

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel
Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos



Dissertação

CARACTERIZAÇÃO E MICROENCAPSULAÇÃO DE SUCO DE PITANGA ROXA
(*Eugenia uniflora* L.)

Josiane Kuhn Rutz

Pelotas, 2013

JOSIANE KUHN RUTZ

CARACTERIZAÇÃO E MICROENCAPSULAÇÃO DE SUCO DE PITANGA ROXA
(Eugenia uniflora L.)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Comitê de orientação: Prof. Dr. Rui Carlos Zambiasi

Prof^a. Dr^a. Caroline Dellinghausen Borges

Pelotas, 2013

Banca examinadora:

Prof. Dr. Rui Carlos Zambiasi – UFPEL (Presidente/Orientador)

Prof^a. Dr^a. Andressa Carolina Jacques - UNIPAMPA

Prof^a. Dr^a. Janaina Fernandes de Medeiros Burkert - FURG

AGRADECIMENTOS

À Deus por sempre ter me dado força para continuar minha jornada.

Aos meus pais Marisa Kuhn Rutz e José Francisco Rutz pelo amor, carinho, pelo esforço para que eu pudesse chegar até aqui e por sempre terem acreditado que eu iria conseguir.

Ao meu namorado, Ederson Blaas, pelo amor, carinho e companheirismo em todos os momentos e por não me deixar desanimar diante das dificuldades encontradas durante a realização deste trabalho.

Ao professor Rui Carlos Zambiasi pela orientação, ensinamentos e pela oportunidade para que este trabalho fosse realizado.

À professora Caroline Dellinghausen Borges pela dedicação, ensinamentos e pela grande ajuda, que foi fundamental para a realização deste trabalho.

Às gurias do laboratório de cromatografia, que considero não só como colegas, mas como amigas, Roseane D'Avila, Michele Cardozo, Suzan Freda, Francine Costa, Mariângela Bruscatto, Scharlise da Silva, Alessandra Haertel, pela amizade, companheirismo, auxílio e pelos momentos de descontração. Em especial, às estagiárias Suzane da Luz, Naralice Hartwig, Tassia Nievierowski e Fernada Krumreich, pela ajuda.

À todos os meus amigos, em especial à Glenise Voss e Cristina Jansen pela amizade e por sempre terem torcido por mim.

À todos que passaram pelo laboratório de cromatografia desde o início do meu estágio, por terem contribuído de alguma forma para o meu crescimento profissional, em especial à Marla Sganzerla.

Á Cleonice da Rosa e Michael Ramos pela ajuda com execução de algumas análises.

À todos os colegas, professores e funcionários do DCTA.

Aos participantes da banca pela disposição de participarem.

À UFPEL, CCQFA, DCTA, UFRGS e UFSC pela oportunidade para a realização deste trabalho.

Ao CNPQ pela concessão da bolsa.

Resumo

RUTZ, Josiane Kuhn. **Caracterização e microencapsulação de suco de pitanga roxa (*Eugenia uniflora* L.)**. 2013. 105f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

A pitanga roxa apresenta altos teores de compostos bioativos, como compostos fenólicos e carotenoides, os quais estão relacionados com a sua capacidade antioxidante. No entanto, ambos os grupos de compostos são instáveis a altas temperaturas, presença de luz e oxigênio, sendo a microencapsulação uma alternativa para aumentar a estabilidade destes compostos em condições ambientais adversas, como na estocagem e processamento, e preservar sua atividade antioxidante até o momento de sua liberação. Sendo assim, o objetivo deste estudo foi caracterizar os compostos bioativos e microencapsular, pelo processo de liofilização, o suco de pitanga roxa nas matrizes de goma arábica (A), quitosana (Q), hidrogel de goma xantana e quitosana (HXQ), goma xantana (X), hidrogel de goma xantana e goma tara (HXT) e goma tara (T). Para confirmar a encapsulação foram utilizadas as técnicas de Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC), Difractometria de Raio-x e Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). A eficiência de encapsulação e o perfil de liberação dos encapsulados em água e fluidos que simulam as condições gástricas (SFG) e intestinais (SFI) foram avaliados. A estabilidade dos carotenoides, compostos fenólicos e a atividade antioxidante das micropartículas foram avaliadas durante o armazenamento na presença e ausência de luz pelo período de 28 dias, e a 4 ° C e 25 °C pelo período de 84 dias. Dentre os compostos fenólicos presentes no suco de pitanga roxa, o ácido gálico foi o composto majoritário, seguido pelas antocianinas, catequina, epicatequina e quercetina. Em relação aos carotenoides o licopeno foi encontrado em maior quantidade, seguido pelo β -caroteno, zeaxantina e luteína. A encapsulação foi confirmada, no entanto, as micropartículas não apresentaram formato característico. Os resultados foram influenciados pelo revestimento e grupo de compostos encapsulados. Com a goma xantana obteve-se a maior eficiência de encapsulação. Os hidrogeis HXQ e HXT foram os mais indicados para a liberação dos carotenoides em SFG e SFI, apresentando ainda liberação gradual destes compostos na água. Os compostos fenólicos apresentaram alta taxa de liberação, entretanto não de forma gradual, independente dos revestimentos e fluidos analisados. As micropartículas armazenadas tanto na ausência e presença de luz como a 4 e 25 °C apresentaram degradação dos carotenoides, sendo a goma xantana e o hidrogel HXT os revestimentos que proporcionaram maior estabilidade para estes compostos. Os compostos fenólicos apresentaram-se estáveis independente do revestimento utilizado. A atividade antioxidante das micropartículas apresentou redução durante o armazenamento, sendo atribuída à degradação dos carotenoides.

Palavras-chave: Microencapsulação. Compostos bioativos. Estabilidade. Carotenoides. Compostos fenólicos.

Abstract

RUTZ, Josiane Kuhn. **Caracterização e microencapsulação de suco de pitanga roxa (*Eugenia uniflora* L.)**. 2013. 105f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

The purple surinan cherry contains high content of bioactive compounds, such as phenolic compounds and carotenoids, which are related to their antioxidant capacity. However, both groups of compounds are unstable at high temperatures, presence of light and oxygen, being the microencapsulation an alternative for increasing the stability of these compounds in adverse environmental conditions, such as during storage and processing, and to preserve its antioxidant activity until the time of its release. Therefore, the objective of this study was to characterize the bioactive compounds and microencapsulate, by lyophilization process, purple surinan cherry juice in the matrixes of arabic gum (A), chitosan (Q), xanthan and chitosan hydrogel (HXQ), xanthan gum (X), xanthan and tara hydrogel (HXT) and tara gum (T). The encapsulation was confirmed by using Differential Scanning Calorimetry (DSC), x-ray diffraction and scanning electron microscopy (SEM) techniques. The encapsulation efficiency and the release profile of the encapsulated compounds in water and fluids that simulate, respectively, gastric (SFG) and intestinal (SFI) conditions were evaluated. The stability of carotenoids, phenolic compounds and antioxidant activity of microparticles were evaluated during storage in presence and absence of light for 28 days, and in 4 and 25 °C for a period of 84 days. Among the phenolic compounds present in purple surinan chery juice, the gallic acid was the major compound, followed by the anthocyanins catechin, epicatechin and quercetin. In relation to the carotenoids, the lycopene was found in higher quantities, followed by the β -carotene, zeaxanthin and lutein. The encapsulation was confirmed; however, the microparticles did not have characteristic shape. The results were influenced by the coating and by the group of encapsulated compounds. With xanthan gum was obtained the highest encapsulation efficiency. The hydrogels HXQ and HXT are the most suitable for the release of carotenoids in SFG and SFI, presenting a gradual release of these compounds in water. Phenolic compounds showed high rates of release, even though not gradually, regardless of coatings and fluids analyzed. The microparticles stored in the absence and presence of light at 4 and 25 °C showed degradation of carotenoids, being xanthan gum and HXT hydrogel, the coatings which provided greater stability to these compounds. Phenolic compounds showed to be stable independent used coating. The antioxidant activity of the microparticles decreased during storage, being it attributed to degradation of carotenoids.

Keywords: Microencapsulation. Bioactive compounds. Stability. Carotenoids. Phenolic compounds.

Lista de Figuras

Figura 1	Principais rotas de síntese dos metabólitos secundários.....	18
Figura 2	Estrutura química dos carotenoides mais encontrados em alimentos.....	19
Figura 3	Estrutura química dos flavonoides e de suas principais sub-classes.....	21
Figura 4	Estrutura química das antocianinas.....	22
Figura 5	Estrutura química dos ácidos hidroxibenzoicos e hidroxicinâmicos.....	23
Figura 6	Reação de um composto fenólico com um radical livre.....	23
Figura 7	Modelos de micropartículas.....	25
Figura 8	Estrutura química da goma arábica.....	33
Figura 9	Estrutura química da goma xantana.....	34
Figura 10	Estrutura química da quitosana.....	35
Figura 11	Estrutura química da goma tara.....	37
Figura 12	Estrutura química no hidrogel de goma xantana e goma tara.....	38
Figura 13	Estrutura química no hidrogel de goma xantana e quitosana.....	39
Figura 14	Cromatograma típico de compostos fenólicos em suco de pitanga roxa.....	51
Figura 15	Cromatograma típico dos carotenoides individuais em suco de pitanga roxa.....	53
Figura 16	Micrografias de MEV das micropartículas.....	57
Figura 17	Termogramas de DCS.....	58
Figura 18	Difratogramas de raio-x.....	61
Figura 19	Perfil de liberação dos carotenoides encapsulados, em água e em fluidos que simulam condições gástricas (SFG) e intestinais (SFI).....	63
Figura 20	Perfil de liberação dos compostos fenólicos encapsulados, em água e em fluidos que simulam condições gástricas (SFG) e intestinais (SFI).....	64
Figura 21	Percentual de retenção de carotenoides em micropartículas armazenadas na presença e ausência de luz pelo período de 28 dias.....	68
Figura 22	Percentual de retenção de compostos fenólicos em micropartículas armazenadas na presença e ausência de luz pelo período de 28 dias.....	71

Figura 23	Atividade antioxidante, expressa em percentual de inibição, dos compostos bioativos presentes nas micropartículas armazenadas na presença e ausência de luz pelo período de 28 dias.....	72
Figura 24	Percentual de retenção de carotenoides em micropartículas armazenadas a 4 °C e 25 °C pelo período de 84 dias.....	74
Figura 25	Percentual de retenção de compostos fenólicos em micropartículas armazenadas a 4 °C e 25 °C pelo período de 84 dias.....	76
Figura 26	Atividade antioxidante, expressa em percentual de inibição, dos compostos bioativos presentes nas micropartículas armazenadas a 4 °C e 25 °C pelo período de 84 dias.....	77

Lista de Tabelas

Tabela 1	Teor de compostos fenólicos presentes no suco de pitanga roxa..	51
Tabela 2	Teor de carotenóides presentes no suco de pitanga roxa.....	52
Tabela 3	Eficiência de encapsulação das micropartículas.....	54

Lista de Abreviatura e Siglas

A - Goma arábica
DPPH - 2,2-difenil-1-picrilhidrazila
DSC - Calorimetria Diferencial de Varredura
EE - Eficiência de encapsulação
FTIR - Infravermelho por transformada de Fourier
H - Hidrogel
HCl - Ácido clorídrico
HPLC - High performance liquid chromatography
HXQ - Hidrogel de goma xantana e quitosana
HXT - Hidrogel de goma xantana com goma tara
MEV - Microscopia Eletrônica de Varredura
MF - Mistura física
MFSA - Mistura física do suco de pitanga roxa com goma arábica
MFSHXQ - Mistura física do suco de pitanga roxa com hidrogel de goma xantana e quitosana
MFSQ - Mistura física do suco de pitanga roxa com quitosana
MFST - Mistura física do suco de pitanga roxa com goma tara
MFSX - Mistura física do suco de pitanga roxa com goma xantana
Mistura física do suco de pitanga roxa com hidrogel de goma xantana e
MFSHXT - Goma tara
NaOH - Hidróxido de sódio
Q - Quitosana
S - Suco de pitanga roxa
SA - Micropartículas de suco de pitanga roxa revestidas com goma arábica
SFG - Simulação de fluído gástrico
SFI - Simulação de fluído intestinal
SHXQ - Micropartículas de suco de pitanga roxa revestidas com hidrogel de goma xantana e quitosana
SHXT - Micropartículas de suco de pitanga roxa revestidas com hidrogel de goma xantana e goma tara
SQ - Micropartículas de suco de pitanga roxa revestidas com quitosana
ST - Micropartículas de suco de pitanga roxa revestidas com goma tara
SX - Micropartículas de suco de pitanga roxa revestidas com goma xantana
T - Goma tara
TGA - Análise Termogravimétrica
X - Goma xantana

Sumário

INTRODUÇÃO.....	12
Hipóteses.....	15
Objetivos.....	15
1 Revisão de literatura.....	16
1.1 Pitanga.....	16
1.2 Metabolismo secundário.....	17
1.2.1 Carotenoides.....	18
1.2.2 Compostos fenólicos.....	20
1.3 Microencapsulação.....	24
1.3.1 Microencapsulação de compostos bioativos.....	26
1.3.1.1 Carotenoides.....	26
1.3.1.2 Compostos fenólicos.....	30
1.3.2 Materiais utilizados na microencapsulação.....	32
1.3.2.1 Goma Arábica.....	32
1.3.2.2 Goma Xantana.....	34
1.3.2.3 Quitosana.....	35
1.3.2.4 Goma Tara.....	36
1.3.2.5 Hidrogeis.....	37
1.3.2.5.1 Hidrogel de goma xantana com goma tara.....	37
1.3.2.5.2 Hidrogel de goma xantana com quitosana.....	38
2 Material e Métodos.....	40
2.1 Material.....	40
2.2 Obtenção do suco de pitangas roxas.....	40
2.3 Obtenção dos hidrogeis (H)	40
2.3.1 Hidrogel de goma xantana com goma tara (HXT).....	40
2.3.2 Hidrogel de goma xantana com quitosana (HXQ).....	41
2.4 Elaboração das micropartículas.....	41
2.5 Elaboração das misturas físicas.....	41
2.6 Caracterização do suco de pitanga roxa.....	42
2.6.1 Extrato seco.....	42
2.6.2 Conteúdo total de carotenoides.....	42

2.6.3 Carotenoides individuais.....	42
2.6.4 Conteúdo total de compostos fenólicos.	43
2.6.5 Compostos fenólicos individuais.....	44
2.6.6 Compostos antociânicos.....	45
2.6.7 Atividade antioxidante.....	45
2.7 Caracterização das micropartículas.....	45
2.7.1 Eficiência de encapsulação (EE)	45
2.7.2 Atividade antioxidante.....	47
2.7.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	47
2.7.4 Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)	47
2.7.5 Difractometria de Raio-X.....	47
2.8 Perfil de liberação dos compostos encapsulados.....	48
2.9 Estudo da estabilidade.....	48
2.9.1 Estudo da estabilidade à luz.....	48
2.9.2 Estudo de estabilidade à temperatura.....	49
2.10 Análise estatística.....	49
3 Resultados e discussão.....	50
3.1 Compostos bioativos presentes no suco de pitanga roxa.....	50
3.2 Eficiência de encapsulação.....	54
3.3 Microscopia Eletrônica de varredura (MEV).....	56
3.4 Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC).....	57
3.5 Difractometria de raio-x.....	60
3.6 Perfil de liberação dos compostos encapsulados.....	62
3.6.1 Liberação em água.....	64
3.6.2 Liberação em fluido gástrico e intestinal.....	66
3.7 Estabilidade.....	67
3.7.1 Estabilidade a luz.....	67
3.7.2 Estabilidade a temperatura.....	73
4 Conclusões.....	79
Referências.....	80
Apêndices.....	96

INTRODUÇÃO

A pitangueira é um arbusto nativo do Brasil que pertence à família Myrtaceae, sendo considerada a principal representante do gênero *Eugenia* (*Eugenia uniflora* L). Seus frutos são denominados de pitanga e são caracterizados como bagas gomosas, sendo achatadas nas extremidades, contendo cerca de 7 a 10 sulcos no sentido longitudinal, que apresentam aroma intenso e sabor doce e ácido (BEZERRA; SILVA; LEDEMAN; 2000; LIRA JÚNIOR et al., 2007).

Além de apresentarem em média na sua composição 88,3% de umidade, 10,2% de carboidratos, 3,2% de fibras, 0,9% de proteínas, 0,4% de cinzas, 0,2% de lipídeos e 18 mg de cálcio (NEPA-UNICAMP, 2006), estes frutos possuem altos teores de compostos bioativos, como compostos fenólicos e carotenoides, os quais estão relacionados com a capacidade antioxidante do fruto. Os carotenoides consistem em um grupo de pigmentos amplamente difundido na natureza. Apresentam em sua estrutura química um número variável de duplas ligações conjugadas, que lhes conferem a propriedade de absorver luz em diferentes comprimentos de onda, proporcionando colorações na faixa do amarelo ao vermelho, sendo responsáveis pela pigmentação de grande número de frutas, folhas e flores. Devido a sua capacidade de receber elétrons de espécies reativas, podem neutralizar radicais livres, sendo portanto, considerados potentes antioxidantes naturais (RODRIGUEZ-AMAYA, 1997; GONNET; LETHUAUT; BOURY, 2010).

