

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
DEPARTAMENTO DE PLANEJAMENTO ALIMENTAR E NUTRIÇÃO**

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E ESTABILIDADE DE
SUCO DE ACEROLA VERDE MICROENCAPSULADO POR
ATOMIZAÇÃO E LIOFILIZAÇÃO**

Andréa Mara Righetto

**Campinas/SP
2003**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA F.E.A. – UNICAMP

R449c Righetto, Andréa Mara
Caracterização físico-química e estabilidade de suco de acerola verde microencapsulado por atomização e liofilização / Andréa Mara Righetto. – Campinas, SP: [s.n.], 2003.

Orientador: Flavia Maria Netto
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1.Acerola. 2.Microencapsulação. 3.Estabilidade. 4.Goma arábica. I.Netto, Flavia Maria. II.Universidade Estadual de Campinas.Faculdade de Engenharia de Alimentos. III.Título.

ANDRÉA MARA RIGHETTO

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E ESTABILIDADE DE
SUCO DE ACEROLA VERDE MICROENCAPSULADO POR
ATOMIZAÇÃO E LIOFILIZAÇÃO**

Profa. Dra. Flavia Maria Netto
Orientadora

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da
Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do título de
Doutor em Ciência da Nutrição.

Campinas/SP
2003

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Flavia Maria Netto
Orientadora

Prof. Dr. Ronaldo Pitombo
Membro

Dra. Maria Inês Ré
Membro

Prof. Dr. Carlos Raimundo Grosso
Membro

Profa. Dra. Hilary Castle Manazes
Membro

Profa. Miriam Duprat
Membro

Profa. Dra. Helena Teixeira Godoy
Membro

Campinas, de de 2003.

**Nunca meça a altura de uma montanha antes de chegar ao seu cume,
Aí você verá como ela era baixa.**

Dag Hammarskjöld

Ao querido Mestre Marasathaiwan, por me mostrar o
grande milagre e a magia que é a vida.

A todos os amigos da Harmonia que compartilham comigo
os bons e maus momentos, tendo sempre como objetivo
a busca e a partilha de um significado maior para a vida.

A minha italianíssima família, em especial a D. Arlete,
por segurar todas as barras,

Dedico

AGRADECIMENTOS

Ã Professora Flavia Maria Netto, por sua dedicação, paciência, persistência e principalmente amizade.

Aos Professores Carlos Raimundo Grosso, Hilary Castle Menezes, Débora Tavares, pelas sugestões e trocas de idéias.

A todos os funcionários do DEPAN, em especial ao Chico, Beth, Eliana e Gustavo, pela colaborao e amizade.

Aos amigos Vilene, Rita, Kátia, Ana Cláudia, Yolanda, Flávio, Andreia, Rose, Snia, Vera, Cristina, Helenice, Maria Helena, Camila, pelo bom humor, colaborao e solidariedade.

A todos que colaboraram direta e indiretamente durante a elaborao deste trabalho.

A empresa Anidro S/A por ceder a matéria prima para a realizao deste estudo.

Ao CNPQ pela concessão da bolsa de doutorado.

Ã FAPESP por financiar o projeto,

ÍNDICE

RESUMO	xi
ABSTRACT	xiv
INTRODUÇÃO.....	1
OBJETIVOS GERAIS.....	3
CAPÍTULO 1 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
1.1. ACEROLA.....	4
1.2. VITAMINA C	8
1.2.1. PROPRIEDADES ANTIOXIDANTES DA VITAMINA C	10
1.2.2. ESTABILIDADE DO ÁCIDO ASCÓRBICO.....	12
1.2.3. MECANISMOS DE DEGRADAÇÃO DA VITAMINA C	15
1.3. COMPOSTOS FENÓLICOS.....	21
1.3.1. ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE COMPOSTOS FENÓLICOS	23
1.4. MICROENCAPSULAÇÃO.....	27
1.4.1. MICROENCAPSULAÇÃO POR DESIDRATAÇÃO	30
1.5. AGENTES ENCAPSULANTES	32
1.5.1. MALTODEXTRINAS.....	34
1.5.2. GOMA ARÁBICA	38
1.6. ALTERAÇÕES FÍSICO-QUÍMICAS EM PRODUTOS DESIDRATADOS	41
1.7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	49

**CAPÍTULO 2 - CARACTERIZAÇÃO FÍSICO – QUÍMICA E ATIVIDADE
ANTIOXIDANTE DO SUCO INTEGRAL E CONCENTRADO DE
ACEROLA**

2.1. RESUMO.....	60
2.2. INTRODUÇÃO.....	61
2.3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	64
2.3.1. MATERIAIS.....	64
2.3.1.1. MATÉRIA PRIMA.....	64
2.3.1.2 REAGENTES.....	65
2.3.2. MÉTODOS.....	65
2.3.2.1. DETERMINAÇÃO DO PH.....	65
2.3.2.2. DETERMINAÇÃO DO TEOR DE SÓLIDOS.....	65
2.3.2.3. CARACTERIZAÇÃO DOS AÇÚCARES.....	67
2.3.2.4. DETERMINAÇÃO DO TEOR DE VITAMINA C.....	67
2.3.2.5. CARACTERIZAÇÃO DOS ÁCIDOS ORGÂNICOS.....	67
2.3.2.6. DETERMINAÇÃO DO TEOR DE FENÓIS TOTAIS.....	68
2.3.2.7. CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS.....	68
2.3.2.8. ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.....	69
2.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	70
2.4.1. CARACTERIZAÇÃO DOS SUCOS.....	70
2.4.2. ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DOS SUCOS.....	78
2.5. CONCLUSÃO.....	82
2.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	83

**CAPÍTULO 3 - EFEITO DA MISTURA DE MALTODEXTRINA E GOMA ARÁBICA NAS
CARACTERÍSTICAS DE MICROENCAPSULADOS DE SUCO DE ACEROLA VERDE
PRODUZIDOS POR ATOMIZAÇÃO E LIOFILIZAÇÃO**

3.1. RESUMO	88
3.2. INTRODUÇÃO	89
3.3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	91
3.3.1. MATERIAIS	91
3.3.1.1. SUCO CONCENTRADO DE ACEROLA VERDE	91
3.3.1.2. ENCAPSULANTES:	91
3.3.1.3. REAGENTES	91
3.3.2. OBTENÇÃO DOS ENCAPSULADOS	92
3.3.2.1. ATOMIZAÇÃO.....	92
3.3.2.2. LIOFILIZAÇÃO	92
3.3.2.3. FORMULAÇÕES	92
3.3.3. CARACTERIZAÇÃO DOS ENCAPSULADOS	93
3.3.3.1. UMIDADE.....	93
3.3.3.2. ATIVIDADE DE ÁGUA (AA)	93
3.3.3.3. DETERMINAÇÃO DO TEOR DE VITAMINA C	94
3.3.3.4. MICROSCOPIA ÓTICA (MO)	94
3.3.3.5. MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV).....	94
3.3.3.6. DISTRIBUIÇÃO DO TAMANHO DAS MICROCAPSULAS	95
3.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	95
3.4.1. CARACTERÍSTICAS DOS ENCAPSULADOS	95
3.4.2. MORFOLOGIA DOS ENCAPSULADOS	98
3.5. CONCLUSÕES	113
3.6. REFERÊNCIAS BIBLIGRÁFICAS.....	113

**CAPÍTULO 4 - EFEITO DO ENCAPSULANTE E DO MÉTODO DE OBTENÇÃO NAS
CARACTERÍSTICAS DE SORÇÃO DE ÁGUA E NA TEMPERATURA DE TRANSIÇÃO
VÍTREA DE MICROENCAPSULADOS DE SUCO DE ACEROLA VERDE**

4.1. RESUMO	117
4.2. INTRODUÇÃO	118
4.3. MATERIAIS E MÉTODOS	121
4.3.1. MATERIAIS	121
4.3.1.1. SUCO CONCENTRADO DE ACEROLA VERDE	121
4.3.1.2. ENCAPSULANTES:	121
4.3.1.3. REAGENTES:	121
4.3.2. OBTENÇÃO DOS ENCAPSULADOS	121
4.3.2.1. ATOMIZAÇÃO (S)	121
4.3.2.2. LIOFILIZAÇÃO (L)	122
4.3.2.3. FORMULAÇÕES	122
4.3.3. TEMPERATURA DE TRANSIÇÃO VÍTREA.....	122
4.3.4. ISOTERMAS DE SORÇÃO	123
4.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	124
4.4.1. ISOTERMAS DE SORÇÃO DE ÁGUA.....	124
4.4.2. TEMPERATURA DE TRANSIÇÃO VÍTREA ()	137
4.5. CONCLUSÃO	139
4.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	140

**CAPÍTULO 5 - EFEITO DOS ENCAPSULANTES NA ESTABILIDADE
DE ENCAPSULADOS DE SUCO DE ACEROLA VERDE E ÁCIDO ASCÓRBICO
SINTÉTICO**

5.1. RESUMO.....	143
5.2. INTRODUÇÃO	144
5.3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	149
5.3.1. PRODUÇÃO DE ENCAPSULADOS	149
5.3.1.1. SUCO CONCENTRADO DE ACEROLA VERDE	149
5.3.1.2. ÁCIDO ASCÓRBICO SINTÉTICO	149
5.3.1.3. ENCAPSULANTES:	149
5.3.2. REAGENTES:	149
5.3.3. OBTENÇÃO DOS ENCAPSULADOS	149
5.3.3.1. ATOMIZAÇÃO.....	149
5.3.3.2. FORMULAÇÃO.....	150
5.3.4. ESTUDO DE ESTABILIDADE.....	150
5.3.5. ESCURECIMENTO NÃO ENZIMÁTICO.....	151
5.3.6. TEOR DE VITAMINA C	151
5.3.7. TEMPERATURA DE TRANSIÇÃO VÍTREA.....	151
5.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	152
5.4.1. RETENÇÃO INICIAL DE VITAMINA C	152
5.4.2. RETENÇÃO DE VITAMINA C DURANTE A ESTOCAGEM	153
5.4.3. ESCURECIMENTO NÃO ENZIMÁTICO.....	161
5.4.4. RELAÇÃO ENTRE DEGRADAÇÃO DE VITAMINA C E ESCURECIMENTO NÃO ENZIMÁTICO.....	167
5.5.5. EFEITO DA TEMPERATURA.....	168
5.5. CONCLUSÕES	171
5.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	172
CONCLUSÕES GERAIS.....	177

RESUMO

A acerola é uma fruta tropical, cujo principal atrativo é o alto teor de vitamina C que apresenta. O teor de vitamina C da fruta decresce com a maturação, mas não há estudos na literatura que explorem o potencial da acerola verde como matéria prima de produtos com alta concentração desta vitamina. O presente trabalho objetivou a produção, a caracterização físico-química e a verificação da estabilidade do suco de acerola verde microencapsulado por atomização e liofilização utilizando diferentes proporções de goma arábica e maltodextrina DE 20 como agentes encapsulantes.

No início dos estudos caracterizou-se o suco de acerola verde concentrado, comparando-o ao suco de acerola verde e da acerola madura e verificou-se o potencial antioxidante dos três sucos. O suco de acerola verde concentrado apresentou a maior concentração de vitamina C, 4,9%, e compostos fenólicos, 9,2 mg/g de suco. Os três sucos estudados apresentaram atividade antioxidante. O suco concentrado apresentou a maior atividade antioxidante, reduzindo em 57,2% a oxidação do metil linolato. O suco de acerola madura diminuiu em 44,7% a oxidação do metil linolato, uma redução maior que a apresentada pelo suco de acerola verde, 28,1%. Não houve correlação entre o teor de fenóis totais nos sucos estudados e a atividade antioxidante. O alto teor de vitamina C bem como a alta atividade antioxidante do suco concentrado de acerola verde indicam que este produto pode ser uma matéria-prima interessante para a elaboração de produtos com características de alimento funcional, onde o sabor e o aroma característicos da fruta madura são dispensáveis.

Com o objetivo de aumentar a estabilidade deste produto ao armazenamento, em especial da vitamina C, o suco da acerola verde foi microencapsulado utilizando-se dois

processos, liofilização e atomização. Maltodextrina DE 20 (M), goma arábica (G) e a mistura destes em diferentes proporções foram utilizadas como agentes encapsulantes. As diferentes formulações do material encapsulante resultaram em diferentes retenções de vitamina C, sendo que a formulação com maior proporção de maltodextrina apresentou a melhor retenção (37,5%M+12,5%G), 80%, e a menor retenção foi apresentada pela formulação com igual proporção de goma arábica e maltodextrina (25%M+25%G), 65%. A maior retenção de vitamina C, foi obtida no processo de atomização. As partículas produzidas por liofilização mostraram formas complexas e tamanhos variados devido à moagem a que os produtos foram submetidos. O processo de atomização produziu microcápsulas globosas com predomínio de superfícies rugosas e com paredes formadas por uma matriz sólida sem poros. Através da análise do tamanho de partícula verificou-se que as formulações com predomínio de maltodextrina apresentaram um diâmetro de partícula médio inferior aos apresentados pelas formulações com predomínio de goma arábica.

As isotermas de sorção dos encapsulados obtidos por atomização e liofilização, nas temperaturas de 25°, 35° e 45°C mostraram uma faixa crítica de atividade de água, entre 0,33 e 0,43, onde todos os encapsulados, independente da formulação utilizada apresentaram modificações físicas. Um maior escurecimento foi observado nos microencapsulados produzidos por liofilização e também nas formulações com predomínio de goma arábica. Os agentes encapsulantes estudados apresentaram temperaturas de transição vítrea (Tg) similares nas mesmas atividades de água (Aa), resultando em microencapsulados com temperaturas de transição vítrea também similares. Em Aa 0,43 a Tg dos microencapsulados foi próxima a temperatura ambiente. A formulação contendo 50%G apresentou a maior Tg, 34°C, enquanto as formulações 25%M+25%G e 50%M

encapsulados por liofilização apresentaram as menores Tg, 26 e 25°C, respectivamente. O colapso dos microencapsulados foi observado em temperaturas 20° C acima da Tg.

Os microencapsulados produzidos por atomização, que reuniram as melhores características físico-químicas, 37,5%M+12,5%G, 37,5%G+12,5%M e 50%M, foram avaliados quanto à estabilidade e comparados com ácido ascórbico sintético microencapsulado nas mesmas condições e com o suco de acerola liofilizado sem a adição de encapsulantes.

Os encapsulados de ácido ascórbico sintético (AA) apresentaram retenção inicial de vitamina C entre 8 e 15% menor que os encapsulados do suco de acerola. A cinética de degradação da vitamina C nos encapsulados seguiu o modelo cinético de primeira ordem, enquanto o escurecimento não enzimático seguiu um modelo cinético de ordem zero. Ambas apresentaram um período lento, seguido por um período com reação com constante de velocidade maior. As constantes de velocidade, tanto para a reação de degradação da vitamina C quanto para o escurecimento enzimático, foram similares para todas as formulações dos agentes encapsulantes. As três formulações estudadas apresentaram comportamentos similares, proporcionando proteção ao ácido ascórbico sintético e também à vitamina C do suco de acerola verde. Em temperaturas mais elevadas, 35° e 45° C, no entanto, os microencapsulados de suco de acerola verde foram mais estáveis que os microencapsulados de ácido ascórbico sintético, sugerindo assim um efeito protetor dos compostos fenólicos presentes no suco à vitamina C. O estudo realizado demonstrou que o suco de acerola verde microencapsulado é um produto interessante para ser utilizado como fonte natural de vitamina C e de compostos fenólicos.

Palavras-chave: Acerola, vitamina C, compostos fenólicos, microencapsulação, estabilidade, temperatura de transição vítrea, isoterma de sorção.

ABSTRACT

The West Indian cherry is a tropical fruit which the main attraction is its high content of vitamin C. During the maturation process, the vitamin C content decreases significantly, but there are no studies in which the unripe West Indian cherry was investigated as potential raw material for products with high content of vitamin C. The purpose of this research was to characterize the unripe West Indian cherry juice, and to produce and characterize microencapsulated unripe West Indian cherry juice produced out of spray and freeze drying, as well the use of different proportions of arabic gum and maltodextrin DE 20 as encapsulating agents.

Unripe West Indian cherry concentrated juice, unripe West Indian cherry, and ripe West Indian cherry juice, were characterized and the antioxidant activity was studied. The unripe West Indian cherry concentrated juice presented the higher vitamin C concentration, 4,9%, and phenolics content, 9,2 mg/g of juice. The three juices studied presented antioxidant activity. The concentrated juice presented the highest antioxidant activity, reducing to 57,2% the methyl linoleate oxidation. No correlation was observed between the content of total phenolics the antioxidant activity. The unripe West Indian cherry concentrated juice showed characteristics, which are interesting for the elaboration of products with functional food characteristics.

In order to improve the storage stability and protect the vitamin C, the unripe West Indian cherry juice was microencapsulated by freeze and spray drying, using maltodextrin DE 20 (M), arabic gum (G) and the mixture of both in different proportions, as coating material. Different coating material formulations resulted in different vitamin C retention

for the both processes studied. The formulation with higher proportion of maltodextrin presented the best retention (37,5%M+12,5%G), 80%, and the lowest was presented by formulation with equal proportion of arabic gum and maltodextrin (25%M+25%G), 65%. The spray and freeze drying led to products with different morphological characteristics, as well with different vitamin C retention, the spray drying showed higher values than the freeze drying process. The spray drying process produced spherical microcapsules which have displayed dented surface and walls as solid matrix without voids. By the particle size distribution analysis, it was verified that the encapsulates with higher amount of maltodextrin presented an average particle diameter lower than the encapsulated with predominance of arabic gum.

The moisture sorption isotherms determined at 25°, 35° and 45°C showed a critical water activity, between 0,33 and 0,43, where all the encapsulates presented physical modification. Browning was more intense in powders produced out of freeze drying and in formulations with prevalence of arabic gum. The both core material studied presented similar glass transition temperature (Tg), at the same water activity (Aw), hence the microencapsulated juice, independently of the core composition, showed a similar Tg. At Aw 0,43, all the microencapsulated studied showed Tg close to ambient temperature. The formulation containing 50%G, presented the highest Tg, 34°C, while the 25%M+25%G formulation and 50%M encapsulated by freeze drying presented the lowest Tg, 26 and 25°C, respectively. The collapse of microencapsulates was observed at temperature 20°C above the Tg. The stability of the microencapsulated juice produced out of spray drying, which presented the best physical-chemical characteristics, 37,5%M+12,5%G, 37,5%G+12,5%M and 50%M, were evaluated and compared to synthetic microncapsulated ascorbic acid and with freeze dried West Indian cherry juice, at the same storage condition.

The encapsulated synthetic acid ascorbic (AA) presented initial vitamin C retention between 8 and 15%, lower than the encapsulated unripe West Indian cherry juice. The kinetic of degradation of vitamin C in encapsulates followed first-order model, while the nonenzymatic browning a zero-order model. The different proportions of arabic gum and maltodextrin used as coating material resulted in similar rate constant, for the vitamin C degradation and for nonenzymatic browning. The three formulation tested, provided similar protection for the encapsulated synthetic ascorbic acid and also for the vitamin C of encapsulated unripe West Indian cherry juice. At higher temperatures, 35° and 45° C, the encapsulated unripe West Indian cherry juice was more stable than the encapsulated synthetic ascorbic acid, suggesting a protective effect of phenolic compounds on vitamin C. The results indicated that microencapsulated unripe West Indian cherry juice is an interesting product to be used as natural source of vitamin C and phenolic compounds.

Key words: West Indian cherry, vitamin C, phenolic compound, micro encapsulation, stability, glass transition, and sorption moisture isotherms.

INTRODUÇÃO

Presente no Brasil desde 1956 (Oliva *et al.*,1996), nos últimos anos o suco da acerola tem conquistado uma ampla aceitação no mercado mundial, principalmente Japão e Estados Unidos, sendo utilizado como fonte de vitamina C natural, misturado a diversos produtos, com infinitas possibilidades de aplicação (Korgo,1996).

O Brasil vem se destacando como exportador de acerola, sendo que em 1995 o volume de exportação chegou a mais de 5000 t, seja na forma de polpa, suco integral ou fruta congelada (Oliva *et al.*, 1996).

Além da fruta e da polpa, o pó da acerola apresenta um grande interesse nutricional. Leme *et al.* (1972) obtiveram, através de liofilização, um pó de acerola vermelha com cerca de 11% de vitamina C.

O conteúdo de ácido ascórbico decresce com a maturação da acerola. Itoo *et al.* (1990), constataram a redução do teor de vitamina C em acerolas produzidas em 3 regiões distintas do Japão. Nos frutos verdes o teor de ácido ascórbico foi 2150, 2775 e 3200 mg em 100 g de frutos, reduzindo-se para 1455,1755 e 1825 mg em 100 g de frutos completamente maduros. Resultados semelhantes foram encontrados por Carvalho e Manica (1994), onde os frutos verdes apresentavam 3096 mg/100g de frutos e as maduras cerca de 1201 mg/100g de frutos. Neste experimento apenas o congelamento das frutas manteve inalterado o teor inicial de vitamina C após 40 dias de armazenamento. Sob refrigeração, o conteúdo de vitamina C diminuiu significativamente em 20 dias de armazenamento e a temperatura ambiente, os frutos maduros apresentaram condições de consumo por apenas 5 dias e os verdes por 7 dias.

Podemos considerar então, a produção de pó de acerola a partir de frutos verdes, como forma de obter um produto com alto teor de vitamina C, cujas propriedades antioxidantes e anti-imunodepressivas no organismo humano, aumenta seu interesse a cada dia (Bates, 1981).

Provavelmente a vitamina mais amplamente adicionada aos alimentos é a vitamina C. O ácido ascórbico é uma vitamina hidrossolúvel, essencial para a saúde humana, cuja propriedade de sequestrar radicais livres, assim como do β -caroteno e do α -tocoferol tem sido continuamente difundidas (Giese, 1995).

O ácido ascórbico é adicionado e ingerido, com dois diferentes propósitos: como suplemento vitamínico, reforçando a ingestão diária de vitamina C e, como antioxidante, protegendo as qualidades sensoriais e nutricionais do alimento (Kirby et al., 1991).

O consumo da vitamina C como suplementação ocorre principalmente pela ingestão de cápsulas e comprimidos efervescentes, mas há um mercado potencial de enriquecimento de alimentos, principalmente na formulação de sucos em pó, bebidas isotônicas e outros produtos de frutas, como sorvetes, doces e geléias.

O crescimento do interesse do consumidor na ligação entre dieta e saúde tem causado uma grande demanda de informação e produtos. Entre os fatores que aceleram o interesse nos alimentos funcionais estão: os avanços na ciência e tecnologia, o aumento dos gastos destinados à saúde, o envelhecimento da população, e um maior enfoque nos benefícios atingidos através da dieta.

Um produto deste tipo pode ser enquadrado dentro de uma classe de alimentos que vem sendo discutida atualmente, são os denominados alimentos funcionais. Genericamente estes alimentos podem ser definidos como aqueles com um possível impacto sobre a saúde

individual, o desempenho físico, ou estado da mente em adição ao seu valor nutritivo normal (Giese, 1995).

O Japão é o país que mais tem trabalhado com produtos desta categoria, onde definem-se três condições básicas para um alimento ser considerado funcional: este alimento deve ser derivado de um produto que ocorra na natureza; pode e deve ser consumido como parte da dieta diária; e deve ter uma função particular quando ingerido, como o melhoramento do mecanismo de defesa do organismo, prevenção de uma doença em particular, ou diminuição do processo de envelhecimento (Goldberg, 1994, citado por Giese, 1995).

Assim, torna-se interessante a produção de pó de acerola verde, como forma de acentuar o conteúdo natural de vitamina C da fruta, potencializando seu uso como alimento funcional, além da utilização de uma matéria prima alternativa, uma vez que frutas com diferentes graus de maturação coexistem em cada planta. A desidratação proporciona ainda um aumento na estabilidade, proporcionando maior facilidade no manuseio e no armazenamento.

OBJETIVOS GERAIS

O presente estudo tem por objetivos:

- ◆ Avaliar a composição físico-química e o potencial antioxidante do suco concentrado de acerola verde.
- ◆ Avaliar as características de encapsulados de suco de acerola verde produzidos por atomização e liofilização.
- ◆ Avaliar as características resultantes do uso de diferentes agentes encapsulantes.
- ◆ Avaliar a estabilidade dos encapsulados sob diferentes condições de armazenamento, comparando-os a encapsulados produzidos com ácido ascórbico sintético.

CAPÍTULO 1

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1. ACEROLA

A acerola é uma planta originária da América Central que tem sido propagada pela América do sul, incluindo o Brasil, devido a sua boa adaptação ao solo e ao clima. Sua importância nutricional está relacionada principalmente ao alto teor de vitamina C (Vendramini e Trugo, 2000). De acordo com Carvalho e Manica (1994) e Araújo e Minami (1994) cada 100 g de polpa contém de 1000 a 2500 mg de vitamina C, teor comparável apenas ao camu-camu, uma fruta nativa da Amazônia, que apresenta cerca de 2950 mg de vitamina C, em cada 100g de polpa integral (Andrade *et al.*, 1991)

Atualmente a acerola vem sendo produzida em vários estados brasileiros, como Pará, Bahia, Amazonas, São Paulo, Paraná, entre outros. O Paraná apresenta a maior área plantada do país, com cerca de 1000 hectares em plena produção, a seguir São Paulo, com 350 hectares e, nos demais estados do nordeste o plantio varia entre 300 e 600 hectares. Em vários estados brasileiros, o plantio de acerola vem recebendo o incentivo de empresários interessados em implantar unidades de processamento da fruta, e a cultura vem sendo uma alternativa para o pequeno e médio produtor, disputando áreas utilizadas no cultivo de produtos tradicionais (Visanteiner et al., 1997).

Na TABELA 1 pode-se observar o teor de ácido ascórbico em frutos de acerola produzidos em diversas localizações geográficas. Os resultados destoantes de frutos oriundos da Guatemala deve-se, possivelmente, a altitude onde os pomares estão

localizados. A composição química do fruto é dependente de uma série de fatores, como a espécie cultivada, condições ambientais e também do estágio de maturação da fruta.

Tabela 1 – Conteúdo de vitamina C em frutos de acerola, oriundos de diferentes países.

Fonte Bibliográfica	País de origem Dos frutos	Espécie Botânica	Vitamina C * (mg/100g)
Asenjo e Gusmán (1946)	Porto Rico	M. puncifolia	2247
Luiz <i>et al.</i> (1946)	Cuba	M. glabra	956
Mustard (1946)	Flórida	M. puncifolia	1317
Jaffe <i>et al.</i> (1950)	Venezuela	M. puncifolia	1130
Munsell <i>et al.</i> (1950a)	Guatemala	M. glabra	15
Munsell <i>et al.</i> (1950b)	Guatemala	M. glabra	16
Cravioto (1951)	México	M. puncifolia	2520
Cravioto <i>et al.</i> (1951)	México	M. glabra	125
Leme Jr. (1951)	Brasil	M. glabra	560 – 1540
Gusmán (1953)	Guatemala	M. glabra	26
Floch e Gelard (1955)	Guiana Francesa	M. puncifolia	1759
Massien <i>et al.</i> (1955)	México	M. puncifolia	1900
Asenjo (1956)	Haiti	M. puncifolia	1180
Asenjo e Santmaria (s.d.)	Colômbia	M. puncifolia	1100
Fitting e Miller (1958)	Havaí	M. puncifolia	1945
Brune <i>et al.</i> (1966)	Brasil	M. glabra	1570
Brown (1967)	Queensland	M. glabra	1625
Fonseca <i>et al.</i> (1969)	Brasil	M. puncifolia	1975
Leme Jr. <i>Et al.</i> (1973)	Brasil	M. puncifolia	1050
Alves (1993)	Brasil	M. emarginata	1021 - 1822

Fonte: Araújo e Minami (1994)

* Vitamina C determinada na polpa de frutos parcialmente maduros

A determinação da composição centesimal, mineral e vitamínica da acerola foi realizada por Miller *et al.* (1961), que analisaram lotes mistos de acerola. Os resultados são apresentados na TABELA 2. Além da vitamina C, a acerola possui outras vitaminas, mas em pequena quantidade. Os autores consideraram a acerola uma fonte pobre de vitaminas do complexo B e uma fonte regular de vitamina A. Quanto ao teor de minerais também não foi considerada uma fonte importante.

Além dos ácidos ascórbico e dehidroascórbico, a acerola possui outros ácidos orgânicos. Asenjo (1980), relata que a acidez total presente no suco de frutos maduros foi de 81,6 a 188,5 ml de NaOH 0,1 N em 100 ml de suco e de 133,8 a 208,4 ml em suco de frutos parcialmente maduros. A acidez do suco variou proporcionalmente ao ácido

ascórbico presente, mas não de forma linear, provavelmente devido a presença de outros ácidos, em particular o ácido málico. Santini (1952), citado por Asenjo (1980), determinou que o ácido málico constitui de 25 a 50% dos ácidos totais presentes na acerola. O ácido cítrico foi encontrado apenas como traço, e o ácido tartárico não havia sido detectado até então. Estes ácidos orgânicos tem um papel importante no metabolismo geral de frutas, participando da síntese de compostos fenólicos, lipídeos e compostos voláteis, apresentando também um papel fundamental no sabor característico das frutas (Ulrich, 1970).

Tabela 2 – Composição da acerola em 100 g de polpa.

Composição aproximada	Em gramas
Água	91,10
Proteína	0,68
Extrato etéreo	0,19
Fibra bruta	0,60
Cinzas	0,45
Carboidratos*	6,98
Minerais	Em miligramas
Cálcio	8,7
Fósforo	16,2
Ferro	0,17
Vitaminas	Em miligramas
Caroteno	0,408
Tiamina	0,028
Riboflavina	0,078
Niacina	0,34
Ácido ascórbico	2329

Fonte: Miller *et al.* (1961)

* obtido por diferença

Quanto ao conteúdo de açúcares, Asenjo (1980), utilizando técnicas cromatográficas, verificou a presença de glicose, frutose e sacarose. Quanto ao teor de açúcares totais, Alves *et al.* (1995) encontraram teores entre 2,5 a 3,3%, para a acerola ainda verde, enquanto o teor encontrado para acerolas maduras chegou a 5%. Manica e Carvalho (1995) reportam valores mais próximos, 4,5% para acerola verde e 4,7% para a

acerola madura, o mesmo ocorrendo com Vendramini e Trugo (2000) que encontraram 4,3% de açúcares totais para a acerola verde e 4,4% para a acerola madura.

O amadurecimento da fruta envolve uma série de reações bioquímicas complexas, como hidrólise de amido, conversão de cloroplastos em cromoplastos com a transformação da clorofila, produção de carotenóides, antocianinas, fenóis e compostos voláteis (Speirs e Brady, 1991, citados por Vendramini e Trugo, 2000), resultando em uma fruta delicada, difícil de ser transportada e manuseada.

Guadarrama (1984) relata algumas características, apresentadas na TABELA 3, que auxiliam na determinação do estágio de maturação do fruto. A medida que o fruto amadurece ocorre uma diminuição no conteúdo de clorofila total do fruto, acentuando-se quando ocorre a passagem do estágio “ em desenvolvimento” para o “de vez”, quando esta redução chega a 50%. A mudança da coloração dos frutos do verde ao vermelho púrpura deve-se a presença de antocianina que no estágio de plena maturação foi identificada como malvina (Santini e Huyke, 1956, citados por Araújo e Minami, 1994).

Tabela 3 – Caracterização do desenvolvimento em frutos de acerola.

Estágios	Cor da epiderme	Textura
Em desenvolvimento	Verde	muito firme
De vez	verde alaranjado	Firme
Maduro	Vermelho púrpura	Macia
Totalmente maduro	Vermelho púrpura intenso	muito macia

Fonte: Guadarrama (1984)

Verificou-se uma diminuição acentuada nos teores de ácido ascórbico quando o fruto passa do estágio “de vez” para “maduro”, conseqüentemente, ocorre a diminuição da acidez titulável. Com o processo de maturação há um aumento na atividade respiratória,

conversão do amido em açúcares, modificação no sabor e textura dos frutos, bem como o aumento nos teores de açúcares redutores (Guadarrama, 1984).

Diversos autores relatam que o conteúdo de ácido ascórbico decresce com a maturação da acerola. Itoo *et al.* (1990), constataram a redução do teor de vitamina C em acerolas produzidas em 3 regiões distintas do Japão. Nas frutas verdes o teor de ácido ascórbico observado foi de 2150, 2775 e 3200 mg em 100 g de frutas, reduzindo-se para 1455, 1755 e 1825 mg/100 g nas frutas completamente maduras. Resultados semelhantes foram encontrados por Carvalho e Manica (1994), onde as frutas verdes apresentavam 3096 mg/100g de frutas e as maduras cerca de 1201 mg/100g de frutas. Vendramini e Trugo (2000) observaram uma redução de 2164 mg/100g de vitamina C em frutas verdes para 1074 mg/100 g em frutas maduras colhidas na região de Maricá, Rio de Janeiro. Os autores associam a redução a uma oxidação bioquímica, uma vez que encontraram na acerola madura o composto 3-hidroxi-2-pirona, resultado da quebra oxidativa do ácido ascórbico.

1.2. VITAMINA C

Quimicamente, a vitamina C é a lactona do ácido derivado de um monossacarídeo, na realidade essa vitamina pertence à classe dos carboidratos (Gregory, 1996).

O ácido L-ascórbico forma cristais incolores e é altamente polar, sendo portanto solúvel em água, levemente solúvel em acetona, metanol e etanol e insolúvel em éter, benzeno, clorofórmio e lipídios. O ácido L-ascórbico contém um grupo dienol que não somente contribui para a ação redutora, mas também confere um comportamento ácido à molécula (Pelletier, 1985; Gregory, 1996).

O ácido ascórbico é amplamente encontrado nas frutas cítricas, nas folhas cruas de vegetais e no tomate. Os morangos, melões e pimentões verdes são boas fontes. A acerola,

groselha seca e frutos comestíveis da roseira brava são ricos em ácido ascórbico e também as frutas tropicais como sapoti, goiaba e papaia. O nabo verde, brócolis, espinafre, couve de bruxelas, abacaxis, maçãs, pêssegos, pêras e bananas são boas fontes quando ingeridos em grandes quantidades (Krause e Mahan, 1985).

O teor de vitamina C de um produto é influenciado por uma grande variedade de fatores como grau de maturação, tratamentos culturais, condições de plantio e manuseio pré e pós-colheita, bem como estocagem. Estes fatores podem ser controlados pelo emprego de tecnologia adequada (Belitz, 1982).

A vitamina C pode ser facilmente oxidada de acordo com as condições existentes, sendo fatores de maior influência a pressão parcial de oxigênio, o pH, a temperatura e os íons de metais pesados, especialmente o cobre e o ferro, que produzem grandes perdas de vitamina C (Belitz, 1982). Gregory (1996) acrescenta ainda a concentração de sal e açúcar, e a presença de enzimas, como fatores que afetam a deterioração da vitamina C.

Mapson (1970) ressalta que enzimas contendo ferro e cobre em seus grupos prostéticos são as mais eficientes no processo de destruição oxidativa do ácido ascórbico. Existem pelo menos quatro enzimas que ocorrem em frutas e são as principais responsáveis pela destruição oxidativa da vitamina: ácido ascórbico oxidase, fenolase, citocromo oxidase e peroxidase. Asenjo *et al.* (1980) isolaram em frutos de acerola tanto em desenvolvimento, quanto maduros, a enzima ascorbato oxidase cuja atividade foi rapidamente diminuída pelo abaixamento da temperatura. Quanto maior o grau de maturação, maior a atividade desta enzima.

Existem numerosos procedimentos analíticos para detectar o ácido ascórbico, mas nenhum é totalmente satisfatório, seja por sua falta de especificidade ou porque a maioria dos alimentos possuem numerosas substâncias interferentes (Gregory, 1996). Para a

quantificação do ácido ascórbico, é necessário primeiramente extraí-lo dos tecidos. Empregam-se soluções ácidas para prevenir a oxidação da vitamina. Entre as soluções extratoras utilizadas estão as dos ácidos metafosfórico, oxálico, acético, tricloroacético (TCA) e suas combinações, ou ainda estas mesmas soluções e ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) (Benassi e Antunes, 1988).

A maioria dos métodos de determinação química do ácido ascórbico são baseados na sua eficiência como agente redutor, embora esta não seja a única propriedade do ácido ascórbico nos sistemas alimentares. Entretanto, as reações de óxido-redução são simples e apresentam alta sensibilidade. Em meios com pH ácido, 1 mol de ácido ascórbico reduz 2 equivalentes de Cu^{++} , oxidando-se a ácido dehidroascórbico e gerando água oxigenada. Em pH 7 ou superior, 1 mol de ácido ascórbico pode reduzir até 4 moles de Cu^{++} , originando ácido oxálico, anidrido carbônico, ácidos hidroxipirúvico, glicólico e outros compostos (Contreras-Guzmán *et al.*, 1984).

1.2.1 Propriedades Antioxidantes da Vitamina C

O ácido ascórbico pode contribuir como antioxidante em produtos alimentícios por diferentes caminhos. Sua ação principal está na destruição de radicais livres resultando em produtos metabólicos com o oxigênio, este é um sistema de reações em cadeia (Liao e Seib, 1988, citados por Kirby *et al.*, 1991).

Uma vez que não é lipossolúvel, sua aplicação como antioxidante se dá na proteção da fase aquosa, onde é extensivamente utilizado na estabilização da cor e do sabor de uma ampla variedade de produtos, como frutas e vegetais, processados na forma de sucos ou enlatados, cerveja, vinho, e outras bebidas não alcoólicas (Klauri, 1974, citado por Kirby *et al.*, 1991).

Compostos oxidativos, incluindo radicais livres, são suspeitos de participação em patologias como a aterosclerose, câncer, diabetes e cataratas. Algumas evidências indicam que os antioxidantes podem proteger as células contra a ação degenerativa das oxidações. Porém, outras pesquisas apontam que o ácido ascórbico, o β -caroteno e o α -tocoferol, na verdade são agentes redutores, sendo antioxidantes em algumas circunstâncias e pró-oxidantes em outras (Hebert, 1994 citado por Rock *et al.*, 1996).

Além das vitaminas, vários componentes químicos de plantas, conhecidos por fitoquímicos, tem sido pesquisados por suas propriedades preventivas contra o câncer. Classes de compostos como os sulfitos, fitatos, flavonóides, carotenóides, ácidos fenólicos, são conhecidos, ou suspeitos, por possuírem propriedades contra o câncer (Caragay, 1992).

Ainda que as funções e a atividade do ácido ascórbico sejam conhecidas e estabelecidas por suas propriedades como redutor biológico reversível, pouco tem sido estabelecido através de uma definitiva base molecular. Além desta, outras atividades biológicas do ácido ascórbico tem sido sugeridas. O sistema de metabolização de drogas, o qual também metaboliza hormônios endógenos e produtos carcinogênicos, parece depender do ácido ascórbico (Jacob, 1994, citado por Rock *et al.*, 1996). A vitamina C está também envolvida na hidroxilação hepática do colesterol e na sua liberação com ácido bílico, embora os resultados de experimentos com humanos, envolvendo a importância clínica ainda sejam inconsistentes (Aro *et al.*, 1988, citado por Rock *et al.* 1996).

A propriedade redutora do ácido ascórbico pode também melhorar a estabilidade e a utilização do ácido fólico (Ludock *et al.*, 1995) e da vitamina E (Niki, 1991). A vitamina C é útil na regeneração da vitamina E, após sua interação com um radical livre.

1.2.2 Estabilidade do Ácido Ascórbico

O ácido ascórbico é conhecido por ser termolábil. Informações de vários autores tem estudado a cinética da degradação térmica de sucos cítricos sob condições de pasteurização e estabeleceram que ele segue um modelo de reação de 1^a ordem.

Dennison e Kirk (1978) estudaram a estabilidade do ácido ascórbico em um sistema modelo de alimento desidratado. A taxa de degradação foi satisfatoriamente descrita como uma reação de 1^a ordem, que aumentava com o aumento da atividade de água e da temperatura. Estudos recentes, como o de Vieira *et al.* (2000), relatam que a cinética da degradação térmica da vitamina C em néctar de cupuaçu também obedeceu a uma reação de 1^a ordem. Uddin *et al.* (2002) estudaram a retenção de ácido ascórbico em goiaba desidratada por liofilização durante o armazenamento. A equação de 1^a ordem foi a que melhor descreveu a perda da vitamina C sob diferentes condições de estocagem.

O teor de umidade, a atmosfera da embalagem, a temperatura e o tempo são parâmetros de armazenamento importantes. A condição ótima de armazenamento varia de produto a produto. A maior parte dos produtos desidratados necessita de níveis baixos de umidade para a retenção de nutrientes. Mylne e Seamans (1954) observaram que somente 10% do ácido ascórbico contido em pó de suco de laranja foi perdido em 6 meses de armazenamento sob condições severas de temperatura (38°C) quando o controle adequado da umidade relativa foi promovido. Amostras, sem a presença de um dessecante na embalagem, perderam 75% do ácido ascórbico no mesmo período de tempo.

Resultados similares foram reportados por Karel e Nickerson (1964) e Draut e Huang (1966), cujos resultados sugerem que o conteúdo de umidade deve ser reduzido ao menor possível para a prevenção da perda de ácido ascórbico. Por outro lado, níveis

extremos de baixa umidade favorecem reações deteriorativas, como a oxidação lipídica (Villota *et al.* 1980).

Outros importantes atributos que controlam a qualidade do alimento no armazenamento envolvem a quantidade absoluta de água no alimento e o estado físico-químico em que ela se apresenta (Lee e Labuza, 1975). Diversos pesquisadores (Stitt, 1958; Labuza, 1968; Bone, 1969) colocam que a relação entre a perda da qualidade do alimento e o conteúdo de água é muito bem representada pela atividade de água (Lee e Labuza, 1975).

Uddin *et al.* (2002) relatam que a velocidade da reação de degradação do ácido ascórbico em goiaba desidratada por liofilização durante o armazenamento aumentou tanto com o aumento da temperatura, quanto com o aumento da atividade de água. A velocidade da reação aumentou 5 vezes quando a atividade de água aumentou de 0,43 para 0,97. Na atividade de água de 0,43, o aumento da temperatura de estocagem de 30° para 40° e 50° C, resultou em um aumento na constante de velocidade da reação de 0,111 para 0,132 e 0,96, respectivamente. Em uma atividade de água superior, 0,79, o aumento na velocidade com o aumento da temperatura foi maior, a constante de velocidade da reação a 30°C foi de 0,148, enquanto a 40° C foi de 0,265 e a 50° C foi de 0,537.

