffa* L.). *Food Research International*, 44(9):2607 – 2614, 2011.
- Couto, R. O., Conceição, E. C., Chaul, L. T., Oliveira, E., Martins, F. S., Bara, M. T. F., Rezende, K. R., Alves, S. F. e Paula, J. R. Spray-dried rosemary extracts: Physicochemical and antioxidant properties. *Food Chemistry*, 131(1):99–105, 2012.
- Damodaran, S., Parkin, K. L. *et al. Fennema's food chemistry*, volume 4. CRC press Boca Raton, FL, 2008.
- Davidov-Pardo, G., Arozarena, I. e Marín-Arroyo, M. R. Optimization of a wall material formulation to microencapsulate a grape seed extract using a mixture design of experiments. *Food and Bioprocess Technology*:1–11, 2012.
- Deladino, L., Anbinder, P., Navarro, A. e Martino, M. Encapsulation of natural antioxidants extracted from *Ilex paraguariensis*. *Carbohydrate Polymers*, 71(1):126–134, 2008.
- Desai, K. e Park, H. Recent developments in microencapsulation of food ingredients. *Drying Technology*, 23(7):1361–1394, 2005.
- Diaz-Reinoso, B., Moure, A., Dominguez, H. e Parajo, J. C. Membrane concentration of antioxidants from *Castanea sativa* leaves aqueous extracts. *Chemical Engineering Journal*, 175:95–102, 2011.

- Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. e Smith, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical chemistry*, 28(3):350–356, 1956.
- Ersus, S. e Yurdagel, U. Microencapsulation of anthocyanin pigments of black carrot (*Daucus carota* L.) by spray drier. *Journal of Food Engineering*, 80(3):805–812, 2007.
- Fang, Z. e Bhandari, B. Encapsulation of polyphenols—a review. *Trends in Food Science & Technology*, 21(10):510–523, 2010.
- Fang, Z. e Bhandari, B. Effect of spray drying and storage on the stability of bayberry polyphenols. *Food Chemistry*, 129(3):1139–1147, 2011.
- Fang, Z. e Bhandari, B. Comparing the efficiency of protein and maltodextrin on spray drying of bayberry juice. *Food Research International*, 2012.
- Finney, J., Buffo, R. e Reineccius, G. Effects of type of atomization and processing temperatures on the physical properties and stability of spray-dried flavors. *Journal of Food Science*, 67(3):1108–1114, 2002.
- Frascareli, E., Silva, V., Tonon, R. e Hubinger, M. Effect of process conditions on the microencapsulation of coffee oil by spray drying. *Food and Bioproducts Processing*, 90(3):413 – 424, 2012.
- Gallardo, G., Guida, L., Martinez, V., López, M. C., Bernhardt, D., Blasco, R., Pedroza-Islas, R. e Hermida, L. G. Microencapsulation of linseed oil by spray drying for functional food application. *Food Research International*, 2013.
- Garcia-Alonso, F. J., Bravo, S., Casas, J., Perez-Conesa, D., Jacob, K. e Periago, M. J. Changes in antioxidant compounds during the shelf life of commercial tomato juices in different packaging materials. *Journal of agricultural and food chemistry*, 57(15):6815–6822, 2009.
- Georgé, S., Brat, P., Alter, P. e Amiot, M. Rapid determination of polyphenols and vitamin C in plant-derived products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(5):1370–1373, 2005.
- Gharsallaoui, A., Roudaut, G., Chambin, O., Voilley, A. e Saurel, R. Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food Research International*, 40(9):1107–1121, 2007.