Os compostos fenólicos são responsáveis pela cor, adstringência, aroma e estabilidade oxidativa de diversos alimentos. Este grupo é formado por compostos que apresentam desde moléculas simples, até moléculas com alto grau de polimerização, podendo estar presentes nos vegetais na forma livre ou ligados a proteínas e açúcares (ANGELO; JORGE, 2007). Apresentam em sua estrutura, ao menos, um anel aromático, ligado a um ou mais grupamentos hidroxila. Sua atividade antioxidante está relacionada a capacidade redox, que

permite com que estes compostos atuem como agentes redutores, doadores de hidrogênio e supressores de oxigênio singlete, além de agirem como quelantes de metais (KÄHKÖNEN et al., 1999; ZHENG; WANG, 2001 JOHN; SHARIDI, 2010).

No entanto, tanto os carotenoides quanto os composto fenólicos são instáveis a altas temperaturas, na presença de luz e de oxigênio (BAGETTI, 2009). Uma alternativa para aumentar a estabilidade destes compostos bioativos em condições ambientais adversas, como na estocagem e processamento, e preservar sua atividade antioxidante, consiste na técnica de microencapsulação. A microencapsulação consiste no empacotamento de materiais sólidos, líquidos ou gasosos em cápsulas extremamente pequenas, que são elaboradas por diferentes técnicas, destacando-se por *spray drying*, *spray cooling*, coacervação, extrusão, extrusão centrífuga, recobrimento em leite fluidizado, lipossomas, complexação por inclusão e por liofilização. A microencapsulação oferece, além de proteção ao material encapsulado, a possibilidade de liberá-lo de forma controlada sob condições específicas (FAVARO-TRINTADE; PINHO; ROCHA, 2008).

Como material encapsulante podem ser utilizados proteínas, lipídeos e carboidratos. Entretanto, a escolha deste material deve ser baseada na não reatividade do material de revestimento com o material a ser encapsulado, na técnica que será utilizado para a formação das microcápsulas e no mecanismo ideal de liberação (SHAHIDI; HAN, 1993; FAVARO-TRINTADE; PINHO; ROCHA, 2008, MATALANIS; JONES; MCCLEMENTS, 2011).

A goma arábica, polissacarídeo extraído do exudado de árvores de Acácia, tem sido amplamente utilizada no processo de encapsulação de compostos lipossolúveis, como pigmentos do grupo dos carotenoides (ROCHA, 2009; QV; ZENG; JIANG, 2011; RASCÓN et al., 2011). Outro polissacarídeo, amplamente utilizado no revestimento de cápsulas, é a quitosana. Este material é obtido por desacetilação do polímero quitina, e tem sido utilizado na encapsulação de corantes naturais (HIGUERA-CIAPARA, 2004; PARIZE; SOUZA; BRIGHENTE, 2008) e antioxidantes como, ácido lipoico (WEERAKODY; FAGAN; KOSARAJU, 2008), astaxantina (KITTIKAIWAN, 2007) e compostos fenólicos presentes em extrato de folha de oliva (KOSARAJU; D'ATH; LAWRENCE, 2006), amora-preta (ROSA, 2012), plantas

medicinais (BELŠČAK-CVITANOVIĆ et al., 2011) e erva mate (DELADINO et al., 2008).

A goma xantana, que é um polissacarídeo extracelular produzido por micro-organismos da espécie *Xanthomonas*, foi utilizada como material encapsulante de compostos fenólicos presentes em extrato de amora-preta (ROSA, 2012). A goma tara é uma galactomanana extraída do endosperma da semente da *Caesalpinia spinosa*, que até o momento não se tem relatos de sua utilização na encapsulação de compostos. O hidrogel formado pela interação sinérgica entre goma xantana e quitosana já foi utilizado na encapsulação de compostos fenólicos de amora-preta (ROSA, 2012), no entanto, ainda não há relatos da utilização de hidrogeis formados por goma xantana e goma tara como material encapsulante.

Hipóteses

É possível microencapsular suco de pitanga roxa (*Eugenia uniflora* L.) utilizando como material de parede goma arábica, quitosana, hidrogel de goma xantana/quitosana, goma xantana, hidrogel de goma xantana/goma tara e goma tara.

A microencapsulação do suco de pitanga roxa (*Eugenia uniflora* L.) propicia a liberação controlada dos compostos fenólicos e carotenoides e proteção contra a degradação.

Objetivos

Geral

Caracterizar e microencapsular encapsular o suco de pitanga roxa (*Eugenia uniflora* L.) bem como avaliar o perfil de liberação e estabilidade dos compostos encapsulados durante a estocagem.

Específicos

Caracterizar e quantificar os compostos bioativos presentes no suco de pitanga roxa, bem como sua atividade antioxidante.

Microencapsular o suco utilizando a liofilização como método de secagem e como material de parede goma arábica, quitosana, hidrogel de goma xantana/quitosana, goma xantana, hidrogel de goma xantana/goma tara e goma tara.

Caracterizar as microcápsulas quanto à morfologia, tamanho, eficiência de encapsulação, comportamento térmico, liberação e estabilidade durante a estocagem.

1 Revisão de literatura

1.1 Pitanga

A pitangueira é uma espécie frutífera tropical, pertencente à família Myrtaceae, que reúne cerca de 100 gêneros e 3000 espécies, distribuídas e cultivadas em diversos países tropicais e subtropicais. É considerada a principal representante do gênero *Eugenia* (*Eugenia uniflora* L), devido especialmente, a algumas características específicas de seus frutos, como sabor exótico e de elevados teores de vitamina A, carotenoides e compostos fenólicos, além de boa aceitabilidade pelos consumidores (LIMA; MELO; LIMA, 2002; LIRA JÚNIOR et al., 2007).

Esta espécie frutífera é um arbusto nativo das regiões Sul e Sudeste do Brasil, podendo ser encontrada em muitos centros brasileiros de diversidade, como ecossistemas tropicais, subtropicais e temperados (LIRA JÚNIOR et al., 2007).

A pitangueira produz frutos que caracterizam-se como uma baga gomosa, achatada nas extremidades, com 7 a 10 sulcos no sentido longitudinal, denominados de pitanga. Este fruto é apreciado devido ao seu aroma peculiar intenso e sabor doce e ácido agradáveis (BEZERRA; SILVA; LEDERMAN; 2000; LIRA JÚNIOR et al., 2007). A partir do início da maturação, o pericarpo da pitanga muda de coloração, inicialmente alterando do verde para o amarelo, seguindo pelo laranja, vermelho e vermelho escuro, podendo até atingir a coloração quase negra, dependendo da cultivar (LIRA JÚNIOR et al., 2007; GOMES, 2007).

De acordo com a Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (NEPA-UNICAMP, 2006), a pitanga apresenta em média 88,3% de umidade, 10,2% de carboidratos, 3,2% de fibras, 0,9% de proteínas, 0,4% de cinzas, 0,2% de lipídeos e 18 mg de cálcio.

Este fruto também apresenta em sua composição altos teores de compostos bioativos, sendo que a pitanga roxa cultivada no Rio Grande do Sul contém alto conteúdo de compostos fenólicos e carotenoides (BAGETTI, 2009).

De acordo com Jacques et al. (2009), a pitanga roxa destaca-se das pitangas vermelha e laranja em relação ao seu maior teor de compostos fenólicos (420,8 mg de ácido gálico.100g⁻¹) e de antocianinas (138,7 mg de cianidina-3-glicosídeo.100g⁻¹), enquanto que a pitanga vermelha destaca-se das demais em relação ao maior teor de carotenoides (153,0 de β -caroteno $\mu\text{g.g}^{-1}$).

Entretanto, apesar da presença de compostos bioativos que apresentam efeitos benéficos à saúde e de seu elevado potencial de mercado agroindustrial, a pitanga ainda não apresenta expressão econômica na fruticultura brasileira, sendo encontrados poucos pomares comerciais (LIRA JÚNIOR et al., 2007).

1.2 Metabolismo secundário

Metabolismo consiste em um conjunto de reações metabólicas que ocorrem no interior das células. Em células vegetais pode ser classificado em metabolismo primário e secundário. O metabolismo primário é caracterizado por um conjunto de processos metabólicos que desempenham funções essenciais para os vegetais, como fotossíntese, respiração e transporte de solutos. O metabolismo secundário origina compostos que nem sempre são necessários para que a planta complete seu ciclo de vida; no entanto, desempenham papel importante na interação da planta com o meio ambiente, sendo restritos a uma espécie vegetal ou a um grupo de espécies relacionadas (BOURGAUD et al., 2001; TAIZ; ZEIGER, 2004).

Os metabólitos secundários possuem importante ação frente a fatores bióticos, como herbivoria, ataque de patógenos, competição entre plantas e organismos benéficos, como atração de polinizadores, dispersores de sementes e micro-organismos simbiotes. Estes metabólitos também apresentam ação protetora contra estresses abióticos, como mudanças de temperatura, conteúdo de água, deficiência de minerais e exposição à luz e radiação ultra-violeta (VERPOORTE; MEMELINK, 2002; TAIZ; ZEIGER, 2004; EMERY; SANTOS; BIANCHI, 2011).

Os compostos oriundos do metabolismo secundário são divididos em três grandes grupos, sendo estes classificados como terpenos, compostos fenólicos e alcaloides (figura 1). Os terpenos, dentre estes os carotenoides, são sintetizados a partir de duas rotas metabólicas principais, a do ácido

mevalônico e a do metileritritol (MEP). Os compostos fenólicos são sintetizados a partir das vias do ácido chiquímico e do ácido malônico. Os alcaloides são derivados dos aminoácidos aromáticos tirosina e triptofano, que são derivados do ácido chiquímico, e dos aminoácidos alifáticos ornitina e lisina (TAIZ; ZEIGER, 2004; AHARONI; GALILI, 2011).

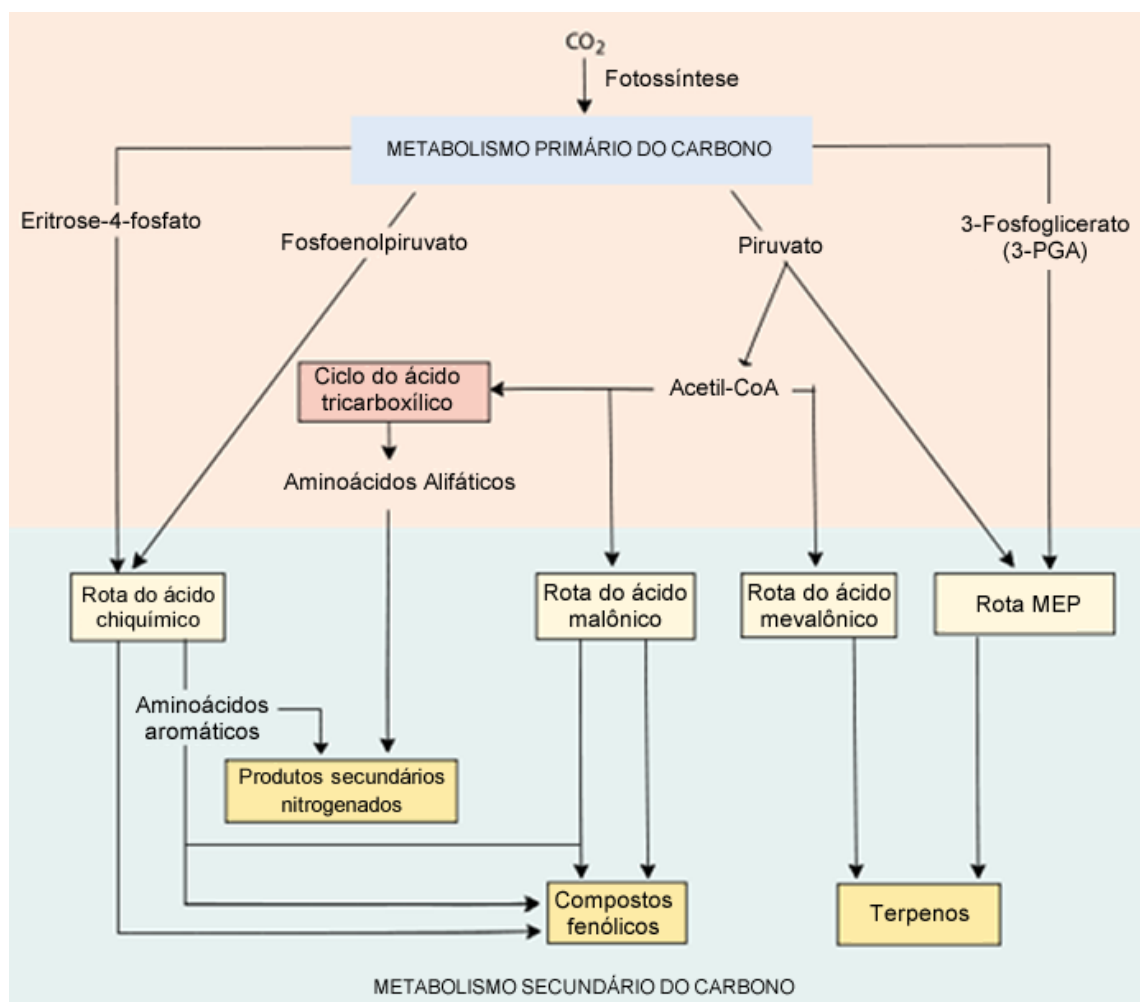


Figura 1 - Principais rotas de síntese dos metabólitos secundários
Fonte: TAIZ; ZEIGER, 2004.

Dentre os diversos metabólitos secundários, neste estudo será dado destaque aos carotenoides e os compostos fenólicos.

1.2.1 Carotenoides

Os carotenoides pertencem ao grupo dos terpenos, que são substâncias insolúveis em água, derivados da união de unidades pentacarbonadas denominadas de isoprenos. Estes são classificados como monoterpenos (2 unidades de isopreno), sesquiterpenos (3 unidades de isopreno), diterpenos (4

unidades de isopreno), triterpenos (2 unidades de sesquiterpeno) e tetraterpenos (2 unidades de diterpeno) (TAIZ; ZEIGER, 2004).

Dentre os tetraterpenos, destacam-se os carotenoides, que estão localizados nos cromoplastos e também nos cloroplastos associados à clorofila (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Os carotenoides são um dos grupos de pigmentos mais difundidos na natureza, sendo responsáveis pela coloração amarela, laranja e vermelha de grande número de frutas, folhas e algumas flores (BOBBIO; BOBBIO, 1992). Estes compostos são classificados em dois grupos: os carotenos que são exclusivamente compostos por hidrocarbonetos; e as xantofilas, que possuem oxigênio em sua molécula (COULTATE, 2004). As estruturas químicas dos carotenoides mais comumente encontrados nos alimentos estão representados na Figura 2.

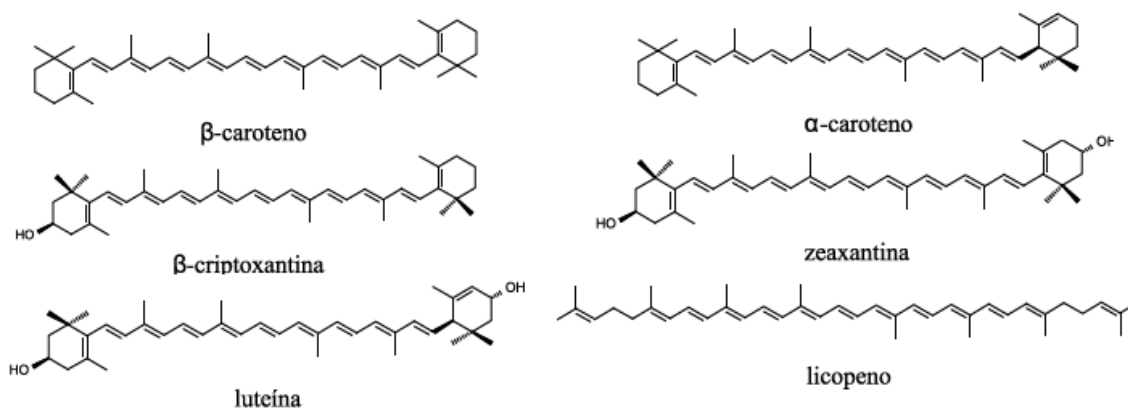


Figura 2 - Estrutura química dos carotenoides mais encontrados em alimentos. Fonte: RODRIGUEZ-AMAYA; KIMURA; AMAYA-FARFAN, 2008.

Alguns carotenoides são precursores da vitamina A. Para que um carotenoide apresente esta característica é necessário que apresente pelo menos 1 anel β-ionona ligado a uma cadeia poliênica de 11 carbonos. O carotenoide com maior potencial pró-vitâmico A é o β-caroteno, que pode ser convertido em 2 moléculas de vitamina A. Outros carotenoides como α-caroteno e a β-criptoxantina, podem ser convertidos em apenas uma molécula de vitamina A, enquanto que a luteína, zeaxantina e o licopeno não apresentam essa capacidade (RODRIGUEZ-AMAYA; KIMURA; AMAYA-FARFAN, 2008).

A estrutura química dos carotenoides apresenta um sistema de duplas ligações conjugadas, o que caracteriza este grupo de compostos com potencial antioxidante, devido à capacidade que suas moléculas apresentam de receber elétrons de espécies reativas, podendo neutralizar os radicais livres.

Entretanto, a presença destas duplas ligações conjugadas, os tornam suscetíveis à isomerização e oxidação pela presença de O₂, luz e calor. Esta degradação pode acarretar a perda de cor, da atividade antioxidante e da atividade pró-vitamina A (RODRIGUEZ-AMAYA, 1997; GONNET; LETHUAUT; BOURY, 2010).