Karel e Nickerson (1964), Jensen (1967) e Vojnovich e Pfeifer (1970) estudaram a estabilidade do ácido ascórbico em vários alimentos desidratados, como uma função do conteúdo de água e atividade de água. Constatou-se que a velocidade de destruição do ácido ascórbico aumentou com o aumento do teor de umidade e atividade de água. Os resultados também mostraram que a energia de ativação aumenta com o aumento do conteúdo de água em alguns alimentos, mas o efeito oposto ocorre em outros. Isto pode significar que houve uma variação no mecanismo de degradação da vitamina C (Lee e Labuza, 1975).

Foda *et al.* (1970) estudaram a conservação de suco de laranja e suco de goiaba liofilizado a partir de suco integral e concentrado de laranja e suco integral de goiaba pasteurizado ou não. Os liofilizados foram armazenados por 6 meses a temperatura ambiente, embalados em sacos de polietileno fechados hermeticamente e acondicionados em latas, contendo cloreto de cálcio. A atividade de água não foi relatada. Todas as amostras apresentaram uma alta retenção de ácido ascórbico, sendo que para os pós de goiaba houve retenção média de 98% e para os pós de laranja a retenção média foi de 95%. Esta relativa diferença entre os teores retidos pode ser resultado do aumento de umidade do pó de laranja observado durante o armazenamento.

Do *et al.* (1975) constataram uma acentuada perda de ácido ascórbico em cerejas ácidas liofilizadas, com umidade de 3%, embaladas em latas contendo dessecantes (óxido de cálcio) estocadas por 6 e 12 meses. A atividade de água não foi reportada. As perdas das amostras tratadas com sulfito foi menor que nas amostras controle. A tendência de degradação da antocianina foi paralela à do ácido ascórbico. Após 6 meses de armazenamento a 38°C, a amostra controle perdeu totalmente seu conteúdo de ácido ascórbico, enquanto na amostra sulfitada restava cerca de 34% do teor inicial. No armazenamento a 21°C, a amostra controle também perdeu todo o ácido ascórbico após 12 meses, enquanto a amostra sulfitada apresentava ainda 11% do teor inicial.

Lee e Nagy (1988) reportam que o tempo e a temperatura desempenharam um importante papel na qualidade de suco de grapefruit enlatado, principalmente no que se refere ao teor de ácido ascórbico e conteúdo de açúcar. Durante o armazenamento, a degradação do ácido ascórbico e da sacarose aumentou, com o aumento da temperatura e do tempo.

Pitombo e Cantelmo (2000) observaram que o conteúdo de vitamina C do suco de acerola liofilizado diminuiu com o aumento da atividade de água e temperatura. Observou-se que para as temperaturas de 15, 25 e 35° C, a perda de vitamina C não foi uniforme por toda a faixa de atividade de água estudada, sendo a Aa 0,7 um ponto crítico, quando a perda da vitamina C tornou-se mais acentuada. Os resultados foram semelhantes aos encontrados por Pitombo (1999), trabalhando com suco de laranja liofilizado, sendo que a velocidade de degradação da vitamina C do suco de acerola foi maior.

1.2.3. Mecanismos de degradação da vitamina C

O mecanismo de degradação da vitamina C é específico para cada sistema, dependendo de vários fatores, ocorrendo tanto por uma via aeróbia, quanto por uma via anaeróbia de degradação. Na via aeróbia a oxidação pode seguir uma reação catalizada, devido a presença de metais, ou uma via sem catalizador. Ambas as vias tem produtos intermediários comuns, que não podem ser distinguidos por análises químicas, e ambos levam ao ácido dehidroascórbico, o qual por degradações posteriores forma o ácido 2,3 – dicetogulônico (Tannembaum, 1976).

A causa primária de degradação do ácido ascórbico é a oxidação sob condições aeróbias, tanto por reações enzimáticas quanto não enzimáticas. Enzimas contendo ferro e cobre em seus grupos prostéticos são os mais eficientes no processo de destruição oxidativa da vitamina C. Existem pelo menos quatro enzimas que ocorrem em frutas e são as principais responsáveis pela destruição oxidativa da vitamina: ácido ascórbico oxidase, fenolase, citocromo oxidase e peroxidase. Apenas a enzima ácido ascórbico oxidase causa oxidação direta do ácido ascórbico. A enzima fenolase cataliza a oxidação de mono e dihidroxifenóis, os quais mais tarde, com quinonas, reagem diretamente com o ácido

ascórbico. A peroxidase em combinação com compostos fenólicos, utiliza peróxido de hidrogênio para efetivar a oxidação. A citocromo oxidase oxida o citocromo c e esta forma oxidada reage diretamente com o ácido ascórbico (Mapson,1970; Henshall,1981).

O ácido ascórbico oxida-se facilmente e de modo reversível em ácido dehidroascórbico. A atividade biológica da vitamina C é perdida quando o ácido dehidroascórbico é hidrolisado, resultando em uma abertura irreversível do anel lactônico, formando o ácido 2,3 - dicetogulônico e a partir daí em outros produtos inativos (Belitz, 1988; Gregory, 1996). Esta hidrólise é favorecida por condições alcalinas, o ácido dehidroascórbico é mais estável em pH 2,5 – 5,5, acima deste valor, a estabilidade é muito pequena, e diminui a medida que aumenta o pH. A taxa de hidrólise do ácido dehidroascórbico aumenta acentuadamente com o aumento da temperatura, mas não é afetado pela presença ou ausência de oxigênio (Gregory, 1996).

A oxidação do ácido ascórbico pode ser iniciada pela formação de um complexo ternário (monoânion ascorbato, íon metal e oxigênio), ou por oxidações envolvendo a transferência de um elétron. Buettner (1993) citado por Gregory (1996), revisou os muitos caminhos através dos quais podem se dar a oxidação através da transferência de um elétron, mostrado na FIGURA 1.

O mecanismo de degradação do ácido ascórbico pode diferir dependendo da natureza do alimento ou do meio de reação. A degradação catalizada por íon metálico tem sido proposta como a responsável pela formação de um complexo ternário (FIGURA 2), produzido diretamente do ácido dehidroascórbico, sem a formação detectável de um produto de oxidação produzido pela transferência de um elétron, um radical semidehidroascorbato (Gregory, 1996).

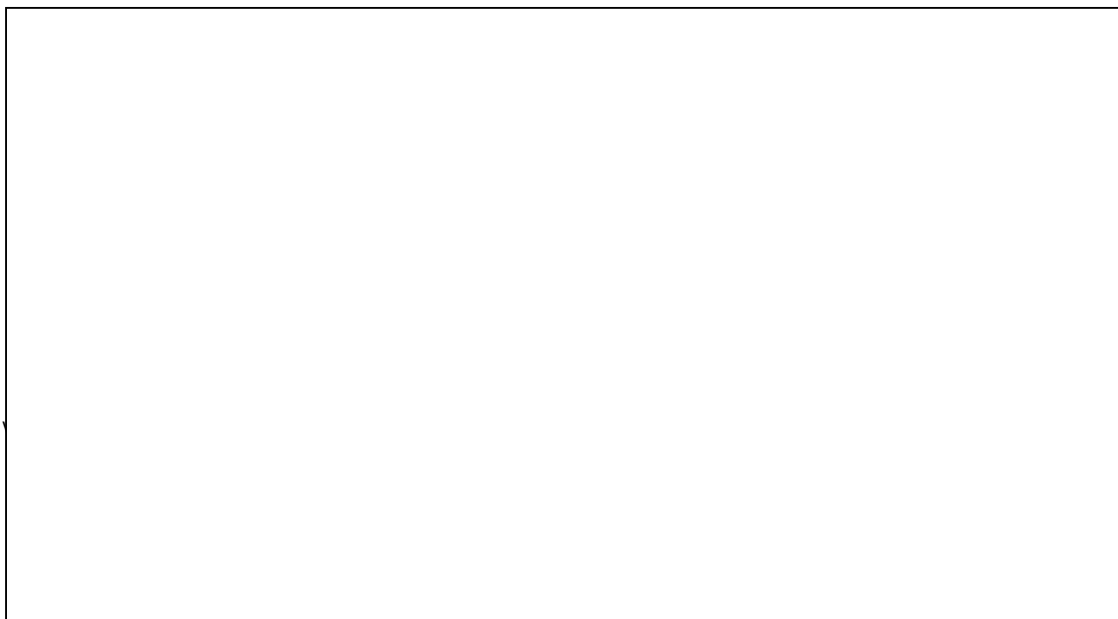


Figura 1 – Sequência oxidativa do ácido l-ascórbico. Todos tem atividade vitamínica, exceto o ácido 2,3 – dicetogulônico (Gregory, 1996).

Embora o complexo ternário, como proposto por Khan e Martell (1967), seja aparentemente um modelo correto de oxidação do ácido ascórbico, pesquisas recentes tem expandido o conhecimento a respeito deste mecanismo. Scarpa *et al.* (1983) observaram que a oxidação de ascorbato monoânion, catalizada por metais, forma superóxidos em uma determinada etapa. Nas etapas subsequentes a reação passa a envolver o superóxido, duplicando a taxa de oxidação do ascorbato. Estes mecanismos podem ser observados na FIGURA 2 .

A degradação anaeróbia do ácido ascórbico é relativamente insignificante para a maioria dos alimentos. Esta forma de degradação adquire maior importância em produtos enlatados, como vegetais, tomates e suco de frutas, após a retirada do oxigênio residual, mas mesmo nestes produtos a perda de ácido ascórbico através de mecanismos anaeróbios é muito lenta.

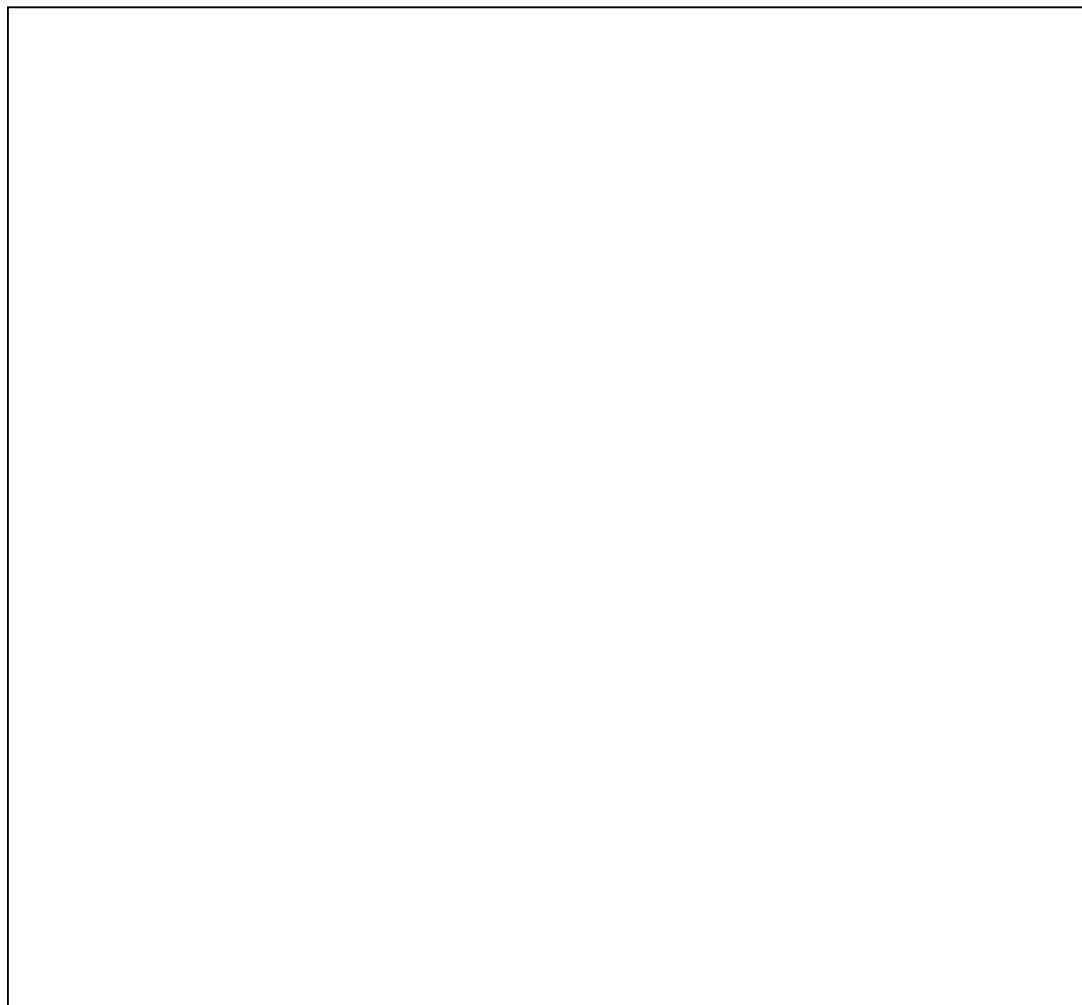


Figura 2 – Revisão dos mecanismos oxidativos e anaeróbicos de degradação do ácido ascórbico. Estruturas com linhas grossas são fontes primárias de atividade vitamínica. Abreviações : AH₂: ácido ascórbico completamente protonado; AH⁻: ascorbato monoânion; AH: radical semidehidroascorbato; A: ácido dehidroascórbico; FA: ácido 2-furóico; F: 2-furaldeído; DKG: ácido dicetogulônico; DP: 3-dioxidopentose; X: xilose; Mn⁺: metal catalizador; HO₂: radical peróxido (Gregory, 1996) .

Henshall (1981) considerou a destruição anaeróbia do ácido ascórbico importante, uma vez que pode ocorrer após alterações oxidativas. A velocidade destas reações são sempre independentes do pH, exceto entre pH 3 e 4, onde há um significativo aumento. Entre os aceleradores identificados desta reação, o principal é a frutose. Os produtos da reação são o furfural e CO₂.

O mecanismo de degradação anaeróbica do ácido ascórbico não foi ainda estabelecido em profundidade. A clivagem direta da ponte 1,4 – lactona sem a prévia oxidação do ácido dehidroascórbico parece estar envolvida, talvez seguindo uma tautomerização enol–ceto, como mostrada na FIGURA 2 . De acordo com Tannenbaum (1976) na via anaeróbia o ácido ascórbico sofre uma cetonização, formando um ceto–tautômero (ceto – ácido ascórbico), o qual permanece em equilíbrio com seu ânion (ceto – monoânion ácido ascórbico), o qual por uma deslactonização forma o ácido 2,3 – dicetogulônico.

Em vista do oxigênio residual presente na maioria das embalagens de alimentos, a degradação do ácido ascórbico em embalagens seladas, principalmente latas e garrafas, poderá ocorrer tanto pelas vias oxidativas quanto anaeróbias. Na maioria dos casos, a taxa de degradação anaeróbia será duas ou três vezes menor que aquelas para a degradação oxidativa .

Embora já destituído de sua importância nutricional, as muitas reações envolvidas na fase final de degradação do ascorbato são importantes por causa do seu envolvimento na formação de compostos de sabor ou precursores que participam no escurecimento não enzimático (Gregory, 1996).

Mais de 50 produtos de baixo peso molecular tem sido identificados na degradação do ácido ascórbico. Os tipos e as concentrações dos compostos, e os mecanismos envolvidos são fortemente dependentes de fatores como temperatura, pH, atividade de água, concentração de oxigênio e metais catalizadores, presença de espécies ativas de oxigênio. Três tipos gerais de produtos de decomposição tem sido identificados: (a) intermediários polimerizados, (b) ácidos carboxílicos insaturados com cadeias de cinco ou seis carbonos, (c) produtos de fragmentação com menos de cinco carbonos. Formação de

formaldeído durante a degradação do ascorbato a pH neutro também tem sido reportada. Alguns destes compostos contribuem para as variações no aroma e sabor de suco de laranja durante o armazenamento ou processamento excessivo (Gregory, 1996).

A degradação de açúcares e ácido ascórbico é bastante similar, em alguns casos apresentam mecanismos idênticos. Diferenças qualitativas entre condições aeróbias e anaeróbias ocorrem no padrão de degradação do ácido ascórbico, e o pH influencia em todas as circunstâncias. Os produtos de decomposição química do ácido ascórbico em soluções neutras e acídicas incluem xilosona, ácido oxálico, ácido treonico, furfural, e ácido furóico, bem como uma ampla variedade de carbonilas e outros compostos insaturados. Assim como na degradação de açúcares, a extensão da fragmentação aumenta sob condições alcalinas (Gregory, 1996).

A degradação de ácido ascórbico está associada com as reações de descoloração, tanto na presença, quanto na ausência de amins. O ácido dehidroascórbico, assim como as dicarbonilas formadas durante esta degradação podem participar da degradação de Strecker com amino-ácidos. Seguindo a degradação de Strecker do ácido dehidroascórbico com um amino-ácido, o ácido sorbâmico produzido pode formar dímeros, trímeros e tetrâmeros, vários deles possuem colorações amareladas e avermelhadas. Soma-se a estes produtos o 3,4-dihidroxi-5-metil-2(5H)-furanona, um produto intermediário de desidratação oriundo da descarboxilação durante a degradação anaeróbia do ácido ascórbico, que tem uma coloração amarronzada. A seguir, a polimerização destes ou de outros produtos insaturados forma melanoidinas (polímeros nitrogenados), ou ainda, pigmentos caramelo não nitrogenados. Embora o escurecimento não enzimático de sucos cítricos e outras bebidas relacionadas seja um processo complexo, a contribuição do ácido ascórbico para o escurecimento tem sido claramente demonstrada (Kacem *et al.*, 1987).

No processamento de frutas, o ácido ascórbico pode reprimir o escurecimento enzimático pela reversão da oxidação dos polifenóis em o-quinonas, que através de polimerização formam pigmentos escuros (Vieira *et al.*, 2000).

1.3. COMPOSTOS FENÓLICOS

Os compostos fenólicos e polifenólicos constituem um amplo grupo de substâncias químicas, considerados metabólitos secundários das plantas, com diferentes estruturas químicas e atividades, englobando mais de 8000 compostos distintos. A distribuição dos compostos fenólicos nos tecidos e células vegetais varia consideravelmente de acordo com o tipo de composto químico, situando-se no interior das células e na parede celular (Martinez-Valverde *et al.*, 2000). O interesse nesta classe de compostos está relacionado ao seu envolvimento no crescimento e no metabolismo das plantas, e no impacto exercido sobre a qualidade sensorial e nutricional de frutas e vegetais, e mais recentemente, na atividade fisiológica exercida em humanos (Robards *et al.*, 1999).

Quimicamente, os compostos fenólicos são substâncias que possuem um anel aromático, um anel benzeno, com um ou mais grupos hidróxidos, incluindo derivados funcionais. Os polifenóis variam desde moléculas simples, como ácidos fenólicos, até compostos altamente polimerizados, como os taninos (Martinez-Valverde *et al.*, 2000). Segundo Harbone (1989), os compostos fenólicos podem se agrupar em diferentes classes dependendo de sua estrutura química básica, sendo que os ácidos fenólicos, os ácidos cinâmicos, os flavonóides e os taninos, são os grupos de maior importância nutricional.

Belitz e Grosch (1988) relatam que ácidos fenólicos, como o gálico, vanílico, p-hidroxibenzóico, e os aldeídos, como a vanilina, são abundantes nas plantas superiores.

Raramente estão presentes na forma de ácidos livres e em frutas a forma esterificada é predominante (Hermann, 1989). Os ácidos fenólicos presentes em frutas são, geralmente, derivados hidroxilados do ácido benzóico e ácido cinâmico como ácido clorogênico, ácido p-coumarico, ácido ferrúlico e ácido caféico (Van Buren, 1970; Robards *et al.*, 1999). Quatro ácidos fenólicos são considerados universais: p-hidroxibenzóico, protocateico, vanílico e siríngico (Torres *et al.*, 1987). Os ácidos cinâmicos exibem isomerização geométrica, exceto os quatro ácidos universais, citados acima, que apresentam-se nas plantas exclusivamente como um isômero trans (Graf, 1992).

O ácido clorogênico é o mais importante derivado do ácido cinâmico em frutas, onde muitas vezes aparece como um composto fenólico isoladamente predominante. Outros importantes ésteres são o ácido coutárico e ácido caftárico. A distribuição universal e a alta concentração dos ácidos cinâmicos em frutas pode ser devido, em parte, ao papel chave que eles desempenham, na biosíntese de outros fenólicos, mais complexos (Robards *et al.*, 1999).

Os flavonóides são o mais importante grupo dentro dos compostos fenólicos, dividindo-se em várias subclasses com mais de 5000 compostos (Harbone, 1993), sendo os polifenóis o mais distribuído entre as plantas. São substâncias fenólicas com baixo peso molecular que fazem parte do esqueleto comum dos difenilpiranos: dois anéis benzenos unidos através de um anel pirona ou piran heterocíclico. Esta estrutura básica é a responsável pela atividade antioxidante destes compostos, e permite múltiplas substituições e variações no anel pirona dando lugar a formação de flavonóis, flavonas, flavononas, isoflavonóides, catequinas, calconas, dihidrocalconas, antocianidinas, protoantocianidinas e taninos condensados (Hertog *et al.*, 1993). Os principais subgrupos de flavonóides

presentes em frutas são antocianinas, protoantocianinas, flavonóis e catequinas (Kähkönen *et al.*, 1999).

A composição fenólica de frutas é determinada por fatores genéticos e ambientais, mas pode ser modificado por reações oxidativas ocorridas durante o processamento e a estocagem (Robards *et al.*, 1999). O escurecimento de frutas e vegetais está relacionado com o conteúdo de compostos fenólicos. Assim, a formação de pigmentos amarelos e marrons durante a manipulação e o processamento de alimentos de origem vegetal é controlada pelos níveis de polifenóis, pela presença de oxigênio e pela atividade da enzima polifenol oxidase (McEvily, 1992, citado por Martinez-Valverde *et al.*, 2000). Esta enzima contém cobre e cataliza a reação entre um grupo fenol e o oxigênio, resultando em quinona, responsável pelas colorações marrons e amarelas (Spanos e Wrolstad, 1992).

Na atualidade este grupo de compostos fitoquímicos apresenta um grande interesse nutricional por sua contribuição na manutenção da saúde humana. Assim, muitas das propriedades benéficas descritas nos alimentos de origem vegetal, associadas principalmente a atividade antioxidante, estão relacionadas com a presença e o conteúdo de compostos fenólicos (Martinez-Valverde *et al.*, 2000).

1.3.1. Atividade antioxidante de compostos fenólicos

A atividade antioxidante dos compostos fenólicos são interessantes desde o ponto de vista tecnológico, até nutricional. Assim, compostos fenólicos intervêm como antioxidantes naturais do alimento, e a obtenção ou preparação de alimentos com um alto conteúdo destes compostos supõem uma redução na utilização de aditivos anti-oxidantes, resultando em alimentos mais saudáveis, que podem ser inclusos dentro da classe dos alimentos funcionais (Martinez-Valverde *et al.*, 2000).

O comportamento antioxidante dos compostos fenólicos parece estar relacionado com sua capacidade de quelar metais, inibir a ação da enzima lipoxigenase e captar radicais livres, ainda que em outras ocasiões possam promover reações de oxidação “in vitro” (Decker, 1997). Entre os compostos fenólicos com uma reconhecida atividade antioxidante destacam-se os flavonóides, os ácidos fenólicos (principalmente hidroxicinâmico, hidroxibenzóico, cafeíco, clorogênico), taninos, calconas e cumarinas (Pratt, 1990 e Pratt e Hudson, 1992, citados por Martinez-Valverde *et al.*, 2000), os quais constituem a fração polifenólica de uma grande diversidade de alimentos.

Os polifenóis são efetivos doadores de hidrogênio, particularmente os flavonóides, como a quercetina, as antocianinas, e os fenilpropanóis (Rice-Evans *et al.*, 1995), incluindo o ácido clorogênico presente em suco de maçã (Miller *et al.*, 1995). O potencial antioxidante destes compostos está diretamente relacionado ao número e ao arranjo dos grupos hidroxila, à extensão da conjugação estrutural, bem como à presença de elétrons substitutos na estrutura do anel (Bors *et al.*, 1990).

Martinez-Valverde *et al.* (2000) ressaltam que para compreender melhor a atividade fisiológica destes compostos, deve-se considerar que a capacidade antioxidante varia em função do grupo de compostos fenólicos estudados e da sua solubilidade na fase aquosa ou lipídica.

A atividade antioxidante dos ácidos fenólicos e seus ésteres dependem do número e da posição de grupos hidróxi presentes na molécula. A investigação do potencial antioxidante dos ácidos fenólicos em sistemas lipofílicos têm demonstrado que os monofenóis são menos efetivos que os polifenóis. A introdução de um segundo grupo hidroxila na posição orto, como ocorre no ácido cafeíco, ou na posição para, melhora a atividade antioxidante nos sistemas lipídicos, sendo estes compostos fenólicos mais

eficientes que seus correspondentes monofenóis. Assim, estes estudos tem mostrado que o ácido sinápico tem um maior efeito protetor que o ácido ferrúlico, o qual é mais ativo que o ácido p-coumárico. Da mesma maneira o ácido siríngico tem uma maior capacidade antioxidante que os ácidos vanílico e p-hidroxibenzóico (Guohua *et al.*, 1997).

Na literatura recente, muitos estudos tem avaliado o potencial antioxidante de compostos fenólicos encontrados em diversos tipos de plantas. Kähkönen *et al.* (1999) reportam as atividades antioxidantes encontradas em 92 extratos fenólicos obtidos de materiais vegetais comestíveis e não comestíveis, a atividade foi determinada pela autoxidação do metil linolato. O autor relata que entre os materiais comestíveis encontrou-se alta atividade antioxidante e alto teor de fenóis totais (equivalente em ác. gálico >20 mg/g) em bagas, especialmente “aronia” e “crowberry”. Extratos de maçã de duas variedades em particular, também mostraram forte atividade antioxidante, mesmo com um conteúdo de fenóis totais baixos (equivalente em ácido gálico < 12,1 mg/g), sugerindo a necessidade de identificação dos compostos fenólicos presentes, uma vez que não houve correlação entre o teor de compostos fenólicos presentes e a atividade antioxidante.

Estudos sobre a atividade antioxidante de frutas têm se concentrado na uva, a qual tem sido reportada como inibidora da oxidação da lipoproteína de baixa densidade (LDL) em um nível comparável ao vinho (Meyer *et al.*, 1997). Relatou-se que extratos de morango fresco apresentaram uma capacidade antioxidante total 15 vezes maior que o trolox em um sistema modelo com radicais peroxil (Wang *et al.*, 1997). Extratos de amora preta, groselha preta e vermelha, framboesa preta e vermelha, mostraram uma excepcional atividade seqüestrante de radicais superóxidos (Constantino *et al.*, 1992, citado por Kähkönen *et al.*, 1999).

Segundo Meyer *et al.* (1998), ácidos hidrocínâmicos, tipicamente presentes em frutas,

foram inibidores da oxidação do LDL “in vitro”. Extratos fenólicos de bagas (amora preta, framboesa, morango, cerejas doces) também mostraram inibição da oxidação da LDL humana e da oxidação de lipossomas de lecitina (Heinonen *et al.* 1998).

Miller e Rice-Evans (1997) estudaram a contribuição relativa do ácido ascórbico e dos antioxidantes fenólicos na atividade antioxidante total de suco de maçã e laranja, e de uma bebida de groselha preta. Os compostos fenólicos responsáveis pela atividade antioxidante total do suco de maçã foram o ácido clorogênico, ácido p-coumárico, catequina e floridina, enquanto que para o suco de laranja foi a hesperidina e narirutina. Em contraste, as antocianinas da bebida de groselha preta, contribuíram apenas com uma parte da atividade antioxidante, que também não foi promovida pela vitamina C, o que indica a presença de outros compostos antioxidantes não identificados. Os resultados encontrados sugerem que os fenóis protegem a vitamina C da decomposição oxidativa, sendo que a groselha preta apresentou a maior proteção à vitamina C, e também a maior atividade antioxidante total.

Kalt *et al.* (1998), relataram a capacidade antioxidante da vitamina C, antocianinas e fenóis em frutas pequenas (morangos, amoras e framboesas) submetidas ao armazenamento em diferentes temperaturas. Neste estudo, os autores verificaram que a capacidade antioxidante era altamente correlacionada ao teor de fenóis totais ($r = 0,83$) e antocianinas ($r = 0,90$). A participação do ascorbato na capacidade antioxidante total da fruta foi pequena, ficando entre 0,4 a 9,4% da atividade antioxidante total.

Gardner *et al.* (2000) estudando o potencial antioxidante de vários sucos de frutas, concluíram que a vitamina C é a responsável por 65-100% do potencial antioxidante de bebidas derivadas de frutas cítricas, mas menos de 5% do potencial antioxidante de suco de abacaxi e maçã.

1.4. MICROENCAPSULAÇÃO

Microcápsulas são pequenas partículas que contêm um agente ativo, ou material central, envolvido por uma cobertura ou agente encapsulante (Thies, 2001)

A indústria de alimentos utiliza a microencapsulação principalmente para reduzir a reatividade do produto com o ambiente externo, diminuindo a evaporação ou a velocidade de transferência do produto para o ambiente externo. Um melhor manuseio do produto é promovido, uma vez que este se adquire uma forma sólida, com maior uniformidade, facilitando misturas. Quando o ingrediente ativo precisa ser utilizado em quantidades diminutas, a microencapsulação pode promover sua diluição, mas realizando uma dispersão uniforme (Thies, 2001; Shahidi e Han, 1993).

As microcápsulas podem variar de microns a vários milímetros de tamanho e podem apresentar uma infinidade de formas, dependendo do material de parede e do método utilizado para prepara-la (Thies, 2001; Shahidi e Han, 1993).

A liberação controlada do encapsulado é uma das mais importantes propriedades das microcápsulas (Karel e Langer, 1988). A estrutura de cobertura protege o produto da luz, do oxigênio e de outros agentes externos, e controla a liberação do encapsulado (Dziezak, 1988). Vários mecanismos de liberação tem sido propostos para as microcápsulas (FIGURA 3). A maior parte das microcápsulas tem paredes finas que podem funcionar como uma membrana semi permeável. Além disso, por serem muito pequenas, elas possuem uma enorme área de superfície por unidade de peso. Portanto, a liberação controlada é freqüentemente realizada através de um processo de difusão. A difusão é um processo de permeação dirigido por um gradiente de concentração ou por forças atrativas entre cadeias (Shahidi e Han, 1993).

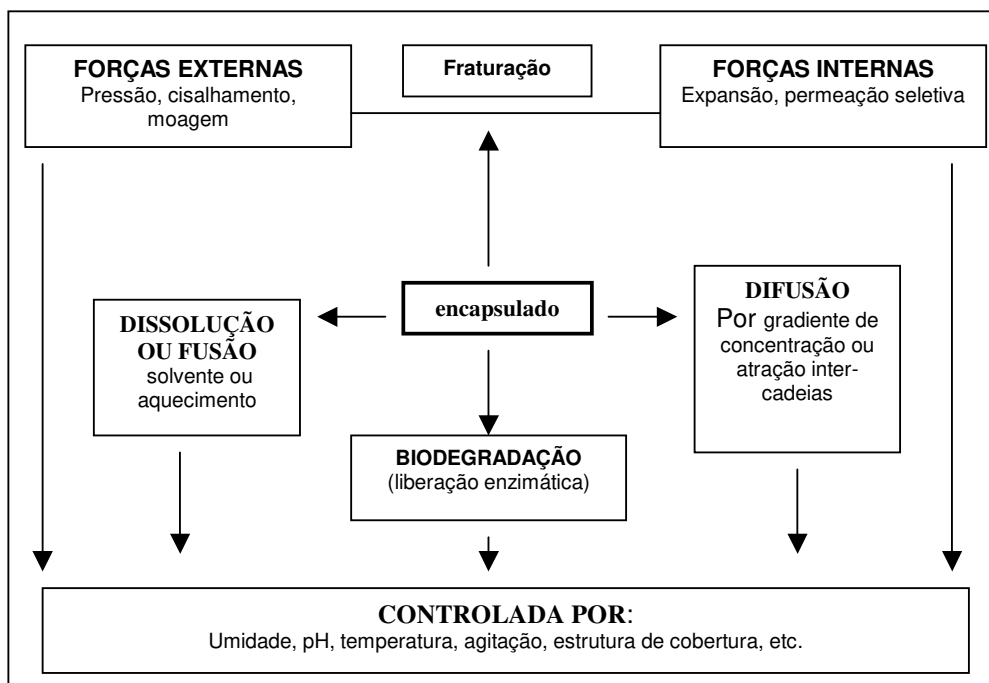


Figura 3 – Mecanismos de liberação controlada de ingredientes alimentícios encapsulados (Shahidi e Han, 1993).

Para a maioria dos métodos físicos, sabe-se que o sucesso da encapsulação depende da formação de uma estrutura amorfa metaestável, em estado vítreo, com uma permeabilidade mínima aos compostos que serão encapsulados no seu interior. Nos processos de secagem a presença de açúcares e/ou polímeros no sistema de encapsulação reduz o conteúdo de água. A redução do conteúdo de água aumenta a temperatura de transição vítrea, resultando em uma matriz impermeável aos compostos orgânicos e ao oxigênio, no entanto a permeabilidade à água permanece limitada. Esta difusão seletiva, é a base para a encapsulação utilizando atomização e liofilização (Karel e Langer, 1988).

Vários estudos (Karel e Flink, 1983; Levine e Slade, 1986) tem demonstrado que a liberação do material encapsulado por difusão ocorre quando a matriz em estado vítreo,

sofre uma transição de fase, passando para um estado com maior mobilidade molecular, este estado é denominado borrachento.

A integridade da cobertura também pode ser destruída pela dissolução em um solvente apropriado ou por meios térmicos. As coberturas solúveis em água podem ser facilmente dissolvidas pelo aumento de umidade no sistema. Coberturas insolúveis em água também podem ser dissolvidas por um solvente apropriado. A liberação térmica é comumente utilizada para cápsulas lipídicas (Shahidi e Han, 1993).

A liberação das microcápsulas também pode ser realizada por processos de biodegradação, se a cobertura for submetida a mecanismos que degradem sua estrutura. Por exemplo, coberturas lipídicas podem ser degradadas pela ação de lipases. A exploração deste tipo de mecanismo é de grande importância (Shahidi e Han, 1993).

As vitaminas destinadas a fortificação de alimentos são microencapsuladas para mascarar sabores indesejáveis, controlar a liberação, aumentando a estabilidade à temperatura e umidade, reduzindo as reações com outros compostos do alimento (Jackson e Lee, 1991).

A encapsulação do ácido ascórbico permite controlar e atrasar a liberação, protegendo contra reações indesejáveis causadas por oxigênio, calor e umidade. O ácido ascórbico encapsulado é conveniente para o enriquecimento vitamínico de alimentos, utilização em cápsulas, para consumo direto, e também como coadjuvante de panificação e melhorador de farinhas, bebidas instantâneas e estabilizante de misturas (Marquardt, 1992). O ácido ascórbico foi encapsulado eficientemente em lipossomos por Kirby *et al.* (1991), aumentando desta forma sua estabilidade em solução.

1.4.1. Microencapsulação por desidratação

O principal propósito da desidratação é aumentar a estabilidade dos alimentos, através da diminuição da atividade de água, promovendo assim a inibição do crescimento microbiano e a atividade enzimática. Soma-se a isto a redução no peso e na densidade do produto, o que reduz os custos com transporte e armazenamento (Fellows, 1990).

A qualidade de alimentos desidratados não depende apenas da qualidade inicial do material, mas também das variações ocorridas durante o processamento e o armazenamento. As variações indesejáveis que podem ocorrer incluem o desenvolvimento de sabores estranhos, escurecimento, degradação de pigmentos e perdas de nutrientes, que podem ser minimizadas por uma exposição limitada a condições que propiciem estas reações, que diferem dependendo do produto específico envolvido (Villota *et al.*, 1980).

A atomização é um método estabelecido na produção de uma variedade de componentes alimentícios microencapsulados e, de acordo com Jackson e Lee (1991), sua utilização na indústria de alimentos ocorre principalmente em virtude do seu baixo custo. O primeiro passo neste processo é emulsificar, ou dispersar o ingrediente ativo em uma solução concentrada (35 a 60% de sólidos) do material de cobertura. É essencial que a emulsão ou dispersão formada seja estável, não havendo modificações antes ou durante o processo de encapsulação (Thies, 2001). A seguir esta emulsão é nebulizada em uma câmara com circulação de ar quente. A emulsão em contato com o ar quente, perde sua umidade, formando uma parede que envolve o material ativo. Este processo pode ser utilizado em materiais sensíveis ao aquecimento, uma vez que a secagem é muito rápida e o material ativo atinge temperaturas inferiores a 100°C, no entanto algumas perdas do material ativo podem ocorrer (Jackson e Lee, 1991).

Na liofilização a umidade da emulsão congelada é retirada por sublimação, sob alto vácuo e baixa umidade, o resultado é um tipo de esponja seca, que pode facilmente ser reduzida a pó (Foda *et al.*, 1970; Do *et al.*, 1975). A mudança de estado físico da água pode resultar em produtos com maior suscetibilidade a oxidação, uma vez que propicia o colapso da matriz de sólidos (Desobry *et al.*, 1997)

Podemos observar então que os processos de atomização e liofilização são processos que operam em diferentes regimes de tempo e temperatura, podendo resultar em produtos com diferentes características, como constatado por Desobry *et al.* (1997), que compararam a encapsulação de β -caroteno por estes processos.

Segundo os autores, quanto ao aspecto morfológico, a atomização resultou em cápsulas esféricas, com alta taxa de superfície/volume, ou seja uma grande quantidade de pequenas esferas, o que pode favorecer a oxidação do β -caroteno. A liofilização foi o processo que proporcionou a menor perda de β -caroteno, 8%, sendo que na atomização a perda foi de 11%. A atomização resultou em um pó com partículas de menor diâmetro, $31 \pm 10 \mu\text{m}$, assim há uma maior superfície de contato entre o β -caroteno e o oxigênio, facilitando a possibilidade de reação. O diâmetro do pó obtido por liofilização foi $80 \pm 25 \mu\text{m}$. Os processos também afetaram a presença de caroteno superficial, que não está protegido da oxidação. O pó atomizado apresentou $38 \pm 2\%$ de β -caroteno superficial e o liofilizado $35 \pm 2\%$.

Leme *et al.* (1972) verificaram que as perdas vitamínicas ocorridas durante o processo de liofilização de suco de acerola foram mínimas: 5% para o ácido ascórbico e 0% para o β -caroteno. Durante o armazenamento por 9 meses a temperatura ambiente a perda

constatada foi de 8,5% em média, resultando numa taxa mensal de 0,9 e 1,1%, o que pode ser considerado bastante satisfatório para estas condições.

1.5. AGENTES ENCAPSULANTES

Os agentes encapsulantes são basicamente materiais formadores de filmes, que podem ser selecionados de uma ampla variedade de polímeros naturais e sintéticos (Runge, 2001; Shahidi e Han, 1993). O tipo de material apropriado para a encapsulação é muito dependente do tipo de material a ser encapsulado, considerando a hidrofiliabilidade ou hidrofobicidade, solubilidade, etc., assim como do sistema a ser aplicado, se é sólido ou líquido por exemplo (Runge, 2001). O processo utilizado para a formação das microcápsulas é também um parâmetro a ser considerado (Jackson e Lee, 1991; Marquardt, 1992).

Numerosos agentes encapsulantes aprovados e com propriedades aceitáveis para a indústria de alimentos estão comercialmente disponíveis e estão sendo usados para produzir ingredientes microencapsulados. Thies (2001) considera como pontos importantes na escolha de agentes encapsulantes o fato de não existir um agente que proporcione uma cobertura perfeita, mesmo que o processo de encapsulação tenha sido perfeito, principalmente nos casos onde as condições de armazenamento variam com o tempo, e também que todo candidato a material de cobertura tem no mínimo uma deficiência, que deve ser avaliada quando seleciona-se um material de cobertura.

A composição do agente encapsulante é o principal determinante das propriedades funcionais da microcápsula e do método a ser empregado para melhorar o desempenho de um ingrediente em particular. Um material de cobertura ideal deve possuir boas propriedades reológicas em altas concentrações e facilidade de manipulação no processo de

encapsulação, habilidade para dispersar ou emulsificar o material ativo e estabilizar a emulsão produzida, não reagir com o material a ser encapsulado durante o processamento, e também durante o armazenamento, habilidade para lacrar e segurar o material ativo dentro da sua estrutura durante o processamento ou na estocagem, liberação completa do solvente ou outro material que será usado durante o processo de encapsulação, habilidade de proporcionar a máxima proteção ao material ativo contra condições ambientais, solubilidade em solventes aceitáveis na indústria de alimentos, boa disponibilidade no mercado e baixo custo (Shahidi e Han, 1993).

Como a maioria dos materiais de cobertura não possui todas as propriedades listadas, na prática eles podem ser utilizados em combinação com outro material de cobertura e/ou modificadores, como sequestrantes de oxigênio, antioxidantes, agentes quelantes e surfactantes. Os principais agentes encapsulantes utilizados são apresentados na TABELA 4 (Shahidi e Han, 1993).

Tabela 4 – Materiais de cobertura utilizados para encapsulação de ingredientes alimentares.

CARBOIDRATOS	Amidos, maltodextrinas, xarope de milho, dextranas, Sacaroses e ciclodextrinas
CELULOSE	Carboxi metilcelulose (CMC), metilcelulose, etilcelulose, Nitrocelulose, acetilcelulose
GOMAS	Goma acácia (goma arábica), alginato de sódio, caragena
LIPÍDEOS	Cera, parafina, ácido triesteárico, diglicerídeos, monoglicerídeos, Óleos, gorduras, óleos solidificados
PROTEÍNAS	Gluteína, caseína, gelatina, albumina, hemoglobina, peptídeos

Os carboidratos tem sido o agente encapsulante mais amplamente utilizado na microencapsulação, principalmente na formulação de saborizantes (Runge, 2001). A habilidade dos carboidratos em absorver voláteis do ambiente ou de rete-los fortemente durante o processo de secagem tem importantes implicações e aplicações na encapsulação de sabores (Reineccius, 1991). O mecanismo pelo qual carboidratos retém voláteis durante processos como liofilização, extrusão e atomização parece envolver principalmente interações físicas (Godshall, 1988).

Imagi *et al.* (1990) e Minemoto *et al.* (1999), citados por Matsumura *et al.* (2000), tem reportado a alta atividade encapsulante da goma arábica e da maltodextrina, quando comparada a outros polissacarídeos e proteínas, na encapsulação de lipídeos líquidos. É possível que esta atividade encapsulante superior seja originada por alguma interação entre estes polissacarídeos com o óleo, considerando que a maltodextrina não possui partes peptídicas e é essencialmente não ativa na superfície, diferente da goma arábica que possui partes peptídicas covalentemente ligadas a cadeia principal.