- Giovanelli, G. e Paradiso, A. Stability of dried and intermediate moisture tomato pulp during storage. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(25):7277–7281, 2002.
- Gois Aquino, F., da Silva, M., Ratter, J. e Felipe, J. Distribuição geográfica das espécies *acrocomia aculeata* (jacq.) lodd. ex mart. e *caryocar brasiliense* cambess. no bioma do cerrado, 2008.
- Gomes, F. S., Costa, P. A., Campos, M. B., Tonon, R. V., Couri, S. e Cabral, L. Watermelon juice pretreatment with microfiltration process for obtaining lycopene. *International Journal of Food Science & Technology*, 48(3):601–608, 2013.
- Goula, A. M. e Adamopoulos, K. G. A new technique for spray drying orange juice concentrate. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 11(2):342–351, 2010.
- Goula, A. M., Karapantsios, T. D., Achilias, D. S. e Adamopoulos, K. G. Water sorption isotherms and glass transition temperature of spray dried tomato pulp. *Journal of Food Engineering*, 85(1):73–83, 2008.
- Gülçin, İ. Antioxidant activity of food constituents: an overview. *Archives of toxicology*, 86(3):345–391, 2012.
- Habert, A. C., Borges, C. P. e Nobrega, R. *Processos de separação por membranas*, volume 3. Editora E-papers, 2006.
- Hodge, B. T., J. E.; Hofreiter. Phenol-H₂SO₄ TEST. *Methods in Carbohydrate Chemistry*, 28(3):380, 1962.
- Hogan, S. A., McNamee, B. F., O Riordan, E. D. e O Sullivan, M. Emulsification and microencapsulation properties of sodium caseinate carbohydrate blends. *International Dairy Journal*, 11(3):137–144, 2001.
- Huang, D., Ou, B. e Ronald, L. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(6):1841–1856, 2005.
- IBGE. IBGE 2010. <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/> [último acesso em abril de 2011], 2010.
- Jafari, S., Assadpoor, E., He, Y. e Bhandari, B. Encapsulation efficiency of food flavours and oils during spray drying. *Drying Technology*, 26(7):816–835, 2008.

- Jaya, S. e Das, H. Glass transition and sticky point temperatures and stability/mobility diagram of fruit powders. *Food and Bioprocess Technology*, 2(1):89–95, 2009.
- Jorge, A. J., Garza, T. H. D. L., Alejandro, Z. C., Ruth, B. C. e NoÃ©, A. C. The optimization of phenolic compounds extraction from cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) skin in a reflux system using response surface methodology. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3(6):436 – 442, 2013.
- Krishnaiah, D., Sarbatly, R. e Nithyanandam, R. Microencapsulation of *Morinda citrifolia* L. extract by spray-drying. *Chemical Engineering Research and Design*, 90(5):622–632, 2012.
- Kurozawa, L. E., Morassi, A. G., Vanzo, A. A., Park, K. J. e Hubinger, M. D. Influence of spray drying conditions on physicochemical properties of chicken meat powder. *Drying Technology*, 27(11):1248–1257, 2009.
- Lakkis, J. *Encapsulation and controlled release technologies in food systems*. Wiley-Blackwell, 2007.
- Lima, A. Tese de doutorado em CiÃªncia de Alimentos. CaracterizaÃ§Ã£o quÃªmica, avaliaÃ§Ã£o da atividade antioxidante in vitro e in vivo, e identificaÃ§Ã£o dos compostos fenÃ³licos presentes no Pequi (*Caryocar brasiliense*, Camb.). Universidade de SÃ£o Paulo Faculdade de CiÃªncias FarmacÃªuticas., 2008.
- Lima, A., Silva, A., Trindade, R., Torres, R. e Mancini-Filho, J. ComposiÃ§Ã£o quÃªmica e compostos bioativos presentes na polpa e na amÃªndoa do pequi (*Caryocar brasiliense*, Camb.). *Revista Brasileira de Fruticultura*, 29(3):695–698, 2007.
- Lutz, I. A. *Normas AnalÃ©ticas do Instituto Adolfo Lutz*, 1985.
- Machado, M. T., Mello, B. C. e Hubinger, M. D. Study of alcoholic and aqueous extraction of pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) natural antioxidants and extracts concentration by nanofiltration. *Journal of Food Engineering*, (0):–, 2012.
- Machado, M. T. d. C. DissertaÃ§Ã£o de Mestrado em Engenharia de Alimentos. ConcentraÃ§Ã£o de extratos de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) por nanofiltrÃ§Ã£o. Universidade Estadual de Campinas Faculdade de Engenharia de Alimentos., 2011.
- Marques, L. C. PreparaÃ§Ã£o de extratos vegetais. *Jornal Brasileiro de Fitomedicina*, (2):74–76, 2005.