De acordo com a literatura, a pitanga roxa apresenta teor total de carotenoides que varia entre 90,6 e 111 µg.g⁻¹ de fruta fresca (LIMA; MÉLO; LIMA, 2002; JACQUES et al., 2009). O carotenoide majoritário presente nesta fruta é o licopeno; no entanto, também foi relatado em pequenas quantidades a presença da rubixantina, luteína, zeaxantina, β-criptoxantina, β-caroteno, γ-caroteno, α-caroteno e violaxantina (AZEVEDO-MELEIRO; RODRIGUEZ-AMAYA, 2004; FILHO et al., 2008).

1.2.2 Compostos fenólicos

Em alimentos, os compostos fenólicos são responsáveis pela cor, adstringência, aroma e estabilidade oxidativa. Esta classe engloba compostos que apresentam desde moléculas simples, até moléculas com alto grau de polimerização, podendo estar presentes nos vegetais na forma livre ou ligados a proteínas e açúcares (ANGELO; JORGE, 2007).

Quimicamente são constituídos de pelo menos um anel aromático, no qual ao menos um dos hidrogênios é substituído por um grupamento hidroxila. Estes compostos podem ser classificados em flavonoides (antocianinas, flavonois e seus derivados) e não flavonoides (ácidos fenólicos e seus derivados e estilbenos) (KING; YOUNG, 1999; SIRIWOHARN et al., 2004; ANGELO; JORGE, 2007).

Os flavonoides são compostos de baixo peso molecular, formados por 15 átomos de carbono, dispostos na configuração C₆-C₃-C₆. Sua estrutura apresenta 2 anéis aromáticos (aneis A e B), unidos por três carbonos, formando um anel heterocíclico (anel C). Importantes subclasses de flavonoides são resultantes das variações nos substituintes do anel C (Figura 3) (ANGELO; JORGE, 2007; HUBER; RODRIGUEZ-AMAYA, 2008).

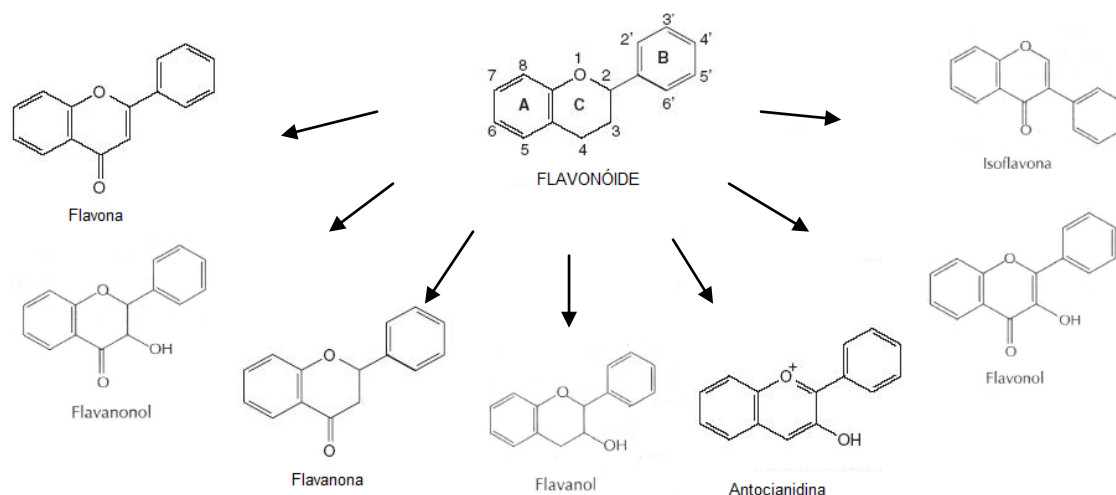


Figura 3 - Estrutura química dos flavonóides e de suas principais subclasses.
Fonte: ÂNGELO; JORGE, 2007.

Dentre os flavonóis, as antocianinas constituem um grupo de compostos que desempenha grande importância. As antocianinas consistem em antocianidinas na forma de glicosídeos, ou seja, ligadas a um açúcar. Existe uma enorme variedade de antocianinas distribuídas na natureza, sendo que as principais diferenças entre estas são o número de grupamentos hidroxílicos, a natureza e o número de açúcares ligados, a posição desta ligação e também a natureza e o número de ácidos alifáticos ou aromáticos ligados ao açúcar na molécula (KONG et al., 2003; CASTANEDA-OVANDO et al., 2009) (figura 4). São pigmentos hidrossolúveis possuindo colorações que variam do vermelho ao azul, e são altamente instáveis e suscetíveis a degradação, sendo que sua estabilidade é afetada por fatores como pH, temperatura, estrutura química, luz, oxigênio, solventes, presenças de enzimas e íons metálicos (KONG et al., 2003; ROSSO; MERCADANTE, 2007; CASTANEDA-OVANDO et al., 2009).

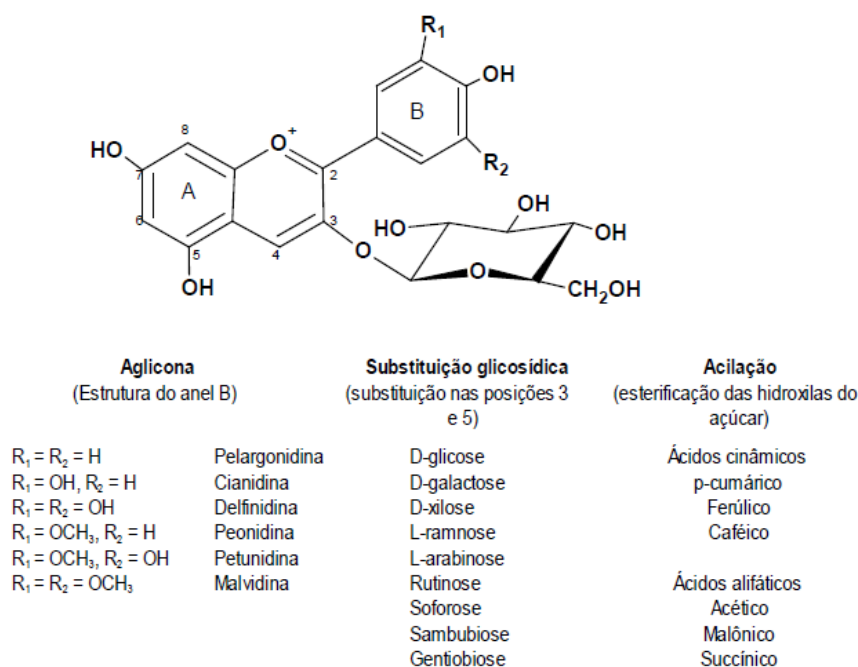


Figura 4 - Estrutura química das antocianinas.
Fonte: MALACRIDA; MOTTA, 2006.

Dentre os não flavonoides encontram-se os ácidos fenólicos e os estilbenos. Os ácidos fenólicos são caracterizados por apresentarem um anel aromático, um ou mais grupamento hidroxila e/ou metoxila e um grupamento carboxílico. Estes são classificados em dois grupos: os derivados do ácido hidroxibenzoico (ácidos gálico, p-hidroxibenzoico, protocatecuico, vanílico e siríngico), que apresentam sua estrutura disposta na configuração C₆-C₁ (Figura 5a); e os derivados do ácido hidroxicinâmico (ácidos cafeico, ferúlico e p-cumárico), estando dispostos estruturalmente na configuração C₆-C₃ (Figura 5b) (TAIZ; ZEIGER, 2004; CHITARRA; CHITARRA, 2005; ANGELO; JORGE, 2007). Os estilbenos são classificados como fitoalexinas, por serem sintetizados pelas plantas em resposta a uma situação de estresse. Sua estrutura química é composta por dois anéis aromáticos, unidos por 2 carbonos, dispostos na configuração C₆-C₂-C₆. Os principais compostos pertencentes a esta classe são o cis- e trans-resveratrol (Figura 5c) (FILHO; PEREIRA; BAYMA, 2005).

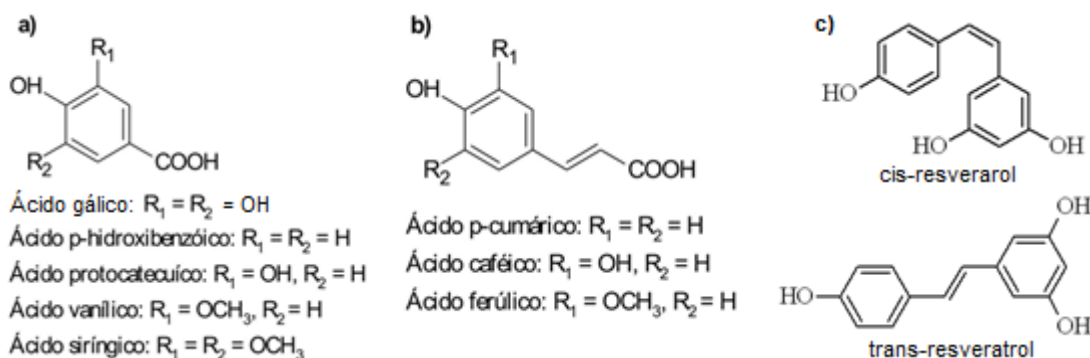


Figura 5 - Estrutura química dos ácidos hidroxibenzoicos (a) e hidroxicinâmicos (b) e dos estilbenos (c).

Fonte: FILHO; PEREIRA; BAYMA, 2005; ÂNGELO; JORGE, 2007.

Os compostos fenólicos são considerados antioxidantes, principalmente devido a sua capacidade redox, que permite com que atuem como agentes redutores, doadores de hidrogênio e supressores de oxigênios singletes, além de agirem como quelantes de metais (KÄHKÖNEN et al., 1999; ZHENG; WANG, 2001 JOHN; SHARIDI, 2010). Estes compostos agem tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo, formando produtos intermediários, relativamente estáveis, devido à ressonância do anel aromático (SOARES, 2002).

Na Figura 6 está representada a ação de um composto fenólico frente a um radical livre, na qual ocorre a doação de um átomo de hidrogênio do composto fenólico para o radical livre, estabilizando-o, enquanto o composto antioxidante promove a organização de seu elétron desemparelhando por ressonância (NAWAR, 1996).

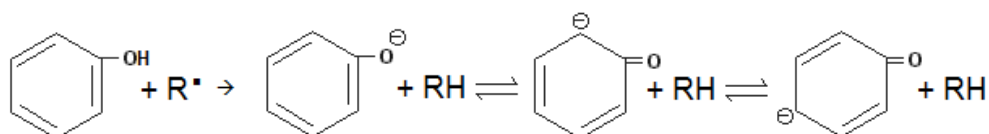


Figura 6 - Reação de um composto fenólico com um radical livre.

Fonte: Adaptado de NAWAR, 1996.

De acordo com a literatura a pitanga roxa apresenta, em relação ao teor total de compostos fenólicos, entre 420,8 e 463,0 mg de ácido gálico.100g⁻¹ de fruta fresca; e em relação ao teor total de antocianinas entre 136,0 e 138,7 mg de cianidina-3-glicosídeo.100g⁻¹ de fruta fresca (BAGETTI, 2009; JACQUES et al., 2009). O ácido gálico destaca-se como o composto majoritário, mas há

relatos de terem sido identificados alguns ácidos fenólicos como os ácidos clorogênico, cafêico, p-cumárico e ferúlico, além de alguns flavonoides como rutina, miricetina e quercetina (KARWOWSKI, 2012).

1.3 Microencapsulação

A técnica de microencapsulação consiste no empacotamento de materiais sólidos, líquidos ou gasosos em cápsulas extremamente pequenas, que variam entre 0,2 e 5000 μm (FAVARO-TRINTADE; PINHO; ROCHA, 2008; NEDOVIC et al., 2011). O principal objetivo desta técnica é proteger o material encapsulado de condições adversas, tais como luz, umidade e oxigênio, contribuindo assim para o aumento de sua estabilidade. Isto ocorre devido a capacidade que as microcapsulas apresentam de reduzir a taxa de evaporação e de transferência de material do núcleo para o ambiente, além disto, modificam as características físicas do material, facilitando seu manuseio e propiciam a liberação controlada do material encapsulado (SCHROOYEN; VAN DER MEER; DE KRUIF, 2001; FANG; BHANDARI, 2010). Vários materiais podem ser encapsulados, como acidulantes, agentes aromatizantes, corantes, lipídios, vitaminas, minerais, enzimas e micro-organismos (FAN; BHANDARI, 2010).

A elaboração das microcápsulas pode ser realizada por diferentes técnicas, como *spray-dryer*, *spray cooling*, coacervação, extrusão, recobrimento em leito fluidizado, lipossomas, complexação por inclusão e por liofilização (FAVARO-TRINTADE; PINHO; ROCHA, 2009). A técnica de liofilização destaca-se entre as demais pela aplicação de baixas temperaturas, o que propicia a preservação do núcleo. Esta técnica é baseada na desidratação de um produto congelado por sublimação, sendo realizado primeiramente um congelamento rápido do produto seguido da sublimação do gelo sob vácuo (AZEREDO, 2005).

Uma série de fatores determina a escolha do agente encapsulante, dentre os quais a não reatividade deste com o material a ser encapsulado, o processo utilizado para a formação da microcápsula e o mecanismo ideal de liberação do componente encapsulado (FAVARO-TRINTADE; PINHO; ROCHA, 2008, MATALANIS; JONES; MCCLEMENTS, 2011). Os materiais utilizados na encapsulação devem ser de grau alimentício, biodegradáveis e capazes de

formar uma barreira entre a fase interna e o meio externo, a fim de proteger o material encapsulado das condições ambientais e com isto manter a sua estabilidade durante o processamento e estocagem (NEDOVIC et al., 2011). Diversos materiais podem ser utilizados como revestimento para as microcápsulas, como proteínas, lipídeos e carboidratos, dentre os quais estão incluídos as gomas (SHAHIDI; HAN, 1993).

Alguns tipos de materiais encapsulantes e técnicas empregadas na microencapsulação podem promover liberação controlada do material encapsulado, fazendo com que este seja liberado de acordo com as necessidades específicas de cada produto. Essa liberação pode ocorrer em função de diferentes condições, como pH e temperatura, durante o processamento e a estocagem dos alimentos, ou em locais específicos do organismo, no caso de fármacos, podendo ocorrer de forma gradativa ou instantânea (WANG et al., 2007).

Quanto à morfologia, as micropartículas podem ser classificadas em microcápsulas, nas quais o núcleo está concentrado na região central, circundado por um filme contínuo do material de parede; e em microesferas, que é considerado um sistema matricial, onde o núcleo é uniformemente disperso em uma matriz, permanecendo exposto na superfície (AZEREDO, 2005) (Figura 7).

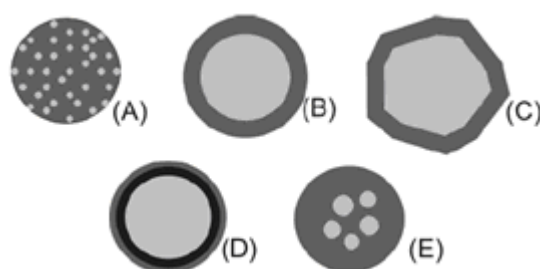


Figura 7 - Modelos de micropartículas. A: microesfera; B: microcápsula simples; C: microcápsula simples irregular; D: microcápsula com duas paredes; E: microcápsula com vários núcleos.

Fonte: AZEREDO, 2005.

A confirmação da encapsulação, geralmente, é realizada através da técnica denominada Eficiência de Encapsulação, que esta baseada na diferença entre o conteúdo do composto presente no interior e superfície das microcápsulas, em relação ao conteúdo total do composto utilizado na

encapsulação (SUTTER; BUERA; ELIZALDE, 2007; SAÉNZ et al., 2009). Além desta, técnicas analíticas também são utilizadas como Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), a qual é capaz de fornecer informações sobre a morfologia e tamanho dos elementos presentes em uma amostra sólida; Difratometria de Raio-x, que promove a caracterização microestrutural; e Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC), que é uma técnica de análise térmica que registra o fluxo de energia calorífica associado a transições nos materiais analisados em função da temperatura, descrevendo assim seu comportamento térmico. Estas análises são realizadas no material que se deseja encapsular, no material encapsulante e em uma mistura física realizada entre ambos e nas microcápsulas, com a finalidade de se verificar as alterações que ocorreram nestes materiais após a encapsulação (SHU et al., 2006; WANG et al., 2011).

1.3.1 Microencapsulação de compostos bioativos

O estudo da microencapsulação de compostos bioativos, como de carotenoides e de compostos fenólicos, provenientes de extratos naturais não é muito abrangente, sendo encontrados, principalmente, trabalhos referentes à microencapsulação de compostos purificados ou sintetizados em laboratório. Estes estudos abordam temas como, elaboração e caracterização das microcápsulas, eficiência de encapsulação, taxa de liberação, estabilidade dos compostos encapsulados e da sua atividade antioxidante durante o armazenamento, sendo escassos estudos em relação à aplicação em alimentos.

1.3.1.1 Carotenoides

Estudos referentes à encapsulação dos carotenoides são relacionados, principalmente, a estabilidade destes compostos como pigmentos e como pró vitamina A, não sendo encontrados trabalhos que avaliam sua atividade antioxidante.

O licopeno extraído de goiabas vermelhas (*Psidium guajava*) foi encapsulado com goma arábica e com goma arábica e maltodextrina, por liofilização e *spray-dryer*. A degradação do licopeno foi maior nos primeiros 15 dias de armazenamento, sendo a melhor estabilidade verificada para as

cápsulas de licopeno com goma arábica e maltodextrina liofilizadas. Entretanto, a ação protetora da encapsulação foi menor que a proteção oferecida pela matriz alimentar do licopeno presente em polpa de goiaba liofilizada (MATIOLI; RODRIGUEZ-AMAYA, 2002).