1.5.1. Maltodextrinas

As maltodextrinas são, por definição, hidrolisados de amido (FIGURA 4) que consistem em unidades de α -D-glicose ligadas principalmente por ligações glicosídicas (1 \rightarrow 4) com uma fórmula geral igual a $[(C_6H_{10}O_5)_n H_2O]$ (Kennedy *et al.* 1995).

A hidrólise de uma dispersão de amido com ácidos ou enzimas produz maltodextrinas. As maltodextrinas são usualmente descritas por sua dextrose equivalente (DE). A DE é relacionada ao grau de polimerização (DP) através da seguinte equação: $DE = 100/DP$ (DE e DP são valores médios para uma população de moléculas). Assim, a DE de

um produto de hidrólise equivale ao seu poder redutor, como uma porcentagem do poder redutor da dextrose pura (D-glicose), sendo então inversamente relacionada ao seu peso molecular médio (BeMiller e Whistler, 1996).

São definidas como maltodextrinas os produtos com valores de DE menores que 20. Estes produtos são menos higroscópicos, não apresentam doçura, além de serem excelentes para contribuir com o corpo de sistemas alimentícios. A hidrólise do amido a valores de DE entre 20-60 resulta em uma mistura de moléculas que quando seca é denominada xarope de milho sólido. Estes produtos apresentam maior capacidade de absorver umidade, dissolvem-se rapidamente e são levemente doces (BeMiller e Whistler, 1996).

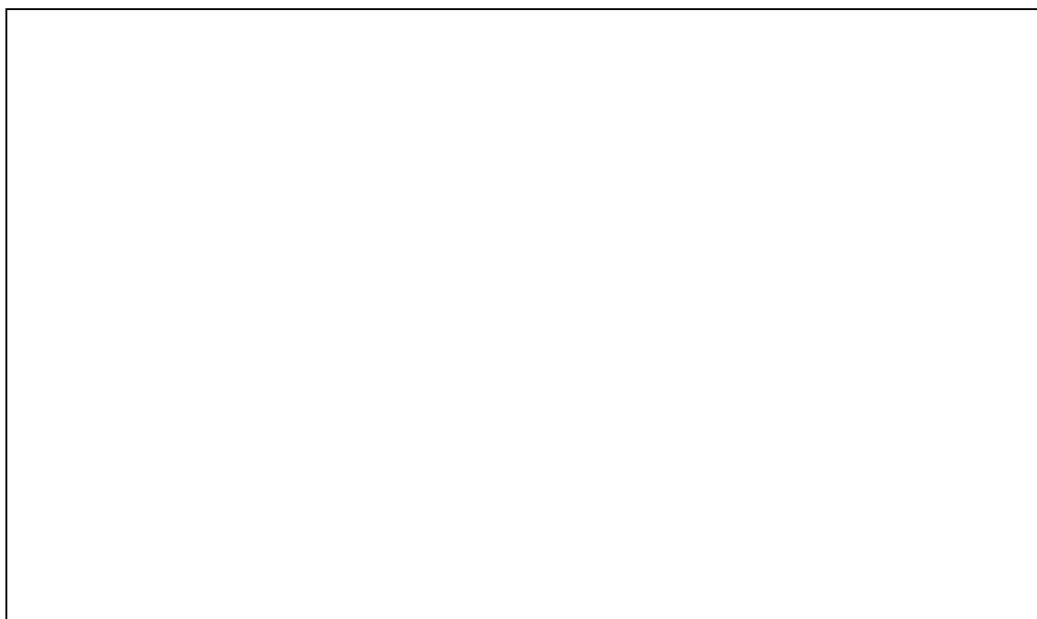


FIGURA 4 – Estrutura química dos componentes do amido (BeMiller e Whistler, 1996).

De acordo com Qi e Xu (1999) produtos com alta DE possuem maior poder redutor. Isto influencia a tendência ao escurecimento e a propriedade de proteção contra a oxidação oferecida pelos xaropes de milho sólido.

Com o aumento da DE, a umidade relativa na qual um pó permanece solto é significativamente menor. Isto significa que com uma maltodextrina com alta DE é mais provável acontecer colapso do que com uma maltodextrina com baixa DE, sob as mesmas condições ambientais (Qi e Xu, 1999; Kenyon e Anderson, 1998). A TABELA 5 especifica a umidade relativa na qual várias maltodextrinas e amidos perderam sua característica de pó solto por causa da absorção de água.

TABELA 5 – Umidade relativa máxima na qual maltodextrinas e amidos permanecem como um pó solto.

Material	amido	DE 5	DE 10	DE 20	DE 42
UR máx (%)	70	68	48	32	30

Fonte: Kenyon e Anderson (1998)

O fenômeno do colapso tem sido relacionado à transição vítrea do amido hidrolisado. De acordo com Roos e Karel (1991) a temperatura de transição vítrea de maltodextrinas com 5% de umidade, típico de pós produzidos por atomização, está entre 25 e 35°C, quando a DE está entre 36 – 50. Alterações físicas ocorrem facilmente em temperaturas acima da Tg (Qi e Xu, 1999).

Os produtos da hidrólise do amido geralmente promovem uma boa proteção contra a oxidação de saborizantes. Gotteneid *et al.* citados por Qi e Xu, (1999), relatam uma estabilidade maior para o óleo de laranja atomizado com xarope de milho sólido de DE 24, do que o produto feito com amido emulsificante. A habilidade dos amidos hidrolisados

protegerem materiais encapsulados contra oxidação é atribuída à sua capacidade de formar filme, às suas propriedades plásticas, e ao seu poder redutor. A plasticidade previne a quebra da matriz de proteção, que pode tornar o ingrediente suscetível ao oxigênio. O alto poder redutor, presume-se, diminui a oxidação do flavor encapsulado (Qi e Xu, 1999).

Beatus *et al.* (1985) utilizaram vários encapsulantes em diferentes combinações na microencapsulação de *Paprika oleoresin* por atomização, sendo estes: maltodextrina (DE 15), goma arábica, gelatina e caseinato de sódio. Entre os materiais estudados a maltodextrina proporcionou uma melhor proteção ao corante encapsulado.

De acordo com Reineccius (2001) a deficiência nas propriedades emulsificantes das maltodextrinas não é um problema se o material ativo a ser encapsulado for solúvel em água ou se um emulsificante secundário for utilizado no processamento. Assim, as maltodextrinas são utilizadas principalmente como auxílio para materiais de difícil secagem, como suco concentrado de frutas, saborizantes solúveis em água, enzimas ou adoçantes de alta potência.

A combinação de solubilidade com baixa higroscopicidade faz com que as maltodextrinas com baixa dextrose equivalente (DE) sejam adequadas como veículo na desidratação de sucos de frutas. O uso de alta DE proporciona uma maior tendência a reações de escurecimento, maior higroscopicidade e solubilidade, maior doçura, menor coesividade, menor estabilidade da emulsão (Murray e Luft, 1973).

Bhandari *et al.* (1993) relatam que o uso de maltodextrinas com DE 6, 12 e 19 auxiliou a desidratação de sucos de concentrados de groselha preta, damasco e framboesa. O uso de maltodextrinas com DE mais baixa permitiu o uso de uma maior proporção de suco na formulação.

1.5.2. Goma arábica

A goma arábica é um exudado de árvores Acácia, a qual possui muitas espécies distribuídas nas regiões de clima tropical e subtropical. As mais importantes áreas de crescimento das espécies que produzem as melhores gomas são o Sudão e a Nigéria (BeMiller e Whistler, 1996).

Quimicamente, a goma arábica é um heteropolissacarídeo complexo de estrutura muito ramificada (FIGURA 5), cuja cadeia principal é formada por unidades de D-galactopiranoose, unidas por ligações glicosídicas em β -D-(1 \rightarrow 3). Cadeias laterais com diferentes estruturas químicas formadas de D-galactopiranoose, L-ramnose, L-arabinofuranose e ácido D-glucurônico, estão ligadas á cadeia principal por ligações β (1 \rightarrow 6) (BeMiller e Whistler, 1996; Potter e Hotchkiss, 1995; Bobbio e Bobbio, 1992a).

A goma arábica é um material heterogêneo, mas geralmente consiste de duas frações. A primeira, que corresponde a 70% da molécula, é composta de cadeias de polissacarídeos, com pouco, ou nenhum material nitrogenado. A outra fração possui alto peso molecular, tendo a proteína como uma parte integral da sua estrutura. A fração proteína-polissacrídeo é heterogênea também com respeito ao conteúdo de proteína. As estruturas polissacarídicas são covalentemente ligadas ao componente protéico através da hidroxiprolina, e talvez, unidades de serina, os dois amino-ácidos predominantes no polipeptídeo. O conteúdo geral de proteína é aproximadamente 2% do peso, mas frações específicas podem conter até 25% de proteína (BeMiller e Whistler, 1996).

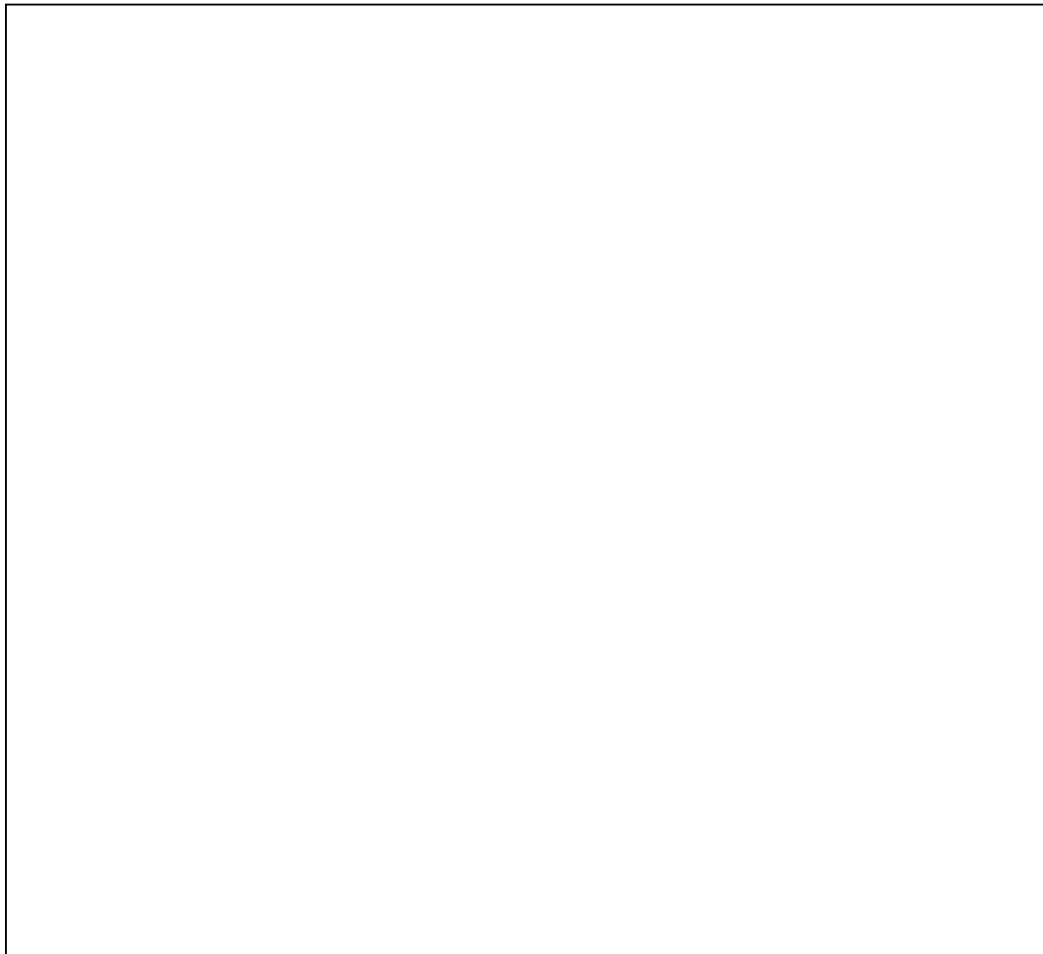


FIGURA 5 – Ilustração de um possível fragmento estrutural de goma arábica (Islam *et al.*, 1997).

A goma arábica dissolve-se facilmente quando agitada em água. Ela é a única entre as gomas alimentícias que apresenta alta solubilidade e baixa viscosidade em solução, facilitando o processo de atomização (Rosemberg *et al.*, 1990). Soluções com até 50% de concentração podem ser feitas, mas nesta concentração a dispersão apresenta características de gel (BeMiller e Whistler, 1996).

A viscosidade das soluções de goma arábica diminuem na presença de um eletrólito e em pH alto e baixo. Este é um comportamento típico de um polieletrólito, e acredita-se

que no caso da goma arábica a diminuição ocorra por causa de uma redução no volume efetivo devido a compactação da dupla camada elétrica que existe ao redor das moléculas (Islam *et al.*, 1997; Rosemberg *et al.*, 1990).

A goma arábica tem sido o padrão de excelência como matriz de encapsulação. É um emulsificante muito bom, com sabor suave e proporciona uma retenção de voláteis muito boa durante o processo de secagem. Historicamente tem apresentado problemas de suprimento e custo, porém o uso de práticas agrícolas modernas e manipulação genética tem resultado em um grande aumento na uniformidade e qualidade do produto, além de um suprimento mais estável, com redução no custo (Reinecius, 2001).

Bertolini *et al.* (2001) relatam que cápsulas produzidas com goma arábica apresentam uma limitada proteção contra oxidação, atuando como uma membrana semi-permeável, e há indicações suficientes de que a porosidade ao oxigênio é um fator preponderante na estabilidade do ingrediente ativo. Já Matsumura *et al.* (2000) relatam que a goma arábica foi mais efetiva do que a maltodextrina na supressão da autooxidação do ácido linoleico, em microcápsulas produzidas pela secagem de gotas de uma emulsão “óleo em água” sob ar quente. A diferença entre a goma arábica e a maltodextrina no seu efeito antioxidativo foi demonstrada sob condições severas, onde uma alta concentração de ácido linoleico e polissacarídeo foi submetida a alta temperatura e umidade no armazenamento.

De acordo com Reinecius (2001), a goma arábica pode ou não oferecer proteção contra a deterioração oxidativa, dependendo da goma utilizada. Algumas espécies oferecem uma notável proteção, enquanto outras oferecem pouca, ou nenhuma proteção ao material ativo. Matsumura *et al.* (2000) relatam que na ausência de gotas de óleo, as moléculas de goma arábica com uma estrutura compacta, fluem sem interligar-se por uma grande

extensão. Porém, quando gotas de óleo são introduzidas no sistema, elas funcionam como “zonas de junção” entre as moléculas, resultando em uma cobertura eficiente.

Reineccius (1991) avaliou combinações de maltodextrina e goma arábica e verificou uma encapsulação eficiente de aromas, além de uma excelente estabilidade contra a oxidação. Os melhores resultados foram obtidos com 60% de maltodextrina e 40% de goma arábica. A mistura, além de proporcionar um custo menor, apresenta as propriedades desejáveis da goma arábica.

1.6. ALTERAÇÕES FÍSICO-QUÍMICAS EM PRODUTOS DESIDRATADOS

O estado físico dos alimentos é um dos fatores que determinam a velocidade das reações químicas. Os sólidos em alimentos podem apresentar-se em um estado cristalino ou em um estado metaestável amorfo, dependendo da sua composição. Este estado também depende do processamento e das condições de armazenamento, como tempo, temperatura e umidade relativa (Karmas *et al.*, 1992).

Alimentos complexos frequentemente possuem regiões amorfas, formadas por sólidos não cristalinos ou líquidos supersaturados. Os biopolímeros são tipicamente amorfos ou parcialmente amorfos. Pequenas moléculas, como os açúcares também podem existir em um estado amorfo, e todos os alimentos desidratados, parcialmente desidratados, congelados e liofilizados possuem regiões amorfas (Fennema, 1996). Pós produzidos por atomização e liofilização também apresentam seus componentes em um estado amorfo (Aguilera *et al.*, 1995).

A principal alteração, característica do estado amorfo, é a transição vítrea, que envolve a transição de um sólido vítreo para um estado borrachento. Um material em estado vítreo comporta-se como um sólido quebradiço, com uma rigidez ou viscosidade

extremamente alta, por volta de 10^9 Pa, então a mobilidade molecular aproxima-se de zero. Entre a transição vítrea e o ponto de fusão observa-se um líquido super-resfriado. O comportamento mecânico pode ser o de uma borracha visco-elástica no caso de um material polimérico, ou viscoso, como um líquido, para materiais com baixo peso molecular (Champion *et al.* 2000; Roos, 1995). A principal consequência da transição vítrea é um aumento da mobilidade molecular e do volume livre em temperaturas acima da T_g , o que caracteriza o estado borrachento, podendo resultar em deteriorações físicas e físico-químicas (Roos e Karel, 1991).

Como a estabilidade de alimentos é principalmente dependente do conteúdo de água e a temperatura de transição vítrea é também altamente sensível a este parâmetro, o conceito de transição vítrea parece ser uma excelente ferramenta para compreender os mecanismos de processos em produtos alimentícios e para o controle de sua estabilidade. Realmente a temperatura de transição vítrea foi considerada uma temperatura de referência: abaixo da T_g , espera-se que o alimento seja estável; acima desta temperatura, a diferença entre a T_g e a temperatura de estocagem é que controla a velocidade das alterações físicas, químicas e biológicas do alimento (Champion *et al.*, 2000). Conhecendo-se os efeitos da temperatura e da umidade sobre o estado físico e a difusão em matrizes amorfas de alimentos, pode-se estabelecer as relações existentes entre a composição do alimento e as condições de armazenamento (Roos, 1995).

Sob temperaturas inferiores à temperatura de transição vítrea, as alterações obedecem a uma cinética do tipo Arrhenius, onde o aumento da taxa, em escala logarítmica, é linear, em função do ΔT (Fennema, 1996). No estado borrachento as modificações na estrutura passam a obedecer a cinética de Williams, Landel e Ferry

(WLF), que prediz o crescimento da taxa de relaxação mecânica em função do ΔT ($T - T_g$). Esta equação baseia-se na hipótese de que o volume livre de um sistema polimérico aumenta linearmente com o aumento da temperatura acima da T_g , e que a viscosidade, em termos moleculares decresce rapidamente com o aumento do volume livre. Assim, quanto mais a temperatura aumenta em relação a T_g , maior é a velocidade do processo de relaxação (Reid *et al.*, 1994).

Os dois principais constituintes de alimentos no que se refere a mobilidade molecular são: a água e o soluto, ou os solutos dominantes. A habilidade do soluto em reduzir a mobilidade molecular usualmente é inversamente proporcional ao peso molecular, as macromoléculas efetivamente diminuem a mobilidade molecular e aumentam a T_g . O soluto também terá sua capacidade de reduzir a mobilidade molecular diminuída, quando aumentar a quantidade de água (Fennema, 1996).

Materiais como sucos de frutas com altas quantidades de monossacarídeos tem baixos valores de T_g e ponto de adesão. Uma vez que a T_g aumenta com o aumento do peso molecular, maltodextrinas são utilizados para melhorar as características de desidratação, diminuir a adesividade e melhorar a estabilidade do produto (Bhandari *et al.*, 1993; Roos e Karel, 1991).

Em alimentos desidratados a transição vítrea afeta principalmente a viscosidade, que diminui a partir do momento que a plasticização pela água consiga diminuir a T_g abaixo da temperatura ambiente (Fennema, 1996). A FIGURA 4 mostra as interrelações entre temperatura, o tipo de cinética, a viscosidade, a mobilidade molecular, o volume livre e a velocidade relativa de eventos que dependem da difusão.

As alterações estruturais típicas que ocorrem em alimentos desidratados com características amorfas, que ocorrem em temperaturas acima da T_g são: aglomeração, adesividade, colapso e cristalização (FIGURA 5). O aumento da mobilidade molecular também afeta a difusão, resultando no aumento de reações de deterioração, como reações enzimáticas, escurecimento não enzimático e oxidação (Roos, 1993).

A aglomeração é um fenômeno nocivo pelo qual um pó com livre fluidez é primeiramente transformado em torrões, então em um aglomerado sólido e finalmente em um material adesivo, resultando na perda da funcionalidade e diminuição da qualidade (Aguilera *et al.*, 1995).

A formação de pontes de ligação é o estágio inicial da aglomeração, e ocorre como resultado da deformação superficial e da formação de pontos de adesão entre as partículas, não há um decréscimo mensurável na porosidade do sistema. Neste estágio, as pequenas pontes interpartículas podem desintegrar-se sob uma agitação suave. O próximo estágio envolve a consolidação irreversível das pontes, mas a alta porosidade do sistema é mantida, resultando em grupos de partículas com integridade estrutural. A compactação é um estágio avançado da aglomeração, e está associado com uma acentuada perda de integridade do sistema, como resultado de um engrossamento das pontes interpartículas, reduzindo assim o espaço entre elas e causando a deformação dos grupos. No estágio final, as pontes desaparecem, resultando na liquefação da amostra, em virtude do alto conteúdo de umidade. Esta fase usualmente envolve a solubilização das frações com baixo peso molecular que apresentam um comportamento higroscópico (Aguilera *et al.*, 1995).

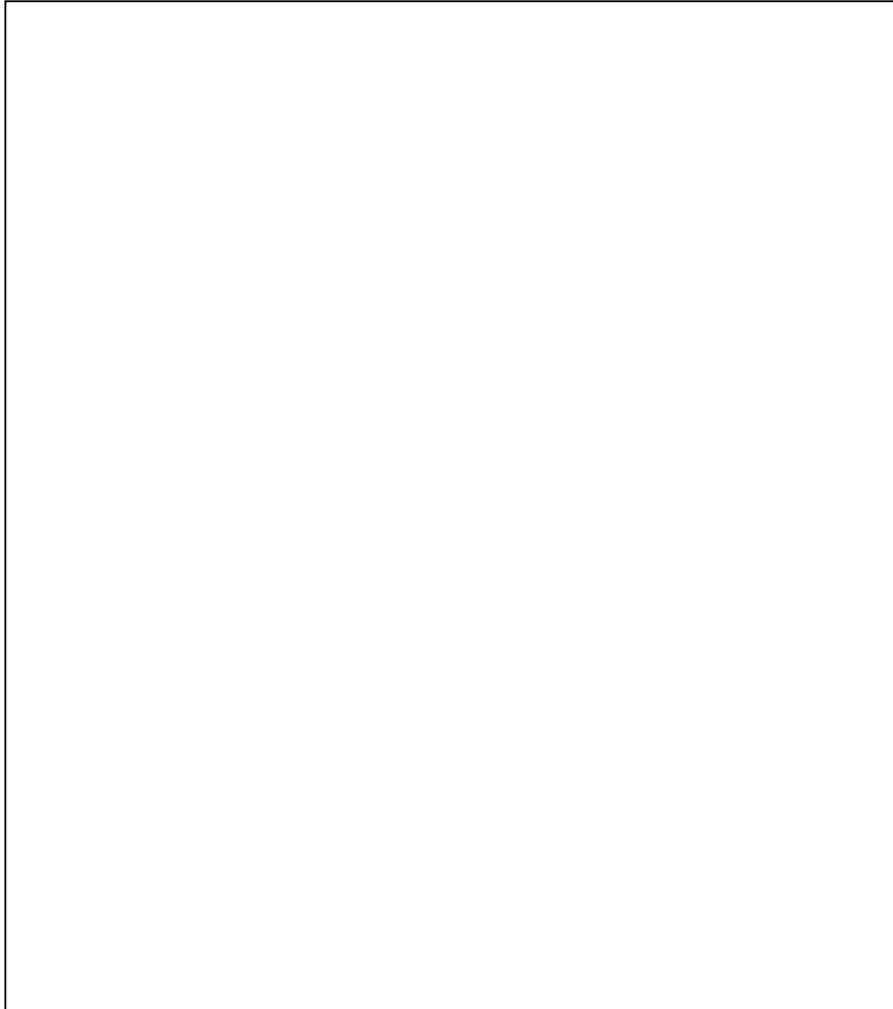


Figura 6 – Interrrelações esquemáticas entre temperatura, tipo de cinética apropriada, viscosidade, mobilidade molecular, volume livre, e taxas relativas de eventos dependentes de difusão (Fennema, 1996).

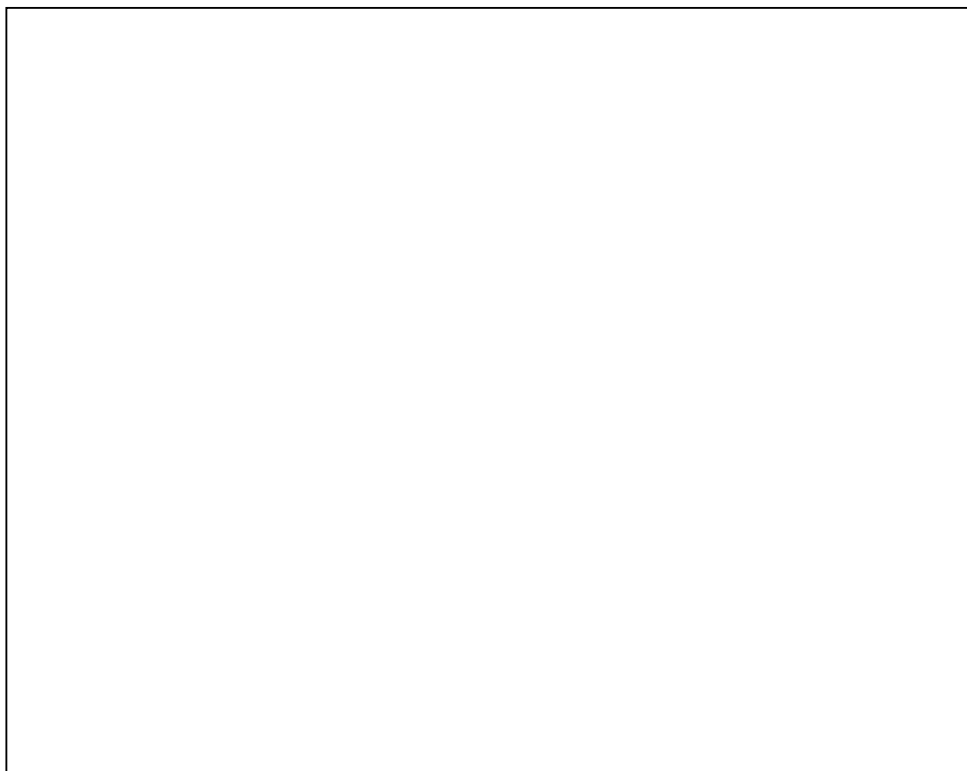


Figura 7 – Temperatura de transição vítrea, Tg, relacionada a fenômenos físicos e sua dependência do conteúdo de água. As transições observadas são dependentes do tempo e ocorrem em estados isoviscosos acima da Tg (Roos, 1995).

Em baixas atividades de água, uma das principais reações de degradação é o escurecimento não enzimático. O máximo escurecimento ocorre geralmente em atividades de água de 0,5 a 0,75. Em atividades de água abaixo desta faixa, as reações ocorrem mais lentamente, o que tem-se atribuído a limitações na difusão das moléculas (Labuza *et al.*, 1970). Karmas *et al.* (1992) reportam o aumento da taxa de escurecimento não enzimático, para temperaturas acima da Tg, em vegetais liofilizados, abaixo dela a reação foi bastante lenta, e na proximidade da Tg houve alterações na energia de ativação.

O fenômeno da oxidação também ocorre em sistemas com baixo conteúdo de umidade. Shimada *et al.* (1991) demonstrou que a velocidade da oxidação do metil linolato em uma matriz de lactose liofilizada aumentou com $T - T_g$. Porém, os autores relatam que a reação foi induzida pelo colapso da matriz, que é controlada pela temperatura de transição vítrea. Ainda não há evidências do controle direto da reação de oxidação pela transição vítrea (Champion *et al.* 2000).

Selim *et al.* (2000) estudaram a cinética de degradação de carotenóides de açafrão solúveis em água encapsuladas em diferentes matrizes amorfas. Os autores relatam que em geral, a resposta cinética observada foi diferente daquelas reportadas na maioria dos estudos sobre a oxidação de carotenóides apolares em sistemas com baixa umidade. A mudança no comportamento pode ser relacionado a alta solubilidade em água destes carotenóides, quando comparados aos carotenóides apolares, favorecendo o acesso ao oxigênio dissolvido pelo primeiro. A dependência que a velocidade de reação apresentou, em relação ao conteúdo de umidade dos carotenóides de açafrão microencapsulados, pareceu-se mais com reações controladas pela mobilidade dos reagentes em baixa atividade de água. Em ambientes secos, a água é fortemente ligada aos sítios polares superficiais e geralmente não está disponível nem como reagente, nem como diluente (Von Elbe, 1987).

A predição da estabilidade de alimentos desidratados tem se baseado na velocidade das reações de deterioração e na perda de nutrientes à várias temperaturas e umidades. A principal suposição para a estabilidade é que um conteúdo de água próximo ao valor da monocamada de BET permite a máxima estabilidade (Roos, 1995). Entretanto, Roos (1993) obteve valores de umidade críticos através do uso de dados de T_g , significativamente diferentes dos valores BET de monocamada. Para as maltodextrinas avaliadas, os valores de monocamada foram menores que as umidades críticas, já para

morango e raiz forte desidratados, os valores foram maiores. Os dados obtidos para maltodextrinas com diferentes DE mostraram que os valores críticos para a umidade e a atividade de água aumentam com o aumento do peso molecular, ou seja, com a diminuição da DE.

A relação entre atividade de água e quantidade de água do produto pode ser diretamente utilizada para avaliar os efeitos da umidade sobre a estabilidade. Logicamente, as conexões entre propriedades mecânicas, temperatura e conteúdo de água de alimentos amorfos melhoram os critérios para a predição da estabilidade. A isoterma de sorção combinada com dados de plasticização pela água, permitem o estabelecimento de valores críticos de umidade que podem relacionar-se com a estabilidade. Umidades acima dos pontos críticos diminuem a Tg do material abaixo da temperatura ambiente, resultando em adesividade, aglomeração, e provável cristalização de açúcares amorfos (Roos, 1995).

Pitombo e Cantelmo (2000) investigaram o comportamento higroscópico e o efeito do armazenamento sob diferentes umidades relativas e temperaturas sobre a vitamina C de suco de acerola liofilizado. As isotermas foram construídas nas temperaturas de 15, 25 e 35° C, apresentando uma configuração do tipo III, de acordo com a classificação de Brunauer et al. (1940), sendo que a 15 e 25° C a curva aproximava-se de um tipo II. Verificou-se que nestes dois casos, o efeito da temperatura sobre a umidade de equilíbrio foi bastante pronunciada. Em atividade de água constante, o aumento da temperatura provocou uma diminuição na quantidade de água absorvida, indicando que o suco de acerola tornou-se menos higroscópico. A 35° C, o comportamento altera-se por volta da atividade de água 0,8, passando a ocorrer o oposto, de modo que aparece um cruzamento na isoterma. A diferença no comportamento deve-se ao fato de que sendo o alimento uma estrutura complexa, operando-se a uma temperatura mais elevada podem ocorrer alterações

irreversíveis, termicamente induzidas, de modo que as propriedades de absorção de água do sistema sejam modificadas.

O armazenamento abaixo da Tg é altamente desejável, uma vez que irá estabilizar propriedades dos alimentos que são dependentes da difusão. Porém esta não é uma situação do tipo tudo ou nada, quando a temperatura de estocagem abaixo da Tg não é praticável, o mínimo desvio abaixo desta temperatura ajuda a reduzir a velocidade das reações (Fennema, 1996).

O sucesso na manipulação da transição vítrea poderá auxiliar no desenvolvimento de novos produtos e levar a melhorias na utilização de ingredientes alimentícios, além de melhorar o controle de qualidade (Noel *et al.*, 1990).

1.7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUILERA, M.J.; DEL VALLE, J.M.; KAREL, M. Caking phenomena in amorphous food powder. **Trends in Food Science and Technology**, v.6, n.5, p. 149 –155, 1995.

ALVES, R. E.; MENEZES, J.B.; SILVA, S. de M. Colheita e pós-colheita da acerola. In: JOSÉ, A. R. S. & ALVES, R. R. (ed.). **Acerola no Brasil**. Vitória da Conquista: UESB, 1995. p.77 –89.

ANDRADE, J. S.; GALEAZZI, M. A. M.; ARAGÃO, C. G.; CHAVES – FLORES, W. B. Valor nutricional do camu-camu [*Myrciaria dubia* (H.B.K.) McVaugh] cultivado em terra firme da Amazônia central. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 13, n. 3, p. 307 – 311, 1991.

ARAÚJO, P. S. R. de; MINAMI, K. **Acerola**. Campinas: Fundação Cargill, 1994. 81p.

- ASENJO, C. F. Acerola. In: NAGY, S.; SHAW, P. E. **Tropical and subtropical fruits: composition, properties and uses**. Wesport: AVI, 1980. p. 341 – 374.
- BEATUS, Y.; RAZIEL, A.; ROSENBERG, M.; KOPELMAN, I. J. Spray-drying microencapsulation of *Paprika oleoresin*. **Lebensmittel Wissenschaft and Technologie**. v. 18, p. 28-34, 1985.
- BELITZ, H. D.; GROSH, W. **Química de los alimentos**. Zaragoza: Acribia, 1988. p. 336-339.
- BE MILLER, J. N.; WHISTLER, R. L. . Carbohydrates. In: FENNEMA, O.R. **Food Chemistry**. 3ed. 1996. Cap. 4, p. 157 - 224.
- BENASSI, M. T.; ANTUNES, . A comparison of metaphosphoric and oxalic acids as extractants solutions for the determination of vitamin C in selected vegetables. **Arquivos Biologia e Tecnologia**. v. 31, n. 4, p. 507-513, 1988.
- BERTOLINI, A. C.; SIANI, A. C.; GROSSO, C. R. F. Stability of monoterpenes encapsulated in gum arabic by spray – drying. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v. 49, p. 780-785, 2001.
- BORS, W.; HELLER, W., MICHEL, C.; SARAN, M. Flavonoids as antioxidants: determination of radical scavenging efficiencies. *Methods in Enzimology*. v. 186, p. 1794-1801, 1995.
- CARAGAY, A. Cancer preventive ingredients. **Food Technology**, v. 46, n. 4, p. 65 – 68, 1992.
- CARVALHO, R. I. N. de; MANICA, I. Influência de estágios de maturação e condições de armazenamento na concervação da acerola (*Malpighia glabra* L.). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 29, n. 5, p. 677-680, 1994.

- CHAMPION, D.; LE MESTE, M.; SIMATOS, D. Toward an improved understanding of glass transition and relaxation in foods: molecular mobility in the glass transition range. **Trends in Food Science and Technology**, v. 11, p. 41 – 55, 2000.
- CONTRERAS-GUZMÁN, E. S., STROG, F.C., GUERNELLI, O. Determinação de ácido ascórbico (vit. C) por redução de íons cúpricos. **Química Nova**, v.7, n.2, p. 60-64, 1984.
- DESOBRY, S. A.; NETTO, F. M.; LABUZA, T. P. Comparison of spray-drying, drum-drying and freeze-drying for β -carotene encapsulation and preservation. **Journal Food Science**, v. 62 , n. 12, p. 1158 -1162, 1997.
- DESOBRY, S. A.; NETTO, F. M.; LABUZA, T. P. Influence of maltodextrin systems at an equivalent 25DE on encapsulated b-carotene loss during storage. **Journal of Food Processing Preservation**, v. 23 , p. 39 - 55, 1999.
- DO, J. Y.; SRISANGNAM, C.; SALUNKHE, D. K.; RAHMAN, A . R. Freeze-dehydrated and compressed sour cherries. **Journal Food Technology**, v. 10, p. 191-201, 1975.
- DZIEZAK, J. D. Microencapsulation and encapsulated ingredients. **Food Technology**, v. 42, n. 4, p. 136 – 148, 1988.
- FELLOWS, P. **Food Processing Technology**. Ellis Howood, 1990. Cap. 14: Dehydration. p. 281-313.
- FENNEMA, O. R. Water and ice. In: FENNEMA, O.R. **Food Chemistry**. 3ed. 1996. Cap. 2, p. 17 - 9400.
- FODA, Y. H.; HAMED, M. G. E.; ABD-ALLAH, M. A. Preservation of orange and guava juices by freeze-drying. **Food Technology**, v. 24, n. 12, p. 74-80, 1970.

GARDNER, P. T.; WHITE, A. C. T.; McPHAIL, D. B.; DUTHIE, G. G. The relative contributions of vitamin C, carotenoids and phenolics to the antioxidant potential of fruit juices. **Food Chemistry**, v. 68, p. 471-474, 2000.

GODSHALL, M. A. The role of carbohydrates in flavor development. **Food Technology**, v. 42, n. 11, p. 71 - 78, nov., 1988.

GREGORY, J. F. Vitamins . In: FENNEMA, O.R. **Food Chemistry**. 3ed. 1996. Cap.8, p. 531 - 616.

GUADARRAMA, A. S. Algunos cambios quimicos durante la maduración de frutod de semeruco (*Malpighia puncifolia* L.). **Revista de la Facultad de Agronomia**, Maracay, v. 13, n. 1 - 4, p. 111 – 128, 1984.

HEINONEN, M.; LEHTONEN, P. J.; HOPIA, A. I. Antioxidant activity of berry and fruit wines and liquors. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, p. 25 – 31, 1998.

HENSHALL, J. D. Ascorbic acid in fruit juices and beverages. In: COUNSELL, J. N.; HORNING, D. H.. **Vitamin C**. Applied Science Publishers:1981. p.123-138.

HERTOG

ISLAM, A. M.; PHILLIPS, G.O.; SLJIVO,A.; SNOWDEN, M. J.; WILLIAMS, P. A. A review of recent developments on the regulatory, structural and functional aspects of gum arabic. **Food Hydrocolloids**, v. 11, n. 4, p. 493-505, 1997.

ITOO, S.; MITSUCO, A.; ISHIHATA, K. Comparison of ascorbic acid content in acerola fruit from different production region depend on degree of maturity, and stability by processing. **Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi**, v. 37, n. 9, p. 726-729, 1990.

JACKSON, L. S.; LEE, K. Microencapsulation and the food industry. **Lebensmittel-Wissenschaft Technologie Food Science**, v. 24, n. 4, p. 289-297, 1991.

KACEM, B.; CORNELL, J. A.; MARSHALL, M. R.; SHIREMAN, R.B.; MATTHEWS, R. F. Nonenzymatic browning in aseptically packaged orange juice and orange drinks. Effect of ascorbic acid, amino acids and oxygen. **Journal Food Science**, v. 52, p. 1668 –1672, 1987.

KÄHKÖNEN, M. P.; HOPIA, A. I.; VUORELA, H. J.; RAUHA, J. P.; PIHLAJA, K.; KUJALA, T. S.; HEINONEN, M. Antioxidant activity of t extracts containing phenolic compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, n. 10, p. 3954 – 3962.

KALT, W.; FORNEY, C. F.; MARTIN, A.; PRIOR, R. L. Antioxidant capacity, vitamin C, phenolics, and anthocyanins after fresh storage of small fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, n. 11, p. 4638 – 4644.

KAREL, M.; FLINK, J. Some recent developments in food dehydration research. **Advances Drying**, v. 2, n. 1, p. 103 – 104, 1983

KAREL, M.; LANGER, R. Controlled release of food ingredients. In: Reineccius, G.A; Risch, S. J. (Eds.). **Flavor Encapsulation** . American Chemical Society: Washington, D.C. 1988, p. 177 – 192.

KARMAS, R.; BUERA, M. P.; KAREL, M. Effects of glass transition on rates of nonenzymatic browning in food systems. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v. 40, n. 5, p. 873-879, 1992.

KENYON, M. M.; ANDERSON, J. Maltodextrins and low dextrose-equivalence corn syrup solids. In: RISCH, S. J.; REINECCIUS, G. A. (Eds.) **Flavor encapsulation**, american chemical Society, Washington, p. 87 – 102, 1988.

KIRBY, C. J.; WHITTLE, C. J.; RIGBY, N.; COXON, D. T.;LAW, B. A. Stabilization of ascorbic acid by microencapsulation in liposomes. **International Journal of Food Science and Technology**, New York, v. 26, p. 437 – 449, 1991.

KRAUSE, M.V.; MAHAN, L. K. Alimentos, nutrição e dietoterapia. São Paulo: Roca, 1985. p. 195 - 198.

LABUZA, T. P.; TANNENBAUM, S. R.; KAREL, M. Water content and stability of low-moisture and intermediate-moisture foods. **Food Technology**, v.24, n. 5, p. 35-42, 1970.

LEE, S. H.; LABUZA, T.P. Destruction of ascorbic acid as a function of water activity. **Journal of Food Science**, v. 40, p.370-373, 1975.

LEE, H. S.; NAGY, S. Quality changes and nonenzymatic browning intermediates in grapefruit juice during storage. **Journal of Food Science**, v. 53, n. 1, p. 168 –172, 180, 1988.

LEME, J.; FONSECA, H. F.; NOGUEIRA, J.N. Variação do teor de ácido ascórbico e β -caroteno em cereja das Antilhas (*Malpighia puncifolia* L.) liofilizadas. **Archivos Latinoamericanos de Nutrition**, v.23, n.2, p.207-215, 1973.

LEVINE, H.; SLADE, L. A polymer physico – chemical approach to the study of commercial starch hydrolysis products. **Carbohydrate Polymers**, v. 6, n. 3, p. 213 – 244, 1986.

MANICA , I.; CARVALHO, R. I. N. Acerola, pesquisa e extensão no Rio Grande do Sul. In: JOSÉ, A. R. S. & ALVES, R. R. (ed.). **Acerola no Brasil**. Vitória da Conquista: UESB, 1995. p.133 – 141.

- MAPSON, L. W. Vitamins in fruits. In: HULME, A. C. **The biochemistry of fruits and their products**. v. 1. Academic Press. P. 369-383. 1970.
- MARQUARDT, U. The use of micro-encapsulated ingredients and additives in food. **Food Ingredients International**, n. 4, p. 17-19, 1992.
- MARTINEZ-VALVERDE, I.; PERIAGO, M. J.; ROS, G. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, v. 50, n. 1, p. 5 – 18, 2000.
- MATSUMURA, Y.; SATAKE, C.; EGAMI, M.; MORI, T. Interaction of gum arabic, maltodextrin and pullulan with lipids in emulsions. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, v. 64, n. 9, p. 1827 – 1835, 2000.
- MEYER, A. S.; DONOVAN, J. L.; PEARSON, D. A.; WATERHOUSE, A. I.; FRANKEL, E. N. Fruit hydrocinnamic acids inhibit human low – density lipoprotein oxidation *in vitro*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, p. 1783 – 1787, 1998.
- MEYER, A. S.; YI, O. S.; PEARSON, D. A.; WATERHOUSE, A. I.; FRANKEL, E. N. Inhibition of human low-density lipoprotein oxidation in relation to composition of phenolic antioxidants in grapes (*Vitis vinifera*) . **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, p. 1638 – 1643, 1997.
- MILLER, N. J.; DIPLOCK, A. T.; RICE-EVANS, C. A. Evaluation of the total antioxidant activity as a marker of deterioration of apple juice on storage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 43, p. 1794 – 1801, 1995.
- MILLER, N. J.; RICE-EVANS, C. A. The relative contributions of ascorbic acid and phenolic antioxidants to the total activity of orange and apple fruit juice and blackcurrant drink. **Food Chemistry**, v. 60, n. 6, p. 331 – 337, 1997.