- Martins, G., dos Santos, A., Vilela, M. R., de Carvalho Ferreira, M., de Oliveira, W. P. e Moreira, R. D. Optimization of Extraction Conditions and Antioxidant Activity of *Solanum lycocarpum* Fruits. *Journal of Applied Sciences*, 13, 2013.
- Masters, K. Current market-driven spray drying development activities. *Drying technology*, 22(6):1351–1370, 2004.
- Mello, B., Petrus, J. e Hubinger, M. Desempenho do processo de concentração de extratos de própolis por nanofiltração. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 30(1):166–172, 2010^a.
- Mello, B. C., Petrus, J. C. C. e Hubinger, M. D. Concentration of flavonoids and phenolic compounds in aqueous and ethanolic propolis extracts through nanofiltration. *Journal of food engineering*, 96(4):533–539, 2010^b.
- Mello, B. C. B. d. S. Tese de doutorado em Engenharia de Alimentos. Extração de própolis em meio aquoso e concentração dos extratos por nanofiltração.. Universidade Estadual de Campinas Faculdade de Engenharia de Alimentos., 2013.
- Mosquera, L., Moraga, G. e Martínez-Navarrete, N. Critical water activity and critical water content of freeze-dried strawberry powder as affected by maltodextrin and arabic gum. *Food Research International*, 47(2):201–206, 2012.
- Munin, A. e Edwards-Lévy, F. Encapsulation of Natural Polyphenolic Compounds; a Review. *Pharmaceutics*, 3(4):793–829, 2011.
- Nijdam, J. e Langrish, T. The effect of surface composition on the functional properties of milk powders. *Journal of Food Engineering*, 77(4):919–925, 2006.
- Nwuha, V. Novel studies on membrane extraction of bioactive components of green tea in organic solvents: part I. *Journal of Food Engineering*, 44(4):233–238, 2000.
- Oliveira, M. d., Guerra, N., de Moura Barros, L. e Alves, R. *Aspectos agronômicos e de qualidade do pequi*. Embrapa Agroindústria Tropical, 2008.
- Park, Y. S., Ham, K.-S., Kang, S.-G., Park, Y.-K., Namiesnik, J., Leontowicz, H., Leontowicz, M., Ezra, A., Trakhtenberg, S. e Gorinstein, S. Organic and conventional kiwifruit, myths versus reality: antioxidant, antiproliferative, and health effects. *Journal of agricultural and food chemistry*, 60(28):6984–6993, 2012.

- Porto, C. d. S. Dissertação de mestrado em Ciências Biológicas. Potencial antioxidante de extratos obtidos a partir de frutos e folhas do pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.). Universidade Estadual de Montes Claros., 2008.
- Prior, R. L., Wu, X. e Schaich, K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(10):4290–4302, 2005.
- Prudêncio, A. P. A., Prudêncio, E. S., Amboni, R. D., Murakami, A. N. N., Maraschin, M., Petrus, J. C. C., Ogliari, P. J. e Leite, R. S. Phenolic composition and antioxidant activity of the aqueous extract of bark from residues from mate tree (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) bark harvesting concentrated by nanofiltration. *Food and Bioproducts Processing*, 90(3):399–405, 2012.
- Ré, I. M. Microencapsulation by spray drying. *Drying technology*, 16(6):1195–1236, 1998.
- Rattes, A. L. R. e Oliveira, W. P. Spray drying conditions and encapsulating composition effects on formation and properties of sodium diclofenac microparticles. *Powder Technology*, 171(1):7–14, 2007.
- Reineccius, G. *Microencapsulation of food ingredients*. Surrey: Leatherhead Publishing, 2001.
- Reineccius, G. A. Flavor encapsulation. *Food Reviews International*, 5(2):147–176, 1989.
- Rocha, G. A. Produção, caracterização, estabilidade e aplicação de microcápsulas de licopeno. Universidade Estadual de Campinas Faculdade de Engenharia de Alimentos., 2009.
- Rocha, M., da Rocha, T., Aguiar, J. e Junqueira, N. Dinâmica da produção extrativista de pequi no Brasil. II Simpósio Internacional de Savanas Tropicais, 2008.
- Roesler, R., Catharino, R. R., Malta, L. G., Eberlin, M. N. e Pastore, G. Antioxidant activity of *Caryocar brasiliense* (pequi) and characterization of components by electrospray ionization mass spectrometry. *Food Chemistry*, 110(3):711–717, 2008.