Os mesmos autores avaliaram a microencapsulação de licopeno extraído de goiabas vermelhas (*Psidium guajava*), utilizando α -, β - e γ -ciclodextrinas como materiais de parede, pela técnica de inclusão molecular, e verificaram que o licopeno formou complexo somente com a β - e a γ -ciclodextrina. Após 180 dias de estocagem o licopeno manteve-se constante no complexo licopeno/ γ -ciclodextrina e reduziu cerca de 80% no complexo licopeno/ β -ciclodextrina. A máxima inclusão molecular foi verificada com o emprego γ -ciclodextrina, quando a razão molar foi de 1:200. O complexo formado apresentou dispersão em água, mantendo a cor vermelha do composto e mostrou excelente estabilidade a luz, apresentando 100% de retenção em 40 dias de monitoramento a temperatura ambiente (MATIOLI; RODRIGUEZ-AMAYA, 2003).

A astaxantina foi microencapsulada em matriz de quitosana-glutaraldeído, pela técnica de emulsão múltipla/evaporação de solvente. Foram obtidas microcápsulas esféricas de 5 a 50 μm de diâmetro. A eficiência de encapsulação foi de 92% e após 8 semanas de armazenamento o pigmento encapsulado não havia sofrido isomerização e degradação química (HIGUERA-CIAPARA et al., 2004).

Santos, Fávaro-Trindade e Grosso (2005) avaliaram a encapsulação de oleoresina de páprica, pela técnica de *spray-dryer*, utilizando como agentes encapsulantes goma arábica e grânulos porosos de amido/gelatina. A morfologia das microcápsulas foi avaliada por MEV, onde verificou-se que as microcápsulas elaboradas com goma arábica apresentavam formato arredondado, com concavidades, sem poros ou rachaduras, paredes contínuas e o recheio estava distribuído em vacúolos nas paredes. Já as produzidas com grânulos porosos de amido/gelatina apresentavam formato arredondado, paredes formadas pela aglomeração dos grânulos e coladas pela gelatina, entretanto, continham poros ou interstícios. O tamanho médio das microcápsulas produzidas com goma e amido/gelatina foi de 16 e 20,3 μm respectivamente. A dissolução das cápsulas foi considerada excelente, pois

estas dissolveram-se completamente após 5 minutos sob agitação mecânica em óleo, água e metanol, tingindo uniformemente os solventes de vermelho.

Shu et al. (2006) realizaram a microencapsulação de licopeno por *spray-dryer* utilizando como material de parede gelatina e sacarose. A eficiência de encapsulação foi influenciada pela proporção do núcleo em relação ao material de parede, proporção de gelatina e sacarose, pressão de homogeneização, temperaturas de entrada e alimentação e pela pureza do licopeno. As condições ótimas para a encapsulação foram: proporção de sacarose/gelatina de 3:7, e a proporção 1:4 entre núcleo e material de parede. O licopeno apresentou alguma isomerização e degradação, quando exposto ao calor de secagem, mas apresentou boa estabilidade durante o armazenamento. De acordo com os resultados obtidos através da análise de MEV, as microcápsulas apresentaram 2 a 15 μm de diâmetro, forma esférica e superfície lisa, sendo a encapsulação do licopeno confirmada pela análise de Raio-X.

A furcelana foi utilizada na encapsulação do suco de espinheiro-marítimo (*Hippophae rhamnoides L.*), rico em β -caroteno, pelo processo de gelificação ionotrópica. O tamanho e a firmeza das cápsulas foram influenciados pela natureza e concentração do cátion, pelo polímero e pela proporção de suco e furcelana utilizados. O tamanho foi avaliado com o auxílio de um micrômetro e verificou-se que as cápsulas de maior diâmetro (4,49 a 4,65 mm) foram as que apresentaram maior concentração de furcelana, sendo o mesmo comportamento observado em relação à firmeza. A eficiência de encapsulação foi de 97% (LAOS et al., 2007).

Cristais de licopeno obtidos de tomates frescos foram encapsulados com goma arábica e sacarose (8:2) por *spray-dryer* e inclusão molecular em β -ciclodextrina, seguido de liofilização. As cápsulas produzidas por *spray-dryer* apresentaram indentações, sem falhas ou aberturas na superfície, observadas pela análise de MEV; a eficiência de encapsulação variou de 94 a 96% e rendimento médio foi de 51%. A encapsulação do licopeno em β -ciclodextrina ocorreu apenas quando foi utilizada razão molar de 1:4, as cápsulas apresentaram estruturas irregulares de diferentes tamanhos que eventualmente formaram agregados. A inclusão de licopeno foi de, aproximadamente, 50% (NUNES; MERCADANTE, 2007).

Blanch et al. (2007) extraíram licopeno de tomates e encapsularam com α -, β - e γ -ciclodextrinas, pela técnica de liofilização e pelo processo de extração em fluído supercrítico. A encapsulação foi confirmada por espectroscopia micro-Raman. As microcápsulas elaboradas por liofilização, apresentaram rendimento superior ao obtido para as elaboradas pelo processo de extração em fluído supercrítico (93,8% vs 67,5%), sendo a β -ciclodextrina, o material de parede que proporcionou maior estabilidade para o licopeno após 6 meses de armazenamento.

A extração de licopeno de resíduos de polpa de tomate com CO₂ supercrítico e a microencapsulação em 4,5% de gelatina e 10% de poli (ácido γ -glutâmico) foram realizadas no estudo de Chiu et al. (2007). Análises de DSC mostraram que as microcápsulas apresentaram estabilidade térmica até 120°C. e tamanho de partícula de 38,7 μ m, baseado na técnica de Coulter Counter. Durante o armazenamento as concentrações de cis-, trans- e licopeno total reduziram com o aumento do tempo e da temperatura. A maior taxa de liberação do licopeno ocorreu na faixa de pH entre 5,5 e 7,0; na faixa de pH de 2,0 a 3,5 não foi verificada a liberação de licopeno.

A microencapsulação de β -caroteno por *spray-dryer* utilizando amido de mandioca, amido de mandioca modificado e maltodextrina foi realizada por Loksuwan (2007). O autor verificou que o amido de mandioca modificado apresentou melhor retenção de β -caroteno durante o processo de secagem, maior eficiência de encapsulação e maior solubilidade em água fria.

Rascon et al. (2011) avaliaram o desempenho de goma arábica e proteína de soja isolada, na microencapsulação de oleoresina de páprica por *spray-dryer*. Os resultados demonstraram que a retenção de carotenoides nas microcápsulas aumentou à medida que a temperatura de secagem foi aumentada de 160 a 200 °C, em ambos os tratamentos. Estes autores também verificaram que a estabilidade máxima à oxidação dos carotenoides foi observada para microcápsulas preparadas com goma arábica e proteína isolada de soja, que apresentaram atividade de água de 0,274 e 0,710, respectivamente.

Licopeno foi microencapsulado por *spray-dryer*, utilizando amido modificado (Capsul[®]) no estudo realizado por Rocha et al. (2012). Seus resultados demonstraram que a eficiência de encapsulação variou de 21 a 29%

e as cápsulas apresentaram morfologia arredondada com concavidades e variação de tamanho, conforme resultados obtidos por MEV. Observou-se que a microencapsulação proporcionou maior proteção ao licopeno. No estudo da aplicação das cápsulas em bolos, pode-se observar que houve a liberação do pigmento.

O extrato de pimenta vermelha (*Capsicum annum* L.), rico em carotenoides (pró-vitamina A) e tocoferóis (vitamina E), foi microencapsulado por *spray-dryer* utilizando goma arábica no trabalho realizado por Romo-Hualde et al. (2012). Neste estudo observou-se que as microcápsulas apresentaram forma esférica com tamanho médio de 5,46 µm obtidos por MEV. Resultados de TGA demonstraram estabilidade térmica até 200°C, além disto a microencapsulação do extrato aumentou a estabilidade dos compostos presentes durante os 35 dias de armazenamento.

1.3.1.2 Compostos fenólicos

Kosaraju, D'ath e Lawrence (2006) encapsularam extrato de folha de oliveira (*Olea europaea*), rico em compostos fenólicos, em matriz de quitosana por *spray-dryer*. A encapsulação do extrato foi confirmada pelas técnicas de DSC e FTIR, sendo que a atividade dos compostos fenólicos foi mantida após o processo de secagem. O total de compostos fenólicos presentes nas microcápsulas de extrato de folha de oliveira foi de 27%.

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

Deladino et al. (2008) encapsularam extratos liofilizados de erva mate (*Ilex paraguariensis*), ricos em compostos fenólicos, nas matrizes de alginato de cálcio e alginato de cálcio com revestimento de quitosana, pelas técnicas de coacervação simples e complexa. Foi observado que as microcápsulas de

alginate de cálcio sem o revestimento apresentaram maior teor de compostos fenólicos e maior percentual de liberação destes compostos em água.

O extrato metanólico da erva de São João (*Hypericum perforatum*), rico em compostos fenólicos, foi microencapsulado por liofilização utilizando β -ciclodextrina. A eficiência de encapsulação foi de 27,5, 30,0 e 35,0% para catequina, epicatequina e quercetina, respectivamente, sendo confirmada pelas técnicas de DSC e RMN. A β -ciclodextrina proporcionou proteção contra a degradação térmica dos compostos presentes no extrato. Deste modo, devido ao alto potencial antioxidante e estabilidade térmica, os autores sugeriram que as microcápsulas podem ser utilizadas na formulação de alimentos funcionais, inclusive daqueles submetidos ao processamento térmico (KALOGEROPOULOS et al., 2010).

A microencapsulação de compostos fenólicos de extratos de groselha preta (*Ribes nigrum* L.) em matriz de maltodextrinas com diferentes graus de dextrose equivalente (DE11, DE18, DE21) e inulina, pela técnica de *spray-dryer*, foi avaliada por Bakowska-Barczak; Kolodziejczyk (2011). A maltodextrina DE11 apresentou maior rendimento e também ofereceu maior proteção para os compostos fenólicos durante 12 meses de armazenamento a 8° e 25°C, preservando a atividade antioxidante destes compostos.

Extratos fenólicos de *bayberry* (*Myrica rubra* Sieb. et Zucc.) foram microencapsulados pelo método de separação de fases, utilizando-se como material de parede etil celulose. Os resultados obtidos apontam que a microencapsulação melhorou a estabilidade dos compostos fenólicos, preservando sua atividade antioxidante. As microcápsulas apresentaram superfície lisa, e tamanho que variou de 10 a 97 μ m. Em fluido gástrico a taxa de liberação dos compostos fenólicos foi de 2,56 a 15,14%, sendo significativamente superior em fluido intestinal (até 87,37%) (ZHENG et al., 2011).

Extrato de própolis, rico em compostos fenólicos, foi encapsulado por coacervação complexa com proteína isolada de soja e pectina como agente encapsulante. A eficiência de encapsulação variou de 66,12 a 72,01%, sendo o processo de encapsulação efetivo para preservar compostos fenólicos e flavonoides durante 6 meses de armazenamento, preservando também a atividade antioxidante e antimicrobiana do extrato (NORI et al., 2011).

Sansone et al. (2011b) microencapsularam extratos de *Fadogia ancylantha*, *Melissa officinalis* e *Tussilago farfara*, todos ricos em compostos fenólicos, na matriz de maltodextrina/pectina pela técnica de *spray-dryer*. A encapsulação foi confirmada por diferentes técnicas, como MEV, DSC e Raio X. Não houve alteração significativa do conteúdo de polifenóis, atividade antioxidante, assim como no conteúdo de umidade das cápsulas sob severas condições de estocagem. Além disto, a encapsulação melhorou a taxa de dissolução.

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

1.3.2 Materiais utilizados na microencapsulação

1.3.2.1 Goma Arábica

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

Estruturalmente (Fig. 8), a goma arábica é um heteropolissacarídeo complexo que apresenta estrutura muito ramificada. Sua cadeia principal é formada por unidades de D - galactose, unidas por ligações glicosídicas em β -D-1,3, apresentando diferentes estruturas em suas cadeias laterais, como D - galactose, L-ramnose, L-arabinose e ácido D-glucurônico, as quais estão ligadas á cadeia principal por ligações β -1,6 (BE MILLER; WHISTLER, 1996; MCNAMEE; O'RIORDAN; O'SULLIVAN, 1998).

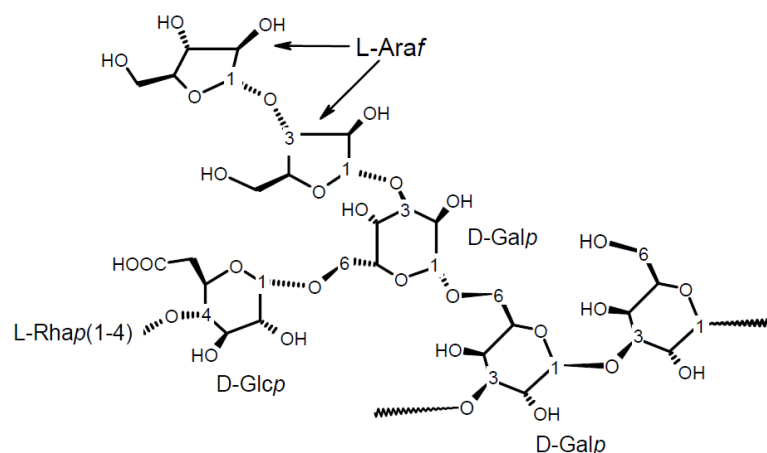


Figura 8 - Estrutura química da goma arábica.

Fonte: GUILHERME, 2006.

Esta heteroglicana complexa é composta por duas frações: a primeira é formada por polissacarídeos, com nenhum ou pouco material nitrogenado, correspondendo a 70% da molécula; e a segunda, de maior peso molecular, apresenta uma proteína como parte integrante em sua estrutura. Na segunda fração os polissacarídeos são ligados covalentemente à proteína por ligações ao aminoácido hidroxiprolina e talvez a unidades de serina. O total de proteína presente nesta fração é de aproximadamente 2%, sendo que as frações específicas podem conter até 25% (BE MILLER; WHISTLER, 1996; RIBEIRO; SERAVALLI, 2004).

Em alimentos, esta goma é utilizada como emulsionante e estabilizador de emulsões do tipo óleo em água. Apresenta compatibilidade com elevadas concentrações de açúcar, fazendo com que tenha seu uso generalizado em confeitos que apresentam alto teor de açúcar e baixo teor de água (BE MILLER; WHISTLER, 1996).

A goma arábica é amplamente utilizada no processo de encapsulação de compostos lipossolúveis, como limoneno (KAUSHIK, ROOS, 2007), óleo de soja (MCNAMEE; O'RIORDAN; O'SULLIVAN, 1998), azeite de oliva (CALVO et al., 2010), pigmentos do grupo dos carotenoides (ROCHA, 2009; QV; ZENG; JIANG, 2011; RASCÓN et al., 2011) e *flavors* (KRISHNAN; KSHIRSAGAR; SINGHAL, 2005; YEO et al., 2005), devido à formação de uma emulsão estável e retenção dos compostos voláteis, respectivamente. Também já foi utilizada como material encapsulante de enzimas (RAMAKRISHNAN et al., 2007).

1.3.2.2 Goma Xantana

A goma xantana é um polissacarídeo extracelular produzido por micro-organismos da espécie *Xanthomonas*, sendo produzida comercialmente por *Xanthomonas campestris* (RIBEIRO; SERAVALLI, 2004). Esta goma apresenta solubilidade tanto em água fria quanto em água quente, suas soluções são altamente pseudoplásticas e a viscosidade é muito estável em relação a amplas faixas de pH e temperatura (SWORN, 2000).

Estruturalmente (Fig. 9), esta goma consiste em um heteropolissacarídeo que apresenta como estrutura primária uma cadeia composta de unidades repetidas de β -D-glicose unidas por ligação 1-4, contendo ramificações constituídas de β -D-manose - 1,4- β -D-ácido glicurônico - 1,2- α -D-manose, podendo conter ácido pírúvico e acético. Suas ramificações ocorrem em unidades alternadas de β -D-glicose, sendo as ligações com as unidades de β -D-manose do tipo O-3. É considerada um polímero aniônico devido a presença dos grupos carboxílicos em sua estrutura (GARCÍA-OCHOA et al., 2000).

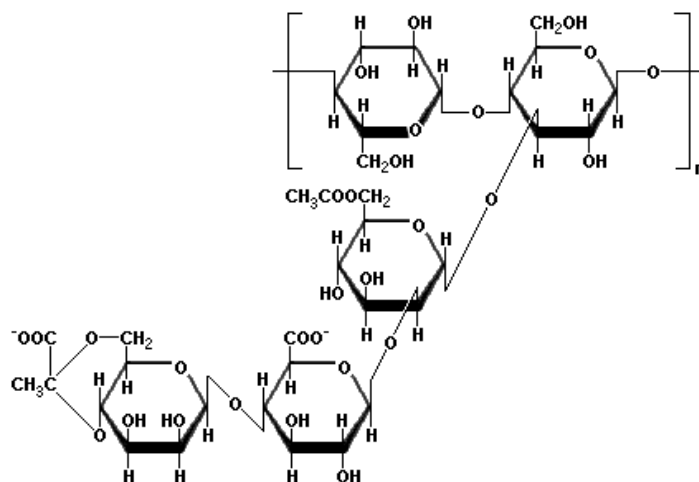


Figura 9 - Estrutura química da goma xantana.