- MILLER, C. D.; WENKAM, N. S.; FITTING, K. O. Acerola: nutritive value and home use. Hawaii Agricultural Experiment Station, Honolulu, 1961 18 p. (Circular 59).
- MURRAY, D. G.; LUFT, L. R. Low-DE corn starch hydrolyses. **Food Technology**, v. 27, n. 3, p. 32-40, 1973.
- NIKI, E. Action of ascorbic acid as scavenger of active and stable oxygen radicals. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 54, p. 1119S – 1124S, 1991.
- NOEL, T. R.; RING, S. G. E WHITTAM, M. A. Glass transitions in low-moisture foods. **Trends in Food Science and Technology**, v. 2, n. 9, p. 62 – 67, 1990.
- PITOMBO, R. N. M.; CANTELMO, M. C. P. W. Jugo de acerola (*Malpighia punicifolia* L.) liofilizado: comportamiento higroscopico, efectos del almacenamiento a diferentes humedades relativas y temperaturas, sobre la vitamina C y compuestos volatiles. **Alimentaria**, n. 10, p. 119 – 128, 2000.
- QI, Z. H.; XU, A. Starch-based ingredients for flavor encapsulation. **Cereal Foods World**, v. 44, n. 7, p. 460 – 465, 1999.
- REID, D. S.; KERR, W.; HSU, J. The glass transition in the freezing process. **Journal of Food Engineering**, v. 22, p. 483 – 494, 1994.
- REINECCIUS, G. A. Multiple-core encapsulation: the spray drying of food ingredients. In: VILSTRUP, P. **Microencapsulation of food ingredients**. Leatherhead Publishing. p. 151 - 185. 2001.
- REINECCIUS, G. A. Carbohydrates for flavor encapsulation. **Food Technology**, v. 46, n. 3, p. 144 – 152, 1991.

- RICE-EVANS, C. A.; MILLER, N. J.; BOWELL, P.G.; BRAMLEY, P. M.; PRIDHAM, J. B. The relative antioxidant activities of plant – derived polyphenolic flavonoids. **Free Radical Research**, v. 22, p. 375-383, 1995.
- ROBARDS, K.; PRENZLER, P. D.; TUCKER, G.; SWATSITANG, P.; GLOVER, W. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. **Food Chemistry**, v. 66, p. 401 – 436, 1999.
- ROCK, C. L.; JACOB, R. A.; BOWEN, P. E. Update on the biological characteristics of the antioxidant micronutrients: vitamin C, vitamin E, and the carotenoids. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 96, n. 7, p. 693 – 702, 1996.
- ROOS, Y. H. **Phase transitions in foods**. San Diego: Academic Press, 1995. 360p.
- ROOS, Y. Water activity and physical state effects on amorphous food stability. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 16, p. 433 – 447, 1993.
- ROOS, Y.; KAREL, M. Applying state diagrams to food processing and development. **Food Technology**, v. 45, n. 12, p. 66 – 71, 1991.
- ROSEMBERG, M.; KOPELMAN, I.J.; TALMON, Y. Factors affecting retention in spray-drying microencapsulation of volatile materials. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 38, p. 1288 – 1294, 1990.
- RUNGE, F. E. Multiple–core encapsulation. In: VILSTRUP, P. (Ed.). **Microencapsulation of food ingredients**. Leatherhead Publishing. p. 133 - 141. 2001.
- SELIM, K.; TSIMIDOU, M.; BILIARDERIS, C. G.. Kinetic studies of degradation of saffron carotenoids encapsulated in amorphous polymer matrices. **Food Chemistry**, v. 71, p. 199-206, 2000.

- SHAHIDI, F.; HAN, X. Q. Encapsulation of food ingredients. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 33, n. 6, p. 501 – 547, 1993.
- SHIMADA, Y.; ROSS, Y.; KAREL, M. Oxidation of methyl linoleato encapsulated in amorphous lactose-based food model. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 39, n. 4, p. 637 – 641, 1991.
- TANNENBAUM, S. Ascorbic acid. In: FENNEMA, O. **Principles of food science**. Part I. **Food chemistry**. Marcel Dekker. p. 477 – 544. 1976.
- THIES, C. Microcapsule characterisation. In: VILSTRUP, P. **Microencapsulation of food ingredients**. Leatherhead Publishing. p. 31 - 54. 2001.
- UDDIN, M. S.; HAWLADER, M. N. A.; ZHU, H. J. Microencapsulation of ascorbic acid: effect of process variables on product characteristics. **Journal of Microencapsulation**, v. 18, n. 2, 199 – 201, 2001.
- ULRICH, R. Organic acids. In: HULME, A. C. **The biochemistry of fruits and their products**. v. 1. Academic Press. p. 89 - 118. 1970.
- VAN BUREN, J. Fruit phenolics. In: HULME, A. C. **The biochemistry of fruits and their products**. v. 1. Academic Press. p. 269 - 303. 1970.
- VENDRAMINI, A. L.; TRUGO, L. C. Chemical composition of acerola fruit (*Malpighia punicifolia* L.) at three stages of maturity. **Food Chemistry**, v. 71, p. 195 – 198, 2000.
- VIEIRA, M. C.; TEIXEIRA, A. A.; SILVA, C. L. M. Mathematical modeling of thermal degradation kinetics of vitamin C in cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) nectar. **Journal of Food Engineering**, v. 43, p. 1 – 7, 2000.

VILLOTA, R.; SAGUY, I.; KAREL, M. Storage stability of dehydrated food evaluation of literature. **Journal Food Quality**, v. 3, n. 3, p. 123-212, 1980.

VISANTEINER, J. V.; VIEIRA, O. A.; MATSUSHITA, M.; SOUZA, N. E. Caracterização físico-química da acerola *Malpighia Glabra* L. produzida na região de Maringá, estado do Paraná, Brasil. **Archivos Latinoamericanos de Nutrition**, n. 47, n. 1, p. 70 --72, 1997.

WANG, H.; CAO, G.; PRIOR, R.L. Oxygen radical absorbing capacity of anthocyanins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, p. 304 – 309, 1997.

CAPÍTULO 2

CARACTERIZAÇÃO FÍSICO – QUÍMICA E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO SUCO INTEGRAL E CONCENTRADO DE ACEROLA

2.1. RESUMO

As características físico-químicas e o potencial antioxidante do suco concentrado de acerola verde foi avaliado e comparado ao suco integral da acerola verde e da acerola madura. O estudo das características físico-químicas, revelou a presença de ácido tartárico, málico, cítrico e principalmente ácido ascórbico nos sucos estudados. O suco de acerola verde concentrado apresentou 4,89% de vitamina C, o suco de acerola verde 1,90% e o suco de acerola madura 0,97%. Os açúcares encontrados nos sucos foram frutose e glicose. Sacarose foi encontrada apenas no suco de acerola verde. O suco de acerola madura apresentou entre 1,01 a 1,63 mg de fenóis totais expressos em catequina/g de suco, o suco de acerola verde entre 3,5 e 4,1 mg de catequina/g de suco, e o suco de acerola verde concentrado 9,2 mg catequina/g de suco. Através da análise cromatográfica verificou-se no suco de acerola verde a presença de catequina, ácido gálico, ácido coumárico, ácido siríngico, ácido cafeíco e ácido ferrúlico. O suco da acerola madura apresentou apenas um pico predominante, com tempo de retenção similar ao encontrado para o ácido ferrúlico. Todos os sucos de acerola estudados apresentaram atividade antioxidante. O suco de acerola madura diminuiu em 44,7% a oxidação do metil linolato, uma redução maior que a apresentada pelo suco de acerola verde, 28,1%. O suco concentrado apresentou a maior

atividade antioxidante, reduzindo em 57,2% a oxidação do metil linolato. Não houve correlação entre o teor de fenóis totais nos sucos estudados e a taxa de atividade antioxidante. O suco de acerola verde concentrado apresentou alto teor de vitamina C e fenóis totais, podendo assim originar produtos com características de alimento funcional.

Palavras-chave: acerola, compostos fenólicos, atividade antioxidante.

2.2. INTRODUÇÃO

O principal interesse no cultivo da acerola (*Malpighia emarginata* DC) deve-se ao alto teor de vitamina C desta fruta, considerada uma das melhores fontes naturais desta vitamina (Araújo e Minami, 1994), com teores comparáveis apenas ao camu-camu, uma fruta nativa da Amazônia, que apresenta aproximadamente 2950 mg de vitamina C, em cada 100g de polpa integral (Andrade *et al.*, 1991).

O amadurecimento da acerola envolve uma série de reações bioquímicas complexas, como hidrólise de amido, conversão de cloroplastos em cromoplastos com a transformação da clorofila, produção de carotenóides, antocianinas, fenóis e compostos voláteis (Speirs e Brady, 1991, citados por Vendramini e Trugo, 2000), resultando em uma fruta delicada, difícil de ser transportada e manuseada.

O conteúdo de ácido ascórbico decresce com a maturação da acerola. Itoo *et al.* (1990), constataram a redução do teor de vitamina C em acerolas produzidas em 3 regiões distintas do Japão. Nos frutos verdes, o teor de ácido ascórbico observado foi 2150, 2775 e 3200 mg/100 g de frutos, reduzindo-se para 1455, 1755 e 1825 mg/100 g, respectivamente, nos frutos completamente maduros. Resultados semelhantes foram encontrados por

Carvalho e Manica (1994), onde os frutos verdes apresentavam 3096 mg/100g de frutos e os maduros cerca de 1201 mg/100g de frutos. Vendramini e Trugo (2000) observaram uma redução de 2164 mg/100g de vitamina C em frutos verdes para 1074 mg/100 g em frutos maduros colhidos na região de Maricá (RJ – Brasil). Os autores associam a redução à oxidação bioquímica, uma vez que encontraram na acerola madura o composto 3-hidroxi-2-pirona, resultado da quebra oxidativa do ácido ascórbico.

Poucos são os dados sobre a composição da acerola verde encontradas na literatura, no entanto, estas informações são importantes para verificar-se o potencial desta matéria prima na elaboração de produtos naturais com alto teor de vitamina C, onde poderão ser encontrados outros compostos de interesse, como compostos fenólicos, amplamente distribuídos em frutas e cujo potencial antioxidante tem sido reportado por vários autores (Kalt *et al.*, 1998; Kähkönen *et al.*, 1999; Prior e Cao, 1999; Emmons *et al.*, 1999, Heinonen *et al.*, 1998).

Frutas e bagas contêm uma ampla variedade de flavonóides e de ácidos fenólicos que mostram atividade antioxidante. Os principais subgrupos de flavonóides presentes em frutas são antocianinas, protoantocianinas, flavonóis e catequinas, Os ácidos fenólicos presentes são os derivados hidroxilados do ácido benzóico e ácido cinâmico (Kähkönen *et al.*, 1999), como ácido clorogênico, ácido p-coumarico, ácido ferrúlico e ácido caféico (Van Buren, 1970).

Os polifenóis são efetivos doadores de hidrogênio, particularmente os flavonóides, como a quercetina, as antocianinas em vinhos, e os fenilpropanóis (Rice-Evans *et al.*, 1995), incluindo o ácido clorogênico em suco de maçã (Miller *et al.*, 1995).

O potencial antioxidante destes compostos está diretamente relacionado ao número e ao arranjo dos grupos hidroxila, à extensão da conjugação estrutural, bem como à presença de elétrons substitutos na estrutura do anel (Bors *et al.*, 1990).

Estudos sobre a atividade antioxidante de frutas têm se concentrado na uva, a qual tem sido reportada como inibidora da oxidação da lipoproteína de baixa densidade (LDL) em um nível comparável ao do vinho (Meyer *et al.*, 1997). Extratos de amora preta, groselha preta e vermelha, framboesa preta e vermelha, mostraram uma excepcional atividade seqüestrante de radicais superóxidos (Constantino *et al.*, 1992, citados por Kähkönen *et al.*, 1999). Segundo Meyer *et al.* (1998), ácidos hidrocínâmicos, tipicamente presentes em frutas, foram inibidores da oxidação do LDL “in vitro”. Extratos fenólicos de bagas (amora preta, framboesa, morango, cerejas doces) também mostraram inibição da oxidação da LDL humana e da oxidação de lipossomas de lecitina (Heinonen *et al.* 1998).

Miller e Rice-Evans (1997) estudaram a contribuição relativa do ácido ascórbico e dos antioxidantes fenólicos na atividade antioxidante total de suco de maçã, de laranja e de uma bebida de groselha preta. Os compostos fenólicos responsáveis pela atividade antioxidante total do suco de maçã foram o ácido clorogênico, ácido p-coumarico, catequina e floridina. Para o suco de laranja foi a hesperidina e narirutina. As antocianinas da bebida de groselha preta, contribuíram apenas com uma parte da atividade antioxidante, que também não foi promovida pela vitamina C, indicando a presença de outros compostos antioxidantes não identificados. Os resultados encontrados sugerem que os fenóis protegem a vitamina C da decomposição oxidativa, sendo que a groselha preta apresentou a maior proteção à vitamina C e também a maior atividade antioxidante total.

A importância dos constituintes antioxidantes presentes em vegetais para a manutenção da saúde e na prevenção de doenças coronárias e do câncer é de grande

interesse para cientistas, indústrias de alimentos e consumidores, uma vez que o mercado futuro move-se em direção aos alimentos funcionais com efeitos específicos sobre a saúde (Löliiger, 1991, citado por Kähkönen et al., 1999).

Genericamente, alimentos funcionais são aqueles com possível impacto sobre a saúde individual, o desempenho físico, ou o estado mental, em adição ao seu valor nutritivo normal. Definem-se três condições básicas para um alimento ser considerado funcional: deve ser derivado de um produto que ocorra na natureza; pode e deve ser consumido como parte da dieta diária; e deve ter uma função particular quando ingerido, como a melhoria do mecanismo de defesa do organismo, prevenção de uma doença em particular, ou diminuição do processo de envelhecimento (Goldberg, 1994, citado por Giese, 1995).

Um produto que reunisse em sua composição compostos fenólicos e ácido ascórbico, ao ser concentrado, poderia adquirir um grande potencial antioxidante, classificando-se dentro dos denominados alimentos funcionais.

O objetivo do presente trabalho foi caracterizar físico – quimicamente o suco concentrado de acerola verde, verificando seu potencial como matéria prima para produtos encapsulados com características de alimento funcional e compara-lo ao suco integral da acerola verde e da acerola madura.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. MATERIAIS

3.1.1. Matéria prima

O suco integral foi obtido a partir de três lotes distintos de acerolas maduras e verdes (FIGURA 1) , coletados em diferentes partes de pomares da cidade de Japurá-PR em fevereiro de 2000, cujas plantações comerciais caracterizam-se pelo plantio de acerolas ácidas, sem variedade específica, da espécie *Malpighia emarginata* DC, apropriadas para o

consumo na forma de suco. Após a colheita, os frutos foram congelados e mantidos à temperatura de -18°C , até o momento da extração, quando foram descongelados e rapidamente processados. A extração do suco foi realizada em centrífuga doméstica, marca Walita, sem adição de água. No processamento da acerola verde, foi necessária a moagem prévia das frutas em liquidificador. O bagaço foi centrifugado varias vezes até que cessasse a saída de suco.

O suco concentrado foi fornecido pela empresa Anidro S/A, de Botucatu – SP, de um lote processado com frutas oriundas dos mesmos pomares das frutas analisadas, porém coletadas em fevereiro de 1999. Para a obtenção do suco concentrado, o suco das frutas verdes é clarificado, neutralizado e então, concentrado em evaporador do tipo torre.

3.1.2 Reagentes

Os reagentes utilizados foram de grau de pureza analítica, exceto para as análises por CLAE, onde utilizou-se reagentes de grau cromatográfico de pureza.

3.2. MÉTODOS

3.2.1. Determinação do pH

Obtido por leitura direta em potenciômetro digital, à 25°C .

3.2.2. Determinação do teor de sólidos

Os sólidos solúveis foram determinados através de leitura direta em refratômetro de bancada, com leitura corrigida para a temperatura de 25°C . Os sólidos também foram determinados por diferença entre o teor de sólidos totais e insolúveis, obtidos por gravimetria de acordo com a metodologia preconizada pela AOAC (1984).

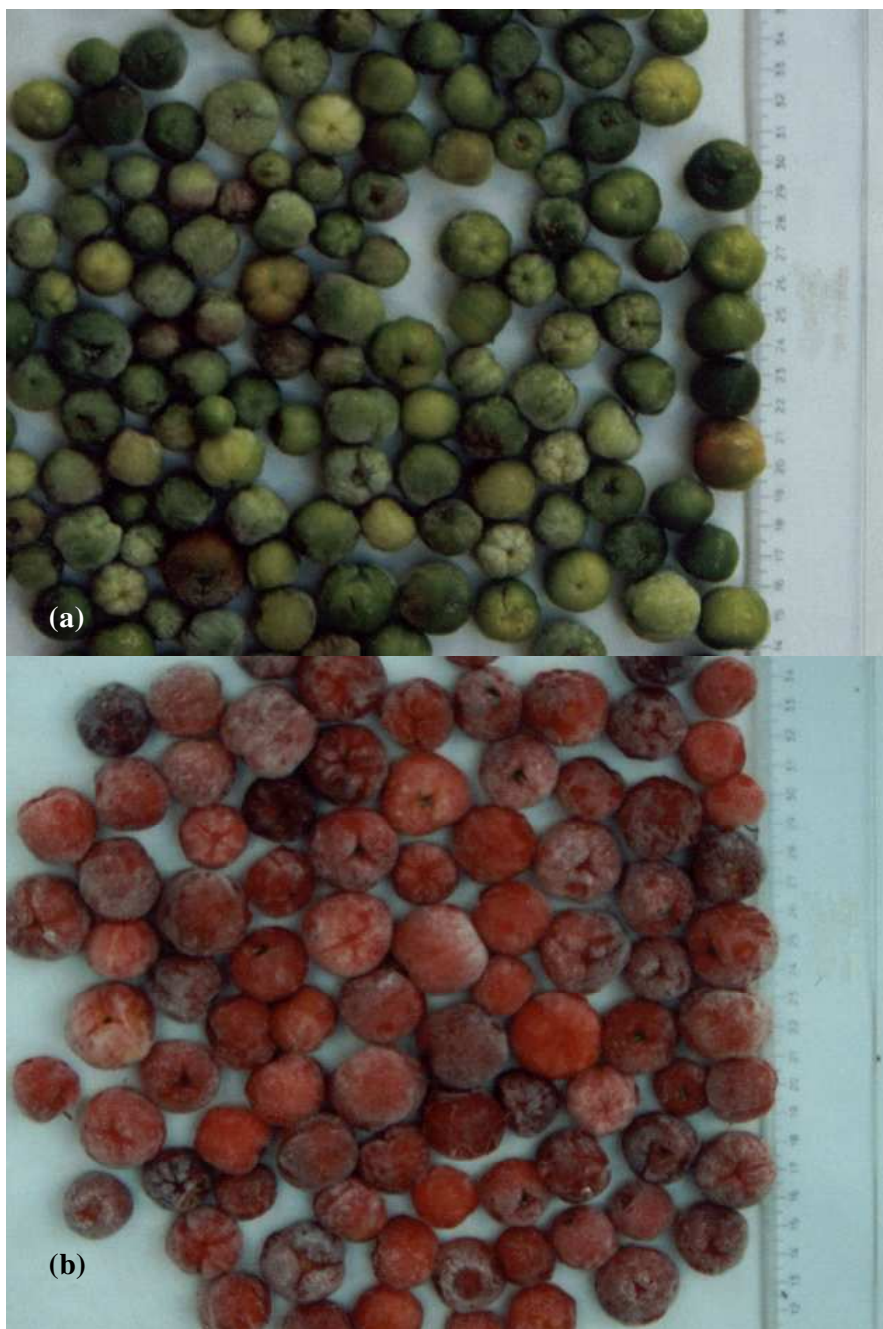


FIGURA 1 – Frutos de acerola verde (a) e madura (b), coletados em pomares de Japurá -PR.

3.2.3. Caracterização dos açúcares

Os açúcares foram determinados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), utilizando cromatógrafo Varian 9012, com detecção por índice de refração. Utilizou-se uma coluna de troca iônica NH₂ (5µm), com dimensões de 125 x 4,6 mm, e como fase móvel, solução acetona:acetonitrila:água (55:30:14), com uma vazão de 1,0 mL/min, de acordo com o procedimento descrito por Carvalho (1993). A identificação dos açúcares, embora não conclusiva, baseou-se na comparação dos tempos de retenção entre padrões e amostra. A quantificação foi realizada através de curva padrão

3.2.4. Determinação do teor de vitamina C

A determinação da vitamina C foi realizada pelo método titulométrico com diclorofenol indofenol sódico, da AOAC (1984), substituindo a solução de ácido metafosfórico por solução de ácido oxálico (Benassi e Antunes, 1988).

3.2.5. Caracterização dos ácidos orgânicos

Realizada através de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), utilizando a metodologia desenvolvida por Benassi e Cecchi (1998). A coluna utilizada foi C₁₈ fase reversa (5µm), com dimensões de 250 x 4,6 mm, a fase móvel foi água acidificada com ácido sulfúrico até pH 2,4, vazão de 0,5 mL/min e volume de injeção de 20µL. As análises foram realizadas a 25°C, com detector UV, Varian 9050, operando a 210 nm. Para a quantificação do ácido ascórbico foi realizada uma segunda análise com as amostras mais diluídas, onde não era possível quantificar os demais ácidos.

3.2.6. Determinação do teor de fenóis totais

O teor de fenóis totais foi determinado pelo método titulométrico do azul da Prússia, conforme descrito por Budini *et al.* (1980). A leitura a 700 nm foi realizada em espectrofotômetro Beckman DU-70 utilizando catequina como padrão. A interferência do ácido ascórbico na análise foi eliminada utilizando curva padrão para este composto, com leitura realizada no mesmo comprimento de onda, e subtraindo da absorbância encontrada para a amostra a absorbância referente ao seu conteúdo de ácido ascórbico.

3.2.7. Caracterização dos compostos fenólicos

Os compostos fenólicos presentes no suco de acerola verde foram analisados segundo a metodologia descrita por Benassi e Cecchi (1998). A coluna utilizada foi C₁₈ fase reversa, com dimensões de 250 x 4,6 mm, a fase móvel foi água levada a pH 2,4 com ácido sulfúrico e gradiente de metanol, vazão de 0,5 mL/min e volume de injeção de 20 µL. As análises foram realizadas a 25°C, com detector UV, Varian 9050, operando a 210 nm.

Na preparação das amostras utilizou-se um cartucho de separação de fase sólida (C18 Sep-Pak Vac 100 mg, Millipore Waters) , para a eliminação de interferentes, principalmente ácidos e açúcares, segundo procedimento descrito por Heinonen *et al.* (1998).

As frações contendo os principais picos do cromatograma foram coletadas e submetidas a análise espectrofotométrica de varredura, em espectrofotômetro Beckman DU-70, com comprimento de onda variando entre 190 e 700 nm. O perfil de absorção foi utilizado na identificação dos compostos.

3.2.8. Atividade antioxidante

Determinada através do método espectrofotométrico descrito por Heinonen *et al.* (1998), onde a formação de dienos conjugados é utilizada como índice de oxidação do metil linolato.

Amostras liofilizadas dos sucos (5 g) foram pesadas e diluídas em 50 mL de metanol. A solução foi centrifugada por 20 minutos a 5000 rpm. O sobrenadante foi coletado, e uma fração de 1 mL foi submetida ao cartucho de separação de fase sólida (SPE) utilizando a metodologia descrita no item anterior.

Testou-se a atividade antioxidante dos extratos metanólicos das amostras sem a extração dos interferentes no SPE e com a separação destes interferentes.

Adicionou-se 500 µL de cada extrato metanólico a 500 µg de metil linolato. O metanol foi evaporado sob nitrogênio. A oxidação do metil linolato foi conduzida no escuro a 45° C. Alíquotas das amostras (50 µg) foram retiradas a cada 12 horas e diluídas em 1mL de isoctano. A leitura foi realizada em espectrofotômetro Beckman DU-70, em comprimento de onda de 234 nm. Os resultados foram expressos em mmoles de hidroperóxidos por kg de sólidos, utilizando a absortividade molar de 26000 (Fishwick e Swoboda, 1977).

A porcentagem de inibição (In %) exercida por cada extrato foi calculada, no início da fase de propagação, após 48 horas do início do experimento, utilizando a formula (Heinonen *et al.*,1998):

$$\text{In}\% = [(C - S)/C] \times 100$$

onde:

C = quantidade de hidroperóxidos formada pelo controle

S = quantidade de hidroperóxidos formada na amostra.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os rendimentos das extrações de sucos dos diferentes lotes de acerola verde e madura estão apresentados na TABELA 1. O rendimento de suco de acerola verde, 57%, foi próximo ao da acerola madura, 65%, embora tenha sido necessária a prévia trituração da fruta verde, sem a qual não foi possível realizar a extração. Dantas *et al.* (1994) cita a possibilidade de se obter até 80% de rendimento em frutas maduras com a utilização de despoldadeiras adequadas.

TABELA 1 – Rendimento de lotes de acerola verde e madura extraídas em centrífuga.

Acerola*	peso frutas (g)	suco extraído (g)	Rendimento %	% média
Verde I	721	476	66	56,7
VerdeII	871	523	60	
VerdeIII	865	380	44	
Madura I	956	435	66	65,3
Madura II	731	495	68	
Madura III	541	333	62	

*Diferentes lotes expressos em algarismos romanos

4.1. Caracterização dos sucos

Os lotes de acerola verde apresentaram pH médio 3,62 enquanto que nos lotes de acerola madura a média foi 3,34. Manica e Carvalho (1995) e Alves *et al.* (1995) reportam o aumento do pH com o processo de maturação, enquanto Vendramini e Trugo (2000), reportam valores praticamente constantes de pH (3,7) ao longo da maturação de frutos de acerola, indicando que o grau de dissociação do ácido ascórbico, que diminui, e de outros ácidos orgânicos, que aumentam durante a maturação, podem produzir um equilíbrio dinâmico.

Os valores reportados pelos autores referem-se a frutas do mesmo lote, analisadas ao longo do armazenamento, enquanto que as frutas utilizadas na produção dos sucos integrais neste trabalho, foram colhidas simultaneamente, e, portanto, referem-se a lotes diferentes. O suco de acerola verde concentrado apresentou pH 4,7 após a neutralização e concentração. Todos os sucos estudados apresentaram pH na faixa de 2,5 a 5,5, onde, de acordo com Gregory (1996), o ácido ascórbico é mais estável.

O teor de sólidos totais do suco da acerola verde obtido por gravimetria foi em média $5,4 \% \pm 0,01$, sendo apenas $0,2 \%$ de sólidos insolúveis e $5,2 \%$ de sólidos solúveis, obtidos por diferença. No suco da acerola madura, o teor de sólidos totais foi de $5,5 \% \pm 0,02$, com $0,7 \%$ de sólidos insolúveis e $4,8 \%$ de sólidos solúveis. Vendramini e Trugo (2000) relataram valores superiores, $7,8\%$ para a acerola verde e $9,2 \%$ para a acerola madura, mas estes são valores que apresentam grande variação, em função das características edafoclimáticas da região produtora. O suco concentrado apresentou $20,9 \% \pm 0,01$ de sólidos totais, com $0,03\%$ de sólidos insolúveis e $20,87\%$ de sólidos solúveis, o resultado é compatível com o processo de concentração do suco, onde há uma etapa de clarificação para a retirada dos sólidos insolúveis.

O teor de sólidos solúveis também foi analisado através do índice de refração, uma metodologia usual na caracterização de frutas, principalmente grau de maturação. O teor de sólidos solúveis encontrado para a acerola verde foi de $5,1 \% \pm 0,0$, para a acerola madura $5,7 \% \pm 0,0$ e para o suco verde concentrado de $21,5\% \pm 0,01$. A comparação entre os resultados obtidos por índice de refração e por gravimetria, resultou em uma excelente correlação ($r^2 = 0,988$), demonstrando que a análise por refratometria, mais rápida e prática que a gravimétrica, deve ser utilizada .

Os açúcares encontrados nos sucos de acerola estudados através da análise por CLAE, foram frutose e glicose, os resultados são apresentados na TABELA 2. Os mesmos açúcares foram encontrados por Asenjo (1980) em acerolas maduras. Apenas no suco de acerola verde constatou-se a presença de pequenas quantidades de sacarose. Alves et al. (1995) encontraram teores de açúcares similares para a acerola verde, entre 2,5 a 3,3%, no entanto o teor encontrado para acerolas maduras chegou a 5%, maior que os 4,2% encontrados neste estudo. Manica e Carvalho (1995) reportam valores mais próximos entre 4,5% para acerola verde e 4,7% para a acerola madura, o mesmo ocorrendo com Vendramini e Trugo (2000) que encontraram 4,3 % de açúcares totais para a acerola verde e 4,4% para a acerola madura. As variações nos valores reportados também podem ser resultado de fatores que interferem na produção, como características regionais de clima e solo, bem como tratos culturais e época da safra.

TABELA 2 – Teores de açúcares em sucos de acerola, utilizando CLAE.

AÇÚCARES IDENTIFICADOS** (g/100g SUCO)			
SUCO*	FRUTOSE	GLICOSE	SACAROSE
Verde Concentrado	10,32 ± 0,21	5,48 ± 0,3	-
Verde I	2,18 ± 0,1	0,99 ± 0,05	0,02 ± 0,01
Verde II	2,15 ± 0,03	1,03 ± 0,02	0,03 ± 0,01
verde III	2,09 ± 0,01	0,97 ± 0,06	0,02 ± 0,01
Média entre lotes	2,14 ± 0,04	0,997 ± 0,04	0,02 ± 0,01
Madura I	3,35 ± 0,03	0,97 ± 0,01	-
Madura II	3,42 ± 0,01	0,84 ± 0,02	-
Madura III	3,22 ± 0,01	0,82 ± 0,02	-
Média entre lotes	3,33 ± 0,02	0,88 ± 0,02	-

*Diferentes lotes expressos em algarismos romanos

** Média de análises realizadas em triplicata

Os ácidos orgânicos encontrados nos diferentes lotes de sucos estão apresentados na TABELA 3. Observou-se a presença de ácido tartárico, málico, cítrico e ascórbico, este último responsável em média por 83% do total de ácidos presentes no suco verde concentrado, de 87% no suco da acerola verde e de 67% no suco de acerola madura. Um teor significativo de ácido málico foi encontrado nos sucos, a sua participação em relação ao total de ácidos orgânicos cresceu do suco da acerola verde, 12%, para o suco da acerola madura, 32%. Asenjo (1980) reportou que o ácido málico responde por até 20% da acidez encontrada na acerola. Estes ácidos orgânicos tem um importante papel no metabolismo geral de frutas, participando da síntese de compostos fenólicos, lipídeos e compostos voláteis, apresentando também um papel fundamental no sabor característico das frutas (Ulrich, 1970).

TABELA 3 – Teores de ácidos orgânicos presentes em sucos de acerola.

SUCO*	ÁCIDOS IDENTIFICADOS** (g/100g SUCO)				TOTAL
	ascórbico	málico	tartárico	cítrico	
Verde Concentrado	4,49 ± 0,05 (84%)	0,59 ± 0,19 (11%)	0,21 ± 0,01 (4%)	0,072 ± 0,028 (1,3%)	5,36 ± 0,197 (100%)
Verde I	1,76 ± 0,01	0,29 ± 0,07	0,01 ± 0,00	0,004 ± 0,006	2,06 ± 0,050
Verde II	1,90 ± 0,03	0,22 ± 0,05	0,01 ± 0,01	0,019 ± 0,011	2,15 ± 0,060
Verde III	1,89 ± 0,03	0,23 ± 0,01	0,01 ± 0,00	0,012 ± 0,001	2,15 ± 0,025
Média	1,85 (87%)	0,25 (12%)	0,01(0,4%)	0,012 (0,6%)	2,12 (100%)
Madura I	0,83 ± 0,01	0,44 ± 0,01	0,002 ± 0,001	0,003 ± 0,005	1,28 ± 0,003
Madura II	0,66 ± 0,00	0,31 ± 0,03	0,002 ± 0,000	0,005 ± 0,002	0,99 ± 0,036
Madura III	0,90 ± 0,04	0,39 ± 0,05	0,003 ± 0,000	0,002 ± 0,002	1,30 ± 0,057
Média	0,80 (67%)	0,38 (32%)	0,002 (0,2%)	0,003 (0,3%)	1,19 (100%)

*Diferentes lotes expressos em algarismos romanos

A análise de vitamina C realizada pelo método titulométrico apresentou resultados superiores aos encontrados por CLAE (TABELA 4). A diferença entre as determinações pode ser o resultado da não determinação do ácido dehidroascórbico, forma ativa da vitamina C, na análise por CLAE. O suco verde concentrado apresentou 4,89% ± 0,04, o

suco de acerola verde $1,90\% \pm 0,03$, e o suco de acerola madura $0,97\% \pm 0,03$. Os resultados são similares aos reportados nos trabalhos desenvolvidos por Vendramini e Trugo (2000), Itoo *et al.* (1990) e Carvalho e Manica (1994), onde a acerola madura apresentou teor de vitamina C inferior ao da acerola verde. A redução encontrada por Vendramini e Trugo (2000) e Carvalho e Manica (1994), foi aproximadamente 51%. Portanto para a obtenção de produtos com alto teor desta vitamina, onde não há o interesse em características de sabor e aroma, a acerola verde pode ser uma matéria prima interessante.

TABELA 4 – Comparação entre os teores de ácido ascórbico obtidos por CLAE e pelo método oficial da AOAC.

SUCO*	% ácido ascórbico (CLAE)**	% vitamina C (AOAC)
verde concentrado	4,49 ± 0,051	4,89 ± 0,036
verde I	1,76 ± 0,012	1,85 ± 0,034
verde II	1,90 ± 0,034	1,93 ± 0,017
verde III	1,89 ± 0,027	1,91 ± 0,034
média	1,85	1,90
madura I	0,83 ± 0,005	0,94 ± 0,008
madura II	0,66 ± 0,003	0,87 ± 0,084
madura III	0,90 ± 0,040	1,10 ± 0,000
média	0,80	0,97

*Diferentes lotes expressos em algarismos romanos

** análises realizadas em triplicata

A análise de fenóis totais revelou a presença de compostos fenólicos em todos os sucos de acerola analisados. Os lotes de suco de acerola madura apresentaram de 1,01 a 1,63 mg de catequina/g de suco, enquanto os lotes de suco de acerola verde apresentaram entre 3,5 e 4,1 mg/g de suco, e o suco de acerola verde concentrado 9,2 mg/g de suco. As quantidades encontradas são consideradas baixas principalmente quando comparadas com

uvas, amoras e outras frutas, que apresentam entre 25 e 50 mg/g de fenóis totais (Kähkönen *et al.* 1999).

Os cromatogramas dos compostos fenólicos dos sucos obtidos da acerola verde e da acerola madura mostram diferentes perfis. Observa-se para o suco de acerola verde inúmeros picos (FIGURA 2a), dentre os quais foi possível fazer uma identificação parcial, baseada no tempo de retenção, da catequina, ácido gálico, ácido coumárico, ácido siríngico, ácido cafeíco e ácido ferrúlico. Não foi possível, no entanto, coletar as respectivas frações em quantidade suficiente para realizar um estudo espectrofotométrico que confirmasse a identificação.

No perfil cromatográfico apresentado pelo suco da acerola madura (FIGURA 2b), observou-se a presença de um pico predominante, com tempo de retenção similar ao encontrado para o ácido ferrúlico. Vendramini e Trugo (2000) detectaram a presença de vanilina e eugenol na fração volátil da acerola no estágio intermediário de maturação e na fruta madura. Estes compostos são originados no processo de maturação da fruta, através da descarboxilação do ácido p-coumarico e do ácido ferrúlico, indicando assim a presença destes compostos na fruta verde.

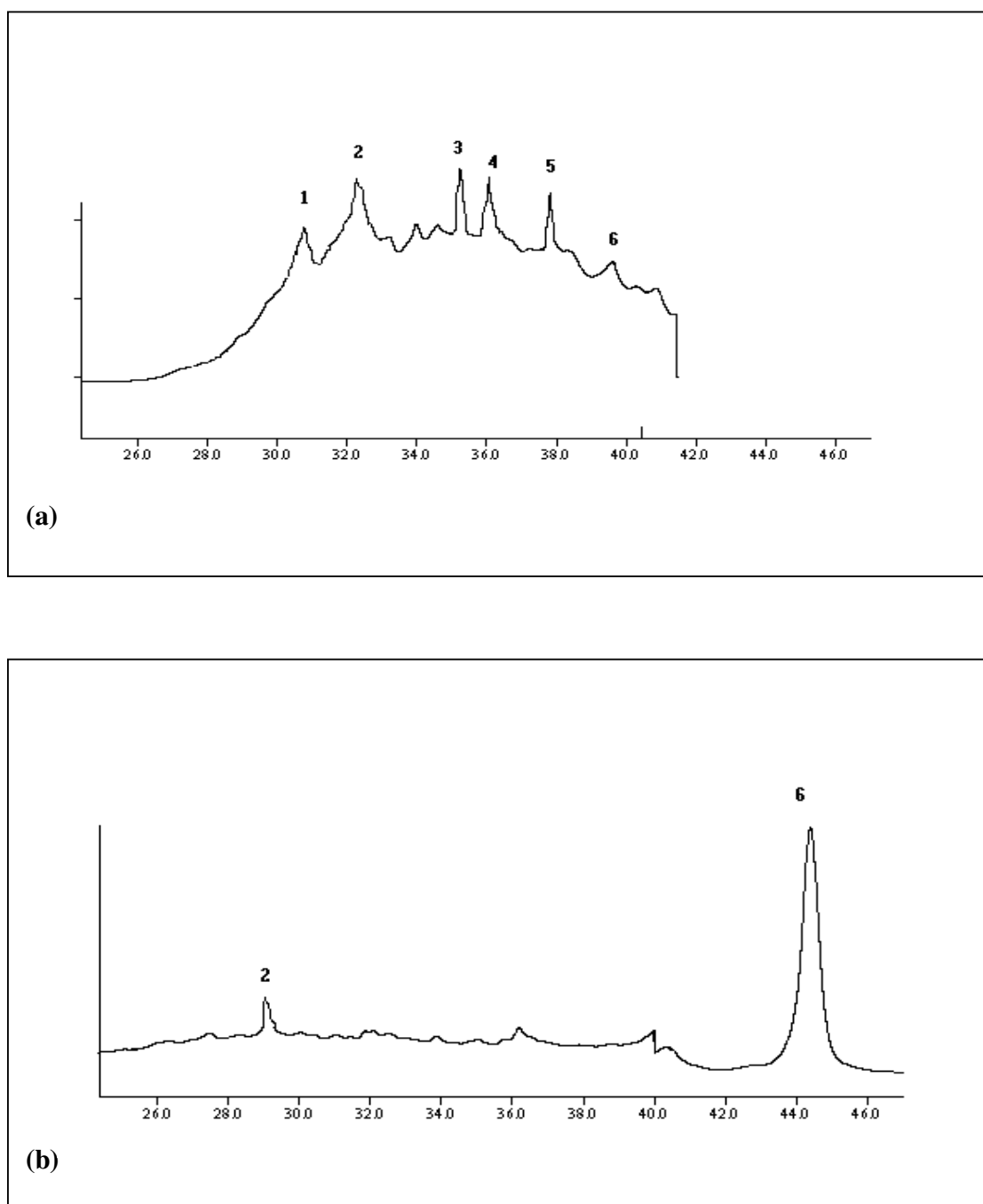


FIGURA 2 – Perfis cromatográficos apresentados por sucos de acerola na caracterização de compostos fenólicos por CLAE. (a) suco de acerola verde; (b) suco de acerola madura. (1) ácido gálico; (2) catequina; (3) ácido cafeíco; (4) ácido coumárico; (5) ácido siríngico; (6) ácido ferrúlico.

Para efeito de comparação as características físico-químicas dos diferentes sucos de acerola analisados foram expressas em função do teor de sólidos (TABELA 5). O suco concentrado de acerola verde foi extraído de um lote de frutas do ano anterior ao das frutas utilizadas para a extração dos sucos integrais, assim, sua composição não pode ser comparada ao do suco verde integral. Já os sucos integrais extraídos de frutos maduros e verdes são passíveis de comparação uma vez que foram coletados simultaneamente no mesmo pomar. Pode-se observar que o teor de açúcares é significativamente maior ($p < 0,05$) na acerola madura, enquanto o teor de vitamina C e de fenóis totais foi significativamente menor ($p < 0,05$) que o apresentado pela acerola verde, estes últimos são compostos importantes no potencial antioxidante de um produto a base de acerola, indicando o potencial da acerola verde como matéria prima para alimentos funcionais. Os resultados obtidos estão de acordo com as informações encontradas na literatura (Vendramini e Trugo, 2000; Ito *et al.*, 1990; Carvalho e Manica, 1994).

TABELA 5 - Composição média de suco de acerola verde integral, verde concentrado e madura, expressos em relação ao teor de sólidos totais*.

	g/100g de sólidos		
	Concentrado	Verde	Madura
Açúcares	75,6 a	58,5 b	76,5 a
Ácidos	25,6 b	39,3 a	21,6 c
Ácido ascórbico**	21,5 b	34,3 a	14,5 c
Fenóis totais	4,4 b	7,0 a	2,4 c

* valores na mesma linha acompanhados de letras distintas diferem significativamente $p < 0,05$.

** resultado da análise por CLAE

4.2. Atividade antioxidante dos sucos

A FIGURA 3 apresenta as curvas de oxidação do metil linolato na presença dos sucos de acerola. Observa-se que todos os sucos de acerola estudados apresentaram atividade antioxidante. Os extratos de sucos que foram submetidos a coluna SPE apresentaram uma menor formação de hidroperóxidos do que aqueles que foram utilizados integralmente. A velocidade da reação aumentou após 48 horas, período no qual foi calculada a porcentagem de inibição dos sucos, indicando o início do período de propagação da reação (Nawar, 1996).