- Roesler, R., Malta, L., Carrasco, L., Holanda, R., Sousa, C. e Pastore, G. Atividade antioxidante de frutas do cerrado. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 27(1):53–60, 2007.
- Roos, Y. H. *Phase transitions in foods*. Academic Press, 1995.
- Roos, Y. H. Importance of glass transition and water activity to spray drying and stability of dairy powders. *Le Lait*, 82(4):475–484, 2002.
- Rosenberg, M., Kopelman, I. J. e Talmon, Y. A scanning electron microscopy study of microencapsulation. *Journal of Food Science*, 50(1):139–144, 1985.
- Rufino, M. *Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pelo método de redução do ferro (FRAP)*. Embrapa Agroindústria Tropical, 2006.
- Rufino, M. *Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH*. Embrapa Agroindústria Tropical, 2007.
- Saéñz, C., Tapia, S., Chávez, J. e Robert, P. Microencapsulation by spray drying of bioactive compounds from cactus pear (*Opuntia ficus-indica*). *Food Chemistry*, 114(2):616–622, 2009.
- Santos, P., Porto, A., da Silva, F. e de Figueiredo Furtado, G. Avaliação físico química e sensorial do Pequi (*Caryocar brasiliensis* Camb.) submetido à desidratação, 2010.
- Schieber, A., Keller, P. e Carle, R. Determination of phenolic acids and flavonoids of apple and pear by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 910(2):265–273, 2001.
- Schuck, P., Jeantet, R. e Dolivet, A. *Analytical methods for food and dairy powders*. Wiley-Blackwell, 2012.
- Sekhon-Loodu, S., Warnakulasuriya, S. N., Vasantha Rupasinghe, H. e Shahidi, F. Antioxidant ability of fractionated apple peel phenolics to inhibit fish oil oxidation. *Food Chemistry*, 2013.
- Sellappan, S., Akoh, C. e Krewer, G. Phenolic compounds and antioxidant capacity of Georgia-grown blueberries and blackberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(8):2432–2438, 2002.

- Shahidi, F., Alasalvar, C. e Liyana-Pathirana, C. M. Antioxidant phytochemicals in hazelnut kernel (*Corylus avellana* L.) and hazelnut byproducts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(4):1212–1220, 2007.
- Shahidi, F. e Han, X.-Q. Encapsulation of food ingredients. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 33(6):501–547, 1993.
- Shahidi, F. e Naczk, M. *Phenolics in Food and Nutraceuticals*. CRC Press, 2004.
- Shu, B., Yu, W., Zhao, Y. e Liu, X. Study on microencapsulation of lycopene by spray-drying. *Journal of food engineering*, 76(4):664–669, 2006.
- Silva, P. I. Dissertação de Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Otimização da extração e microencapsulamento de polifenóis e antocianinas de jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*). Universidade Federal de Viçosa, 2011.
- Swain, T. e Hillis, W. The phenolic constituents of *Prunus domestica*. The quantitative analysis of phenolic constituents. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 10(1):63–68, 1959.
- Sweedman, M. C., Tizzotti, M. J., Schäfer, C. e Gilbert, R. G. Structure and physicochemical properties of octenyl succinic anhydride modified starches: a review. *Carbohydrate polymers*, 2012.
- TACO. Unicamp - Tabela de Composição dos alimentos. <http://www.unicamp.br/nepa/taco/tabela> [último acesso em maio de 2011], 2010.
- Telis, V. R. N. *Biopolymer engineering in food processing*. Taylor & Francis, 2011.
- Tonon, R. V. Tese de doutorado em Engenharia de Alimentos. Secagem por atomização do suco de açaí: Influência das variáveis de processo, qualidade e estabilidade do produto. Universidade Estadual de Campinas Faculdade de Engenharia de Alimentos., 2009.
- Tonon, R. V., Baroni, A. F., Brabet, C., Gibert, O., Pallet, D. e Hubinger, M. D. Water sorption and glass transition temperature of spray dried açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) juice. *Journal of Food Engineering*, 94(3):215 – 221, 2009.
- Tonon, R. V., Brabet, C. e Hubinger, M. D. Influence of process conditions on the physicochemical properties of açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) powder produced by spray drying. *Journal of Food Engineering*, 88(3):411 – 418, 2008.

Yan, H. e Zhengbiao, G. Morphology of modified starches prepared by different methods. *Food Research International*, 43(3):767–772, 2010.

Zuidam, N. e Nedović, V. *Encapsulation technologies for active food ingredients and food processing*. Springer Verlag, 2009.