Fonte: NERI et al., 2008

Em alimentos, a goma é utilizada como agente espessante e estabilizante, sendo também utilizada em formulações farmacêuticas, cosméticos e produtos agrícolas. Não apresenta a capacidade de formar geis, porém em associação com galactomanas atua como agente gelificante (GARCÍA-OCHOA et al., 2000). Tem sido empregada como material encapsulante de enzimas (ELÇIN, 1995; LIU et al., 2011), micro-organismos

(SUN; GRIFFITHS, 2000; JIMÉNEZ-PRANTEDA et al., 2012), e de compostos fenólicos presentes em extratos de amora-preta (ROSA, 2012).

1.3.2.3 Quitosana

A quitosana é um polissacarídeo de origem animal encontrado no exoesqueleto de insetos, crustáceos e fungos. É obtida, quimicamente, por desacetilação do polímero quitina, na presença de álcalis, e naturalmente, por alguns fungos. Apresenta solubilidade em soluções de ácidos diluídas em pH abaixo de 6,0, sendo insolúvel em água. Em solução apresenta comportamento pseudoplástico e a viscosidade aumenta com a redução da temperatura e com o aumento do grau de desacetilação (DASH et al., 2011).

Estruturalmente (Fig. 10), consiste em um copolímero composto de 2-amino-2-desoxi-D-glicose e 2-acetamido-2-desoxi-D-glicose, unidos por ligação β -1,4. Sua composição é variável em função do grau residual de desacetilação. É considerada um polímero policatiônico devido a presença de grupamentos amino em sua estrutura (GOY; ASSIS; CAMPANA-FILHO, 2004; DASH et al., 2011).

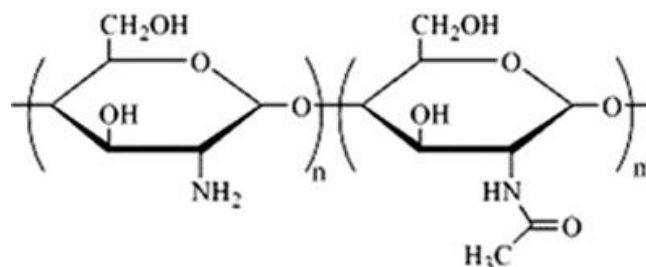


Figura 10 – Estrutura química da quitosana.

Fonte: DASH et al., 2011.

Este polímero vem sendo utilizado no tratamento de água como agente quelante, floculante e clarificante; na medicina e biotecnologia, como antitumoral, anticoagulante, cicatrizante, fungicida e bactericida; em cosméticos, como encapsulante de fragrâncias, pigmentos e substâncias ativas; e no processamento de alimentos, na remoção de corantes e substâncias ácidas, como espessante e estabilizante para molhos, na clarificação de vinhos e na proteção de frutos, na forma de coberturas comestíveis (GOY; ASSIS; CAMPANA-FILHO, 2004).

Na microencapsulação tem sido utilizada no revestimento de enzimas (PARK, 2007; BRIONES; SATO, 2010; LIU et al., 2011), lipídeos (KLAYPRADIT; HUANG, 2008), fármacos (SINHA et al., 2004; SHUKLA; TIWARI, 2012), corantes naturais (HIGUERA-CIAPARA, 2004; PARIZE; SOUZA; BRIGHENTE, 2008) e antioxidantes como, ácido lipoico (WEERAKODY; FAGAN; KOSARAJU, 2008), astaxantina (KITTIKAIWAN, 2007) e compostos fenólicos presentes em extrato de folha de oliva (KOSARAJU; D'ATH; LAWRENCE, 2006), amora-preta (ROSA, 2012), plantas medicinais (BELŠČAK-CVITANOVIĆ et al., 2011) e erva mate (DELADINO et al., 2008).

1.3.2.4 Goma Tara

A goma tara é uma galactomanana extraída do endosperma da semente da *Caesalpinia spinosa*. Quando comparada às demais galactomananas, esta goma apresenta solubilidade em água intermediária entre a goma guar (solúvel em água fria) e a goma locusta (solúvel em água quente). Isso ocorre, porque moléculas com maior quantidade de galactose são mais solúveis em água (PICOUT et al, 2001).

As soluções aquosas de goma tara, mesmo em baixas concentrações, apresentam alta viscosidade e suas propriedades reológicas são pouco afetadas por variações no pH, temperatura e adição de íons. Em baixas taxas de cisalhamento estas soluções apresentam comportamento pseudoplástico com região newtoniana (SITTIKIYOTHIN; TORRES; GONÇALVES, 2005).

Consiste em um polissacarídeo composto de uma cadeia principal formada de unidades β -D-manose unidas por ligações glicosídicas do tipo 1-4, com ramificações formadas por unidades de β -D-galactose, que estão ligadas no carbono 6 por ligações do tipo α -1,6 (Fig. 11) (POLLARD, FISHER, 2006). A razão entre as moléculas de β -D-manose e β -D-galactose é de 3:1, respectivamente (SITTIKIYOTHIN; TORRES; GONÇALVES, 2005).

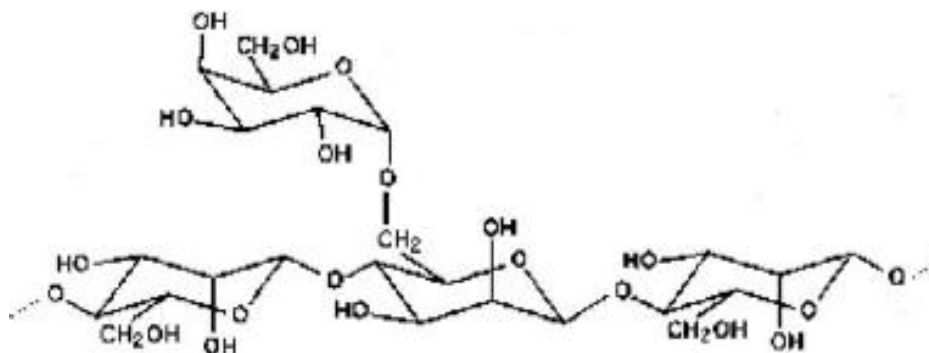


Figura 11 – Estrutura química da goma tara.

Fonte: SITTIKIYOTHIN, TORRES e GONÇALVES, 2005.

Esta goma é utilizada em alimentos como agente espessante, e assim como as demais galactomananas, é capaz de interagir com diversos polissacarídeos, como com goma xantana, ágar e carragenana, tornando-se assim um agente gelificante (VIEBKE; PICULELL, 1996; LUCYSZYN et al., 2006). Ainda não foi utilizada na encapsulação de compostos.

1.3.2.5 Hidrogeis

1.3.2.5.1 Hidrogel de goma xantana com goma tara

As gomas xantana e tara, isoladas, formam somente soluções, porém quando misturadas são capazes de formar um gel transparente e termorreversível (MORRIS, 1995).

A tendência das galactomananas interagirem, sinergicamente, com a goma xantana esta relacionada com a razão M:G (manose:galactose) que estas apresentam, sendo que quanto maior a razão M:G, mais forte será o gel formado (MORRIS, 1995). Ao longo da estrutura das galactomananas, os resíduos de galactose não são distribuídos uniformemente, na qual algumas regiões apresentam-se sem galactose e outras com muitos resíduos deste monossacarídeo, sendo que as regiões sem galactose são as que favorecem a interação com a molécula de xantana (Fig. 12) (GARCÍA-OCHOA et al., 2000).

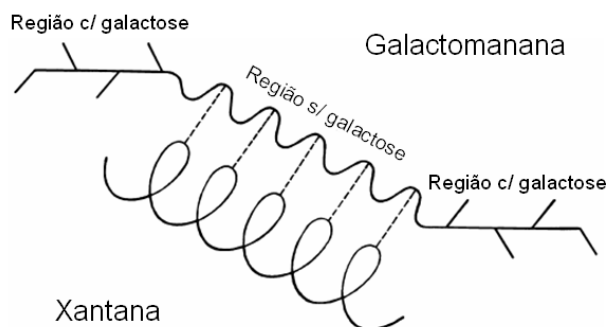


Figura 12 - Estrutura química no hidrogel de goma xantana e goma tara.
Fonte: GARCÍA-OCHOA et al., 2000.

Em soluções aquosas, quando dissolvida à baixa temperatura, a goma xantana muda sua conformação, adotando uma conformação de hélice rígida, comparável às moléculas de DNA, que permite uma melhor interação com as moléculas de galactomananas (GARCÍA-OCHOA et al., 2000; MAO; ZENG; CHEN, 2012).

Hidrogéis formados entre goma xantana e outras galactomananas, como a goma guar, já foram utilizados como matriz hidrofílica para liberação controlada de teofilina (VENDRUSCOLO, et al, 2005) e diclofenaco de sódio (UGHINI, 2005) em forma de comprimidos e também como matriz para formulações de ácido ascórbico (KOOP, et al., 2009). No entanto, o hidrogel formado entre as gomas xantana e tara ainda não foi utilizado como encapsulante.

1.3.2.5.2 Hidrogel de goma xantana com quitosana

A quitosana apresenta seus grupamentos amino carregados positivamente em pH inferior a 6,5, e por isto possui a capacidade de interagir com materiais negativamente carregados, como enzimas, ácidos nucleicos, polissacarídeos, células, entre outros (ARGIN-SOYSAL et al., 2009).

O hidrogel de goma xantana com quitosana é formado pela interação entre estes dois polímeros que apresentam cargas opostas, podendo ocorrer por forças eletrostáticas, pontes de hidrogênio, interações hidrofóbicas, forças de Van de Waals ou pela combinação destas interações (LEE et al., 1999). A rede de hidrogel é formada através das interações entre os grupamentos amino presentes na estrutura da quitosana e dos grupamentos carboxílicos presentes

na estrutura da goma xantana (Fig. 13), resultando em um gel polieletrólito insolúvel (CHELLAT et al., 2000; ARGIN-SOYSAL et al., 2009).

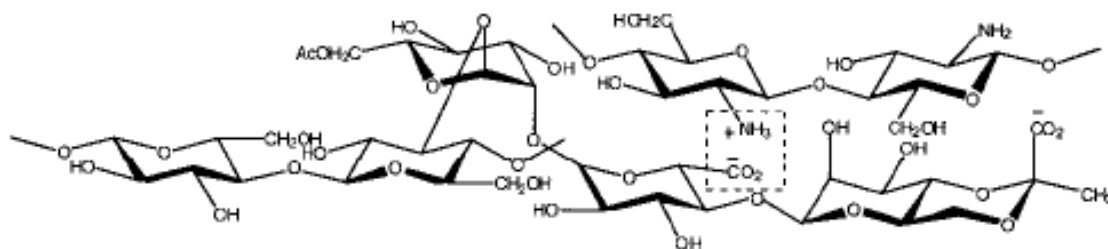


Figura 13 – Estrutura química no hidrogel de goma xantana e quitosana.
Fonte: CHELLAT et al., 2000.

A formação do hidrogel pode afetar fortemente as propriedades dos polímeros, em relação aos compostos isolados, como solubilidade, reologia, condutividade elétrica, propriedades mecânicas, permeabilidade e turbidez das soluções; a estabilidade do hidrogel depende de fatores como temperatura, pH, solvente e força iônica (LEE et al., 1999).

Este hidrogel permite a liberação controlada de materiais como agentes terapêuticos, enzimas e bactérias, sendo alvo de estudos para liberação controlada de produtos encapsulados para administração oral, pois apenas são produzidos metabólitos não tóxicos durante sua degradação por apresentar resistência relativamente alta a ação enzimática (CHELLAT et al., 2000; MAGNIN; DUMITRIU; CHORNET, 2003). O hidrogel foi utilizado na encapsulação de enzimas (LIU, et al., 2011) e de compostos fenólicos presentes em extratos de amora-preta (ROSA, 2012).

2 Material e Métodos

2.1 Materiais

As pitangas roxas foram obtidas em uma propriedade rural localizada na cidade de Pelotas/RS, na safra de 2011/2012.

Como agentes encapsulantes foram utilizados quitosana (Q) de peso molecular médio (Sigma Aldrich), goma xantana (X) (Sigma Aldrich), goma tara (T) (Gastronomy Lab) e goma arábica (A) (Synth). Para a determinação da atividade antioxidante utilizou-se 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH) (Sigma Aldrich). Os demais reagentes foram de grau PA, para realizar as análises em espectrofotômetro; e de grau HPLC para as análises por cromatografia líquida de alta eficiência.

2.2 Obtenção do suco de pitangas roxas

A extração do suco das pitangas roxas foi realizada com o auxílio de uma centrífuga de frutas (Britânia BRCT 800). O suco foi acondicionado em garrafa PET (Poliéster Termoplástico Tereftalato) e submetido a congelamento em ultrafreezer a -80°C até o momento da realização das análises referentes a sua caracterização e encapsulação.

2.3 Obtenção dos hidrogeis (H)

2.3.1 Hidrogel de goma xantana com goma tara (HXT)

A obtenção do hidrogel de xantana com goma tara foi realizada de acordo com o método descrito por Vendruscolo et al. (2005) e Koop et al. (2009), com algumas adaptações. Inicialmente foram preparadas soluções de ambas as gomas na concentração de 0,5%. Para o preparo das soluções as gomas foram dissolvidas lentamente em água, à temperatura entre 20 e 25 °C, sob agitação constante até sua completa dissolução. As soluções foram misturadas, na proporção 1:1, sendo submetidas à agitação por 10 minutos. Após a formação do hidrogel, o mesmo foi submetido ao congelamento a -80°C e à liofilização em equipamento LIOBRAS L101.

2.3.2 Hidrogel de goma xantana com quitosana (HXQ)

A elaboração do hidrogel de xantana com quitosana foi realizada de acordo com o método descrito Martínez-Ruvalcaba, Chornet e Rodrigue (2009), com algumas adaptações. Cerca de 6,5g de quitosana foram dissolvidas em 300mL de solução 0,1M de HCl, sob agitação, à temperatura entre 20 e 25 °C. Após a completa dissolução da quitosana a solução foi neutralizada com NaOH 0,2M até pH 5,6, sendo o volume completado a 1000mL com água destilada. A solução de xantana foi preparada dissolvendo-se 6,5g da goma em 1000mL de água destilada, sendo submetida à agitação até sua completa dissolução, à temperatura entre 20 e 25 °C. Para a formação do hidrogel, a solução de xantana foi adicionada à solução de quitosana, permanecendo a mistura sob agitação por 10 minutos, à temperatura entre 20 e 25 °C. Após a formação do hidrogel, o conteúdo foi filtrado e lavado com água destilada, com a finalidade de remover a quitosana superficial, sendo então submetido ao congelamento a -80°C e à liofilização em equipamento LIOBRAS L101.

2.4 Elaboração das micropartículas

A microencapsulação do suco de pitanga roxa utilizando como material de parede A, Q, HXQ, X, HXT e T foi realizada pela técnica de liofilização, de acordo com o método descrito por Pralhad & Rajendrakumar (2004) e Laine et al. (2008), com adaptações. Para a elaboração das micropartículas, primeiramente, realizou-se a dissolução dos materiais de parede, em seguida adicionou-se o suco de pitanga roxa, na proporção 1:1 em relação ao teor de sólidos do suco. A mistura foi agitada por 3h, sendo, posteriormente, submetida ao congelamento a -80°C e à liofilização em equipamento LIOBRAS L101.

2.5 Elaboração das misturas físicas (MF)

A elaboração das misturas físicas foi realizada pela homogeneização do suco de pitanga liofilizado com o respectivo material de parede (A, Q, HXQ, X, HXT e T), com o auxílio de gral e pistilo, na proporção 1:1.

2.6 Caracterização do suco de pitanga roxa

2.6.1 Extrato seco

O extrato seco foi determinado segundo a metodologia AOAC (2005). Colocou-se 20mL das amostras em banho-maria, em água fervente, até que o resíduo ficasse com aparência seca. Em seguida, levou-se as amostras a estufa à 105 °C, durante uma hora. Os resultados foram expressos em % de matéria seca.

2.6.2 Conteúdo total de carotenoides

A determinação do conteúdo total de carotenoides foi realizada segundo o método descrito por Rodriguez Amaya (2001), com adaptações. Pesou-se 5g de amostra e 2g de celite, adicionou-se 20mL de acetona gelada, agitando-se o conteúdo por 10 minutos. O material foi filtrado em funil de Büchner com papel filtro, lavando a amostra com acetona até que o extrato ficasse incolor. O filtrado foi transferido para um funil de separação, onde acrescentou-se 30mL de hexano e 30mL de água destilada. Descartou-se a fase inferior, adicionou-se novamente água destilada e repetiu-se o procedimento por 4 vezes para ocorrer a remoção total da acetona. Transferiu-se o extrato superior para um balão volumétrico de 50mL, completando-se o volume com hexano. Realizou-se a leitura em espectrofotômetro (JENWAY 6705 UV/Vis.) a 470nm, usando hexano como branco, sendo o conteúdo total de carotenoides determinado pela equação 1 e os resultados expressos em μg de Licopeno. g^{-1} de amostra.

$$C = \frac{ABS \times 50\text{mL} \times 1000000}{3450 \times 100 \times g} \quad (\text{eq. 1})$$

Em que, C= Conteúdo de carotenoides da amostra, ABS= absorbância, g= gramas de amostra.