A porcentagem de inibição (In%) exercida pelos sucos é apresentada na TABELA 6. O extrato de acerola madura apresentou In % 44,7, porcentagem maior que a apresentada pela acerola verde In % 28,1, com o suco concentrado obteve-se In % 57,2, resultado similar ao encontrado por Kähkönen *et al.* (1999) para o morango, que ficou em 58% e similar ao reportado por Heinonen *et al.* (1998) para cerejas doces na oxidação de lipossomas. O extrato do suco concentrado de acerola verde e o suco de acerola madura apresentaram as maiores taxas de inibição, portanto, não houve correlação entre o teor de fenóis totais no suco e a taxa de atividade antioxidante.

Kalt *et al.* (1998), relataram a capacidade antioxidante da vitamina C, antocianinas e fenóis em frutas pequenas (morangos, amoras e framboesas) submetidas a armazenamento em diferentes temperaturas. Neste estudo, os autores verificaram que a capacidade antioxidante era altamente correlacionada ao teor de fenóis totais ($r = 0,83$) e antocianinas ($r = 0,90$). A participação do ascorbato na capacidade antioxidante total da fruta foi pequena, ficando entre 0,4 a 9,4%.

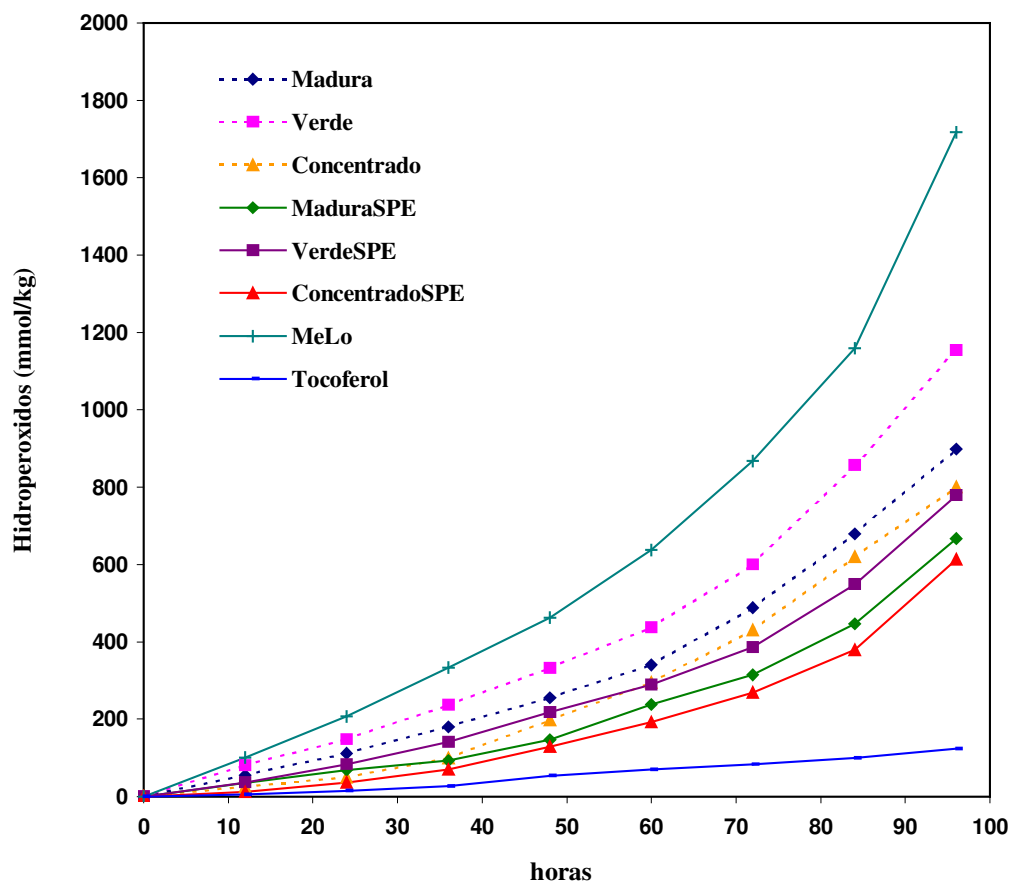


FIGURA 4 – Atividade antioxidante de extratos de sucos de acerola madura, acerola verde e acerola verde concentrado na oxidação de metil linolato (45°C): (-----) extratos que foram submetidos a retiradas de interferentes com cartucho de separação de fase sólida (SPE); (_____) extratos que não foram submetidos a retirada de interferentes .

TABELA 6 – Atividade antioxidante e características de extratos de suco de acerola.

Preparação do Extrato	Suco	Fenóis Totais (mg/g)	vit. C (%)	Inibição (%)
sem SPE	Concentrado	4,4	4,81	44,7
	Verde	7,1	1,82	28,1
	Madura	2,6	0,96	57,2
com SPE	Concentrado	4,4	3,97	72,1
	Verde	7,1	1,54	52,7
	Madura	2,6	0,81	68,5

A inibição superior apresentada pela acerola madura em relação a acerola verde, indica a presença de compostos fenólicos com ação antioxidante efetiva, uma vez que o teor de fenóis totais e vitamina C é menor. A caracterização dos compostos fenólicos por CLAE indicou a presença do ácido ferrúlico na fruta madura, este ácido é um derivado do ácido cinâmico (Van Buren, 1970), com efetivo potencial ação antioxidante (Kähkönen *et al.*, 1999). O suco de acerola verde concentrado, embora não tenha apresentado nenhum composto fenólico predominante em seu perfil cromatográfico, apresentou a maior taxa de inibição, provavelmente a somatória de dois aspectos importantes, maior teor de vitamina C e de fenóis totais.

A extração de interferentes através de cartuchos de separação de fase sólida (SPE), não foi efetiva na eliminação da vitamina C. O extrato do suco concentrado ainda apresentava 4% de vitamina C após a utilização do cartucho, o extrato da acerola verde apresentava 1,54% de vitamina C e o extrato de acerola madura 0,81% de vitamina C. Assim, não foi possível verificar a atividade antioxidante da fração fenólica e da vitamina C

separadamente, mas observou-se que a remoção de açúcares e ácidos promoveu um aumento na atividade antioxidante dos extratos.

5. CONCLUSÃO

Os sucos de acerola estudados apresentaram ácido tartárico, málico, cítrico e principalmente ácido ascórbico. Os açúcares encontrados foram frutose e glicose, apenas o suco de acerola verde apresentou traços de sacarose. Verificou-se também a presença de compostos fenólicos.

A análise por CLAE indicou no suco de acerola verde a presença de catequina, ácido gálico, ácido coumárico, ácido siríngico, ácido cafeíco e ácido ferrúlico. O suco da acerola madura, apresentou um pico predominante em seu perfil cromatográfico, com tempo de retenção similar ao encontrado para o ácido ferrúlico.

Todos os sucos de acerola estudados apresentaram atividade antioxidante. O suco de acerola madura apresentou uma inibição da oxidação superior ao suco de acerola verde integral. O suco de acerola verde concentrado apresentou a maior atividade antioxidante entre os sucos estudados. Não houve correlação entre o teor de fenóis totais dos sucos e a taxa de atividade antioxidante.

O suco de acerola verde concentrado reuniu qualidades que resultaram em atividade antioxidante, podendo assim originar produtos com características de alimento funcional.

O suco de acerola verde apresentou um teor de vitamina C e de fenóis totais superior ao da acerola madura, mostrando-se uma matéria prima interessante para produtos onde o sabor e o aroma característicos da acerola não são necessários.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, R. E.; MENEZES, J.B.; SILVA, S. de M. Colheita e pós-colheita da acerola. In: JOSÉ, A. R. S. & ALVES, R. R. (ed.). **Acerola no Brasil**. Vitória da Conquista: UESB, 1995. p.77 –89.
- ANDRADE, J. S.; GALEAZZI, M. A. M.; ARAGÃO, C. G.; CHAVES – FLORES, W. B. Valor nutricional do camu-camu [Myrciaria dubia (H.B.K.) McVaugh) cultivado em terra firme da Amazônia central. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 13, n. 3, p. 307 – 311, 1991.
- AOAC. **Official methods of analysis**. 15 ed. Association of official analytical chemists, Arlington, 1984.
- ARAÚJO, P. S. R. de; MINAMI, K. **Acerola**. Campinas: Fundação Cargill, 1994. 81p.
- ASENJO, C. F. Acerola. In: NAGY, S.; SHAW, P. E. **Tropical and subtropical fruits: composition, properties and uses**. Wesport: AVI, 1980. p. 341 – 374.
- BENASSI, M. T.; ANTUNES, . A comparison of metaphosphoric and oxalic acids as extractants solutions for the determination of vitamin C in selected vegetables. **Arquivos Biologia e Tecnologia**. v. 31, n. 4, p. 507-513, 1988.
- BENASSI, M. T.; CECCHI, H. M. Method development for the simultaneous determination of carboxylic acids, phenolic compounds, and sorbic acid in white wines. **Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies**. v. 21, n. 4, p. 491-501, 1998.
- BORS, W.; HELLER, W., MICHEL, C.; SARAN, M. Flavonoids as antioxidants: determination of radical scavenging efficiencies. *Methods in Enzimology*. v. 186, p. 1794 -1801, 1995.

- BUDINI, R; TONELLI, D.; GIROTTI, Analysis of total phenols using the prussian blue method. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 28, n. 6, p. 1236 –1238, 1980.
- CARVALHO, P. R. N. **Cromatografia líquida de alta eficiência aplicada à análise de alimentos**. Campinas: ITAL, 1993. p. 45. (Manual técnico nº 11)
- CARVALHO, R. I. N. de; MANICA, I. Influência de estágios de maturação e condições de armazenamento na conservação da acerola (*Malpighia glabra* L.). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 29, n. 5, p. 677-680, 1994.
- DANTAS, S. C. **Cultivo da aceroleira**. Porto Velho: EMATER, 1994. 16 p.
- EMMONS, C. L.; PETERSON, D. M.; PAUL, G. L. Antioxdant capacity of oat (*Avena sativa* L.) extracts. 2. In vitro antioxidant activity and contents of phenolic and tocol antioxidants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, n. 12, p. 4894 – 4898, 1999.
- FISCHWICK, M. J.; SWOBODA, P. A. T. Measurement of oxidation of polyunsaturated fatty acids by spectrophotometric assay of conjugated derivates. **Journal Science of Food and Agriculture**, v. 28, p. 387 – 393, 1997.
- GIESE, J. Developments in beverage additives. **Food Technology**, v. 49, n. 9, p. 64 – 72, 1995.
- GREGORY, J.F. Vitamins . In: FENNEMA, O.R. **Food Chemistry**. 3ed. 1996. Cap.8, p. 531 - 616.
- HEINONEN, M.; LEHTONEN, P. J.; HOPIA, A. I. Antioxidant activity of berry and fruit wines and liquors. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, p. 25 – 31, 1998.

- ITOO, S.; MITSUCO, A.; ISHIHATA, K. Comparison of ascorbic acid content in acerola fruit from different production region depend on degree of maturity, and stability by processing. **Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi**, v. 37, n. 9, p. 726-729, 1990.
- KÄHKÖNEN, M. P.; HOPIA, A. I.; VUORELA, H. J.; RAUHA, J. P.; PIHLAJA, K.; KUJALA, T. S.; HEINONEN, M. Antioxidant activity of t extracts containing phenolic compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, n. 10, p. 3954 – 3962.
- KALT, W.; FORNEY, C. F.; MARTIN, A.; PRIOR, R. L. Antioxidant capacity, vitamin C, phenolics, and anthocyanins after fresh storage of small fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, n. 11, p. 4638 – 4644.
- KIRBY, C. J.; WHITTLE, C. J.; RIGBY, N.; COXON, D. T.;LAW, B. A. Stabilization of ascorbic acid by microencapsulation in liposomes. **International Journal of Food Science and Technology**, New York, v. 26, p. 437 – 449, 1991.
- MANICA , I.; CARVALHO, R. I. N. Acerola, pesquisa e extensão no Rio Grande do Sul. In: JOSÉ, A. R. S. & ALVES, R. R. (ed.). **Acerola no Brasil**. Vitória da Conquista: UESB, 1995. p.133 – 141.
- MEYER, A. S.; DONOVAN, J. L.; PEARSON, D. A.; WATERHOUSE, A. I.; FRANKEL, E. N. Fruit hydrocinnamic acids anhibit human low – density lipoprotein oxidation *in vitro*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, p. 1783 – 1787, 1998.
- MEYER, A. S.; YI, O. S.; PEARSON, D. A.; WATERHOUSE, A. I.; FRANKEL, E. N. Inhibition of human low-density lipoprotein oxidation in relation to composition of phenolic antioxidants in grapes (*Vitis vinifera*) . **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, p. 1638 – 1643, 1997.

- MILLER, N. J.; DIPLOCK, A. T.; RICE-EVANS, C. A. Evaluation of the total antioxidant activity as a marker of deterioration of apple juice on storage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 43, p. 1794 – 1801, 1995.
- MILLER, N. J.; RICE-EVANS, C. A. The relative contributions of ascorbic acid and phenolic antioxidants to the total activity of orange and apple fruit juice and blackcurrant drink. **Food Chemistry**, v. 60, n. 6, p. 331 – 337, 1997.
- NAWAR, W. W. Lipids. In: FENNEMA, O.R. **Food Chemistry**. 3ed. 1996. Cap. 5, p. 225 - 320.
- PRIOR, R. L.; CAO, G. Antioxidant capacity and polyphenolic components of tea: implications for altering in vivo antioxidant status. **Proc Soc Exp Biol Med**, v. 220, n. 4, p. 255 – 261, 1999.
- RICE-EVANS, C. A.; MILLER, N. J.; BOWELL, P.G.; BRAMLEY, P. M.; PRIDHAM, J. B. The relative antioxidant activities of plant – derived polyphenolic flavonoids. **Free Radical Research**, v. 22, p. 375-383, 1995.
- ROCK, C. L.; JACOB, R. A.; BOWEN, P. E. Update on the biological characteristics of the antioxidant micronutrients: vitamin C, vitamin E, and the carotenoids. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 96, n. 7, p. 693 – 702, 1996.
- VENDRAMINI, A. L.; TRUGO, L. C. Chemical composition of acerola fruit (*Malpighia punicifolia* L.) at three stages of maturity. **Food Chemistry**, v. 71, p. 195 – 198, 2000.
- ULRICH, R. Organic acids. In: HULME, A. C. **The biochemistry of fruits and their products**. v. 1. Academic Press. p. 89 - 118. 1970.

VAN BUREN, J. Fruit phenolics. In: HULME, A. C. **The biochemistry of fruits and their products**. v. 1. Academic Press. p. 269 - 303. 1970.

WANG, H.; CAO, G.; PRIOR, R.L. Oxygen radical absorbing capacity of anthocyanins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, p. 304 – 309, 1997.

CAPÍTULO 3

EFEITO DA MISTURA DE MALTODEXTRINA E GOMA ARÁBICA NAS CARACTERÍSTICAS DE MICROENCAPSULADOS DE SUCO DE ACEROLA VERDE PRODUZIDOS POR ATOMIZAÇÃO E LIOFILIZAÇÃO

3.1. RESUMO

Suco de acerola verde concentrado foi microencapsulado por liofilização e atomização, utilizando diferentes proporções de goma arábica (G) e maltodextrina DE20 (M) como agentes encapsulantes. Os encapsulados produzidos apresentaram entre 7,3 e 8,9% de vitamina C, representando uma retenção de 65 a 80% da vitamina C inicialmente presente nas formulações. A formulação 37,5%M+12,5%G atomizada, apresentou a maior retenção inicial da vitamina C, 80% e a formulação 25%M+25%G apresentou a menor retenção, 65%. O processo de liofilização resultou em encapsulados com menor retenção de vitamina C que o processo de atomização. O processo de atomização produziu microcápsulas globosas com grande variabilidade de tamanho e predomínio de superfície rugosa, nas paredes das microcápsulas observou-se uma matriz sólida sem poros. O processo de liofilização resultou em partículas de vários tamanhos, sem estrutura definida. As diferentes formulações estudadas resultaram em encapsulados com características morfológicas semelhantes. As formulações com predomínio de maltodextrina apresentaram um diâmetro de partícula médio inferior aos apresentados pelas formulações com predomínio de goma arábica. A utilização de diferentes proporções de goma arábica e maltodextrina não resultou em diferenças morfológicas nas microcápsulas obtidas.

Palavras-chave: acerola, microencapsulação, goma arábica, maltodextrina, atomização, liofilização.

3.2. INTRODUÇÃO

A encapsulação é amplamente utilizada na estabilização de ingredientes sensíveis e no controle da sua liberação, possuindo várias aplicações em alimentos, bebidas e fármacos. Numerosas tecnologias de encapsulação estão disponíveis, todas com o objetivo comum de produzir microcápsulas na qual um ingrediente ativo é recoberto ou embebido em um segundo material. Este segundo material, geralmente um polímero, é utilizado para isolar o material ativo até ser liberado por um estímulo externo (Thies, 2001; Tsaor e Aronson, 1993).

A desidratação é um dos processos mais utilizados na microencapsulação (Reinnecius, 2001), aumentando a estabilidade dos alimentos, através da diminuição da atividade de água. Soma-se a isto uma considerável redução no peso e na densidade do produto, diminuindo os custos com transporte e armazenamento (Fellows, 1990).

A microencapsulação por atomização é amplamente utilizada na indústria de alimentos em virtude do seu baixo custo. Neste processo, primeiro há a formação de uma emulsão ou suspensão da cobertura com o material ativo, que é nebulizada em uma câmara com circulação de ar quente. A emulsão em contato com o ar quente, perde sua umidade, formando uma parede, que envolve o material ativo. Este processo pode ser utilizado em materiais sensíveis ao aquecimento, uma vez que a secagem é muito rápida e o material ativo atinge temperaturas inferiores a 100°C, no entanto algumas perdas podem ocorrer (Thies, 2001; Jackson e Lee, 1991).

Na liofilização, a água da emulsão congelada é retirada por sublimação, sob alto vácuo e baixa umidade, o resultado é um tipo de esponja seca, que pode facilmente ser reduzida a pó (Foda *et al.*, 1970; Do *et al.*, 1975). A mudança do estado físico da água que

ocorre durante o processo pode resultar em produtos com maior suscetibilidade a oxidação, uma vez que propicia a formação de uma matriz porosa (Desobry *et al.*,1997)

Os processos de atomização e liofilização são processos que resultam em diferentes regimes de tempo e temperatura, podendo resultar em produtos com diferentes características, como constatado por Desobry *et al.* (1997), que compararam a encapsulação de β -caroteno por estes processos.

Como cobertura,utiliza-se basicamente materiais formadores de filmes, que podem ser selecionados de uma ampla variedade de polímeros naturais e sintéticos (Runge, 2001; Shahidi e Han, 1993). A escolha do agente encapsulante depende das propriedades físicas e químicas do produto que será encapsulado, do processo utilizado para a formação das microcápsulas e ainda das propriedades desejadas para o encapsulado (Jackson e Lee, 1991; Marquart, 1992).

A maltodextrina é muito utilizada na encapsulação por ter baixo custo. O uso de maltodextrinas com alta dextrose equivalente (DE), leva à maior tendência a reações de escurecimento, maior higroscopicidade e solubilidade, maior doçura, menor coesividade e menor estabilidade da emulsão. O uso de baixa DE, resulta em maior viscosidade, formação de soluções opacas, pois a solubilidade é menor, menor coesividade e as soluções ficam mais estáveis (Anandaraman e Reineccius, 1986).

A goma arábica tem sido o encapsulante mais utilizado na microencapsulação por atomização, principalmente por ser um bom agente emulsificante, apresentar baixa viscosidade em soluções aquosas, o que facilita o processo de atomização, além de apresentar boa retenção de voláteis, normalmente acima de 85%, conferindo também

proteção efetiva contra a oxidação (Chumpitaz, 1995; Reineccius, 1991; Rosenberg *et al.*, 1990).

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito da utilização de diferentes proporções de goma arábica e maltodextrina DE20 e dos processos de atomização e liofilização nas características físico-químicas de suco de acerola verde microencapsulado.

3.3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.3.1. Materiais

3.3.1.1. Suco concentrado de acerola verde

O suco de acerola verde concentrado, com 21% de sólidos solúveis, 4,9% de vitamina C, 15,8% de açúcares totais e pH 4,7, foi fornecido pela empresa Anidro S/A, de Botucatu – SP.

3.3.1.2. Encapsulantes:

- ◆ Maltodextrina - DE 20: fornecida pela empresa Refinações de Milho Brasil S/A, com umidade inicial de 5,27%
- ◆ Goma Arábica p.a. : marca Synth, com umidade inicial de 11,49% e 1,65% de proteína (N x 6,25).

3.3.1.3. Reagentes

Os reagentes utilizados foram de grau de pureza analítica.

3.3.2. Obtenção dos Encapsulados

3.3.2.1. Atomização

Realizado em secador spray-dryer, modelo SD-04, da Lab-Plant Limited, escala laboratorial, com bico injetor de 1 mm de diâmetro e pressão do ar de 5 Kgf/cm². Após testes preliminares, estabeleceu-se as condições de processamento:

- ◆ Temperatura de entrada: 120°C
- ◆ Temperatura de saída: 80 a 82°C
- ◆ Vazão do líquido: 3,2 ml/min

3.3.2.2. Liofilização

Realizado em liofilizador Edwards, modelo Pirani 501. As amostras foram previamente congeladas em freezer doméstico (-18°C), colocadas na câmara de congelamento do liofilizador, onde atingiram a temperatura -40°C, e foram submetidas a uma pressão de 0,1 mm de Hg. O ponto final de secagem foi estabelecido para a temperatura final de 25°C por 2 horas, o que resultou num tempo médio de processo de 48 horas. Após a secagem o produto foi reduzido a pó em almofariz. O material não foi separado por peneiras devido a sua alta higroscopicidade.

3.3.2.3. Formulações

Trabalhou-se com misturas de maltodextrina DE20 (**M**) e goma arábica (**G**) e suco de acerola concentrado (21% sólidos totais) nas seguintes concentrações:

Formulação final	Concentração %		
	Suco concentrado de acerola verde	Maltodextrina	Goma Arábica
50% M	80	20	0
37,5% M+12,5% G	80	15	5
25% M+25% G	80	10	10
12,5% M+37,5% G	80	5	15
50% G	80	0	20

Do total de sólidos presentes na formulação, 50% são sólidos provenientes do suco, e 50% sólidos do agente encapsulante. A dissolução foi realizada a temperatura ambiente, adicionando o suco concentrado aos agentes encapsulantes. Para total solubilização, foi necessário utilizar agitador magnético por 30 minutos.

3.3.3. Caracterização dos Encapsulados

3.3.3.1. Umidade

Foi determinado por gravimetria, em estufa com circulação de ar na temperatura de 105°C por 24 horas.

3.3.3.2. Atividade de água (Aa)

A determinação foi realizada por leitura direta, em higrômetro Aqualab, modelo CX-2T, da Decagon Devices Inc. Para a calibração do equipamento foram utilizadas soluções saturadas de cloreto de lítio (Aa 0,11) e cloreto de magnésio (Aa 0,43). As leituras foram realizadas a 25°C.

3.3.3.3. Determinação do teor de vitamina C

Foi determinado através do método titulométrico com 2,6 - diclorofenol indofenol sódico, segundo método n.º 43.056 da A.O.A.C. (1984), modificado por Benassi e Antunes (1988), que substituiu a utilização de ácido metafosfórico por ácido oxálico.

3.3.3.4. Microscopia ótica (MO)

Os encapsulados foram mantidos em dessecador com sílica sob vácuo por 3 dias. As lâminas foram montadas com uma pequena quantidade do produto que foi suavemente misturada à algumas gotas de óleo de silicone, e a seguir colocando-se a lâminula, evitando a formação de bolhas. As lâminas permaneceram 24 horas na posição horizontal, para estabilização. A observação foi realizada em microscópio ótico, marca Jenaval, utilizando filtro azul.

3.3.3.5. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Realizada de acordo com os procedimentos descritos por Rosenberg e Young (1993). As amostras foram preparadas através da fixação direta dos encapsulados em uma fita metálica dupla face previamente colocada sobre suportes cilíndricos de alumínio com 1 cm de altura e 1 cm de diâmetro. Em seguida as amostras foram metalizadas com ouro sob alto vácuo (“sputtering”), em um evaporador da marca Balzer, modelo SCD 50, por 75 segundos. A observação foi realizada em microscópio eletrônico de varredura Jeol, modelo JSM – 5800 LV, e fotografadas com aceleração de 10 Kv.

Para a observação da estrutura interna das cápsulas uma pequena quantidade de amostra foi colocada sobre uma placa de vidro e cortada (“com batidas”) muitas vezes com lâmina de aço (bisturi), sendo então submetida aos mesmos procedimentos descritos acima.

3.3.3.6. Distribuição do tamanho das microcápsulas

Avaliada através de um fotosedimentador, Lumosed da Anton Paar. Este equipamento possui três sensores em alturas diferentes, onde são acionados feixes de laser que atravessam uma cubeta de quartzo contendo a amostra suspensa em um líquido sedimentador. O líquido sedimentador utilizado foi o isopropanol (densidade = 0,786 g/mL e viscosidade = 0,00286 Pa.s) e a temperatura 25°C.

3.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O rendimento no processamento das diferentes formulações de encapsulados foi de 72 a 80% em relação ao teor inicial de sólidos, para os produtos atomizados e entre 98 e 100% para os liofilizados. Bhandari et al. (1993), relatam a recuperação de 80% do total de sólidos na produção de sucos desidratados de damasco, framboesa e groselha preta, utilizando atomização e maltodextrinas como agente encapsulante

No processo de atomização, a perda de material ocorreu por aderência às paredes do equipamento. A câmara de secagem e o ciclone são de vidro, o que impossibilita qualquer tentativa de recuperação. Equipamentos em escala industrial e piloto são construídos em aço, permitindo que se possa “bater” nas paredes, provocando a queda do material aderido, aumentando o rendimento.

3.4.1. Características dos encapsulados

As características físico-químicas apresentadas pelos encapsulados são mostradas na TABELA 1. O processo de atomização resultou em menor umidade que o processo de liofilização. A atividade de água dos encapsulados variou entre 0,199 e 0,292, valores

típicos de alimentos desidratados. Nesta faixa de Aa, o escurecimento não enzimático, uma das principais reações de deterioração, apresenta velocidade muito baixa (Fennema, 1996).

A taxa de retenção de vitamina C é uma informação fundamental para avaliar a eficiência tanto do processamento quanto da eficiência da formulação utilizada como agente encapsulante. Os resultados da retenção da vitamina C são apresentados na TABELA 2. O encapsulado contendo 15% de maltodextrina e 5% de goma arábica foi a que apresentou melhor retenção de vitamina C, tanto no processo de liofilização quanto no de atomização, 78,8 e 80%, respectivamente. Os encapsulados formulados com 10% M + 10% G apresentaram a mais baixa retenção de vitamina C, 65%.

Tabela 1 – Caracterização físico-química de suco de acerola verde encapsulado.

Formulação	Processo	Umidade (%)	Aa*	% vit C**
50% M	Atomização	3,28	0,199	8,38
	Liofilização	4,24	0,240	7,41
37,5% M + 12,5% G	Atomização	6,34	0,213	8,69
	Liofilização	7,07	0,232	8,82
25% M + 25% G	Atomização	4,4	0,233	7,29
	Liofilização	4,51	0,255	7,25
12,5% M + 37,5% G	Atomização	6,83	0,257	8,88
	Liofilização	7,12	0,207	7,60
50% G	Atomização	6,86	0,254	7,86
	Liofilização	8,16	0,285	8,69
Suco puro	Liofilização	10,79	0,292	19,21

* atividade de água

** % de vitamina C em base seca

A análise estatística dos dados apontou que a atomização foi significativamente ($p < 0,05$) superior à liofilização na retenção da vitamina C. Entre os agentes encapsulantes estudados a formulação 37,5%M + 12,5%G foi superior às demais, um comportamento similar foi observado para as formulações 37,5%G + 12,5%M, 50%G e 50%M, a formulação 25%M+25%G foi a que apresentou uma retenção significativamente inferior aos demais encapsulados.

A presença de maltodextrina favoreceu a retenção da vitamina C nas formulações onde 12,5 e 37,5% deste agente encapsulante foram utilizados, no entanto quando aparecia em igual proporção com a goma arábica a retenção foi prejudicada.

TABELA 2 – Retenção* de vitamina C (%) em encapsulados de acerola verde produzidos por atomização e liofilização utilizando diferentes matrizes como agentes encapsulantes.

Formulação	Atomizado	Liofilizado
37,5% M+12,5% G	78,8 a	80,0 a
12,5% M+37,5% G	79,1 a	67,7 c
50% G	69,4 c	76,7 b
50% M	76,6 b	67,7 c
25% M+ 25% G	65,5 d	65,1 d
Média geral	74,0 A ***	71,4 B

* expressos em relação a concentração inicial de vitamina C da formulação.

** letras diferentes indicam diferenças significativas ($P < 0,05$).

*** letras maiúsculas indicam diferenças entre processos

Leme *et al.* (1972) relatam que perdas mínimas de vitaminas ocorreram durante o processo de liofilização de suco de acerola: 5% para o ácido ascórbico e 0% para o β -caroteno. Pitombo e Cantelmo (2000) relatam perdas entre 3,5 e 6,9% em relação a vitamina C na liofilização do suco de acerola. Desobry *et al.* (1998) constataram perdas de 11% no processamento por atomização e 8% por liofilização ao encapsular β -caroteno com

maltodextrina. Deve-se ressaltar, no entanto, que no trabalho conduzido por Leme *et al.* (1972) , a quebra do vácuo no liofilizador se deu com nitrogênio, enquanto nos demais trabalhos a quebra se deu com ar. A interação do produto no ponto final de secagem com oxigênio, pode ser um fator importante nas perdas iniciais ocorridas, uma vez que o material ativo superficial poderia ser rapidamente degradado. A perda inicial do ácido ascórbico também pode estar associado ao pH 4,7 do suco concentrado. O pH é um parâmetro fundamental de estabilidade da vitamina C, alterando sua disponibilidade para participar de reações aeróbicas e anaeróbicas . Gregory (1996) aponta pH entre 2,5 e 5,5 como a faixa de maior estabilidade do ácido ascórbico, mas quanto mais alcalino maior a taxa de degradação, mesmo dentro desta faixa.

3.4.2. Morfologia dos encapsulados

A avaliação da microestrutura apresentada por produtos encapsulados é importante por relacionar-se com a capacidade de proteção apresentada por diferentes polímeros. Rosenberg *et al.* (1990), sugerem que indicações desta capacidade são fornecidas pelo grau de integridade e porosidade das microcápsulas.

Materiais com propriedades encapsulantes pobres originam microcápsulas com superfícies muito porosas, altamente rugosas e com quebras. A microencapsulação de materiais voláteis ou ingredientes sensíveis utilizando um encapsulante com estas características resultará em um produto instável.

A morfologia dos encapsulados foi avaliada primeiramente por microscopia ótica. As micrografias dos encapsulados obtidos por atomização (FIGURA 1a) demonstram a formação de cápsulas esféricas com variabilidade de tamanho, havendo a formação de

alguns agregados. Não foram observadas diferenças entre microcápsulas com diferentes formulações. Os encapsulados obtidos por liofilização (Figura 2b) não apresentaram forma definida, com pedaços em tamanhos variados, uma vez que o produto seco foi triturado em almofariz. Todas as formulações apresentaram as mesmas características morfológicas.

As micrografias do material atomizado (FIGURAS 2a e 2b), obtidas por MEV, revelaram a formação de cápsulas globosas, com predominância de superfícies rugosas, embora algumas microcápsulas observadas tenham apresentado a superfície completamente lisa. Alguns pesquisadores sugerem que estas depressões são formadas pela contração das partículas durante a secagem e o resfriamento (Kalab, 1979; Buma e Henstra, 1971, citados por Rosenberg *et al.* , 1990). Thies (2001), relata que a extensão das depressões observadas em microcápsulas produzidas por atomização é função da natureza do agente encapsulante utilizado, sendo significativa em microcápsulas que possuem cobertura de polissacarídeos.

Não se observou a presença de poros, bolhas ou quebras na superfície, independente da formulação do encapsulante. Nas FIGURAS 2c e 2d a integridade das microcápsulas obtidas podem ser observadas. Desobry *et al.* (1998) observaram estruturas com as características semelhantes em β -caroteno encapsulado em sistemas contendo maltodextrina DE 25.

Nos estudos de Rosemberg *et al.* (1990), compostos lipossolúveis encapsulados com goma arábica e maltodextrina DE 10 apresentaram microcápsulas com depressões na superfície externa, mas livres de poros ou quebras. Os autores, ao estudar a estrutura interna de microcápsulas, relataram que o material ativo encontrava-se em poros presentes na estrutura interna da parede da microcápsula.

No estudo da estrutura interna das microcápsulas de suco de acerola verde não foi observada a presença de poros ou bolhas internas em todos os encapsulados produzidos. De acordo com Rosenberg *et al.* (1985) a ausência de poros ou bolhas confere ao produto uma maior estabilidade. A não formação de bolhas pode estar relacionada à solubilidade do material ativo na matriz, o que pode ter proporcionado modificações no escape de vapor ocorrido durante o processamento. A parede apresentou-se como uma matriz sólida, mas com espessura irregular. Nas diversas micrografias que compõem a FIGURA 3 pode-se observar a variabilidade na espessura das microcápsulas com superfície externa rugosas (a e b), e das microcápsulas com superfície externa lisa (c, d, e). Todas as formulações apresentaram microcápsulas com superfície externa lisa.

A morfologia dos encapsulados liofilizados também foi observada mais detalhadamente através da MEV, as micrografias são apresentadas na FIGURA 4. As partículas obtidas não apresentaram uma estrutura definida, o tamanho foi muito variável, mas significativamente maior que as microcápsulas obtidas por atomização. Embora alguns poros tenham sido observados em algumas superfícies, a característica esponja formada pela liofilização não foi observada, exceto em alguns pequenos pedaços que estão evidenciados na FIGURA 4. Estruturas não definidas também foram obtidas por Desobry *et al.* (1998), para encapsulados de β -caroteno, obtidos pelo mesmo processo. Todas as formulações de encapsulantes estudadas apresentaram as mesmas características de morfologia da cápsula.

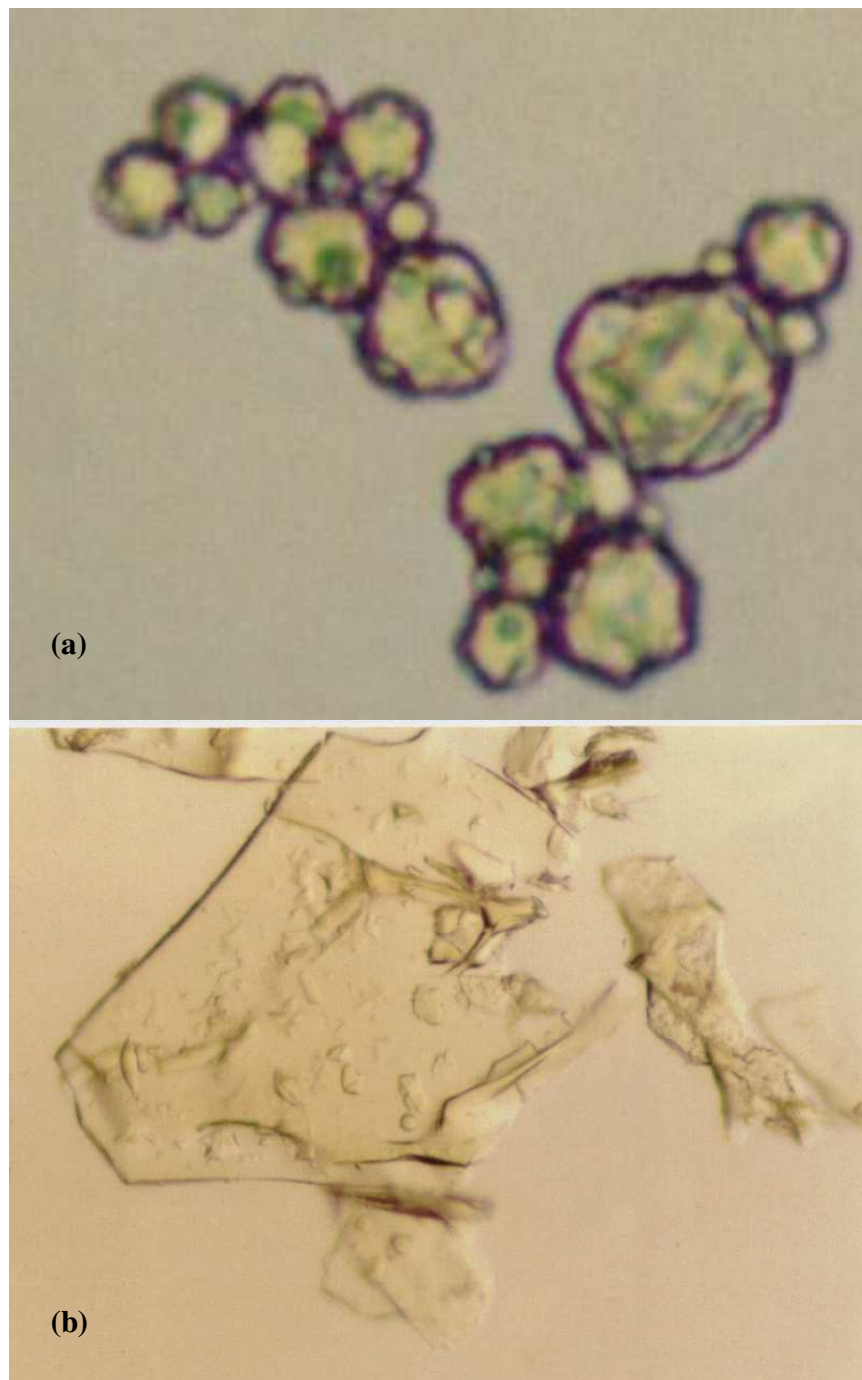


FIGURA 1 – Morfologia dos encapsulados avaliada por microscopia ótica. (a) Encapsulado de acerola verde da formulação 25% M +25% G, produzido por atomização, observa-se agregados de microcápsulas globosas com vários tamanhos e superfície rugosa, aumento de 1000 vezes. (b) Encapsulado de acerola verde da formulação 25% M +25% G, produzido por liofilização, não há estrutura definida, a matriz apresenta-se em pedaços, aumento de 1000 vezes.

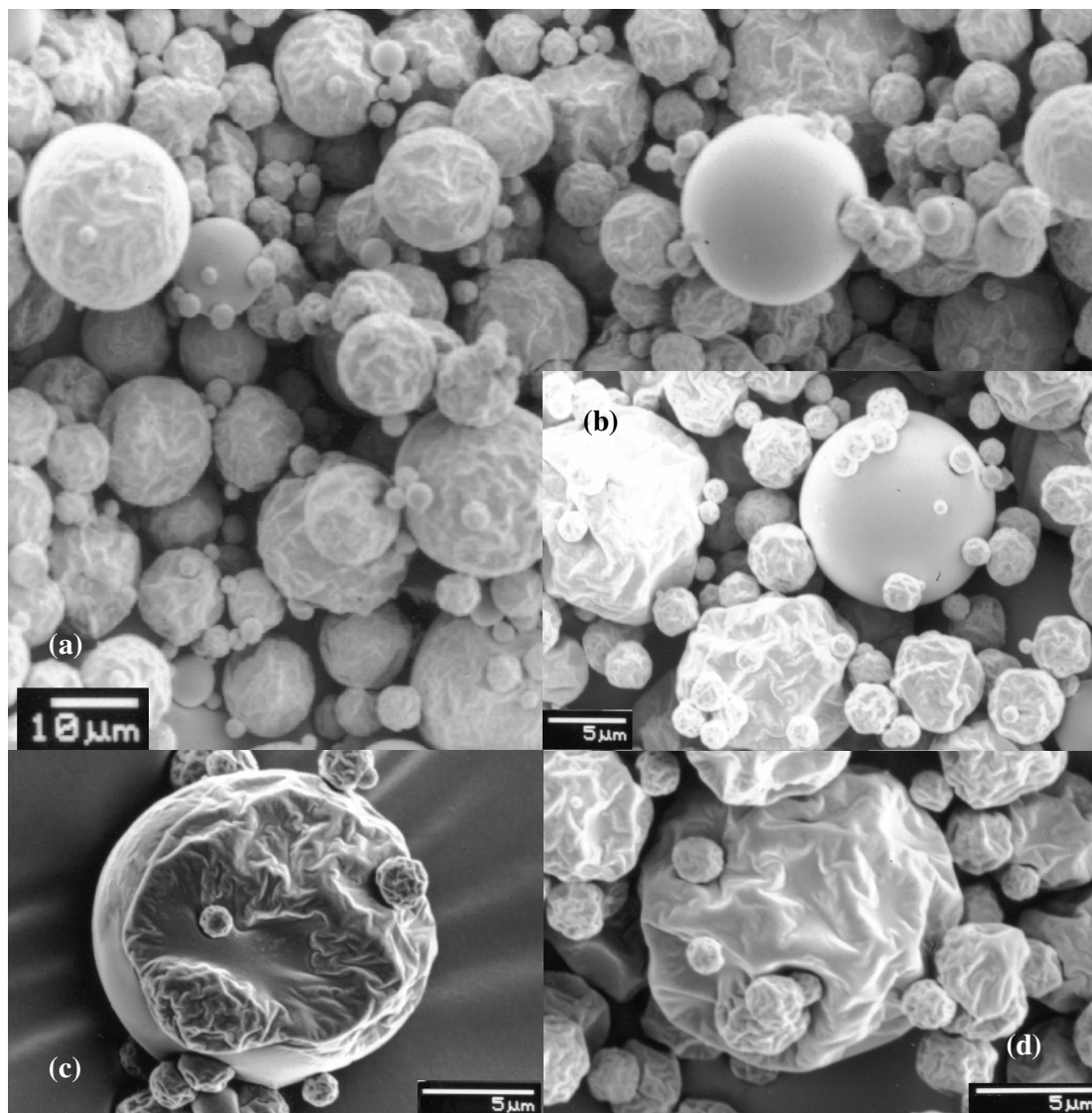


FIGURA 2 – Morfologia dos encapsulados de acerola verde produzidos por atomização, avaliada por MEV, onde observa-se o predomínio de microcápsulas com superfície rugosa, e algumas microcápsulas com superfície lisa. (a) formulação 50% M, aumento de 2000 vezes. (b) formulação 12,5% M+37,5% G, aumento de 7000 vezes. (c) formulação 50% G, aumento de 10000 vezes. (d) formulação 50% G, aumento de 10000 vezes.

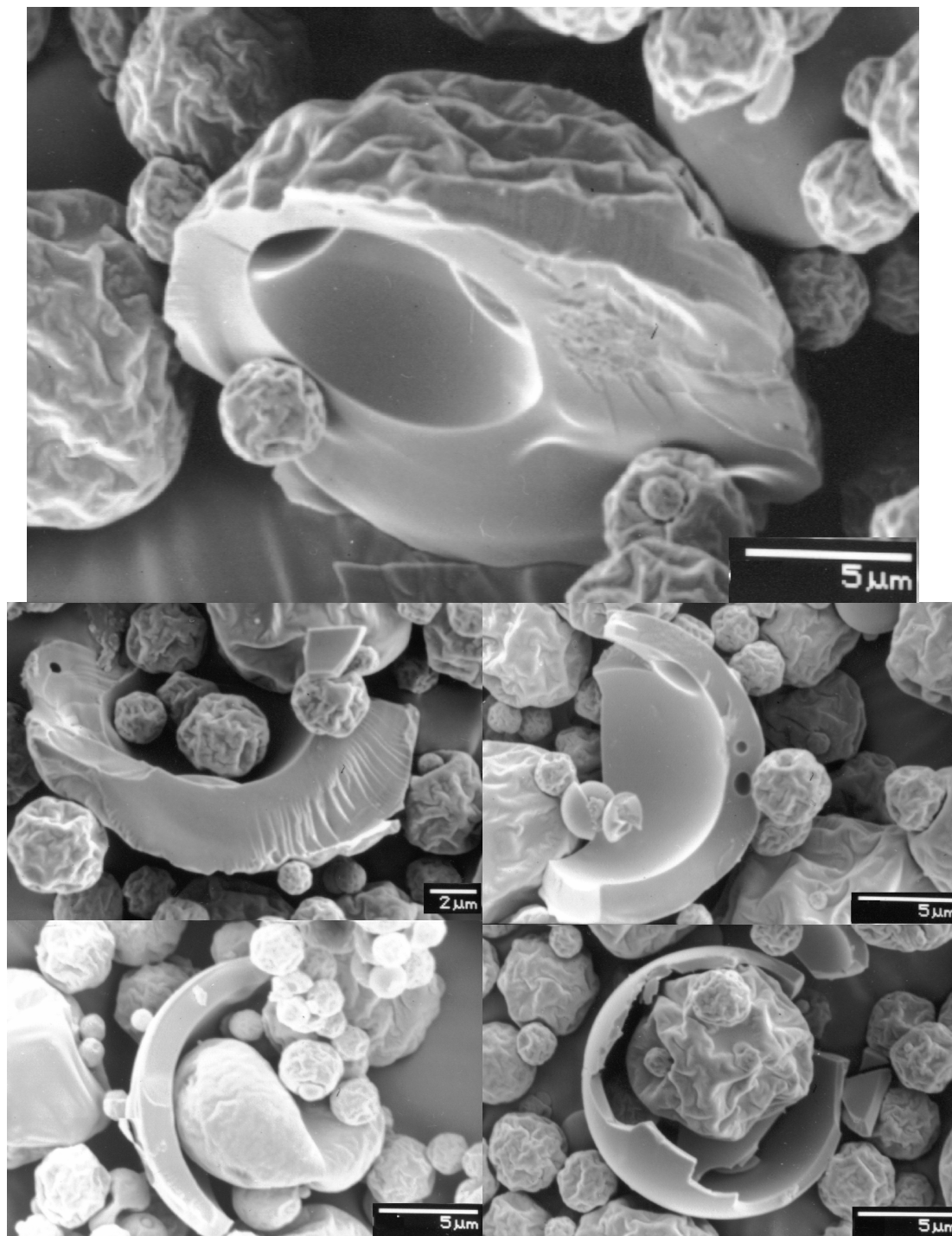


FIGURA 3 – Estrutura interna das microcápsulas de acerola verde produzidas por atomização. Observações realizadas por MEV, as microcápsulas apresentam paredes formadas por uma matriz sólida com espessuras variadas. (a) formulação 50% M, aumento de 9000 vezes; (b) formulação 25% M+25% G, aumento de 10000 vezes; (c) formulação 50% G, aumento de 12000 vezes; (d) formulação 50% G, aumento de 10000 vezes; (e) formulação 50% M, aumento de 12000 vezes .

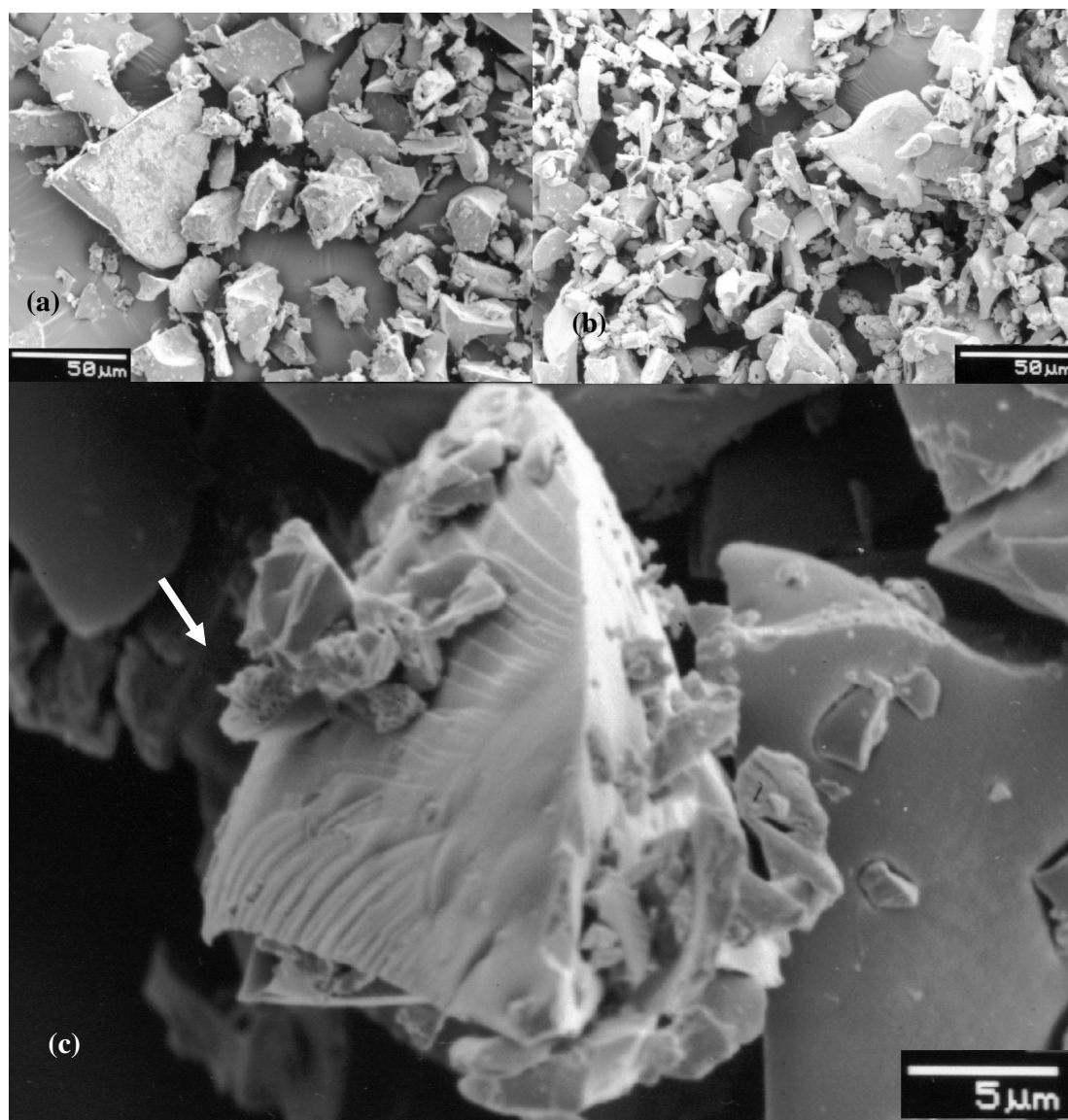


FIGURA 4 – Morfologia dos encapsulados de acerola verde produzidos por liofilização, avaliada por MEV. (a) formulação 50% M, aumento de 1200 vezes. (b) formulação 25% M+25% G, aumento de 1200 vezes. Nestas micrografias observa-se que não há uma estrutura definida, o produto apresenta-se em “pedaços” com grande variabilidade de tamanhos. (c) formulação 50% M, aumento de 7000 vezes, onde observa-se a presença de estruturas com poros.

A análise da distribuição do tamanho das microcápsulas atomizadas está apresentada na TABELA 3. Nas formulações onde há o predomínio de maltodextrina as microcápsulas apresentaram um diâmetro médio inferior, entre 16 e 17 μm , ao apresentado pelos encapsulados com predominância de goma arábica, entre 19 e 20 μm . Dib Taxi (2001), obteve microencapsulados de camu-camu com diâmetros maiores com maltodextrina do que com goma arábica, 39 μm e 3,7 μm para maltodextrina e goma arábica respectivamente.

Observando-se os histogramas e gráficos da distribuição de partículas dos encapsulados apresentados na FIGURA 6, verifica-se que as microcápsulas das formulações testadas apresentaram uma distribuição unimodal. Esta mesma característica foi observada por Dib Taxi (2001), Bertolini (2001) e Cardoso (2000), para produtos encapsulados por atomização.

A formulação 25%M+25%G foi a que apresentou o menor diâmetro médio de partícula, a menor retenção de vitamina C, bem como um diagrama de distribuição de tamanho de partícula diferente das demais formulações (FIGURA 6). Possivelmente a utilização de partes iguais de goma arábica e maltodextrina DE 20 não possibilita a formação de um filme estável na superfície da cápsula, resultando em maior perda de vitamina C.

Vários autores (Reinnecius, 1991; Rosemberg et al., 1990; Chumpitaz, 1995; Rish e Reinnecius, 1988) relatam a utilização de misturas de goma arábica e maltodextrina na microencapsulação de compostos lipossolúveis, mas não em partes iguais. Não há informações na literatura que esclareçam as interações existentes entre estes agentes encapsulantes sob o aspecto químico e físico.

Tabela 3 – Distribuição do tamanho e diâmetro médio das microcápsulas de suco de acerola verde microencapsulado por atomização com diferentes proporções de goma arábica e maltodextrina DE 20.

Valor cumulativo	Diâmetro das microcápsulas (μm)				
	50%M	37,5%M+12,5%G	25%M+25%G	12,5%M+37,5%G	50%G
10	6,2	6,0	1,7	6,8	4,4
50	15,4	14,7	9,1	16,7	17,8
80	23,6	26,6	19,4	28,1	31,6
90	25,4	33,9	23,0	35,4	39,1
95	29,0	38,9	25,2	43,2	46,8
Diâmetro médio	16,1	17,4	11,2	19,4	20,4
Retenção de vitamina C (%)	77	79	66	79	69

A distribuição do tamanho das microcápsulas é um fator importante para avaliar o comportamento físico-químico dos encapsulados, embora existam controvérsias na literatura quanto à relação entre a retenção de voláteis e o tamanho de partícula (Chumpitaz, 1995). Bertolini *et al.* (2001) associaram um maior teor de retenção do recheio para maiores tamanhos de partículas. No presente trabalho observou-se aumento da retenção com o aumento do diâmetro médio, até o diâmetro de 20,4 (50%G), quando foi observado uma diminuição da retenção da vitamina C. Como o diâmetro médio e o perfil de distribuição do tamanho das microcápsulas da formulação 50%G são similares às apresentadas pelas formulações 37,5%M+12,5%G e 12,5%M+37,5%G, a diminuição pode estar associada ao encapsulante goma arábica, que quando utilizado sozinho ofereceu menor proteção à vitamina C. A formulação 25%M+25%G apresentou o perfil de distribuição do tamanho das microcápsulas distinto das demais formulações, o que resultou em um diâmetro médio menor e também em uma menor retenção de vitamina C.

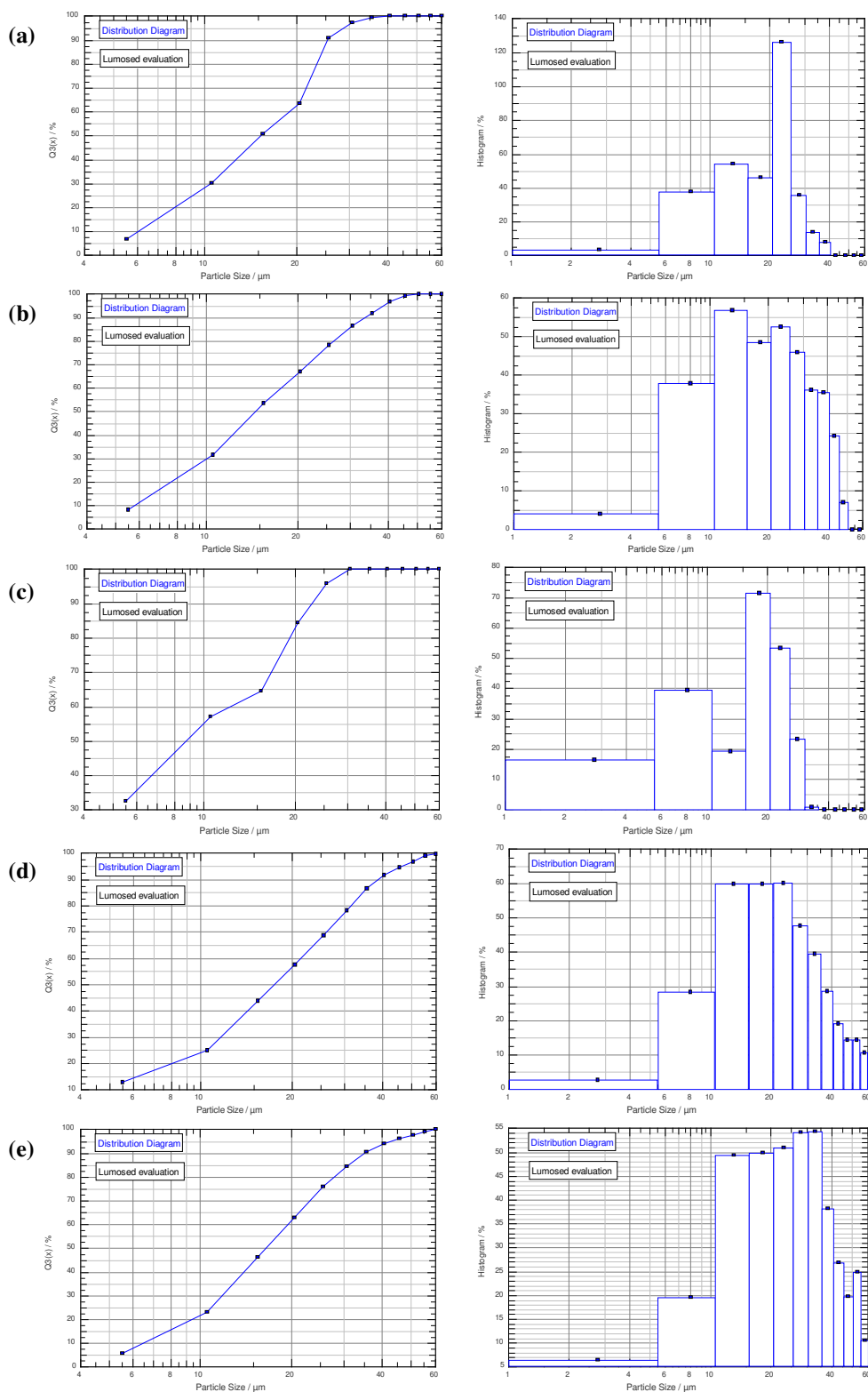


FIGURA 6 – Histogramas e gráficos obtidos na avaliação da distribuição do tamanho das microcápsulas de encapsulados de acerola verde produzidos por atomização. (a) 50% M; (b) 37,5% M+12,5% G; (c) 25% M+25% G; (d) 12,5% M+37,5% G; (e) 50% G.

3.5. CONCLUSÕES

O processo de liofilização resultou em encapsulados com menor retenção inicial de vitamina C que a atomização. A utilização de maltodextrina favoreceu a retenção da vitamina C, a formulação 37,5%M+12,5%G apresentou a maior retenção inicial.

A utilização de diferentes proporções de goma arábica e maltodextrina não resultou em diferenças morfológicas nas microcápsulas obtidas.

O tamanho médio das microcápsulas atomizadas foi maior para os encapsulados onde a formulação apresentava predomínio de goma arábica. A formulação 25%M+25%G apresentou o menor diâmetro médio de partícula, a menor retenção de vitamina C, e um diagrama de distribuição de tamanho de partícula diferente das demais formulações, indicando que possivelmente não houve a formação de um filme estável na superfície da cápsula, resultando em maior perda de vitamina C.

3.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANANDARAMAN, S.; REINECCIUS, G. A. Stability of encapsulated orange peel oil. **Food Technology**, v. 40, n. 11, p. 88 – 91, 1986.

AOAC. **Official methods of analysis**. 15 ed. Association of official analytical chemists, Arlington, 1984.

BENASSI, M. T.; ANTUNES, . A comparison of metaphosphoric and oxalic acids as extractants solutions for the determination of vitamin C in selected vegetables. **Arquivos Biologia e Tecnologia**. v. 31, n. 4, p. 507-513, 1988.

- BERTOLINI, A. C.; SIANI, A. C.; GROSSO, C. R. F. Stability of monoterpenes encapsulated in gum arabic by spray – drying. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v. 49, p. 780-785, 2001.
- CARDOSO, F. S. N. **Produção de microencapsulados de amido com espessura controlada em leite fluidizado**. Campinas, 2000. 69 p. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Engenharia de Alimentos, UNICAMP.
- CHUMPITAZ, L. D. A. Microencapsulação de óleo essencial de laranja por atomização. Campinas, 1995. 78 p. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Engenharia de Alimentos, UNICAMP.
- DESOBRY, S. A.; NETTO, F. M.; LABUZA, T. P. Influence of maltodextrin systems at an equivalent 25DE on encapsulated b-carotene loss during storage. **Journal of Food Processing Preservation**, v. 23 , p. 39 - 55, 1999.
- DESOBRY, S. A.; NETTO, F. M.; LABUZA, T. P. Comparison of spray-drying, drum-drying and freeze-drying for β -carotene encapsulation and preservation. **Journal Food Science**, v. 62 , n. 12, p. 1158 -1162, 1997.
- DIB TAXI, C. M. A. **Suco de camu-camu (Myrciaria dubia) microencapsulado obtido através do processo de secagem por atomização**. Campinas, 2001. 162 p. Dissertação (Doutorado). Faculdade de Engenharia de Alimentos, UNICAMP.
- DO, J. Y.; SRISANGNAM, C.; SALUNKHE, D. K.; RAHMAN, A . R. Freeze-dehydrated and compressed sour cherries. **Journal Food Technology**, v. 10, p. 191-201, 1975.
- FELLOWS, P. **Food Processing Technology**. Ellis Howood, 1990. Cap. 14: Dehydration. p. 281-313.

- FENNEMA, O. R. Water and ice. In: FENNEMA, O.R. **Food Chemistry**. 3ed. 1996. Cap. 2, p. 17 - 94.
- FODA, Y. H.; HAMED, M. G. E.; ABD-ALLAH, M. A. Preservation of orange and guava juices by freeze-drying. **Food Technology**, v. 24, n. 12, p. 74-80, 1970.
- GREGORY, J. F. Vitamins . In: FENNEMA, O.R. **Food Chemistry**. 3ed. 1996. Cap.8, p. 531 - 616.
- JACKSON, L. S.; LEE, K. Microencapsulation and the food industry. **Lebensmittel-Wissenschaft Technologie Food Science**, v. 24, n. 4, p. 289-297, 1991.
- LEME, J.; FONSECA, H. F.; NOGUEIRA, J.N. Variação do teor de ácido ascórbico e β -caroteno em cereja das Antilhas (*Malpighia punicifolia* L.) liofilizadas. **Archivos Latinoamericanos de Nutrition**, v.23, n.2, p.207-215, 1973.
- MARQUARDT, U. The use of micro-encapsulated ingredients and additives in food. **Food Ingredients International**, n. 4, p. 17-19, 1992.
- REINECCIUS, G. A. Carbohydrates for flavor encapsulation. **Food Technology**, v. 46, n. 3, p. 144 – 152, 1991.
- ROSEMBERG, M.; KOPELMAN, I.J.; TALMON, Y. Factors affecting retention in spray-drying microencapsulation of volatile materials. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 38, p. 1288 – 1294, 1990.
- ROSEMBERG, M.; YOUNG, S. L. Whey proteins as microencapsulation agents. Microencapsulation of anhydrous milkfat-structure evaluation. **Food Structure**, Chicago, v. 12, p. 31 –41, 1993.

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

TSAUR, L.; ARONSON, M. P. Spray coating and spray drying encapsulation. In: **Polimeric Delivery Systems**, ACS series 520. American Chemical Society, 1993. p. 84 - 104. (Chapter 6)

VILLOTA, R.; SAGUY, I.; KAREL, M. Storage stability of dehydrated food evaluation of literature. **Journal Food Quality**, v. 3, n. 3, p. 123-212, 1980.

CAPÍTULO 4

EFEITO DO ENCAPSULANTE E DO MÉTODO DE OBTENÇÃO NAS CARACTERÍSTICAS DE SORÇÃO DE ÁGUA E NA TEMPERATURA DE TRANSIÇÃO VÍTREA DE MICROENCAPSULADOS DE SUCO DE ACEROLA VERDE

4.1. RESUMO

Efeito de diferentes encapsulantes, maltodextrina (M), goma arábica (G) e misturas destes, e do processo de obtenção, liofilização e atomização, nas características de sorção de água e transição vítrea de suco de acerola verde encapsulado foi investigado. As isotermas de sorção obtidas pelo método gravimétrico em 3 temperaturas, 25, 35 e 45 °C, apresentaram curvas sigmóidal do tipo II e em alguns casos do tipo III e bom ajuste ao modelo de G.A.B. Modificações das propriedades físicas dos encapsulados ocorreram em Aa acima de 0,43. A 15° e 25°C foram observados sinais de aderência, enquanto a 35° e 45° C os encapsulados apresentaram mudanças estruturais como colapso. As formulações e processos de microencapsulação estudados resultaram em comportamentos físicos similares, no entanto foi observado escurecimento mais intenso nos encapsulados produzidos por liofilização e nas formulações com predomínio de goma arábica. A temperatura de transição vítrea (Tg) dos encapsulantes goma arábica e da maltodextrina foram muito próximas nas Aa estudadas. Assim, os encapsulados, independente da formulação utilizada, apresentaram Tg similares e próximas à temperatura ambiente. A formulação contendo 50%G apresentou a maior Tg, 34°C, enquanto as formulações 25%M+25%G e 50%M encapsulados por liofilização apresentaram as menores Tg, 26 e

25°C, respectivamente em Aa 0,43. O colapso dos encapsulados de acerola verde ocorreu em temperaturas 20° C acima da Tg, intervalo inferior ao encontrado na literatura para início do processo de colapso, 50° C.

Palavras-chave: acerola, microencapsulação, isoterma de sorção, temperatura de transição vítrea

4.2. INTRODUÇÃO

Vitaminas destinadas à fortificação de alimentos são microencapsuladas para controlar sua liberação e mascarar sabores indesejáveis, aumentando a estabilidade à temperatura e umidade e reduzindo as reações com outros compostos do alimento (Jackson e Lee, 1991). A microencapsulação do ácido ascórbico permite controlar e retardar sua liberação, protegendo contra reações indesejáveis causadas por oxigênio, calor ou umidade.

A acerola (*Malpighia emarginata* DC) possui alto teor de vitamina C, sendo considerada uma das melhores fontes naturais desta vitamina (Araújo e Minami, 1994). O amadurecimento da acerola envolve uma série de reações bioquímicas que resultam em uma fruta delicada, difícil de ser transportada e manuseada (Vendramini e Trugo, 2000), e também em uma redução no teor de vitamina C (Ito *et al.*, 1990; Carvalho e Manica, 1994; Vendramini e Trugo, 2000). Assim, a acerola verde mostra-se uma matéria prima interessante para a produção de encapsulados com alto teor de vitamina C natural.

Como para a maioria dos métodos físicos, sabe-se que o sucesso da microencapsulação depende da formação de uma estrutura amorfa metaestável, em estado vítreo, com uma permeabilidade mínima aos compostos que serão encapsulados no seu interior. Nos processos de secagem, a presença de açúcares e/ou polímeros no sistema de

encapsulação colabora para a formação de uma estrutura amorfa com baixo conteúdo de água. A redução do conteúdo de água aumenta a temperatura de transição vítrea, resultando em uma matriz impermeável a compostos orgânicos e ao oxigênio, no entanto a permeabilidade à água permanece limitada (Karel e Langer, 1988).

Karel e Flink, (1983) e Levine e Slade, (1986) demonstraram que a liberação do material encapsulado por difusão ocorre quando a matriz em estado vítreo sofre uma transição de fase, passando para um estado com maior mobilidade molecular denominado borrachudo.

A temperatura de transição vítrea é uma temperatura de referência que relaciona as propriedades físicas dos sólidos solúveis em água do alimento, o conteúdo de água e a temperatura. Assim, a atividade de água e a temperatura de transição vítrea são parâmetros importantes para controlar o comportamento do alimento e sua deterioração durante o processamento e também no armazenamento (Roos, 1993).

Em alimentos desidratados a transição vítrea afeta principalmente a viscosidade, que diminui a partir do momento que a plasticização pela água consiga diminuir a T_g abaixo da temperatura ambiente (Fennema, 1996).

As alterações estruturais típicas que ocorrem em alimentos com características amorfas, que ocorrem em temperaturas acima da T_g são: aglomeração, adesividade, colapso e cristalização. O aumento da mobilidade molecular também afeta a difusão, resultando no aumento de reações de deterioração, como reações enzimáticas, escurecimento não enzimático e oxidação (Roos, 1993).

A avaliação da estabilidade de alimentos em termos de A_a e T_g requer o conhecimento do conteúdo de água e dados de sorção e plasticização. Alimentos com baixa umidade e T_g acima da temperatura de estocagem podem ser considerados estáveis. No

entanto, um pequeno aumento na umidade, pode refletir em um decréscimo significativo da T_g (Roos, 1993).

A isoterma de sorção pode fornecer informações sobre as condições de estabilidade. As características de sorção de água, bem como a maioria das outras interações da parte sólida do alimento com a água, são definidas pela composição da parte sólida, principalmente por carboidratos e proteínas. As propriedades de sorção podem ser afetadas por fenômenos que dependem do tempo, devido às transformações estruturais e a transição de fase que ocorrem com o alimento. Estas alterações são significativamente afetadas pela água. Quando a transição ocorre, as velocidades das reações deteriorativas são afetadas, assim, o conhecimento das propriedades de sorção são extremamente importantes na predição do estado físico de um alimento em.. várias condições (Roos, 1995).

Conhecendo-se o efeito da temperatura e da umidade sobre o estado físico e a difusão em matrizes amorfas de alimentos, pode-se estabelecer as relações existentes entre a composição do alimento e as condições de armazenamento (Roos, 1995).

O armazenamento abaixo da T_g é altamente desejável, uma vez que irá estabilizar propriedades dos alimentos que são dependentes da difusão. Porém, segundo Fennema (1996), esta não é uma situação do tipo tudo ou nada, quando a temperatura de estocagem abaixo da T_g não é praticável, o mínimo desvio abaixo desta temperatura ajuda a reduzir a velocidade das reações. O sucesso na manipulação da transição vítrea poderá auxiliar no desenvolvimento de novos produtos e levar a melhorias na utilização de ingredientes alimentícios, além de melhorar o controle de qualidade (Noel et al., 1990).

O objetivo do presente trabalho foi estudar o efeito de diferentes formulações e do método de obtenção nas características de sorção e na temperatura de transição vítrea de suco de acerola verde microencapsulado por atomização e liofilização.

4.3. MATERIAIS E MÉTODOS

4.3.1. Materiais

4.3.1.1. Suco concentrado de acerola verde

O suco de acerola verde concentrado, com 21% de sólidos solúveis, 4,9% de vitamina C, 15,8% de açúcares totais e pH 4,7, foi fornecido pela empresa Anidro S/A, de Botucatu – SP.

4.3.1.2. Encapsulantes:

- ◆ Maltodextrina - DE 20: fornecida pela empresa Refinações de Milho Brasil S/A, com umidade inicial de 5,3%
- ◆ Goma Arábica p.a.: marca Synth, com umidade inicial de 11,5% e 1,65% de proteína.

4.3.1.3. Reagentes:

Os reagentes utilizados foram de grau de pureza analítica.

4.3.2. Obtenção dos Encapsulados

4.3.2.1. Atomização (S)

Foi realizada em secador spray-dryer, modelo SD-04, da Lab-Plant Limited, escala laboratorial, com bico injetor de 1 mm de diâmetro e pressão do ar de 5 Kgf/cm². Após testes preliminares estabeleceu-se as condições de processamento:

- ◆ Temperatura de entrada: 120°C
- ◆ Temperatura de saída: 80 a 82°C
- ◆ Vazão do líquido: 3,2 ml/min

4.3.2.2. Liofilização (L)

Foi realizada em liofilizador Edwards, modelo Pirani 501. As amostras foram previamente congeladas em freezer doméstico (-18°C), colocadas na câmara de congelamento do liofilizador, onde atingiram a temperatura -40°C, e foram submetidas a uma pressão de 0,1 mm de Hg. O ponto final de secagem foi estabelecido para a temperatura final de 25°C por 2 horas, o que resultou num tempo médio de processo de 48 horas. Após a secagem, o produto foi reduzido a pó em almofariz. O material não foi separado por peneiras devido a sua alta higroscopicidade.

4.3.2.3. Formulações

Utilizou-se misturas de maltodextrina DE20 (**M**), goma arábica (**G**) e suco de acerola concentrado (20% sólidos totais) nas seguintes concentrações:

Formulação	Concentração %		
	Suco concentrado de acerola verde	Maltodextrina	Goma Arábica
50% M	80	20	0
37,5% M+12,5% G	80	15	5
25% M+25% G	80	10	10
12,5% M+37,5% G	80	5	15
50% G	80	0	20

Resultando em encapsulados com a proporção de 1:1 de sólidos do agente encapsulante e do suco.

A dissolução foi realizada à temperatura ambiente, adicionando o suco concentrado aos agentes encapsulantes, agitando por 30 minutos.

4.3.3. Temperatura de transição vítrea

Determinada por calorimetria diferencial de varredura (DSC), de acordo com os procedimentos descritos por Roos (1987). O calorímetro diferencial de varredura utilizado

foi um Universal v2.3c, da TA Instruments, com leitura entre -50°C a 150°C , e rampa de $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$, utilizando uma cápsula de alumínio vazia como referência. As amostras, entre 5 e 10 mg, foram acondicionadas em cápsulas de alumínio, equilibradas a determinadas Aa, pesadas e fechadas hermeticamente. Foram realizadas duas corridas por amostra, a primeira visando eliminar entalpias de relaxação que pudessem interferir na determinação da temperatura de transição vítrea. As análises foram realizadas em duplicata e a Tg calculada como o ponto médio da inflexão.

O mesmo procedimento foi utilizado para a avaliação da temperatura de transição vítrea da goma arábica em diferentes atividades de água (0,33; 0,43; 0,5). As informações sobre a temperatura de transição vítrea da maltodextrina DE 20 foram obtidas na literatura (Roos, 1993).

4.3.4. Isotermas de sorção

As isotermas de sorção foram determinadas pelo método de equilíbrio gravimétrico em três temperaturas: 25, 35 e 45°C . As umidades relativas obtidas através de soluções saturadas de sais foram: 11%; 32% ; 43% ; 52%; 75% e 89% (cloreto de lítio, cloreto de magnésio, carbonato de potássio, nitrato de magnésio, cloreto de sódio e cloreto de bário, respectivamente). O material foi pesado a cada 5 dias, até que não se constatasse mudanças de peso, o que ocorreu após 20 dias.

O ajuste do modelo matemático e o cálculo dos parâmetros da equação de GAB foi obtido através do software Water Analyzer Séries, Isotherm/BET/GAB Program, version 2.05 p., para Machintosh.

4.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.4.1. Isotermas de sorção de água

Os resultados obtidos para as isotermas de sorção dos encapsulados de acerola verde ajustaram-se adequadamente à equação de G.A.B., para ambos os processos de encapsulação utilizados, liofilização e atomização, nas três temperaturas estudadas. Os parâmetros da equação de GAB calculados para os encapsulados de acerola verde são apresentados nas TABELAS 1, 2 e 3. O valor percentual médio dos erros (P), que expressa a diferença entre o modelo calculado e o experimental foi inferior a 10%, com exceção da formulação 25%M+25%G (S) nas temperaturas de 35 e 45° C e da formulação 50%M (S) a 45° C, que apresentaram valores de P de 10,2 e 10,7 %, respectivamente.

Os valores de monocamada (m_0) obtidos para os encapsulados de acerola verde variaram entre 0,035 e 0,062 g H₂O/g sólidos, e não sofreram influência do processo e formulação. Lomauro *et al.* (1985), relata valores de monocamada muito similares para café solúvel obtido por atomização e liofilização. Desobry *et al.* (1998) relatam valores de monocamada entre 0,05 e 0,065 g H₂O/g b.s., para β-caroteno encapsulado por atomização com maltodextrina DE 25.

A constante de sorção (k) não apresentou variação, sendo seus valores calculados entre 1,06 e 1,12. Já o valor da constante de Guggenheim (C) apresentou grande variabilidade, entre 3,5 e 98,1. Os valores de Qs, que expressam a energia de sorção, ficaram entre 0,8 e 3,3 kJ/mol. Estes parâmetros apresentaram variação, mas não em função da formulação, processo de obtenção do encapsulado ou temperatura de construção da isoterma.

Tabela 1 – Parâmetros GAB para isotermas de sorção construídas a 25°C, de suco de acerola verde encapsulados por atomização (S) e liofilização (L).

Amostra	P (%)	k	C	m₀	Qs
50% M (S)	3,7	1,08	5,4	0,058	1,00
50% M (L)	4,1	1,10	72,8	0,047	2,54
37,5% M+12,5% G (S)	3,2	1,08	39,6	0,057	2,18
37,5% M+12,5% G (L)	6,1	1,12	7,7	0,037	1,25
25% M +25% G (S)	3,58	1,09	12,3	0,051	1,48
25% M+25% G (L)	7,8	1,09	14,5	0,053	1,58
12,5% M+37,5% G (S)	3,4	1,08	45,2	0,057	2,26
12,5% M+37,5% G (L)	3,1	1,08	39,2	0,053	2,13
50% G (S)	2,2	1,08	98,1	0,054	2,72
50% G (L)	2,7	1,08	40,3	0,050	2,19

P = valor percentual médio dos erros; C = constante de Guggenheim; k = constante de sorção; m₀ = monocamada de água absorvida (g água/g sólido); Qs = energia de sorção (kJ/mol).

Tabela 2 – Parâmetros GAB para isotermas de sorção à 35°C, de suco de acerola verde encapsulados por atomização (S) e liofilização (L).

Amostra	P (%)	k	C	m₀	Qs
50% M (S)	8,7	1,11	10,6	0,045	1,44
50% M (L)	7,0	1,12	6,00	0,034	1,10
37,5% M+12,5% G (S)	2,6	1,08	31,1	0,056	2,13
37,5% M+12,5% G (L)	6,1	1,12	7,7	0,037	1,25
25% M +25% G (S)	10,2	1,08	5,5	0,052	1,05
25% M+25% G (L)	7,2	1,07	14,2	0,055	1,63
12,5% M+37,5% G (S)	2,8	1,09	36,2	0,053	2,20
12,5% M+37,5% G (L)	3,4	1,09	41,6	0,051	3,03
50% G (S)	5,7	1,09	38,1	0,052	2,23
50% G (L)	4,3	1,08	53,5	0,054	3,25

P = valor percentual médio dos erros; C = constante de Guggenheim; k = constante de sorção; m₀ = monocamada de água absorvida (g água/g sólido); Qs = energia de sorção (kJ/mol).

Tabela 3 – Parâmetros GAB para isotermas de sorção à 45°C, de suco de acerola verde encapsulados por atomização (S) e liofilização (L).

Amostra	P (%)	k	C	m ₀	Qs
50%M (S)	10,6	1,09	3,5	0,054	0,78
50%M (L)	8,6	1,09	3,7	0,054	0,82
37,5%M+12,5%G (S)	6,4	1,09	2,5	0,052	2,02
37,5%M+12,5%G (L)	6,6	1,11	11,0	0,035	1,52
25%M +25%G (S)	10,2	1,08	5,5	0,052	1,07
25%M+25%G (L)	7,8	1,07	7,0	0,054	1,23
12,5%M+37,5%G (S)	1,2	1,06	77,1	0,054	2,75
12,5%M+37,5%G (L)	5,9	1,09	39,5	0,047	2,32
50%G (S)	7,2	1,09	19,1	0,048	1,87
50%G (L)	3,3	1,08	90,9	0,061	3,31

P = valor percentual médio dos erros; C = constante de Guggenheim; k = constante de sorção; m₀ = monocamada de água absorvida (g água/g sólido); Qs = energia de sorção (kJ/mol).

Nas FIGURAS 1 e 2 são mostradas as isotermas de sorção de água obtidas para encapsulados com diferentes formulações produzidos por atomização e liofilização, a 25°, 35° e 45° C. Todos os perfis obtidos, exceto para a formulação 50%M (S) e 50%M (L) a 45° C, são do tipo sigmóide, característico das curvas do tipo II, de acordo com a classificação de Brunauer *et al.* (1938). Fennema (1996) associa a curva tipo II com o apresentado pela maioria dos alimentos. De acordo com Radosta *et al.* (1989), este tipo de isoterma é característico de produtos com superfícies hidrofílicas. Outros produtos desidratados, como molho de soja e misô em pó (Hamano e Sugimoto, 1978), e encapsulados, como microcápsulas de óleo essencial de laranja (Ascheri, 1999), apresentaram comportamentos similares.

A formulação 50%M(S) a 45°C e 50%M(L) a 35° e 45° C, apresentaram um comportamento distinto dos demais encapsulados, apresentaram curvas próximas ao tipo

III. Fennema (1996) atribui este tipo de isoterma a alimentos que contém grande quantidade de açúcares ou outras pequenas moléculas solúveis, e que não são ricas em materiais poliméricos. O fato da mudança de comportamento ocorrer exclusivamente com a formulação 50%M, nas temperaturas mais altas utilizadas na construção da isoterma coloca a possibilidade de um maior impacto das moléculas de baixo peso molecular da maltodextrina alterando a absorção de água deste encapsulado. Dib Taxi (2001) trabalhando com encapsulados de suco camu-camu produzidos por atomização e Pitombo e Cantelmo (2000) com suco de acerola madura liofilizado, observaram comportamento similar, utilizando goma arábica e maltodextrina como agente encapsulante, sendo ambos produtos que apresentam alto teor de açúcares.

Os encapsulados, independente do processo de produção, apresentaram menor umidade de equilíbrio com o aumento da temperatura, na mesma Aa. De acordo com Iglesias e Chirife (1982), esta tendência pode ser explicada pela termodinâmica de sorção mostrando que o aumento de temperatura resulta em condições desfavoráveis para a adsorção de água. A formulação 50%G liofilizada foi exceção em relação a este comportamento, onde foi observado um aumento da umidade de equilíbrio com o aumento da temperatura. A mudança na sorção da água pode estar associada à forma como ocorre a retirada da água no processo de liofilização. A exposição dos sítios ativos da goma arábica pode ser maior na liofilização uma vez que o processo transforma a solução a ser encapsulada em uma “esponja seca”, resultando em maior superfície de absorção de água. De acordo com Pedroza-Islas *et al.* (1999), a goma arábica é um polieletrólito, com muitos grupos funcionais ionizáveis, ligando-se fortemente a água.

Através da avaliação visual dos encapsulados observou-se que as formulações com

predomínio de maltodextrina apresentaram menor escurecimento do que aquelas com predomínio de goma arábica. Possivelmente o conteúdo de proteína da goma arábica tenha favorecido a ocorrência da reação de Maillard. Os encapsulados obtidos por liofilização, apresentaram escurecimento mais intenso do que os produzidos por atomização, na mesma Aa em todas as formulações testadas, a diferença foi acentuada com o aumento da temperatura, a formulação 25%M+25%G apresentou comportamento distinto das demais formulações, com um acentuado escurecimento, independente do processamento utilizado na encapsulação. A formulação não apresenta predominância de nenhum dos agentes encapsulantes testados, assim uma incompatibilidade química entre a maltodextrina e a goma arábica poderia comprometer a formação de filme, resultando em menor estabilidade deste encapsulado.

Nas isotermas dos encapsulados (FIGURAS 1 e 2) estão indicados os pontos onde foram observadas as mudanças das características físicas dos encapsulados. Na Figura 3 observam-se as alterações ocorridas nos encapsulados 37,5%M+12,5%G obtidos por liofilização e atomização após 20 dias em atmosfera com diferentes UR%. Os encapsulados permaneceram na forma de um pó solto em UR 33% nas temperaturas 25 e 35°C. A 45°C, na mesma UR%, os encapsulados já apresentavam sinais de aderência. Em UR mais altas, as transformações físicas tornaram-se mais evidentes. A 25° e 35°C, em UR 43% , observou-se início de aderência, mas o pó ainda se soltava com facilidade. Em UR 50% observou-se escurecimento e a formação de aglomerados que não mais se soltavam, no entanto, a estrutura do pó ainda se mantinha. Na UR% 75%, a amostra colapsou totalmente, mostrando-se bastante escurecida e dura. Em UR 82% a amostra se liqüefez. A 45° C, todas as modificações físicas aconteceram em UR% mais baixas: a 33%, houve início de aderência, a 43% os aglomerados formados não mais se soltavam e em

UR 50% os encapsulados colapsaram, , na UR% 0,75 as amostras apresentavam-se líquidas. Todas as formulações testadas, independente do processo utilizado para a microencapsulação, apresentaram alterações semelhantes em suas características físicas.