2.6.3 Carotenoides individuais

Do extrato que foi avolumado em balão volumétrico de 50mL e utilizado para realizar a leitura em espectrofotômetro do conteúdo total de carotenoides, foram retirados 25mL. A estes foram adicionados 25mL de solução de KOH 1,5M em etanol, realizando-se então a saponificação a frio por 18h na ausência de luz. Após adicionou-se hexano para ocorrer a separação das fases, removendo o extrato que foi concentrado em rotaevaporador à 35°C e

dissolvido na fase móvel inicial (metanol:acetonitrila, 30:70 v/v). O extrato diluído foi transferido para tubos de eppendorf e centrifugado nas condições de 3420g por 10 minutos. Alíquotas do sobrenadante (25µL) foram injetadas em um sistema HPLC-Shimadzu, com injetor automático, detector UV-visível a 450nm, coluna de fase reversa Ultracarb ODS (30) (5µm, 4,6mm x 150mm) com fase estacionária octadecil e uma coluna de guarda CLC-GODS (4) com fase estacionária de octadecil, ambas pré acondicionadas a 25°C.

sistema HPLC-Shimadzu usando detector UV-visível a 450nm. A separação foi efetuada utilizando um sistema de eluição por gradiente de metanol, acetonitrila e acetato de etila, com um fluxo de 1mL.min⁻¹, iniciando a corrida com a fase móvel composta de 30% de metanol e 70% de acetonitrila, na qual permaneceu por 10 minutos; sendo modificada gradualmente para 10% de metanol, 80% de acetonitrila e 10% de acetato de etila até os 35 minutos; após modificada gradualmente para 5% de metanol, 80% de acetonitrila e 15% de acetato de etila até os 40 minutos; a partir dos quais retornou a fase móvel inicial até os 45 minutos. Para a identificação e quantificação dos compostos foram utilizadas curvas de padrões preparadas com os padrões cromatográficos correspondentes a β-caroteno (Bio Chemika, ≥ 98,0 %), luteína (Sigma, ≥ 98,0 %), zeaxantina (ChromaDex, ≥ 83,6 %) e licopeno (ChromaDex, ≥ 74,7 %), sendo os resultados expressos em µg do composto.g⁻¹ de amostra.

2.6.4 Conteúdo total de compostos fenólicos

A quantificação do total dos compostos fenólicos foi realizada segundo o procedimento descrito por Swain e Hillis (1959) com algumas adaptações. Na extração dos compostos fenólicos, 5g de amostra foram adicionadas de 20mL de álcool metílico, sendo estes submetidos a agitação por 1h e centrifugação a 3420g por 10 minutos. Para a realização da reação, em um tubo de Falcon foram adicionados 4mL de água destilada, 150µL de álcool metílico, 100µL do extrato e 250 µL de Folin-Ciocalteu 0,25M, agitou-se, deixando-se reagir por 3 minutos. Após este período foram adicionados 500µL de carbonato de sódio 1M deixou-se reagir por 2h, sendo realizada a leitura em espectrofotômetro (JENWAY 6705 UV/Vis.) em 725nm. Para a quantificação dos compostos fenólicos utilizou-se uma curva de padrão preparada com ácido gálico, sendo os resultados expressos em mg de ácido gálico (EAG). 100g⁻¹ de amostra.

2.6.5 Compostos fenólicos individuais

A extração dos compostos fenólicos foi realizada segundo o método descrito por Häkkinen, Karenlampi e Heinonen (1998), com adaptações. Cinco gramas de amostra foram dissolvidas em 30 mL de metanol e após foram adicionados 4,9 mL de ácido clorídrico P.A. O extrato foi homogeneizado em banho de água à 35°C, na ausência de luz por 24h. Após este período, a mistura foi filtrada e o sobrenadante foi concentrado em rotaevaporador a 40°C por cerca de 30 minutos. O resíduo concentrado foi redissolvido em metanol até o volume final de 15 mL, o qual foi centrifugado (3420g por 10 minutos). Retirou-se uma alíquota do sobrenadante (30µL) para injetar no cromatógrafo. O cromatógrafo consistiu no sistema HPLC-Shimadzu, com injetor automático, detector UV-visível a 280nm, coluna de fase reversa RP-18 CLC-ODS (5µm, 4,6mm x 150mm) com fase estacionária octadecil e uma coluna de guarda CLC-GODS (4) com fase estacionária de octadecil, ambas pré acondicionadas a 25°C.

A fase móvel consistiu no gradiente de eluição utilizando solução aquosa de ácido acético (99:1, v/v) e metanol, com fluxo de 0,8 mL.min⁻¹, e um tempo total de corrida de 45 minutos, segundo metodologia descrita por Zambiasi (1997). O gradiente consistiu inicialmente de 100% de solução aquosa de ácido acético (99:1, v/v), permanecendo até os 25 minutos, a partir dos quais foi modificada para 60% de metanol e 40% de solução aquosa de ácido acético (99:1, v/v) gradualmente até 37 minutos, sendo então modificada para 95% de solução aquosa de ácido acético (99:1, v/v) e 5% de metanol gradualmente até os 42 minutos, retornando a fase móvel inicial aos 45 minutos. Os compostos fenólicos individuais foram identificados e quantificados com base da curva de calibração de padrões, os quais foram dissolvidos em metanol, incluindo a quercetina (Sigma, ≥ 98,0 %), ácido ferúlico (Sigma Aldrich, ≥ 99,0 %), epicatequina (Sigma, ≥ 90,0 %), ácido gálico (Fluka, ≥ 98,0 %), ácido elágico (Fluka, ≥ 96,0 %), catequina (Sigma ≥ 98,0%), miricetina (Bio Chemika, ≥ 95,0 %) e kaempferol (Bio Chemika, ≥ 95,0 %). Os resultados foram expressos em mg do composto.100g⁻¹ amostra.

2.6.6 Compostos antociânicos

A determinação do total de antocianinas foi realizada segundo o método descrito por Lees & Francis (1972), com algumas adaptações. Em um béquer coberto com papel alumínio pesou-se 1g de amostra, adicionou-se 25mL de álcool etílico acidificado (pH 1,00) com ácido clorídrico e deixou-se por 1h em repouso, agitando a cada 5 minutos. Após esse período, filtrou-se a amostra com o auxílio de um funil e algodão para um balão volumétrico de 50mL e avolumou-se com o etanol acidificado. A leitura foi realizada em espectrofotômetro (JENWAY 6705 UV/Vis.) a 520nm, usando álcool etílico acidificado como branco. O cálculo da concentração de antocianinas foi baseado na Lei de Beer e os resultados foram expressos em mg de cianidina 3-glicosídeo.100 g⁻¹ de amostra.

2.6.7 Atividade antioxidante

A atividade antioxidante foi determinada através da capacidade dos compostos presentes nas amostras em sequestrar o radical estável DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila). Para isto 0,1 g de amostra foram dissolvidas em 10 mL de água, deste extrato, pegou-se 300 µL nos quais foram adicionados 3,7 mL da solução de DPPH. Após 30 minutos foram realizadas leituras em espectrofotômetro (JENWAY 6705 UV/Vis.), no comprimento de onda de 517nm. A atividade antioxidante foi expressa em percentual de inibição do radical DPPH por 1 mg de amostra, sendo calculada através da equação 2.

$$\% \text{ Inibição} = \frac{\text{Absorbância do branco} - \text{Absorbância da amostra}}{\text{Absorbância do branco}} \times 100 \quad (\text{eq.2})$$

2.7 Caracterização das micropartículas

2.7.1 Eficiência de encapsulação (EE)

Devido ao suco de pitanga roxa apresentar compostos bioativos lipossolúveis e hidrossolúveis, a eficiência de encapsulação foi realizada levando em consideração essas duas classes de compostos. Para representar ambas as classes foram avaliados o teor de carotenoides e de compostos fenólicos.

A eficiência de encapsulação dos carotenoides foi realizada segundo o método descrito por Sutter, Buera e Elizalde (2007). Para realizar a quantificação dos carotenoides presentes na superfície das micropartículas, adicionou-se em um tubo de ensaio 0,1g de amostra e 5mL de hexano, agitou-se em um agitador vortex por 10 segundos, centrifugou-se a 3420g por 10 minutos, recolhendo o sobrenadante. Para a quantificação do total de carotenoides presentes dentro e fora das micropartículas, realizou-se a dispersão das micropartículas em 5mL de hexano, agitou-se vigorosamente para a remoção do total de carotenoides e filtrou-se com algodão para um balão de 10mL, lavando-se o resíduo com hexano. Ambas as frações recolhidas foram avaliadas espectrofotometricamente em 470 nm quanto ao teor total de carotenoides.

O resultado foi expresso em percentual de carotenoides encapsulados, sendo o cálculo realizado através da equação 3. O total de carotenoides e os carotenoides da superfície foram calculados de acordo com o item 2.6.2 (expressos em μg de Licopeno. g^{-1} de amostra)

$$\%EE = \frac{\text{total de carotenoides} - \text{carotenoides da superfície}}{\text{total de carotenoides}} \times 100 \quad (\text{eq.3})$$

A eficiência da encapsulação dos compostos fenólicos foi realizada segundo o método descrito por Deladino et al. (2008) e Laine et al. (2008), com algumas adaptações. Para realizar a quantificação dos compostos presentes na superfície, pesou-se 0,1g das micropartículas, adicionou-se 5mL de metanol, agitou-se em agitador vortex por 10 segundos e centrifugou-se a 3420g por 10 minutos, sendo posteriormente recolhida a fração de metanol. Para a quantificação do total de compostos presentes dentro e fora das micropartículas, pesou-se 0,1g das micropartículas, adicionou-se 5mL de água quando se utilizou as gomas (LAINE et al., 2008) e 5mL de ácido clorídrico 0,1M para a quitosana (KOSAJARU; D'ATH; LAWRENCE, 2006), para propiciar o rompimento das partículas. Ambas as frações recolhidas foram avaliadas quanto ao seu teor total de compostos fenólicos pelo método de Folin-Ciocalteu (SWAIN; HILLIS, 1959).

O resultado foi expresso em percentual do total de compostos fenólicos encapsulados, sendo o cálculo realizado através da equação 4. O total de compostos fenólicos e os compostos fenólicos da superfície foram calculados de acordo com o item 2.6.4 (expressos em mg de ácido gálico. 100g⁻¹ de amostra).

$$\%EE = \frac{\text{total de compostos fenólicos} - \text{compostos fenólicos da superfície}}{\text{total de compostos fenólicos}} \times 100$$

(eq.4)

2.7.2 Atividade antioxidante

A determinação da atividade antioxidante das micropartículas foi realizada de acordo com o procedimento descrito no item 2.6.7.

2.7.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A análise morfológica do S, A, Q, HXQ, X, HXT e T, das misturas físicas MFSA, MFSQ, MFSHXQ, MFSX, MFSHXT e MFST e das micropartículas de SA, SQ, SHXQ, SX, SHXT e ST, foi realizada com o auxílio de um microscópio eletrônico de varredura JEOL modelo JSM-6060 LV. As amostras foram fixadas em um suporte metálico com auxílio de uma fita dupla-face de carbono e recobertas com uma fina camada de ouro. A visualização foi realizada em aumentos de 300 a 2200 vezes, com uma voltagem de excitação de 10 a 15 kV.

2.7.4 Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)

A análise de DSC do S, A, Q, HXQ, X, HXT e T, das misturas físicas MFSA, MFSQ, MFSHXQ, MFSX, MFSHXT e MFST e das micropartículas de SA, SQ, SHXQ, SX, SHXT e ST foi realizada em equipamento TA Instruments modelo DSC Q20. Para cada amostra, 10 mg foram aquecidos em recipientes de alumínio a uma taxa de 10 °C.min⁻¹ entre 25 e 280 °C, com um fluxo de nitrogênio de 40mL. min⁻¹.

2.7.5 Difractometria de Raio-X

A caracterização do S, A, Q, HXQ, X, HXT e T, das misturas físicas MFSA, MFSQ, MFSHXQ, MFSX, MFSHXT e MFST e das micropartículas de SA, SQ, SHXQ, SX, SHXT e ST foi realizada em Difratorômetro de raios-x (X'pert PRO Multi-Purpose, PanAnalytical), onde a fonte de raios X foi de radiação Cu K α ($\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$), alimentado a 45 kV e 40 mA. A medida foi realizada sob o ângulo 2θ variando de 10 a 100 $^{\circ}$.

2.8 Perfil de liberação dos compostos encapsulados

O perfil de liberação dos compostos encapsulados foi avaliado em estudo *in vitro* simulando os fluídos gástrico e intestinal (CHIU et al., 2007; PARAMERA; KONTELES; KARATHANOS, 2011; ZHENG et al., 2011) e em água destilada (BELŠČAK-CVITANOVIĆ et al., 2011). Soluções de ácido cítrico 0,1M e fosfato dissódico, foram misturadas em proporções adequadas, a fim de se obter soluções com pH final de 2,00 e 8,00 (CHIU et al., 2007). A solução com pH 2,00 (simulação de fluído gástrico) continha 0,3% de enzima pepsina; e a solução com pH 8,00 (simulação de fluído intestinal) continha 0,1% de enzima pancreatina (PARAMERA; KONTELES; KARATHANOS, 2011). Foram pesadas 0,1g das micropartículas, adicionadas a 20 mL das soluções e incubadas a 37°C sob agitação, sendo retiradas alíquotas de 1,5 mL nos tempos 0, 20, 40, 60, 120, 180 e 240 minutos. As alíquotas foram submetidas a centrifugação (4000rpm/15min), sendo o sobrenadante destinado a análises nas micropartículas do total de compostos fenólicos e do total de carotenoides, de acordo com o procedimento descrito no item 2.7.1 (ZHENG et al., 2011). A quantidade de amostra retirada para as análises foi substituída pela mesma quantidade das respectivas soluções e água destilada (BELŠČAK-CVITANOVIĆ et al., 2011).

2.9 Estudo da estabilidade

2.9.1 Estudo da estabilidade à luz

As micropartículas foram acondicionadas em *vials* de vidro, onde parte foram armazenadas na ausência de luz e outra parte exposta a uma lâmpada de 100 W como fonte de luz artificial, disposta perpendicularmente e suspensa a 50 cm das amostras, de acordo com o procedimento descrito por Mاتيoli e Rodriguez-Amaya (2002). O teste de estabilidade a luz foi realizado a cada 7

dias por um período de 28 dias, a temperatura entre 20 e 25 °C, sendo avaliados os teores totais de compostos fenólicos, total de carotenoides e a atividade antioxidante.

2.9.2 Estudo de estabilidade à temperatura

Para a realização do estudo da estabilidade à temperatura, as micropartículas microcápsulas foram acondicionadas em *vials* de vidro em refrigerador a 4°C com umidade relativa de 53 %, e em sala climatizada a 25°C (SANSONE et al., 2011b; QV; ZENG; JIANG, 2011). O teste de estabilidade foi realizado por 12 semanas, sendo avaliadas nos tempos de 0, 2, 4, 8, 12 semanas, onde foi avaliado os teores totais de compostos fenólicos, totais de carotenoides e atividade antioxidante.

2.10 Análise estatística

Os resultados foram expressos em médias referentes às determinações realizadas em triplicata e submetidos à análise de variância.

O teste Tukey ($p < 0,05$) foi utilizado para avaliar a eficiência de encapsulação, a estabilidade dos compostos encapsulados armazenados na presença e ausência de luz e a estabilidade dos compostos encapsulados armazenados a 4 °C e 25° C, comparando os revestimentos e o perfil de liberação dos compostos encapsulados comparando os revestimentos e os fluídos.

O teste t ($p < 0,05$) foi utilizado para avaliar a eficiência de encapsulação, comparando grupos de compostos encapsulados, a estabilidade dos compostos encapsulados, comparando o armazenamento na ausência e presença de luz, e a estabilidade dos compostos encapsulados, comparando o armazenamento a 4°C e 25 °C.

3 Resultados e discussão

3.1 Compostos bioativos presentes no suco de pitanga roxa

O suco de pitanga roxa apresenta cerca de 18,79% de matéria seca, sendo constituída principalmente de carboidratos, dentre os quais destacam-se os açúcares. Além destes macronutrientes, o suco apresenta altos teores de compostos bioativos, principalmente de compostos fenólicos (tabela 1) e carotenóides (tabela 2).

O teor total de compostos fenólicos no suco de pitanga roxa é de aproximadamente 1.901,21 mg de ácido gálico. 100g^{-1} de suco. Dentre os compostos fenólicos identificados no suco de pitanga roxa, por cromatografia líquida de alta eficiência (Figura 14), destaca-se o ácido gálico como composto majoritário, com 1.063,32 mg. 100g^{-1} de suco, o qual consiste em um ácido fenólico derivado do ácido hidroxibenzóico. Foram também identificados alguns flavonóides no suco, como a catequina (489,53 mg. 100g^{-1}) e a epicatequina (44,52 mg. 100g^{-1}), que pertencem a subclasse dos flavanóis, e a quercetina (33,45 mg. 100g^{-1}), pertencente a subclasse dos flavonóis.

O conteúdo total de antocianinas, que também fazem parte do grupo dos flavonóides, quantificado espectrofotometricamente, foi de 454,52 mg de cianidina-3-glicosídeo. 100g^{-1} de suco. As antocianinas são consideradas um importante grupo de pigmentos presente no suco de pitanga roxa, ao qual é atribuído a coloração dos frutos.

Tabela 1 – Teor de compostos fenólicos presentes no suco de pitanga roxa.

Compostos fenólicos	mg do composto. 100g ⁻¹ de suco	Percentual dos compostos identificados por HPLC (%)
Total de compostos fenólicos*	1901,21 ± 22,39	
Ácido gálico	1063,32 ± 9,20 a	65,20 ± 0,56 a
Catequina	489,53 ± 0,27 b	30,02 ± 0,02 b
Epicatequina	44,52 ± 0,80 c	2,73 ± 0,05 c
Quercetina	33,45 ± 0,10 d	2,05 ± 0,01 d
Somatório dos compostos identificados por HPLC	1630,82 ± 10,16	100,00
Total de antocianinas*	454,52 ± 5,75	

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si, ao nível de 5% de significância, comparando compostos identificados por HPLC. * Teor de compostos quantificados espectrofotometricamente.