O colapso é um fenômeno danoso no qual um pó totalmente solto é primeiramente transformado em torrões, formando um aglomerado sólido e finalmente em um material adesivo, resultando em perda da funcionalidade e redução da qualidade (Aguilera *et al.*, 1995). De acordo com Aguilera *et al.* (1995), a formação de pontes é o estágio inicial do colapso, e ocorre como o resultado da deformação da superfície, estabelecendo-se pontos de contato entre as partículas, sem uma diminuição mensurável da porosidade. No início do colapso, pequenas pontes interpartículas podem ser desintegradas com uma leve agitação. Aglomeração é o estágio seguinte, envolve uma consolidação irreversível das pontes, mas a porosidade do sistema é mantida, resultando em grupos de partículas com integridade estrutural. A compactação é o estágio mais avançado do colapso, é associado à uma perda pronunciada da integridade do sistema, como o resultado do espessamento das pontes interpartículas, resultando na redução do espaço entre as partículas e deformação dos agrupamentos sob pressão. No estágio final do colapso, as pontes desaparecem, como o resultado da liquefação da amostra. Este estágio usualmente envolve a solubilização das frações de baixo peso molecular e um comportamento higroscópico. Levine e Slade (1988), consideram que o fenômeno do colapso inclui várias transformações estruturais, as quais podem ocorrer em alimentos amorfos em temperaturas acima da temperatura de transição vítrea.

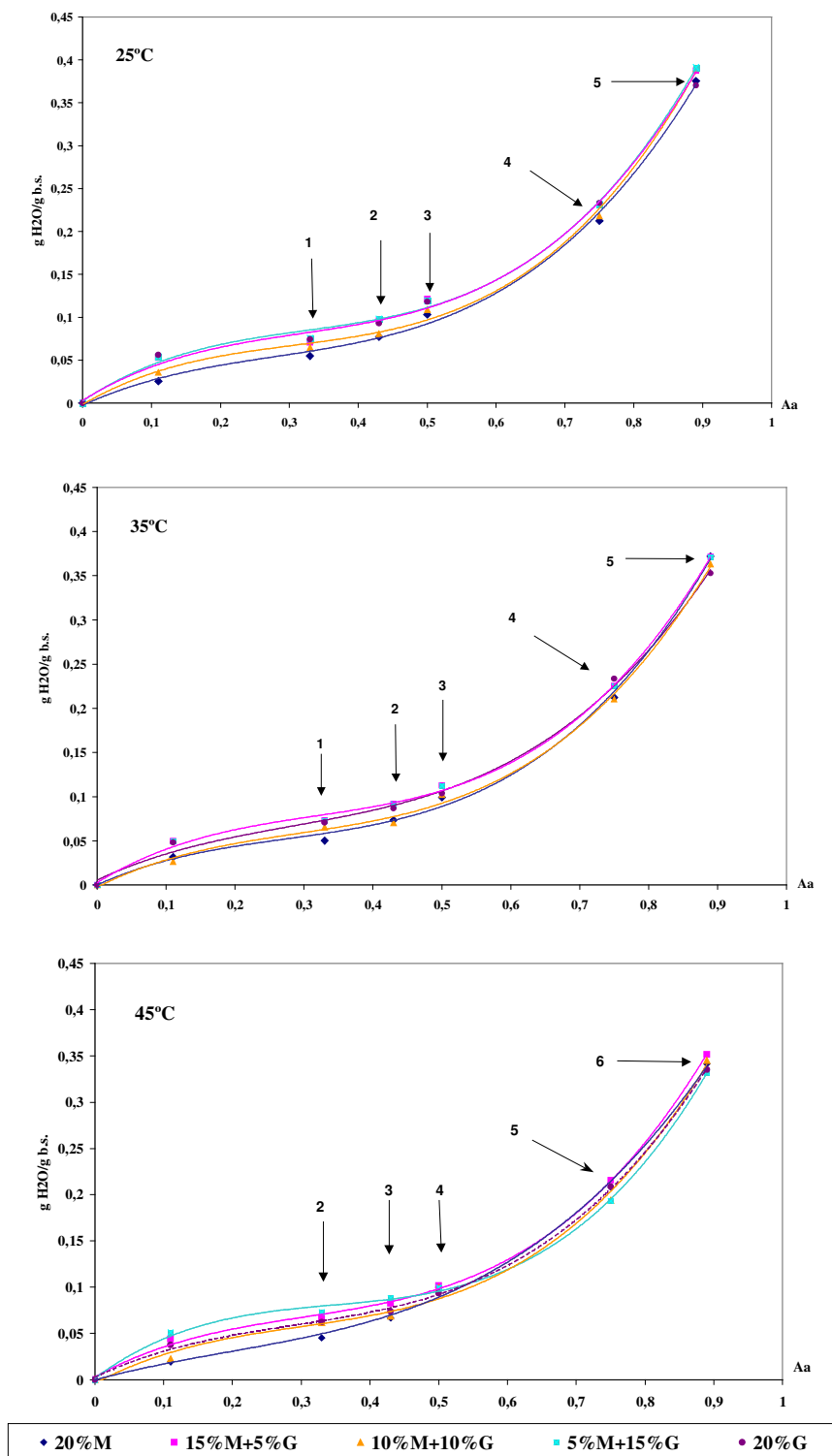


Figura 1 – Isothermas de sorção de água obtidas para encapsulados de acerola verde com diferentes formulações de material de cobertura produzidos por atomização a temperaturas de 25°, 35° e 45° C. As modificações físicas ocorridas com os encapsulados são apresentadas: (1) pó totalmente solto; (2) início de aderência; (3) formação de aglomerados, a estrutura do pó ainda se mantém; (4) colapso, há a perda da estrutura; (5) amostra bastante escurecida e ainda dura. (6) amostra liquefeita.

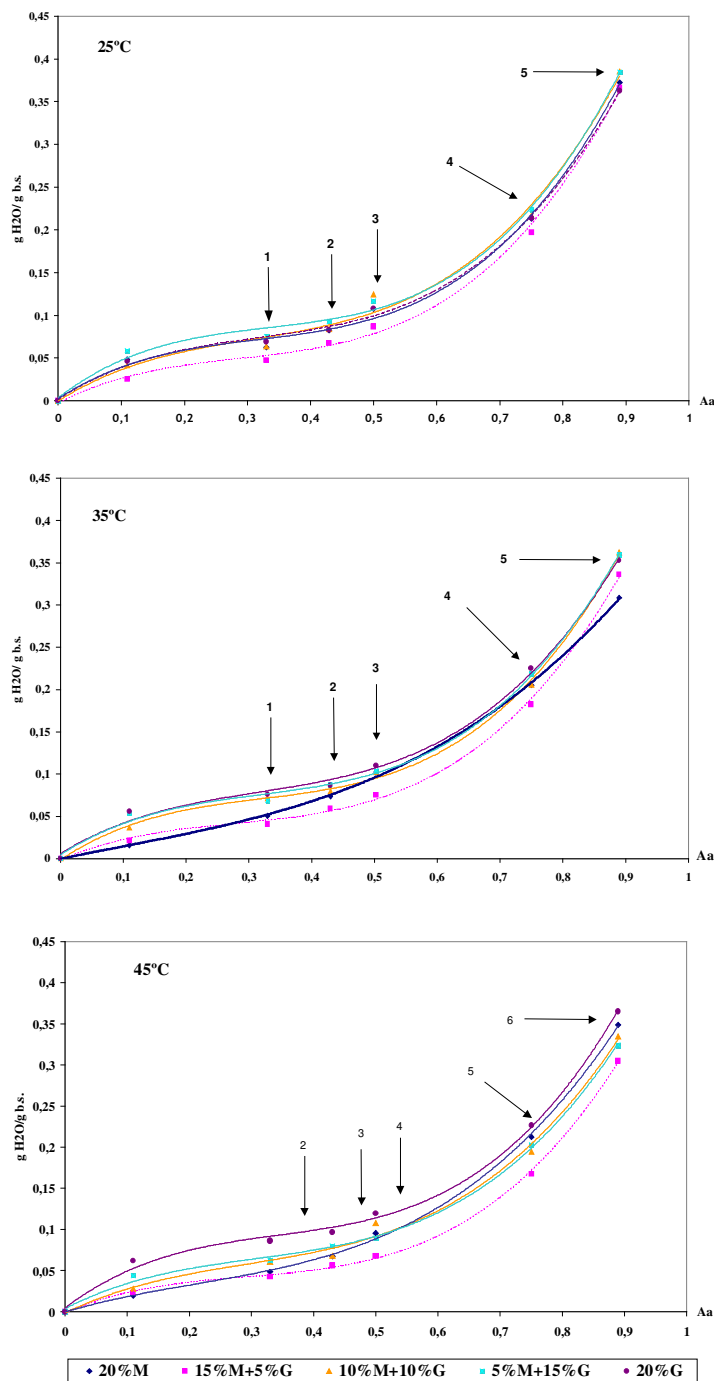


Figura 2 – Isotermas de sorção de água obtidas para encapsulados de acerola verde com diferentes formulações de material de cobertura produzidos por liofilização a temperaturas de 25°, 35° e 45° C. As modificações físicas ocorridas com os encapsulados são apresentadas: (1) pó totalmente solto; (2) início de aderência; (3) formação de aglomerados, estrutura do pó ainda se mantém; (4) colapso, há a perda da estrutura; (5) amostra bastante escurecida e ainda dura. (6) amostra liquefeita.

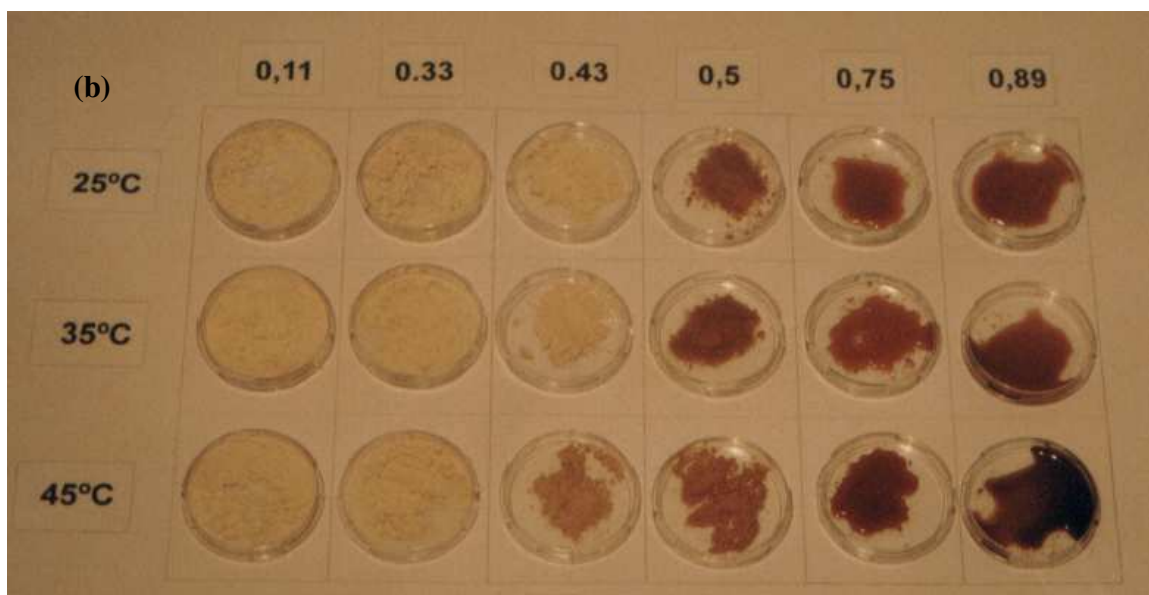
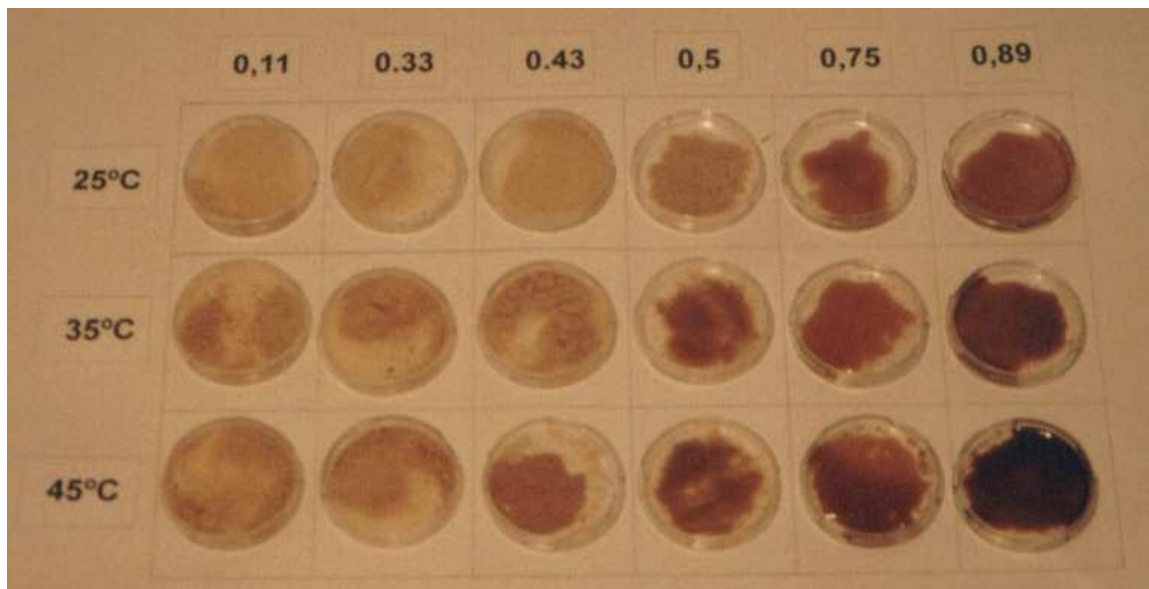


FIGURA 3 – Alterações físicas ocorridas nas amostras de encapsulado de suco de acerola verde à 25, 35 e 45° C, produzidos por (a) atomização e (b) liofilização. Formulação 37,5% maltodextrina (M) + 12,5% de goma arábica (G).

4.4.2. Temperatura de transição vítrea (Tg)

A maltodextrina é um agente encapsulante amplamente estudado, contribuindo para aumentar a estabilidade do sistema, aumentando a Tg (Chuy e Labuza, 1994). Ross (1995) relata que o uso de maltodextrinas resulta na diminuição da adesividade, aumentando a estabilidade ao armazenamento de alimentos em pó. Embora a goma arábica seja um agente encapsulante bastante utilizado, não se encontrou na literatura suas temperaturas de transição vítrea..

As temperaturas de transição vítrea (Tg) dos encapsulantes, do suco puro e do suco encapsulado com diversas formulações, em diferentes Aa, estão apresentados na TABELA 4 .

Os dois agentes encapsulantes, maltodextrina DE 20 e goma arábica, apresentaram valores de Tg muito próximas, 50°C para a goma arábica e 55°C para a maltodextrina, em Aa 0,43. A adição da goma arábica e da maltodextrina, Tg 50° e 56° C, respectivamente, em Aa 0,43, ao suco puro, Tg 0,5° C, Aa 0,43, resultou em encapsulados com Tg entre 25 e 34° C, na mesma Aa. Em todas as formulações dos encapsulados a quantidade de sólidos provenientes do suco, 44%, e dos agentes encapsulantes, 56%, foi a mesma. De acordo com a equação de Gordon e Taylor (Fennema, 1996), a Tg de uma mistura binária é função da fração molar e da Tg de seus componentes, sendo um deles a água, e também de uma constante empírica k. Assim, se considerarmos as formulações utilizadas como um sistema binário entre água e sólidos (sólidos do suco + sólidos do encapsulante), uma vez que os encapsulantes apresentaram Tg muito próximas, seria esperado que a Tg dos encapsulados produzidos também fossem próximas, como de fato ocorreu.

Segundo Roos (1993) a umidade e a Aa crítica deve ser considerada como aquela que diminui a Tg à temperatura ambiente. O autor encontrou valores críticos de umidade

significativamente diferentes da monocamada de BET, para maltodextrinas com diferentes DE, sendo os valores de monocamada sensivelmente menores que a umidade crítica. Slade e Levine (1991) e Karmas et al. (1992) relacionaram a taxa de escurecimento não enzimático à mobilidade molecular acima da Tg, e não ao valor da monocamada. Diversos autores (Levine e Slade, 1986; Ross e Karel, 1991; Slade e Levine, 1991) tem demonstrado que aderência, colapso e cristalização de componentes amorfos em alimentos desidratados ocorrem com a diminuição da viscosidade acima da Tg, uma vez que estas alterações estão relacionadas à plasticização pela água.

Tabela 4 – Temperatura de transição vítrea da goma arábica, maltodextrina e de encapsulados de suco de acerola verde produzidos por atomização (S) e liofilização (L) .

Formulações	0,33	0,43	0,5
Maltodextrina*	60*	56 (55*)	38*
goma arábica	62,3 ± 0,4	50 ± 0,4	42,6 ± 0,3
suco puro	Nd	0,5 ± 0,6	nd
50%M (S)	41,3 ± 0,6	27,1 ± 0,1	1,84 ± 0,4
50%M(L)	Nd	25,0 ± 0,1	nd
37,5%M+12,5%G (S)	40,8 ± 0,4	26,6 ± 0,3	8,05± 0,7
37,5%M+12,5%G (L)	Nd	28,5 ± 0,2	nd
25%M+25%G (S)	nd	25,7 ± 0,1	nd
25%M+25%G(L)	nd	27,4 ± 0,3	nd
12,5%M+37,5%G (S)	39,5 ± 0,8	26,9 ± 0,6	2,45 ± 0,4
12,5%M+37,5%G (L)	nd	27,7 ± 0,2	nd
50%G (S)	nd	34,0 ± 0,3	nd
50%G (L)	nd	33,7 ± 0,1	nd

* valores reportados por Roos (1993).

nd – valor não determinado

Utilizando as informações obtidas nas isotermas de sorção, considerou-se a faixa crítica de Aa entre 0,33 e 0,43, onde, a 15° e 25°C foram observados sinais de aderência, e a 35° e 45° C observaram-se estágios mais avançados do colapso. A formulação contendo 50%G apresentou a maior Tg, 34°C, enquanto as formulações 25%M+25%G e 50%M encapsulados por liofilização apresentaram as menores Tg, 26 e 25°C, respectivamente em Aa 0,43. De acordo com Tsourouflis et al. (1976), o colapso acontece em temperaturas aproximadamente 40°C superiores à Tg. No entanto, nos encapsulados de suco de acerola verde o colapso foi observado em temperaturas de estocagem entre 10 e 20° C superiores à Tg.

4.5. CONCLUSÃO

As temperaturas de transição vítrea da goma arábica e da maltodextrina foram muito próximas, conseqüentemente as diferentes formulações estudadas resultaram em encapsulados com Tg similares, próximas a temperatura ambiente. A formulação 50%G apresentou a maior Tg, 34°C e as formulações 25%M+25%G e 50%M encapsulados por liofilização as menores Tg, 26 e 25°C, respectivamente, em Aa 0,43.

Os perfis das isotermas a 25, 35 e 45° C foram predominantemente do tipo sigmóide, característico das curvas do tipo II. A formulação 50%M(S) a 45°C e 50%M(L) a 35° e 45° C, apresentaram um comportamento distinto dos demais encapsulados, com curvas próximas ao tipo III.

A faixa crítica de Aa onde ocorreram alterações físicas nos encapsulados foi entre 0,33 e 0,43, dependendo da temperatura. O colapso dos encapsulados de acerola verde ocorreu em temperaturas 20° C acima da Tg, intervalo inferior ao encontrado na literatura

para início do processo de colapso, 50° C.

Um escurecimento mais acentuado foi observado dos encapsulados obtidos por liofilização e também nas formulações com predomínio de goma arábica, possivelmente devido à reação de Maillard.

Através das características das isotermas e da Tg concluiu-se que a atomização foi o melhor processo de obtenção e as formulações 50%M, 37,5%M+12,5%G e 12,5%M+37,5%G os melhores encapsulados.

4.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUILERA, M.J.; DEL VALLE, J.M.; KAREL, M. Caking phenomena in amorphous food powder. **Trends in Food Science and Technology**, v.6, n.5, p. 149 –155, 1995.

ASCHERI, D. P. R. Estudo das características de adsorção de água e da estabilidade das microcápsulas de óleo essencial de laranja na seleção de material de parede. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 19, n. 3, p. 1-17, 1999.

BRUNAUER, S.; EMMETT, P. H.; TELLER, E. Adsorption of gases in multimolecular layer. **Journal of American Chemistry Society**, v. 60, n. 1, p. 309 – 312, 1938.

CHUY, L. E.; LABUZA, T. P. Caking and stickiness of dairy-based food powders as related to glass transition. **Journal Food Science**, v. 59, n.1, p. 43-46, 1994.

DESOBRY, S. A.; NETTO, F. M.; LABUZA, T. P. Influence of maltodextrin systems at an equivalent 25DE on encapsulated β -carotene loss during storage. **Journal of Food Processing Preservation**, v. 23 , p. 39 - 55, 1998.

FENNEMA, O. R. Water and ice. In: FENNEMA, O.R. **Food Chemistry**. 3ed. 1996. Cap.

2, p. 17 - 94.

HAMANO, M.; SUGIMOTO, H. Free flowingness of powdered soy sauce and miso. **Journal of Food Processing and Preservation**, n. 2, p. 185 – 196, 1978.

IGLESIAS, H. A.; CHIRIFE, J. **Handbook of food isotherms**. Academic Press: New York. 1982. 343 p.

JACKSON, L. S.; LEE, K. Microencapsulation and the food industry. **Lebensmittel-Wissenschaft Technologie Food Science**, v. 24, n. 4, p. 289-297, 1991.

KAREL, M.; FLINK, J. Some recent developments in food dehydration research. **Advances Drying**, v. 2, n. 1, p. 103 – 104, 1983

KAREL, M.; LANGER, R. Controlled release of food ingredients. In: Reineccius, G.A; Risch, S. J. (Eds.). *Flavor Encapsulation* . American Chemical Society: Washington, D.C. 1988, p. 177 – 192.

KARMAS, R.; BUERA, M. P.; KAREL, M. Effects of glass transition on rates of nonenzymatic browning in food systems. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v. 40, n. 5, p. 873-879, 1992.

LEVINE, H.; SLADE, L. A polymer physico – chemical approach to the study of commercial starch hydrolysis products. **Carbohydrate Polymers**, v. 6, n. 3, p. 213 – 244, 1986.

LOMAURO, C. J.; BAKSHI, A. S.; LABUZA, T. P. Evaluation of food moisture sorption isotherm equations Part II: milk, coffee, tea, nuts, oilseeds, spices and starchy foods. **Lebensmittel-Wissenschaft Technologie Food Science**, v.18, p.118-124, 1985.

NOEL, T. R.; RING, S. G. E WHITTAM, M. A. Glass transitions in low-moisture foods.

Trends in Food Science and Technology, v. 2, n. 9, p. 62 – 67, 1990.

PEDROZA - ISLAS, R.; VERNON - CARTER, E. J.; DURÁN - DOMÍNGUEZ, C., TREJO - MARTÍNEZ, S. Using biopolymer blends for shrimp feedstuff microencapsulation – I. Microcapsule particle size, morphology and microstructure. **Food Research International**, n. 32, p. 367 – 374, 1999.

PITOMBO, R. N. M.; CANTELMO, M. C. P. W. Jugo de acerola (*Malpighia punicifolia* L.) liofilizado: comportamiento higroscopico, efectos del almacenamiento a diferentes humedades relativas y temperaturas, sobre la vitamina C y compuestos volatiles. **Alimentaria**, n. 10, p. 119 – 128, 2000.

RADOSTA, S.; SCHIERBAUM, F.; REUTHER, F.; ANGER, H. Polymer-water interaction of maltodextrins. Part I: water vapour sorption and desorption of maltodextrin. **Starch**, v. 41, n. 10, p. 395 – 401, 1989.

ROOS, Y. H. **Phase transitions in foods**. San Diego: Academic Press, 1995. 360p.

ROOS, Y. H. Effect of moisture on the thermal behavior of strawberries studied using differential scanning calorimetry. **Journal Food Science**, v.52, n. 1, 1987.

ROOS, Y. Water activity and physical state effects on amorphous food stability. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 16, p. 433 – 447, 1993.

ROOS, Y.; KAREL, M. Applying state diagrams to food processing and development. **Food Technology**, v. 45, n. 12, p. 66 – 71, 1991.

TSOUROUFLIS, S.; FLINK, J. M.; KAREL, M. Loss of structure in freeze-dried carbohydrates solutions: effect of temperature, moisture content and composition. **Journal Science of Food and Agriculture**, v. 27, p. 509 – 519, 1976.

4.1. RESUMO.....	117
4.2. INTRODUÇÃO.....	118
4.3. MATERIAIS E MÉTODOS	121
4.3.1. MATERIAIS	121
4.3.1.1. SUCO CONCENTRADO DE ACEROLA VERDE.....	121
4.3.1.2. ENCAPSULANTES:.....	121
4.3.1.3. REAGENTES:.....	121
4.3.2. OBTENÇÃO DOS ENCAPSULADOS	121
4.3.2.1. ATOMIZAÇÃO (S).....	121
4.3.2.2. LIOFILIZAÇÃO (L).....	122
4.3.2.3. FORMULAÇÕES.....	122
4.3.3. TEMPERATURA DE TRANSIÇÃO VÍTREA	122
4.3.4. ISOTERMAS DE SORÇÃO	123
4.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	124
4.4.1. ISOTERMAS DE SORÇÃO DE ÁGUA	124
4.4.2. TEMPERATURA DE TRANSIÇÃO VÍTREA (TG)	137
4.5. CONCLUSÃO.....	139
4.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	140

CAPÍTULO 5

EFEITO DOS ENCAPSULANTES NA ESTABILIDADE DE ENCAPSULADOS DE SUCO DE ACEROLA VERDE E ÁCIDO ASCÓRBICO SINTÉTICO

5.1. RESUMO

Suco de acerola verde e ácido ascórbico sintético foram encapsulados com goma arábica (G) e maltodextrina DE20 (M) e misturas destes agentes encapsulantes. A estabilidade da vitamina C destes encapsulados foi estudada em diferentes temperaturas, 15, 25, 35 e 45° C. A degradação da vitamina seguiu o modelo cinético de primeira ordem, com um período inicial onde a reação foi lenta, seguido de um período de reação mais rápida. O escurecimento não enzimático, que seguiu um modelo cinético de ordem zero, também apresentou no período inicial de estocagem uma constante de velocidade menor. Os diferentes encapsulantes estudados não afetaram a velocidade de degradação da vitamina C ou do escurecimento não enzimático. O aumento da temperatura de armazenamento teve maior impacto na degradação do ácido ascórbico sintético encapsulado do que na vitamina C do suco de acerola verde. Tais diferenças podem estar associadas à presença de compostos fenólicos com atividade antioxidante, que protegem a vitamina C.

Palavras-chave: acerola, vitamina C, estabilidade, cinética de degradação, escurecimento não enzimático, maltodextrina, goma arábica.

5.2. INTRODUÇÃO

Provavelmente a vitamina mais amplamente adicionada à alimentos é a vitamina C. O ácido ascórbico é uma vitamina hidrossolúvel, essencial para a saúde humana. Recentemente, sua propriedade de sequestrar radicais livres tem sido amplamente divulgada (Giese, 1995). O ácido ascórbico é utilizado com dois diferentes propósitos: como suplemento vitamínico, reforçando a ingestão diária de vitamina C, e como antioxidante, protegendo as qualidades sensoriais e nutricionais do alimento (Kirby et al., 1991).

A acerola ou cereja das Antilhas (*Malpighia emarginata*, DC) é uma planta frutífera, da família das Malpighiaceae, originária das Antilhas, norte da América do Sul e América Central. Seu fruto destaca-se pelo alto teor de vitamina C, cada 100 g de polpa contém de 1000 a 2500 mg de vitamina C (Carvalho e Manica,1994; Araújo e Minami, 1994). Presente no Brasil desde 1956 (Oliva *et al.*,1996), nos últimos anos o suco da acerola tem conquistado ampla aceitação no mercado mundial, principalmente Japão e Estados Unidos, sendo utilizado como fonte de vitamina C natural, misturado a diversos produtos, com infinitas possibilidades de aplicação (Korgo,1996).

O conteúdo de ácido ascórbico decresce com a maturação da acerola (Itoo *et al.* 1990; Vendramini e Trugo, 2000). Assim, torna-se interessante a produção de pó de acerola verde, como forma de acentuar o conteúdo natural de ácido ascórbico da fruta, potencializando seu uso como um alimento funcional. A desidratação proporciona ainda aumento na estabilidade, proporcionando maior facilidade no manuseio e na estocagem.

A causa primária de degradação do ácido ascórbico é a oxidação, em condições aeróbias, tanto por reações enzimáticas quanto não enzimáticas (Mapson,1970;

Henshall,1981). O ácido ascórbico oxida-se facilmente e de modo reversível à ácido dehidroascórbico. A atividade biológica da vitamina C é perdida quando o ácido dehidroascórbico se transforma por abertura irreversível do anel lactônico em ácido 2,3 - dicetogulônico e a partir daí em outros produtos inativos (Belitz, 1988; Gregory, 1996). A taxa de hidrólise do ácido dehidroascórbico aumenta acentuadamente com o aumento da temperatura, mas não é afetado pela presença ou ausência de oxigênio (Gregory, 1996).

O mecanismo de degradação do ácido ascórbico pode diferir dependendo da natureza do alimento ou do meio de reação. A degradação catalizada por íons metálicos tem sido proposta como a responsável pela formação de um complexo ternário, produzido diretamente do ácido dehidroascórbico, sem a formação detectável de um produto de oxidação (Gregory, 1996). Scarpa et al. (1983) observaram que a oxidação do ascorbato, catalizada por metais, forma superóxidos em uma determinada etapa. Nas etapas subsequentes a reação passa a envolver o superóxido, duplicando a taxa de oxidação do ascorbato.

Embora já destituído de sua importância nutricional, as diversas reações envolvidas na fase final de degradação do ascorbato são importantes por causa do seu envolvimento na formação de compostos de sabor ou precursores que participam no escurecimento não enzimático (Gregory, 1996).

Dennison e Kirk (1978) estudaram a estabilidade do ácido ascórbico em um sistema modelo de alimento desidratado. A taxa de degradação foi satisfatoriamente descrita como uma reação de 1^a ordem, que aumentava com o aumento da atividade de água e da temperatura. Estudos recentes, como o de Vieira et al. (2000), relatam que a cinética da degradação térmica da vitamina C em néctar de cupuaçu também obedeceu a uma reação de 1^a ordem. Uddin et al. (2002) estudaram a retenção de ácido ascórbico em goiaba

desidratada por liofilização durante o armazenamento. A equação de 1ª ordem foi a que melhor descreveu a perda da vitamina C sob diferentes condições de estocagem.

O teor de umidade, a atmosfera da embalagem, a temperatura e o tempo são parâmetros de armazenamento importantes. A condição ótima de armazenamento varia de produto a produto. A maior parte dos produtos desidratados necessita de níveis baixos de umidade para a retenção de nutrientes. Mylne e Seamans (1954) observaram que somente 10% do ácido ascórbico contido em pó de suco de laranja foi perdido em 6 meses de armazenamento sob condições severas de temperatura (38°C) quando o controle adequado da umidade relativa foi promovido. Amostras sem a presença de um dessecante na embalagem, perderam 75% do ácido ascórbico no mesmo período de tempo.

Estudos realizados por Pitombo e Cantelmo (2000) verificaram que o conteúdo de vitamina C do suco de acerola liofilizado diminuiu com o aumento da atividade de água e temperatura. Observou-se que para as temperaturas de 15, 25 e 35° C, a perda de vitamina C não foi uniforme por toda a faixa de atividade de água estudada, sendo crítica a A_w 0,7, quando a perda da vitamina C tornou-se mais acentuada. Os resultados foram semelhantes aos encontrados por Pitombo (1999), trabalhando com suco de laranja liofilizado, sendo que a velocidade de degradação na acerola foi maior.

A tecnologia de encapsulação no processamento de alimentos consiste na cobertura de pequenas partículas de ingredientes, visando reduzir a reatividade do produto com o ambiente externo (luz, água e oxigênio). A estrutura de cobertura protege o produto da luz, do oxigênio e de outros agentes externos, e controla a liberação do encapsulado (Dziezak, 1988).

Como cobertura, utiliza-se basicamente materiais formadores de filmes, que podem ser selecionados de uma ampla variedade de polímeros naturais e sintéticos (Runge, 2001;

Shahidi e Han, 1993). A escolha do agente encapsulante depende das propriedades físicas e químicas do produto que será encapsulado, do processo utilizado para a formação das microcápsulas e ainda das propriedades desejadas para o encapsulado (Jackson e Lee, 1991; Marquart, 1992).

A maltodextrina é muito utilizada na encapsulação por ter baixo custo. O uso de maltodextrinas com alta dextrose equivalente (DE), leva à maior tendência a reações de escurecimento, maior higroscopicidade e solubilidade, maior doçura, menor coesividade e menor estabilidade da emulsão. O uso de baixa DE, resulta em maior viscosidade, formação de soluções opacas, pois a solubilidade é menor, menor coesividade e as soluções ficam mais estáveis (Anandaraman e Reineccius, 1986).

A goma arábica tem sido o encapsulante mais utilizado na microencapsulação por atomização, principalmente por ser um bom agente emulsificante, apresentar baixa viscosidade em soluções aquosas, o que facilita o processo de atomização, além de apresentar boa retenção de voláteis, normalmente acima de 85%, conferindo também proteção efetiva contra a oxidação (Chumpitaz, 1995; Reineccius, 1991; Rosenberg *et al.*, 1990).

Imagi *et al.* (1990) e Minemoto *et al.* (1999), reportaram a alta atividade encapsulante da goma arábica e da maltodextrina, quando comparada a outros polissacarídeos e proteínas, na encapsulação de lipídeos líquidos. É possível que esta atividade encapsulante superior seja originada por alguma interação entre estes polissacarídeos com o óleo, considerando que a maltodextrina não possui partes peptídicas e é essencialmente não ativa na superfície, diferente da goma arábica que possui partes peptídicas covalentemente ligadas a cadeia principal (Matsumura *et al.*, 2000).

Reineccius (1991) avaliou combinações de maltodextrina e goma arábica e verificou

uma encapsulação eficiente de aromas, além de uma excelente estabilidade contra a oxidação. Os melhores resultados foram obtidos com 60% de maltodextrina e 40% de goma arábica. A mistura, além de proporcionar um custo menor, apresenta as propriedades desejáveis da goma arábica.

Como para a maioria dos métodos físicos, sabe-se que o sucesso da encapsulação depende da formação de uma estrutura amorfa metaestável, em estado vítreo, com uma permeabilidade mínima aos compostos que serão encapsulados no seu interior. Nos processos de secagem, a presença de açúcares no sistema de encapsulação colabora para a formação de uma estrutura amorfa com baixo conteúdo de água. A redução do conteúdo de água aumenta a temperatura de transição vítrea, resultando em uma matriz impermeável a compostos orgânicos e ao oxigênio (Karel e Langer, 1988). Karel e Flink, (1983) e Levine e Slade, (1986) demonstraram que a liberação do material encapsulado por difusão ocorre quando a matriz em estado vítreo sofre uma transição de fase, passando para um estado com maior mobilidade molecular, este estado é denominado borrachudo.

Conhecendo-se os efeitos da temperatura e da umidade sobre o estado físico e a difusão em matrizes amorfas de alimentos, pode-se estabelecer as relações existentes entre a composição do alimento e as condições de armazenamento (Roos, 1995).

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito dos encapsulantes, maltodextrina, goma arábica e misturas dos dois, na estabilidade de diferentes fontes de vitamina C, suco de acerola verde e ácido ascórbico sintético.

5.3. MATERIAIS E MÉTODOS

5.3.1. Produção de encapsulados

5.3.1.1. Suco concentrado de acerola verde

O suco foi cedido pela empresa Anidro S/A, de Botucatu – SP, e apresentou as seguintes características 21% de sólidos solúveis, 4,9% de vitamina C, 15,8% de açúcares , 9,6 mg/g de fenóis totais e pH 4,7.

5.3.1.2. Ácido ascórbico sintético

Solução preparada com ácido ascórbico sintético (AA), Merck, com mesma concentração de vitamina C (4,9%), e pH 4,7 do suco de acerola verde concentrado. O ajuste do pH foi realizado com solução de bicarbonato de sódio 20% e o teor de sólidos de 21% com a mesma formulação do encapsulante.

5.3.1.3. Encapsulantes:

- ◆ Maltodextrina - DE 20: fornecida pela empresa Refinações de Milho Brasil S/A, com umidade inicial de 5,27%
- ◆ Goma Arábica p.a. : marca Synth , com umidade inicial de 11,49% e 1,65% de proteína.

5.3.2. Reagentes:

Os reagentes utilizados foram de grau de pureza analítica.

5.3.3. Obtenção dos Encapsulados

5.3.3.1. Atomização

Realizado em secador spray-dryer, modelo SD-04, da Lab-Plant Limited, escala

laboratorial, com bico injetor de 1 mm de diâmetro e pressão do ar de 5 Kgf/cm². Após testes preliminares estabeleceu-se as condições de processamento:

- ◆ Temperatura de entrada: 120°C
- ◆ Temperatura de saída: 80 a 82°C
- ◆ Vazão do líquido: 1,6 ml/min

5.3.3.2. Formulação

Trabalhou-se com misturas de maltodextrina DE20 (**M**) e goma arábica (**G**) e suco de acerola verde concentrado (**SC**) ou solução de ácido ascórbico sintético (**AA**) nas seguintes concentrações:

Formulação	Concentração %		
	SC ou AA	Maltodextrina	Goma Arábica
50% M	80	20	0
37,5% M+12,5% G	80	15	5
12,5% M+37,5% G	80	5	15

Do total de sólidos presentes nas formulações, 50% são sólidos provenientes do suco de acerola ou da solução de AA sintético e 50% sólidos do agente encapsulante. A dissolução foi realizada à temperatura ambiente. Para total solubilização, foi necessário utilizar agitador magnético por 30 minutos.

5.3.4. Estudo de estabilidade

Os seis encapsulados produzidos e o suco de acerola verde concentrado liofilizado foram armazenadas por nove meses em quatro diferentes temperaturas, 15, 25, 35 e 45°C, e UR 33%, obtida com solução saturada de MgCl₂. O experimento foi conduzido em sistemas fechados, formados por caixas plásticas hermeticamente seladas. As amostras, em duplicata, foram retiradas a cada 30 dias até 180 dias, quando o intervalo foi aumentado para 45 dias.

Os resultados foram analisados através do software Water Analyzer Séries, Reaction Kinetics Program, version 2.10, para Machintosh.

5.3.5. Escurecimento não enzimático

O escurecimento não enzimático foi avaliado utilizando a metodologia recomendada por Karmas *et al.* (1992). O monitoramento da absorvância a 420 nm, foi realizado em espectrofotômetro Beckman DU-70.

5.3.6. Teor de vitamina C

A vitamina C foi determinada pelo método titulométrico com 2,6 diclorofenol-indofenol, recomendado pela AOAC (nº 43.064), 1984, modificado por Benassi e Antunes (1988), que substituiu o ácido metafosfórico por ácido oxálico.

5.3.7. Temperatura de transição vítrea

Determinada por calorimetria diferencial de varredura (DSC), de acordo com os procedimentos descritos por Roos (1987). O calorímetro diferencial de varredura utilizado foi um Universal v2.3c, da TA Instruments, com leitura entre -50°C a 150°C, e rampa de 10°C/min, utilizando uma cápsula de alumínio vazia como referência. As amostras, entre 5 e 10 mg, foram acondicionadas em cápsulas de alumínio, equilibradas a Aa 0,33, pesadas e fechadas hermeticamente. Foram realizadas duas corridas por amostra, a primeira visando eliminar a entalpia de relaxação que pudesse interferir na determinação da temperatura de transição vítrea. As análises foram realizadas pelo menos em duplicata.

5.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.4.1. Retenção inicial de vitamina C

A retenção inicial de vitamina C dos encapsulados produzidos com ácido ascórbico e suco de acerola verde está apresentado na TABELA 1. Os encapsulados produzidos com a ácido ascórbico apresentaram entre 8 e 15% menos vitamina C que os encapsulados do suco puro, devido, provavelmente, ao suco de acerola verde possuir outros compostos que promovem proteção para a vitamina C. Trabalho realizado por Righetto *et al.* (2002), comprovou o efeito antioxidante do suco de acerola verde. Miller e Rice-Evans (1996) também relataram o efeito protetor que compostos fenólicos exercem sobre a vitamina C, em suco de laranja, maçã e principalmente em uma bebida a base de groselha preta, com alto teor de compostos fenólicos.

TABELA 1 – Retenção de vitamina C em encapsulados de suco de acerola verde e ácido ascórbico sintético (AA).

Encapsulantes	Suco de acerola verde		AA	
	% vitamina C	% retenção	% ac. ascórbico	% retenção
50% M	8,4	77	7,6	70
37,5% M+12,5% G	8,7	79	7,8	71
12,5% M+37,5% G	8,9	79	7,4	66

5.4.2. Retenção de vitamina C durante a estocagem

A degradação da vitamina C pode ocorrer por diferentes reações simultaneamente, a determinação da vitamina C, como avaliada neste trabalho, é resultado de diferentes reações. Desta forma a reação deve ser denominada de pseudo primeira ordem (Uddin *et al.*, 2002). Para a reação de pseudo primeira ordem, a retenção de vitamina C pode ser escrita como:

$$- d C_{At}/d t = k C_{At} \quad \text{ou} \quad \ln (C_{At}/C_{A0}) = -kt$$

onde,

C_{A0} = concentração inicial de ácido ascórbico (mg/100g de sólido)

C_{At} = concentração de ácido ascórbico no tempo t (mg/100g de sólido)

k = constante de velocidade (dia^{-1})

t = tempo (dias)

Os resultados da retenção de vitamina C em função do tempo estão apresentados nas FIGURAS 1 e 2. A cinética de degradação da vitamina C nos encapsulados e no suco liofilizado seguiu o modelo cinético de primeira ordem, quando estocados a 15 °C. Nas temperaturas mais elevadas, 25, 35 e 45 °C, observou-se que a reação seguiu, nos 120 primeiros dias de estocagem, modelo cinético de primeira ordem, seguido por um segundo período também de primeira ordem, porém com constante de velocidade maior que no primeiro período. Após os 270 dias de estocagem, os encapsulados de suco apresentaram entre 27 e 95% de retenção da vitamina C enquanto aqueles obtidos com AA, apresentaram entre 20 e 85% de retenção. Como os encapsulados foram produzidos em condições semelhantes, a diferença de retenção pode ser devido à proteção conferida por compostos

fenólicos presentes no suco de acerola verde (Righetto et al., 2002) sobre a vitamina C (Miller e Rice-Evans, 1996).

As constantes de velocidade (k) da degradação da vitamina C dos encapsulados de suco de acerola verde e de AA ao longo do armazenamento são mostrados na TABELA 2. Observa-se que para os encapsulados de suco e AA estocados a 25 e 35 °C, as constantes de velocidade de degradação aumentaram 5 vezes em relação ao período inicial, enquanto que a 45° C o aumento chegou a ser entre 6 e 8 vezes, chegando a $5,90 \times 10^{-3}$ /dia nos encapsulados de suco de acerola verde, e $9,91 \cdot 10^{-3}$ /dia nos encapsulados de ácido ascórbico sintético.

Os encapsulantes utilizados apresentaram pouca diferença na capacidade de proteção à vitamina C. Observa-se que no período inicial as constantes de velocidade de perda de vitamina C para as diferentes formulações de encapsulantes foram semelhantes, variando entre 0,32 e $0,36 \cdot 10^{-3}$ %/ dia para encapsulados de suco de acerola verde e 0,32 e $0,49 \cdot 10^{-3}$ %/ dia para encapsulados de ácido ascórbico sintético armazenados a 35°C . Constantes de velocidade semelhantes também foram observadas nas demais temperaturas e também no segundo período de armazenamento. O processo de encapsulação, no entanto, resultou em proteção para a vitamina C, uma vez que nestas mesmas condições o suco liofilizado apresentou velocidade de degradação de $2,48 \cdot 10^{-3}$ / dia.

As constantes de velocidade da reação de perda da vitamina C foram acentuadamente maiores para os encapsulados de AA do que para os encapsulados de suco, o que se acentuou nas temperaturas mais altas, 35 e 45° C. No segundo período de estocagem a 35°C, a constante de velocidade dos encapsulados de suco de acerola verde foi 1,2 vezes maior que a 25°C, e a dos encapsulados de AA, o dobro, enquanto que com o aumento da temperatura de 35° C para 45°C a constante de velocidade aumentou 3 vezes

para os encapsulados de suco de acerola verde, chegando a $1,00 \times 10^{-3}$ /dia, e 3,5 vezes para os encapsulados de AA, perdendo $1,53 \times 10^{-3}$ /dia.

A maior estabilidade dos encapsulados de suco de acerola verde pode estar associada à presença de compostos fenólicos no suco. Righetto *et al.* (2002) encontraram um teor significativo de fenóis totais, 9,2 mg de catequina/g de suco, no suco de acerola verde concentrado. Os autores relatam que o suco concentrado apresentou atividade antioxidante, reduzindo em 57,2% a oxidação do metil linolato. Miller e Rice-Evans (1996), constataram o efeito protetor que compostos fenólicos exercem sobre a vitamina C em suco de laranja, maçã e principalmente em uma bebida a base de groselha preta, com alto teor de compostos fenólicos.

Uddin *et al.* (2002) relatam que a velocidade da reação de degradação do ácido ascórbico em goiaba desidratada por liofilização durante o armazenamento aumentou com o aumento da temperatura. Na atividade de água de 0,43, o aumento da temperatura de estocagem de 30° para 40° e 50° C, resultou em um aumento na constante de velocidade de 0,111 para 0,132 e 0,96, respectivamente. Em uma atividade de água superior, 0,79, o aumento na velocidade com o aumento da temperatura foi maior, a constante de velocidade a 30°C foi de 0,148, enquanto a 40° C foi de 0,265 e a 50° C foi de 0,537.

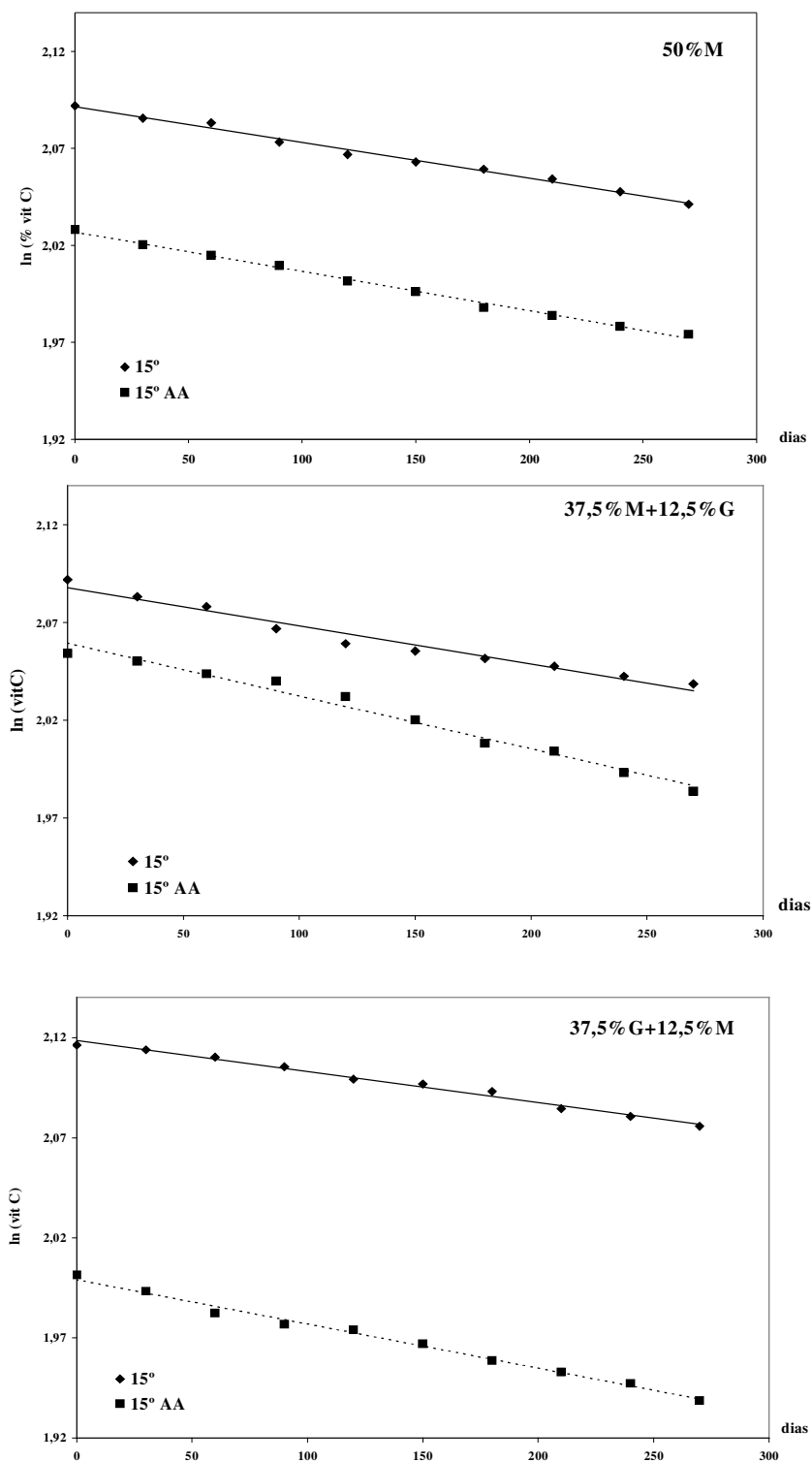


FIGURA 1 – Cinética de degradação de vitamina C (1ª ordem) para suco de acerola verde e ácido ascórbico sintético microencapsulado em diferentes matrizes durante armazenamento a 15° C.

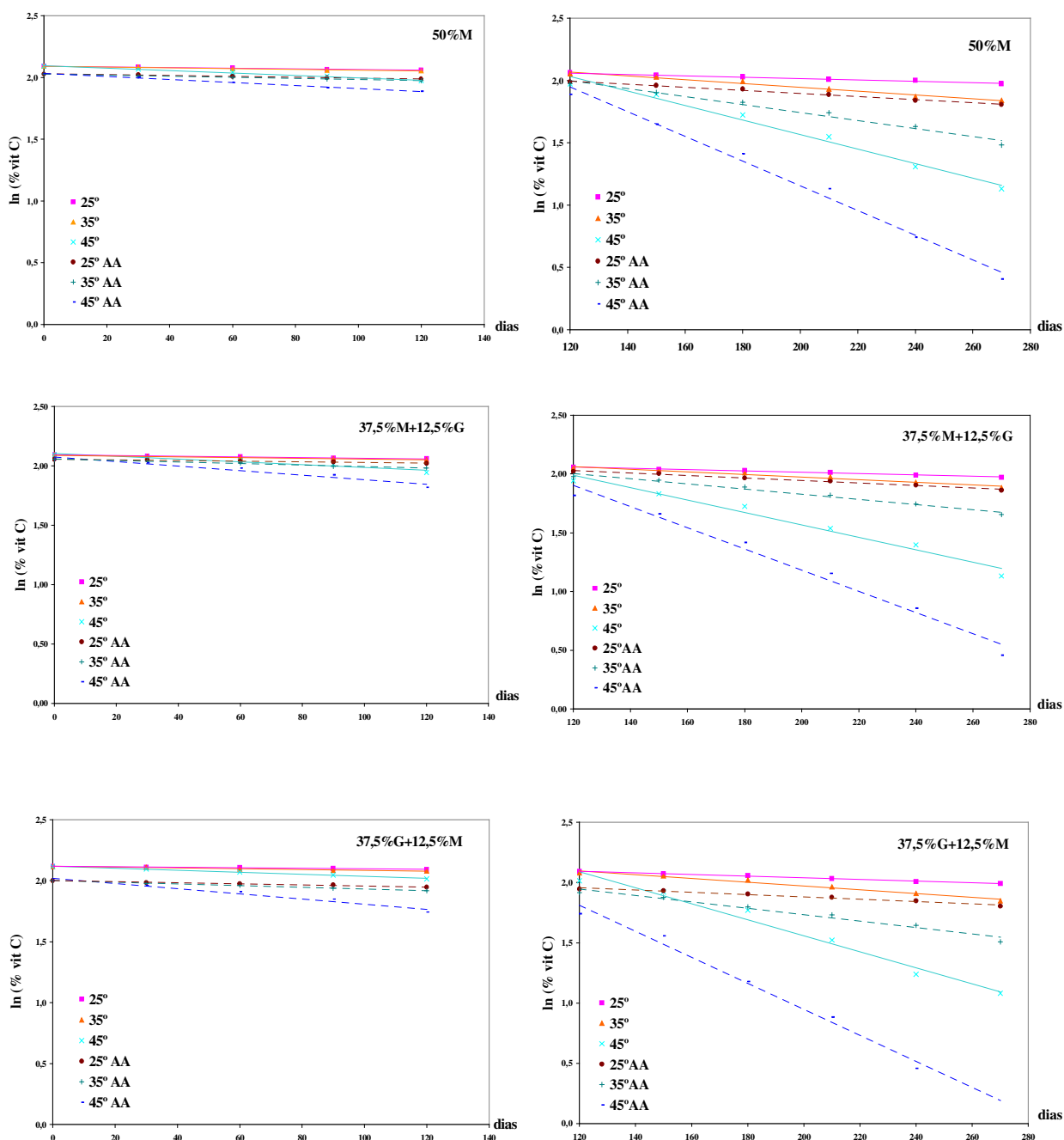


FIGURA 2 – Cinética de degradação de vitamina C (1ª ordem) para suco de acerola verde e ácido ascórbico sintético microencapsulado em diferentes matrizes durante armazenamento a 25°, 35° e 45° C. Os gráficos a esquerda referem-se ao primeiro período de armazenamento (0 – 120 dias) e os gráficos a direita ao segundo período (120 – 270 dias).

4.3. Escurecimento não enzimático

O escurecimento não enzimático é uma forma de perda de qualidade comum em produtos com baixa umidade, seguindo um modelo de reação de ordem zero, onde a velocidade pode ser calculada por um gráfico linear (Taoukis e Labuza, 1996). A reação de escurecimento é mais intensa nas Aa entre 0,5 e 0,75 (Karmas *et al.*, 1992), mas a partir de Aa 0,2 há o aumento da velocidade da reação (Fennema, 1996).

A cinética de escurecimento enzimático, para os encapsulados e suco liofilizado, seguiu modelo de reação de ordem zero, as velocidades da reação estão apresentadas na FIGURA 3 e TABELA 3. Da mesma forma que para a vitamina C, nas temperaturas 25, 35 e 45°C, foi observado um período inicial, até 120 dias de estocagem, com constante de velocidade menor a do período subsequente. No 1º período a velocidade de reações variou entre 0,22 e $3,94 \times 10^{-4}$ DO/dia, e no 2º período variou entre $1,46 \times 10^{-4}$ e $9,61 \times 10^{-4}$ DO/dia.

Assim como ocorreu para a vitamina C, as constantes de velocidade do escurecimento não enzimático apresentadas por diferentes formulações de agentes encapsulantes foram similares. As constantes de velocidade dos encapsulados de AA também foram maiores que as constantes de velocidade apresentadas pelos encapsulados de suco de acerola verde.

Quanto maior foi a temperatura de armazenamento, maior foi a diferença entre as constantes de velocidade dos encapsulados de suco de acerola verde e ácido ascórbico sintético. A 35°C, a constante de velocidade de escurecimento nos encapsulados de suco de acerola verde foi 1,7 maior que a constante de velocidade a 25°C e nos encapsulados de

AA, quase 2 vezes maior. Na temperatura de 45°C, a constante de velocidade aumentou 1,5 vezes em relação às constantes apresentadas a 35°C nos encapsulados de suco de acerola verde e dobrou nos encapsulados de ácido ascórbico. O aumento da temperatura de 25 para 35° C resultou em um aumento da constante de velocidade do escurecimento não enzimático de 1,6 vezes para o encapsulado de suco de acerola verde enquanto que para o encapsulado de ácido ascórbico sintético foi de 2 vezes. Nesta temperatura a maior diferença entre o escurecimento dos encapsulados de suco e de ácido ascórbico foi observada, superior a 1,5 vezes. A 45° C, as constantes de velocidades chegaram a $6,22 \times 10^{-4}$ DO/ dia, nos encapsulados de suco de acerola verde, e $8,25 \cdot 10^{-4}$ DO / dia nos encapsulados de ácido ascórbico sintético.

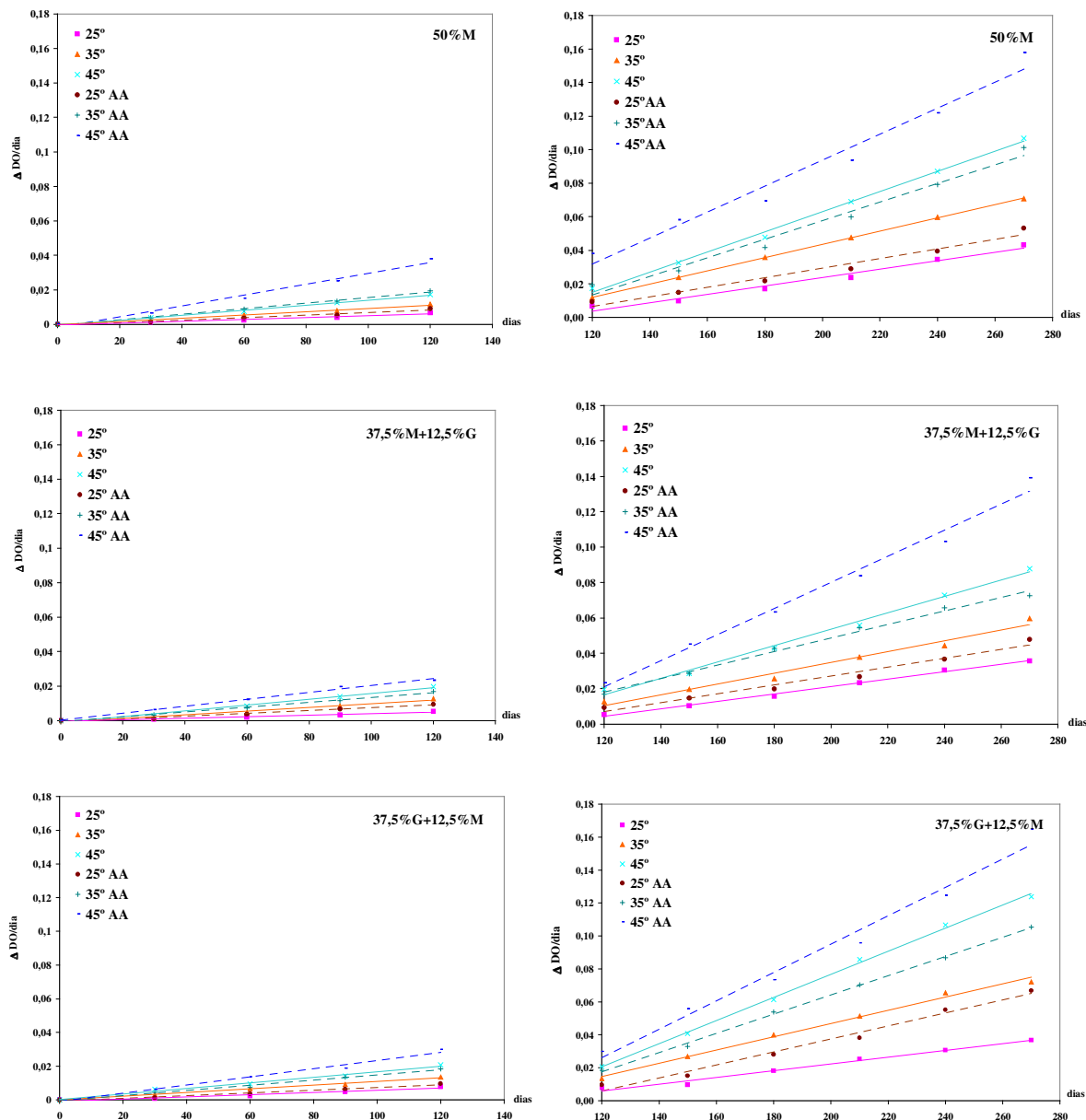


FIGURA 3 – Cinética de escurecimento não enzimático (1ª ordem) para suco de acerola verde e ácido ascórbico sintético microencapsulado em diferentes matrizes durante armazenamento a 25°, 35° e 45° C. Os gráficos a esquerda referem-se ao primeiro período de armazenamento (0 –120 dias) e os gráficos a direita ao segundo período (120 – 270 dias).

5.4.4. Relação entre degradação de vitamina C e escurecimento não enzimático

Uma relação direta entre o escurecimento não enzimático e a degradação da vitamina C foi observada (FIGURA 4). Gregory (1996) afirma que as diversas reações na fase final de degradação do ascorbato estão envolvidas na formação de compostos de sabor ou precursores que participam do escurecimento não enzimático. Embora o escurecimento não enzimático seja um processo complexo, a contribuição do ácido ascórbico para o escurecimento tem sido claramente demonstrada (Kacem *et al.*, 1987).

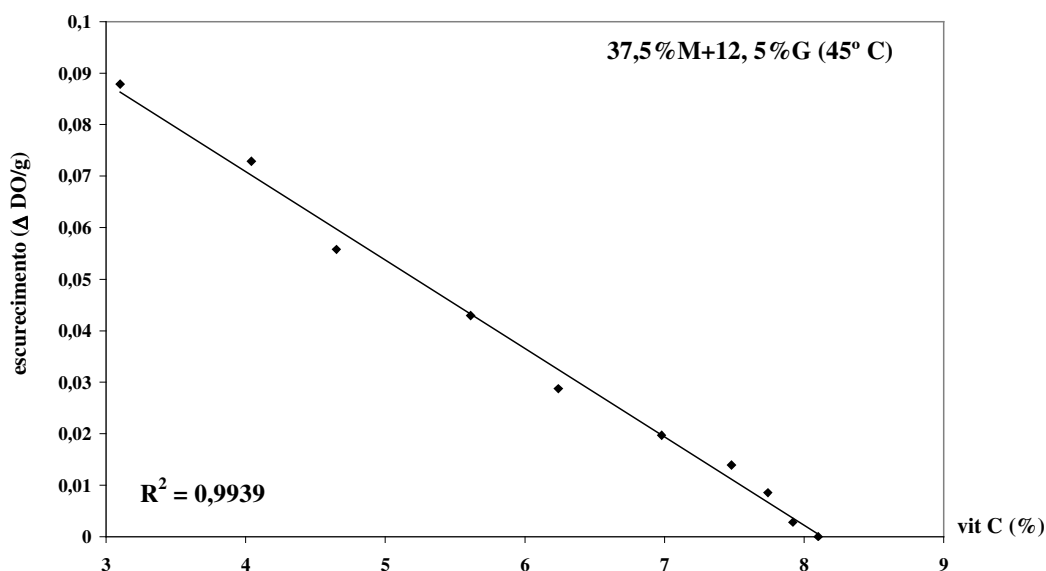


FIGURA 4 – Relação entre a degradação da vitamina C (a) e escurecimento não enzimático (b) em encapsulados de suco de acerola verde e ácido ascórbico sintético utilizando a formulação 50% M, durante armazenamento a 15°, 25°, 35° e 45°C e UR 33% .

5.5.5. Efeito da temperatura

O aumento da temperatura de armazenamento resultou em aumento da constante de velocidade da degradação da vitamina C e do escurecimento não enzimático. A equação de Arrhenius é o modelo utilizado para relacionar constante de velocidade e temperatura.

A FIGURA 5 mostra o gráfico de Arrhenius para a degradação de vitamina C durante o primeiro e o segundo período de armazenamento dos encapsulados de suco de acerola verde e ácido ascórbico sintético das diferentes formulações estudadas. Observou-se uma quebra na relação de Arrhenius no ponto correspondente à 45°C, temperatura acima da Tg dos encapsulados. Esta quebra é característica da mudança do estado vítreo para o borrachudo (Fennema, 1996). Este comportamento não foi observado para o escurecimento não enzimático, indicando que a reação não depende do estado físico do encapsulado.

As temperaturas de transição vítrea (Tg) dos encapsulantes e do suco encapsulado nas formulações estudadas, em Aa 0,33, estão apresentados na TABELA 4. Os dois agentes encapsulantes, maltodextrina DE 20 e goma arábica, apresentaram valores de Tg muito próximas, 62,3° C para a goma arábica e 60° C para a maltodextrina, em Aa 0,33. A adição da goma arábica e da maltodextrina, Tg 62,3° e 60° C, respectivamente, em Aa 0,33, ao suco puro, resultou em encapsulados com Tg entre 39 e 41° C, na mesma Aa. Os encapsulados de suco encontravam-se, então, no estado vítreo em condições de armazenamento com temperaturas igual ou menores que 35°C e no estado borrachudo à 45°C.

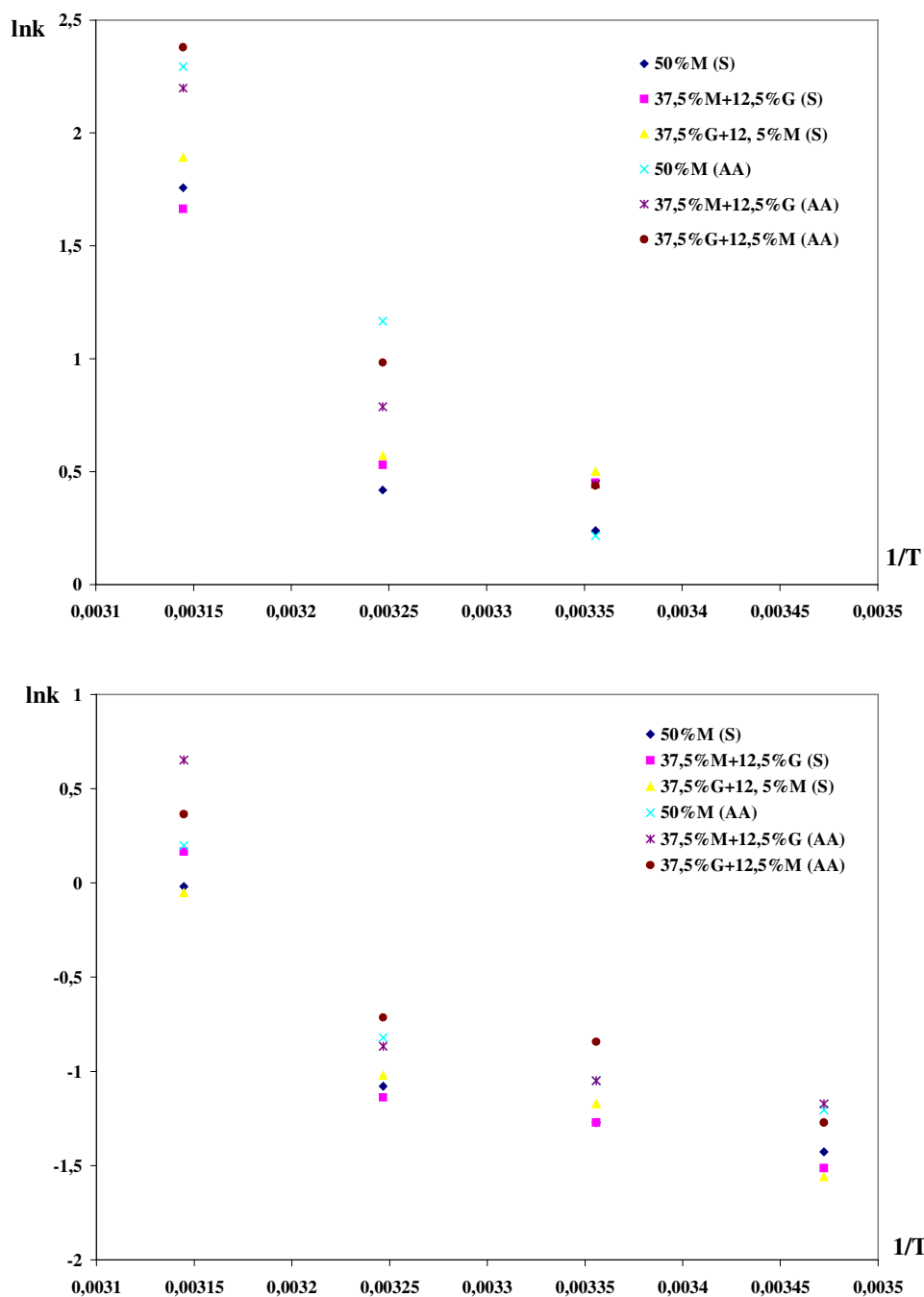


FIGURA 5 – Gráfico de Arrhenius: efeito da temperatura na constante de velocidade de degradação de vitamina C nos encapsulados de suco de acerola verde e ácido ascórbico sintético durante o primeiro período (a) e segundo período de armazenamento (b).

Tabela 4 – **Temperatura de transição vítrea da goma arábica, maltodextrina e de encapsulados de suco de acerola verde produzidos por atomização.**

Formulações	0,33
Maltodextrina*	60
Goma arábica	62,3 ± 0,4
50%M (S)	41,3 ± 0,6
37,5%M+12,5%G (S)	40,8 ± 0,4
12,5%M+37,5%G (S)	39,5 ± 0,8

* valor obtido por Roos (1993).

5.5. CONCLUSÕES

A degradação da vitamina C de suco de acerola verde e de ácido ascórbico encapsulados em diferentes matrizes seguiu cinética de primeira ordem e o escurecimento não enzimático seguiu cinética de ordem zero.

O processo de encapsulação foi efetivo já que o suco de acerola liofilizado sofreu alterações entre 4 e 7 vezes mais rápidas que os sucos encapsulados.

A proteção ao escurecimento não enzimático e à degradação da vitamina C conferida pelas diferentes matrizes de encapsulação, goma arábica, maltodextrina DE20 e misturas destes, foi similar.

Os encapsulados de suco de acerola verde foram mais estáveis que os encapsulados de ácido ascórbico, principalmente nas temperaturas mais altas de armazenamento, a 35 e 45°C, indicando que os compostos fenólicos presentes no suco proporcionaram proteção à vitamina C.

5. 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AOAC. **Official methods of analysis**. 15 ed. Association of official analytical chemists, Arlington, 1984.

ARAÚJO, P. S. R. de; MINAMI, K. **Acerola**. Campinas: Fundação Cargill, 1994. 81p.

BELITZ, H. D.; GROSH, W. **Química de los alimentos**. Zaragoza: Acribia, 1988. p. 336-339.

BENASSI, M. T.; ANTUNES, . A comparison of metaphosphoric and oxalic acids as extractants solutions for the determination of vitamin C in selected vegetables. **Arquivos Biologia e Tecnologia**. v. 31, n. 4, p. 507-513, 1988.

CARVALHO, R. I. N. de; MANICA, I. Influência de estágios de maturação e condições de armazenamento na conservação da acerola (*Malpighia glabra* L.). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 29, n. 5, p. 677-680, 1994.

DENNINSON, D. B.; KIRK, J. R. Oxygen effect on the degradation of ascorbic acid in a dehydrated food system. **Journal Food Science**, v. 43, p. 609-612, 618, 1978.

DZIEZAK, J. D. Microencapsulation and encapsulated ingredients. **Food Technology**, v. 42, n. 4, p. 136 – 148, 1988.

FENNEMA, O. R. Water and ice. In: FENNEMA, O.R. **Food Chemistry**. 3ed. 1996. Cap. 2, p. 17 - 94.

GIESE, J. Developments in beverage additives. **Food Technology**, v. 49, n. 9, p. 64 – 72, 1995.

GREGORY, J.F. Vitamins . In: FENNEMA, O.R. **Food Chemistry**. 3ed. 1996. Cap.8, p.

531 - 616.

HENSHALL, J. D. Ascorbic acid in fruit juices and beverages. In: COUNSELL, J. N.; HORNING, D. H.. **Vitamin C**. Applied Science Publishers:1981. p.123-138.

ITOO, S.; MITSUCO, A.; ISHIHATA, K. Comparison of ascorbic acid content in acerola fruit from different production region depend on degree of maturity, and stability by processing. **Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi**, v. 37, n. 9, p. 726-729, 1990.

JACKSON, L. S.; LEE, K. Microencapsulation and the food industry. **Lebensmittel-Wissenschaft Technologie Food Science**, v. 24, n. 4, p. 289-297, 1991.

KACEM, B.; CORNELL, J. A.; MARSHALL, M. R.; SHIREMAN, R.B.; MATTHEWS, R. F. Nonenzymatic browning in aseptically packaged orange juice and orange drinks. Effect of ascorbic acid, amino acids and oxygen. **Journal Food Science**, v. 52, p. 1668 –1672, 1987. KAREL, M.; FLINK, J. Some recent developments in food dehydration research. **Advances Drying**, v. 2, n. 1, p. 103 – 104, 1983

KAREL, M.; LANGER, R. Controlled release of food ingredients. In: Reineccius, G.A; Risch, S. J. (Eds.). **Flavor Encapsulation** . American Chemical Society: Washington, D.C. 1988, p. 177 – 192.

KARMAS, R.; BUERA, M. P.; KAREL, M. Effects of glass transition on rates of nonenzymatic browning in food systems. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v. 40, n. 5, p. 873-879, 1992.

KIRBY, C. J.; WHITTLE, C. J.; RIGBY, N.; COXON, D. T.;LAW, B. A. Stabilization of ascorbic acid by microencapsulation in liposomes. **International Journal of Food Science and Technology**, New York, v. 26, p. 437 – 449, 1991.

LEVINE, H.; SLADE, L. A polymer physico – chemical approach to the study of

- commercial starch hydrolysis products. **Carbohydrate Polymers**, v. 6, n. 3, p. 213 – 244, 1986.
- MAPSON, L. W. Vitamins in fruits. In: HULME, A. C. **The biochemistry of fruits and their products**. v. 1. Academic Press. P. 369-383. 1970.
- MARQUARDT, U. The use of micro-encapsulated ingredients and additives in food. **Food Ingredients International**, n. 4, p. 17-19, 1992.
- MATSUMURA, Y.; SATAKE, C.; EGAMI, M.; MORI, T. Interaction of gum arabic, maltodextrin and pullulan with lipids in emulsions. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, v. 64, n. 9, p. 1827 – 1835, 2000.
- MILLER, N. J.; RICE-EVANS, C. A. The relative contributions of ascorbic acid and phenolic antioxidants to the total activity of orange and apple fruit juice and blackcurrant drink. **Food Chemistry**, v. 60, n. 6, p. 331 – 337, 1997.
- OLIVA, P. B.; MENEZES, H. C. de; FERREIRA, V. P. Estudo da estabilidade do néctar de acerola. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v.16, n.3, p.228-232,1996.
- PITOMBO, R. N. M. Suco de laranja liofilizado: Influência,da atividade de água e do teor de vitamina C. **Farmácia e Química**, v. 37, p. 45 – 47, 1999.
- PITOMBO, R. N. M.; CANTELMO, M. C. P. W. Jugo de acerola (*Malpighia punicifolia* L.) liofilizado: comportamiento higroscopico, efectos del almacenamiento a diferentes humedades relativas y temperaturas, sobre la vitamina C y compuestos volatiles. **Alimentaria**, n. 10, p. 119 – 128, 2000.
- REINECCIUS, G. A. Carbohydrates for flavor encapsulation. **Food Technology**, v. 46, n. 3, p. 144 – 152, 1991.

- RICE-EVANS, C. A.; MILLER, N. J.; BOWELL, P.G.; BRAMLEY, P. M.; PRIDHAM, J. B. The relative antioxidant activities of plant – derived polyphenolic flavonoids. **Free Radical Research**, v. 22, p. 375-383, 1995.
- RIGHETTO, A. M.; NETTO, F. M Caracterização físico-química e atividade antioxidante de suco integral e concentrado de acerola. In: **Estabilidade físico-química de suco de acerola verde (*Malpighia emarginata* D.C.), encapsulado por atomização e liofilização**. Campinas: 2002. Relatório científico FAPESP, Artigo1, p. 1 – 30.
- ROOS, Y. H. Effect of moisture on the thermal behavior of strawberries studied using differential scanning calorimetry. **Journal Food Science**, v.52, n. 1, 1987.
- ROSEMBERG, M.; KOPELMAN, I.J.; TALMON, Y. Factors affecting retention in spray-drying microencapsulation of volatile materials. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 38, p. 1288 – 1294, 1990.
- RUNGE, F. E. Multiple–core encapsulation. In: VILSTRUP, P. (Ed.). **Microencapsulation of food ingredients**. Leatherhead Publishing. p. 133 - 141. 2001.
- SCARPA, M.; STEVANATO, P. V.; RIGO, A. Superoxide ion as active intermediate in the autoxidation of ascorbate by molecular oxygen. **Journal of Biological Chemistry**, v. 258, p. 6695 – 6697, 1983.
- SHAHIDI, F.; HAN, X. Q. Encapsulation of food ingredients. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 33, n. 6, p. 501 – 547, 1993.
- TAOUKIS, P.; LABUZA, T. P. Summary: Interactive concepts. In: FENNEMA, O.R. **Food Chemistry**. 3ed. 1996. Cap. 17, p. 1013-1042.
- UDDIN, M. S.; HAWLADER, M. N. A.; ZHU, H. J. Microencapsulation of ascorbic acid: effect of process variables on product characteristics. **Journal of Microencapsulation**,

v. 18, n. 2, 199 – 201, 2001.

VENDRAMINI, A. L.; TRUGO, L. C. Chemical composition of acerola fruit (*Malpighia punicifolia* L.) at three stages of maturity. **Food Chemistry**, v. 71, p. 195 – 198, 2000.

VIEIRA, M. C.; TEIXEIRA, A. A.; SILVA, C. L. M. Mathematical modeling of thermal degradation kinetics of vitamin C in cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) nectar. **Journal of Food Engineering**, v. 43, p. 1 – 7, 2000.

5.1. RESUMO.....143

5.2. INTRODUÇÃO.....144

5.3. MATERIAIS E MÉTODOS149

5.3.1. PRODUÇÃO DE ENCAPSULADOS	149
5.3.1.1. SUCO CONCENTRADO DE ACEROLA VERDE.....	149
5.3.1.2. ÁCIDO ASCÓRBICO SINTÉTICO.....	149
5.3.1.3. ENCAPSULANTES:.....	149
5.3.2. REAGENTES:.....	149
5.3.3. OBTENÇÃO DOS ENCAPSULADOS	149
5.3.3.1. ATOMIZAÇÃO	149
5.3.3.2. FORMULAÇÃO	150
5.3.4. ESTUDO DE ESTABILIDADE	150
5.3.5. ESCURECIMENTO NÃO ENZIMÁTICO	151
5.3.6. TEOR DE VITAMINA C	151
5.3.7. TEMPERATURA DE TRANSIÇÃO VÍTREA	151

5.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....152

5.4.1. RETENÇÃO INICIAL DE VITAMINA C	152
5.4.2. RETENÇÃO DE VITAMINA C DURANTE A ESTOCAGEM.....	153

5.4.3. ESCURECIMENTO NÃO ENZIMÁTICO	161
5.4.4. RELAÇÃO ENTRE DEGRADAÇÃO DE VITAMINA C E ESCURECIMENTO NÃO ENZIMÁTICO	167
5.5.5. EFEITO DA TEMPERATURA	168

5.5. CONCLUSÕES.....171

5. 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS172

TABELA 2 – Constantes de velocidade (k), intervalo de confiança a 95% (IC) e coeficiente de determinação (r²), para degradação da vitamina C (1ª ordem) para suco de acerola verde e ácido ascórbico sintético encapsulados em diferentes matrizes e armazenados a 15°, 25°, 35° e 45° C.

Encapsulado		15°C			25°C			35°C			45°C		
		Tempo (dias)	k±IC. 10 ⁻³ /dia	r ²	Tempo (dias)	k±IC. 10 ⁻³ /dia	r ²	Tempo (dias)	k±IC. 10 ⁻³ /dia	r ²	Tempo (dias)	k±IC. 10 ⁻³ /dia	r ²
Suco de Acerola	50%M	0 – 270	0,24±0,05	0,99	0 – 120	0,28±0,05	0,98	0 – 120	0,34±0,05	0,98	0 – 120	0,98±0,05	0,99
					121 – 270	1,27±0,35	0,97	121 – 270	1,52±0,15	0,98	121 – 270	5,8±0,05	0,98
	37,5%M + 12,5%G	0 – 270	0,22±0,05	0,99	0 – 120	0,28±0,05	0,98	0 – 120	0,32±0,05	0,97	0 – 120	1,18±0,035,2	0,93
					121 – 270	1,57±0,05	0,99	121 – 270	1,70±0,15	0,97	121 – 270	8±0,6	0,97
	37,5%G + 12,5%M	0 – 270	0,21±0,00	0,99	0 – 120	0,31±0,00	0,99	0 – 120	0,36±0,05	0,98	0 – 120	0,95±0,05	0,99
					121 – 270	1,65±0,15	0,99	121 – 270	1,77±0,15	0,98	121 – 270	6,63±0,7	0,98
Ácido Ascórbico	50%M	0 – 270	0,30±0,02	0,98	0 – 120	0,35±0,05	0,99	0 – 120	0,44±0,05	0,99	0 – 120	1,22±0,10	0,99
					121 – 270	1,24±0,1	0,99	121 – 270	3,21±0,3	0,98	121 – 270	9,91±0,7	0,99
	37,5%M + 12,5%G	0 – 270	0,31±0,00	0,98	0 – 120	0,35±0,00	0,99	0 – 120	0,32±0,05	0,97	0 – 120	1,92±0,45	0,94
					121 – 270	1,56±0,1	0,99	121 – 270	2,20±0,2	0,98	121 – 270	9,01±0,9	0,98
	37,5%G + 12,5%M	0 – 270	0,28±0,00	0,97	0 – 120	0,43±0,05	0,97	0 – 120	0,69±0,05	0,99	0 – 120	1,44±0,05	0,98
					121 – 270	1,55±0,1	0,97	121 – 270	2,67±0,35	0,97	121 – 270	10,8±1,2	0,99
Suco liofilizado	0 – 270	-0,69±0,02	0,99	0 – 120	1,16±0,1	0,99	0 – 120	2,48±0,15	0,99	0 – 120	3,83±0,45	0,98	
				121 – 270	4,93±0,45	0,98	121 – 270	7,33±0,80	0,97	121 – 270	16,48±3,2	0,97	

TABELA 3 – Constantes de velocidade (k), intervalo de confiança a 95% (IC) e coeficiente de determinação (r²), do escurecimento não enzimático (ordem 0) em suco de acerola verde e ác. ascórbico sintético encapsulados em diferentes matrizes e armazenados a 15°, 25°, 35° e 45° C.

Encapsulado		15°C			25°C			35°C			45°C		
		Tempo (dias)	k±IC. 10 ⁻³ /dia	r ²	Tempo (dias)	k±IC. 10 ⁻³ /dia	r ²	Tempo (dias)	k±IC. 10 ⁻³ /dia	r ²	Tempo (dias)	k±IC. 10 ⁻³ /dia	r ²
Suco de Acerola	50%M	0 – 270	0,33±0,02	0,97	0 – 120	0,61±0,00	0,97	0 – 120	0,98±0,00	0,99	0 – 120	1,49±0,00	0,99
					121 – 270	2,53±0,05	0,97	121 – 270	3,95±0,00	0,99	121 – 270	6,02±0,00	0,99
	37,5%M + 12,5%G	0 – 270	0,32±0,01	0,96	0 – 120	0,55±0,00	0,99	0 – 120	1,22±0,00	0,99	0 – 120	1,87±0,00	0,99
					121 – 270	2,09±0,00	0,99	121 – 270	3,06±0,05	0,98	121 – 270	5,63±0,00	0,99
	37,5%G + 12,5%M	0 – 270	0,38±0,03	0,96	0 – 120	0,79±0,00	0,98	0 – 120	1,11±0,00	0,99	0 – 120	1,60±0,05	0,98
					121 – 270	2,00±0,00	0,99	121 – 270	4,01±0,00	0,99	121 – 270	7,02±0,00	0,99
Ácido Ascórbico	50%M	0 – 270	0,34±0,03	0,97	0 – 120	0,83±0,00	0,97	0 – 120	1,70±0,00	0,98	0 – 120	3,49±0,05	0,99
					121 – 270	2,87±0,05	0,97	121 – 270	5,54±0,5	0,98	121 – 270	7,76±0,1	0,97
	37,5%M + 12,5%G	0 – 270	0,39±0,02	0,97	0 – 120	0,94±0,00	0,99	0 – 120	1,81±0,00	0,99	0 – 120	3,87±0,05	0,98
					121 – 270	3,63±0,05	0,99	121 – 270	5,38±0,00	0,99	121 – 270	8,04±0,08	0,98
	37,5%G + 12,5%M	0 – 270	0,35±0,02	0,96	0 – 120	0,79±0,00	0,98	0 – 120	1,60±0,05	0,98	0 – 120	4,12±0,02	0,98
					121 – 270	2,00±0,00	0,99	121 – 270	5,84±0,00	0,99	121 – 270	8,35±0,01	0,98
Suco liofilizado	0 – 270	1,41±0,01	0,97	0 – 120	0,98±0,00	0,98	0 – 120	2,69±0,00	0,99	0 – 120	3,20±0,00	1,00	
				121 – 270	5,78±0,5	0,98	121 – 270	15,16±1,5	0,98	121 – 270	32,33±2,00	0,99	