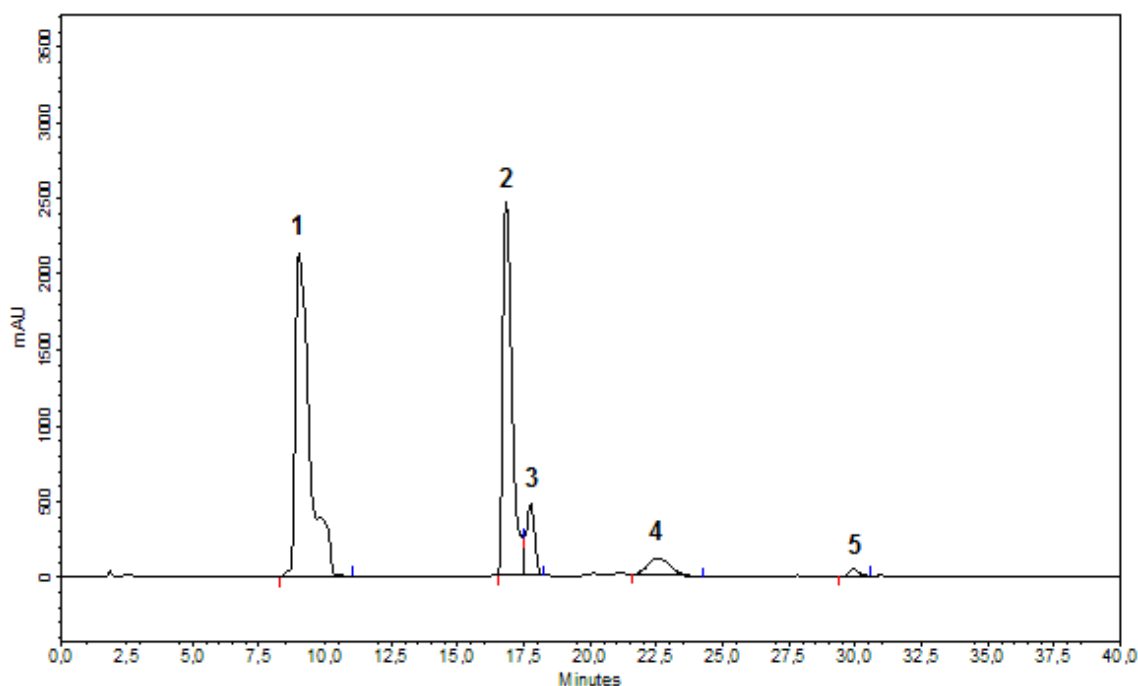


Figura 14 - Cromatograma típico de compostos fenólicos em suco de pitanga roxa. CLAE com coluna em fase reversa e detector UV (280 nm). 1: ácido gálico, 2 e 3: catequina, 4: epicatequina e 5: quercetina. Gradiente de ácido acético em água (1:99 v/v) e metanol com fluxo de 0,9mL/min.

Bagetti (2009) relata ter encontrado em pitanga roxa teores de compostos fenólicos e antocianinas (em base seca) de 2.462,77 mg de ácido gálico.100g⁻¹ mg.100g⁻¹ de fruta e de 723,40 mg antocianinas.100g⁻¹ de fruta,

respectivamente. Celli, Pereira-Netto e Beta (2011) quantificaram o teor de compostos fenólicos em pitanga roxa, encontrando 3.090 mg de ácido ferúlico. 100g^{-1} de fruta; e Hoffmann-Ribani, Huber, Rodriguez-Amaya (2009) identificaram em pitanga vermelha os flavonois quercetina, que também foi encontrado no suco de pitanga roxa deste estudo, miricetina e kampferol. Os estudos citados apresentaram maiores teores de compostos fenólicos, no entanto, diferenças no teor de compostos bioativos podem ocorrer devido a diferenças nas condições climáticas, tipo de solo, estágio de maturação, etc.

Os carotenoides também consistem em um grupo de pigmentos presentes na pitanga roxa, no entanto, estes compostos geralmente têm sua coloração mascarada pela coloração das antocianinas. O conteúdo total de carotenoides encontrado no suco de pitanga roxa foi de 866,49 μg de licopeno. g^{-1} de suco, dentre os quais foram identificados 4 compostos individuais (Figura 15). O licopeno foi o principal carotenoide identificado, compondo 76,92 % do total de carotenoides. Pelo cromatograma de separação dos carotenoides, foram identificados dois picos referentes a este composto, dos quais sugere-se (pela comparação com a literatura) que o primeiro seja o trans-licopeno e o segundo seja uma das formas isoméricas do cis-licopeno. Os demais carotenoides identificados foram o β -caroteno, a zeaxantina e a luteína.

Tabela 2 – Teor de carotenóides presentes no suco de pitanga roxa

Carotenoides	μg do composto. g^{-1} de suco	Percentual dos compostos identificados por HPLC (%)
Total de carotenóides*	886,49 $\pm$ 16,90	
Trans-licopeno	109,11 $\pm$ 5,09 a	40,76 $\pm$ 1,90 a
Cis-licopeno	96,79 $\pm$ 8,34 a	36,13 $\pm$ 3,12 a
β -caroteno	39,74 $\pm$ 2,33 b	14,85 $\pm$ 0,87 b
Zeaxantina	17,82 $\pm$ 0,71 c	6,66 $\pm$ 0,26 c
Luteína	4,19 $\pm$ 0,78 d	1,57 $\pm$ 0,29 d
Somatório dos compostos identificados por HPLC	267,66 $\pm$ 15,69	100,00

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si, ao nível de 5% de significância, comparando compostos identificados por HPLC. * Teor de compostos quantificados espectrofotometricamente.

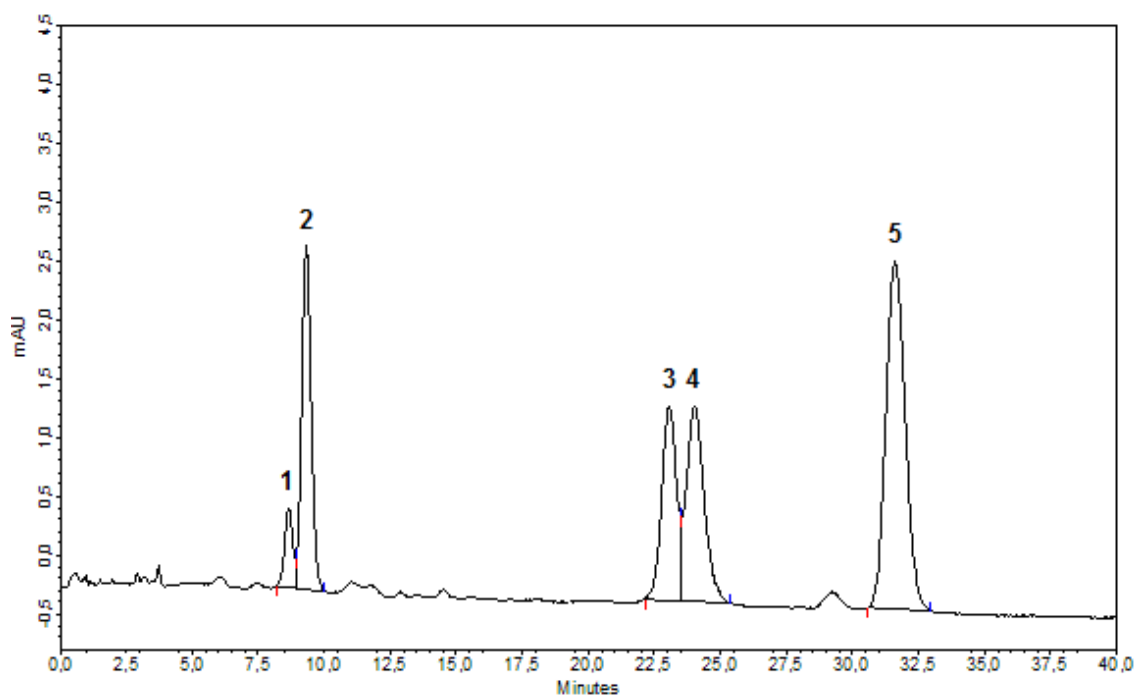


Figura 15 - Cromatograma típico dos carotenoides individuais em suco de pitanga roxa. Obtido por CLAE, com coluna em fase reversa e detector UV (450 nm). 1: Luteína, 2: Zeaxantina, 3: trans-licopeno, 4: cis-licopeno e 5: β -caroteno. Gradiente de metanol: acetonitrila e acetato de etila, com fluxo de 1,0mL/min.

Azevedo-Meleiro e Rodriguez-Amaya (2004) também constataram que o licopeno é o composto majoritário na pitanga, e além dos demais compostos presentes no suco de pitanga roxa, estes autores identificaram a rubixantina, β -criptoxantina, γ -caroteno e violaxantina. Filho et al. (2008) identificaram em polpa de pitanga os mesmos compostos encontrados no presente estudo, também estando o licopeno em maior quantidade; além deste, também foram identificados a rubixantina, β -criptoxantina, γ -caroteno e α -caroteno.

Na literatura, estudos que mencionam que o teor total de carotenoides da pitanga roxa varia entre 90,6 e 111 $\mu\text{g.g}^{-1}$ de fruta fresca, sendo os maiores conteúdos observados na pitanga vermelha; entretanto, o teor de carotenoides do suco de pitanga roxa, em base úmida, foi superior ao relatado nestes estudos (166,56 $\mu\text{g.g}^{-1}$ de suco). Em termos comparativos a forma mais precisa de se expressar os teores de compostos é em base seca, uma vez que o teor de umidade dos frutos é diferente, o que torna difícil a comparação entre os resultados expressos em base úmida.

Tanto o grupo dos compostos fenólicos como dos carotenoides apresentam compostos que são caracterizados por apresentarem alto potencial

antioxidante. A atividade antioxidante do suco de pitanga roxa foi medida através da capacidade dos compostos presentes em inibir o radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila). Como resultado obteve-se que 1 mg de suco de pitanga roxa proporciona 73,68 % de inibição do radical DPPH. Em estudo realizado por Celli, Pereira-Netto e Beta (2011), 5 mg de polpa de pitanga roxa liofilizada inibiram 43,5 % do radical DPPH, mesmo a fruta apresentando maior teor de compostos fenólicos. Esta diferença pode ter ocorrido porque os autores utilizaram para quantificar a atividade antioxidante o mesmo extrato utilizado na quantificação de compostos fenólicos, e a atividade do suco de pitanga roxa (liofilizado) foi medida após ser apenas diluído em água, sem ter sido realizada uma extração prévia, fazendo com que fosse medida a atividade antioxidante de todos os compostos presentes originalmente no suco de pitanga.

3.2 Eficiência de encapsulação

Os resultados referentes à eficiência de encapsulação dos compostos fenólicos e carotenoides presentes no suco de pitanga roxa estão dispostos na tabela 3.

Tabela 3 - Eficiência de encapsulação das micropartículas

Micropartículas	Eficiência de encapsulação (%)	
	Compostos fenólicos	Carotenoides
SA	68,53 $\pm$ 0,17 bA	64,61 $\pm$ 1,82 eB
SQ	61,20 $\pm$ 0,50 dB	79,49 $\pm$ 1,18 cA
SHXQ	63,81 $\pm$ 0,31 cB	84,52 $\pm$ 0,84 bA
SX	76,37 $\pm$ 0,38 aB	91,52 $\pm$ 1,03 aA
SHXT	70,27 $\pm$ 0,64 bB	74,06 $\pm$ 0,17 A
ST	70,22 $\pm$ 1,58 bB	92,67 $\pm$ 0,64 aA

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si, ao nível de 5% de significância. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha não diferem entre si, ao nível de 5% de significância.

A eficiência de encapsulação do suco de pitanga roxa foi influenciada tanto pelo revestimento quanto pelo grupo de compostos encapsulados. Com exceção da goma arábica, os maiores valores foram obtidos na encapsulação dos carotenoides.

Em relação a estes compostos, a utilização das gomas xantana e tara como materiais de revestimento apresentaram eficiência de encapsulação semelhante e significativamente superior aos demais polímeros, inclusive em relação ao hidrogel formado pela associação de ambas. A menor eficiência de encapsulação foi verificada ao utilizar-se como material de parede a goma arábica. Comparando-se a goma xantana, a quitosana e o hidrogel formado por ambas, observa-se que o hidrogel apresentou eficiência intermediária.

Na encapsulação dos compostos fenólicos, a utilização da goma xantana no material de revestimento foi significativamente mais eficiente, seguida pela goma tara, pelo hidrogel formado pela associação de ambas e pela goma arábica, as quais não diferiram significativamente entre si ao nível de 5 %. A quitosana apresentou menor eficiência de encapsulação para este grupo de compostos; no entanto, quando combinada com a goma xantana, sua eficiência aumentou significativamente.

Em diversos trabalhos de encapsulação de carotenoides foram utilizados como material de parede a goma arábica, principalmente por apresentar propriedades emulsificantes (NUNES; MERCADANTE, 2007; KOBORI, 2010; QV; ZENG; JIANG, 2011; ROMO-HUALDE et al., 2012). Nestes estudos a eficiência de encapsulação foi de 69 a 96 %, dependendo das condições específicas utilizadas. No presente estudo foi obtido a menor eficiência com a utilização desta goma em relação aos demais materiais avaliados.

Outros materiais de parede têm sido avaliados na encapsulação dos carotenoides, onde a eficiência demonstrou ser dependente do revestimento e do processo de encapsulação. Laos et al. (2007) avaliaram a encapsulação de suco de espinheiro marítimo, rico em β -caroteno, pelo método de gelificação ionotrópica, utilizando furcelana como material de parede. Como resultado, obtiveram 97 % de eficiência de encapsulação. Kha, Nguyen e Roach (2010) encapsularam suco de gac (*Momordica cochinchinensis*) em matriz de maltodextrina, por *spray dryer*. De acordo com os resultados, o aumento da temperatura do processo de 120 a 200 °C, reduziu a concentração de carotenoides e com isto a eficiência de encapsulação. Os maiores valores de eficiência, aproximadamente 85%, foram obtidos com a utilização de 20 % de maltodextrina.

A quitosana tem sido um dos principais revestimentos utilizados na encapsulação de compostos fenólicos, tanto isolada quanto em conjunto com outros revestimentos (KOSARAJU; D'ATH; LAWRENCE, 2006; DELADINO et al., 2008; ROSA, 2012). Nestes trabalhos a eficiência foi de 27 % a 81,4 %. Entretanto, no presente estudo a quitosana apresentou menor eficiência de encapsulação destes compostos em relação as demais gomas avaliadas. No estudo realizado por Rosa (2012) na encapsulação por liofilização de extrato de amora-preta, rico em compostos fenólicos, a eficiência foi dependente do revestimento utilizado. O mesmo comportamento foi obtido com as gomas xantana, quitosana e hidrogel de xantana e quitosana, sendo que os melhores resultados de eficiência também foram obtidos com a utilização da goma xantana como material de revestimento (70,6 %).

3.3 Microscopia Eletrônica de varredura (MEV)

A encapsulação do suco de pitanga roxa com os diferentes polímeros proporcionou a formação de micropartículas de formato não característico (Figura 16). A obtenção de micropartículas esféricas é dependente das condições do processo e do revestimento utilizado. Outros autores avaliaram a encapsulação de compostos fenólicos e também não obtiveram partículas de formato característico (LAINE et al., 2008; SOSA et al., 2011; CILEK et al., 2012; VISENTIN et al., 2012).

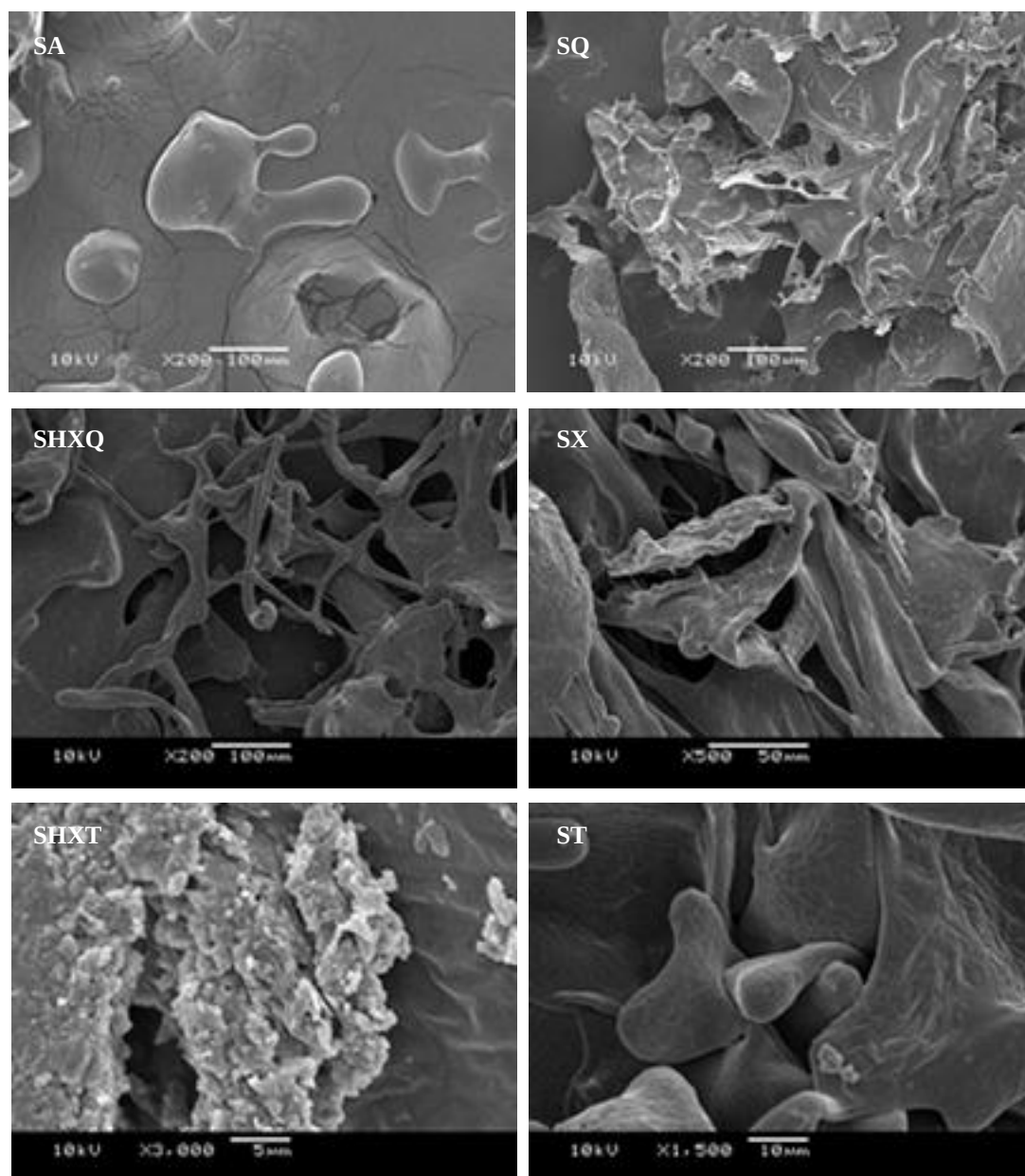


Figura 16. Micrografias de MEV das micropartículas.

3.4 Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)

Na figura 17 estão representados os termogramas de DSC do S (Fig a1, a2, a3, a4, a5 e a6), A, MFSa e SA (Fig b1, c1 e d1), Q, MFSQ e SQ (Fig b2, c2 e d2), HXQ, MFSHXQ e SHXQ (Fig b3, c3 e d3), X, MFSX e SX (Fig b4, c4 e d4), XHT, MFHXT e SHXT (Fig b5, c5 e d5), T, MFT e ST (Fig b6, c6 e d6).

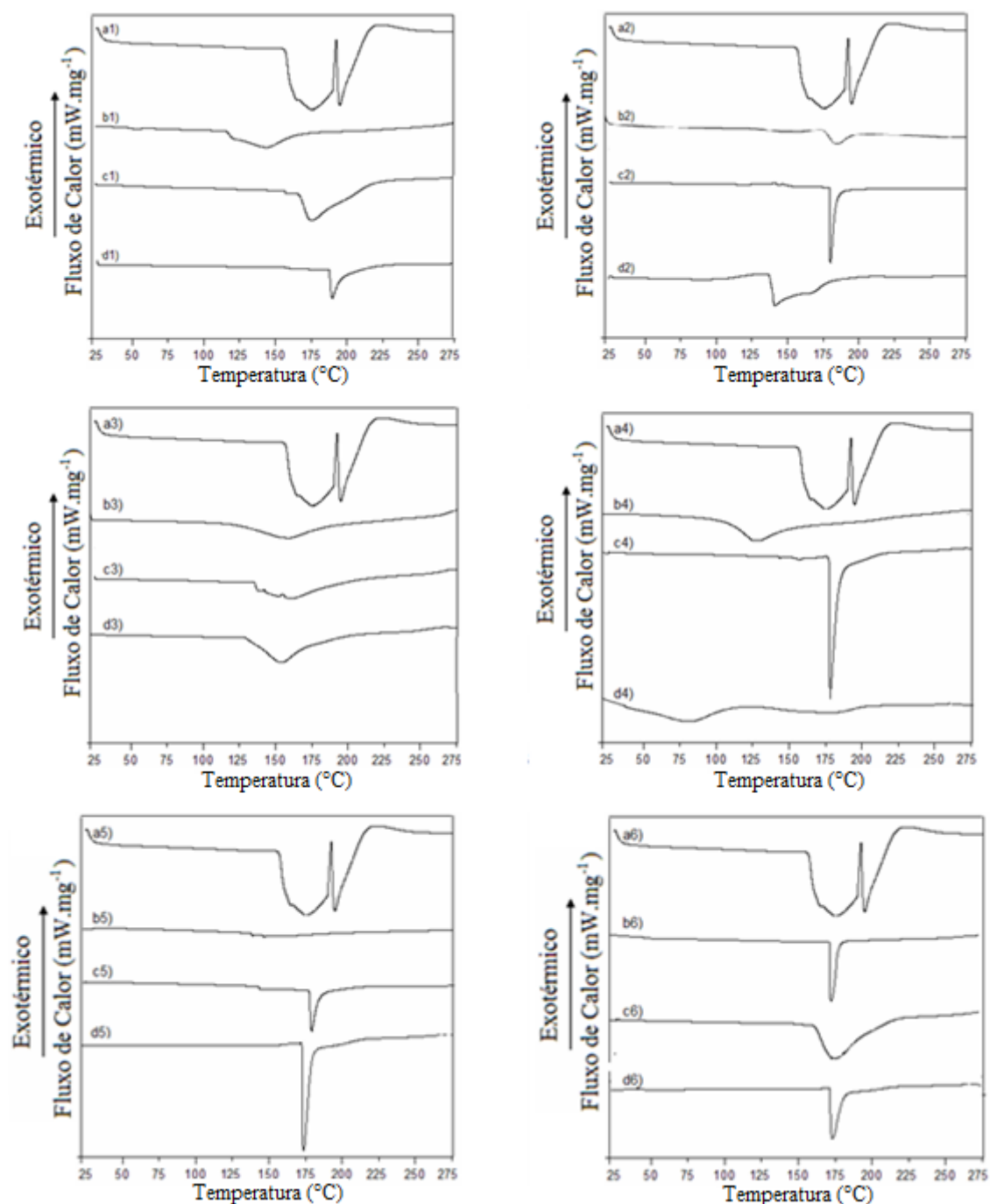


Figura 17 - Termogramas de DCS. a1, a2, a3, a4, a5 e a6) S; b1) A; b2) Q; b3) HXQ; b4) X; b5) HXT; b6) T; c1) MFSA; c2) MFSQ; c3) MFSHXQ; c4) MFSX; c5) MFSHXT; c6) MFST; d1) SA; d2) SQ; d3) SHXQ d4) SX; d5) SHXT; d6) ST.

No termograma de DSC do suco de pitanga roxa liofilizado, podem-se observar dois eventos endotérmicos, nas temperaturas de 175,03 °C e 195 °C, referentes aos diferentes constituintes do suco (Figura 17 a1, a2, a3, a4, a5 e a6). Nas transições endotérmicas dos polímeros utilizados na encapsulação foram obtidos picos endotérmicos nas temperaturas de 147,70 °C, 182,41 °C,

161,77°C, 129,01 °C e 175,44 °C para goma arábica, quitosana, hidrogel de goma xantana e quitosana, goma xantana e goma tara, respectivamente (Figura 17 b1, b2, b3, b4, b5 e b6).

A curva característica de uma mistura física, geralmente, é composta por picos referentes ao polímero utilizado como material encapsulante e ao composto encapsulado. No entanto, estes eventos não foram detectados nos termogramas referentes às misturas físicas realizadas entre o suco de pitanga roxa e os polímeros (Figura 17 c1, c2, c3, c4, c5 e c6), o que indica a ocorrência da amorfização do suco (MURA et al., 2002). De acordo com Wu et al. (2008), este comportamento é decorrente da interação dos compostos durante o aquecimento.

Pode-se observar pelo termograma das micropartículas de xantana (Figura 17 d4) que houve o desaparecimento dos eventos endotérmicos referentes ao suco de pitanga, o que sugere a proteção e interação do revestimento com o núcleo. Este resultado corrobora com os resultados obtidos para a eficiência de encapsulação, nos quais a goma xantana foi considerada o melhor material encapsulante para ambas as classes de compostos.

Nos termogramas das micropartículas de goma tara (Figura 17 d6) e hidrogel de goma xantana e quitosana (Figura 17 d3) pode-se visualizar somente o perfil térmico dos polímeros, o que também sugere a encapsulação do suco de pitanga.

Nas curvas térmicas das micropartículas de goma arábica (Figura 17 d1), quitosana (Figura 17 d2) e hidrogel de goma xantana e goma tara (Figura 17 d5), ainda pode-se visualizar um pico de menor intensidade referente ao suco não encapsulado, entretanto deslocado, o que também sugere a encapsulação. Ao relacionar com os resultados de eficiência, com a respectiva utilização destes revetimentos, obteve-se os menores valores de eficiência.

Resultados semelhantes foram obtidos por outros autores. Kalogeropoulos et al. (2010) confirmaram a encapsulação do extrato de *Hypericum perforatum*, rico em compostos fenólicos, em matriz de β -ciclodextrina por liofilização. Tanto em condições inertes, quanto oxidativas, os eventos térmicos desapareceram nas cápsulas, o que comprova a formação de complexos.

Sansone et al. (2011b) avaliaram a encapsulação de extratos de *Fadogia ancyllantha*, *Melissa officinalis* e *Tussilago farfara*, ricos em flavonoides, em uma matriz de maltodextrina/pectina por *spray-drying*. De acordo com seus resultados, somente a tendência térmica da matriz foi detectada nas micropartículas, indicando que os extratos foram bem encapsulados/embebidos na matriz polimérica.

A encapsulação de extrato de jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*), rico em antocianinas, em polietilenoglicol e alginato, foi avaliada por Santos et al. (2011). Não houve a interação química com a utilização do polietilenoglicol, pois picos endotérmicos referentes ao extrato e ao encapsulante foram visualizados. Com a utilização do alginato, somente um evento endotérmico foi observado, diferente aos eventos do polímero e do extrato, o que sugere interação entre os compostos.

Extratos de folhas de oliveira (*Olea europaea*), rico em compostos fenólicos, encapsulados em matriz de quitosana por *spray-dryer* (KOSARAJU; D'ATH; LAWRENCE, 2006), apresentaram comportamento térmico semelhante ao obtido no presente estudo ao se utilizar a quitosana como agente encapsulante, onde foi observado o deslocamento do pico para temperatura inferior. Este comportamento também foi observado por Vertzoni et al. (2006) ao encapsular licopeno em matriz de β -ciclodextrina por liofilização.

3.5 Difractometria de raio-x

Na figura 18 estão representados os difratogramas do S (Fig a1, a2, a3, a4, a5 e a6), A, MFSA e SA (Fig b1, c1 e d1), Q, MFSQ e SQ (Fig b2, c2 e d2), HXQ, MFSHXQ e SHXQ (Fig b3, c3 e d3), X, MFSX e SX (Fig b4, c4 e d4), XHT, MFHXT e SHXT (Fig b5, c5 e d5), T, MFT e ST (Fig b6, c6 e d6).

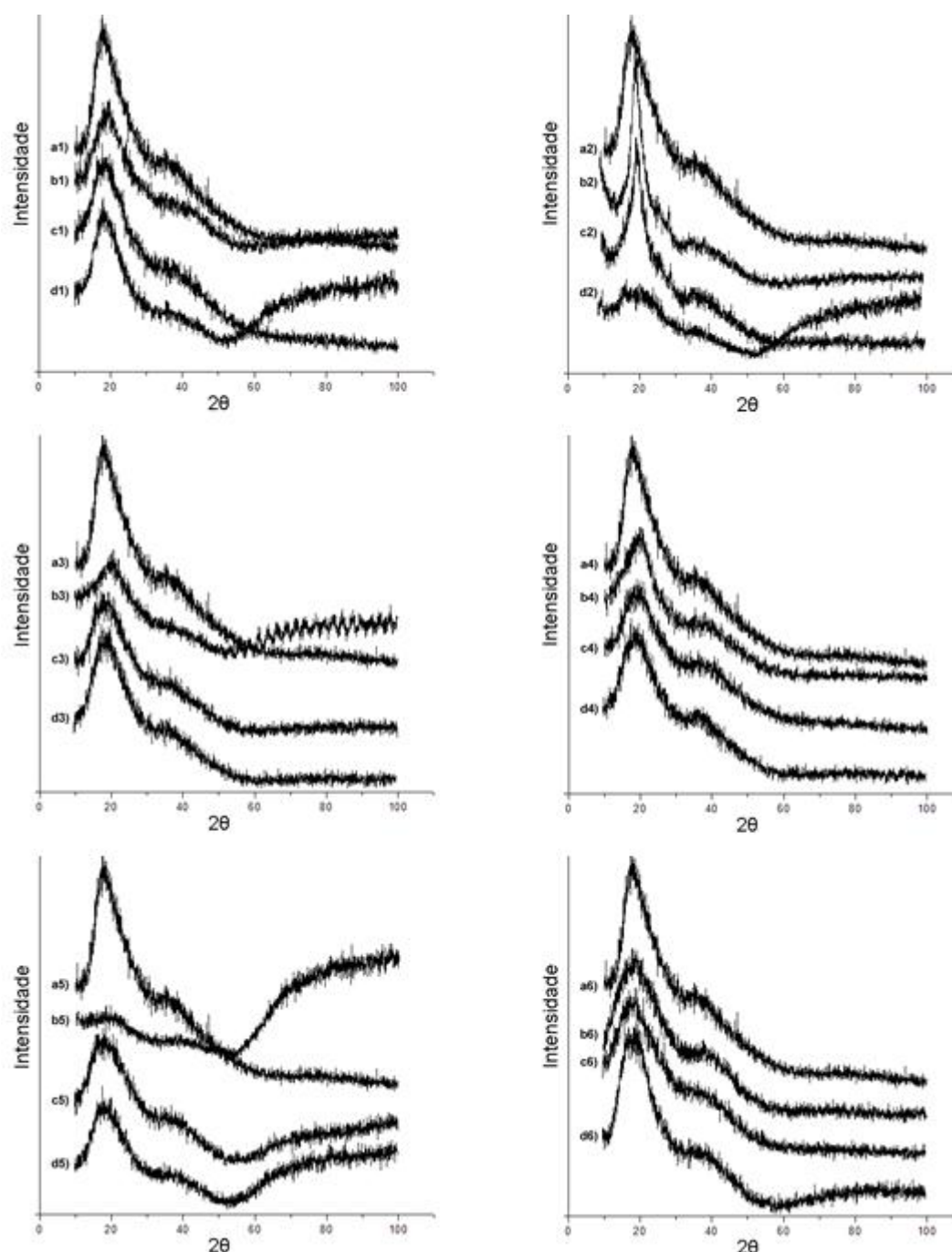


Figura 18 - Difratogramas de raio-x. a1, a2, a3, a4, a5 e a6) S; b1) A; b2) Q; b3) HXQ; b4) X; b5) HXT; b6) T; c1) MFSA; c2) MFSQ; c3) MFSHXQ; c4) MFSX; c5) MFSHXT; c6) MFST; d1) SA; d2) SQ; d3) SHXQ d4) SX; d5) SHXT; d6) ST.

Em todos os difratogramas obtidos observa-se um halo difuso, característico de substâncias amorfas. Entretanto, a intensidade dos picos obtidos nas micropartículas foi inferior a intensidade do suco de pitanga roxa.

De acordo com Takahashi (2009), a formação de complexos pode ser avaliada pela comparação do tamanho dos picos característicos da molécula

hóspede com o tamanho que aparecem no complexo. A diminuição dos picos pode representar uma complexação parcial.

Através do cálculo da intensidade relativa, que leva em consideração a altura do pico dos encapsulados em relação ao pico referente ao suco de pitanga roxa, observa-se que as micropartículas formadas pela utilização de quitosana, xantana e hidrogel de xantana e tara como material de parede, apresentaram os melhores resultados, nas quais a intensidade relativa foi de 28,03 %, 65,55 % e 57,60 %, respectivamente. Com os demais polímeros a intensidade relativa foi superior, alcançando com a goma arábica 70,07 %, com o hidrogel de goma xantana e quitosana 70,14 % e com a goma tara 82,03 %.

A difratometria de raio-X tem sido utilizada para confirmar a encapsulação de extratos vegetais ou sucos, entretanto os trabalhos apresentam somente os difratogramas do encapsulados, demonstrando o perfil amorfo das microcápsulas (SANSONE et al., 2011b; BASTOS et al., 2012); entretanto, é importante para esta constatação também avaliar o padrão da molécula hóspede. Para compostos puros, o difratograma demonstrando o perfil cristalino da molécula hóspede e a característica amorfa dos encapsulados tem sido sempre demonstrado (LI et al., 2005; SHU et al. 2006; ALEEM et al., 2008; BHATTACHARYA et al., 2012).

3.6 Perfil de liberação dos compostos encapsulados

Dentre as etapas envolvidas na liberação de compostos encapsulados, estão a absorção de solvente pela microcápsula, dissolução da parede, dissolução do recheio, permeação do recheio pela parede e difusão do recheio pelo solvente (ROCHA, 2009). O revestimento utilizado na encapsulação apresenta grande importância, uma vez que o mesmo é responsável pela liberação controlada do núcleo. O mecanismo de liberação pode ser modulado pelo peso molecular do polímero utilizado, pois quanto maior for o seu peso molecular mais lentamente ocorre a liberação *in vitro* dos compostos encapsulados (KUMARI; YADAV; YADAV, 2010). Os perfis de liberação de carotenoides e de compostos fenólicos provenientes do suco de pitanga roxa encapsulado foram avaliados em água, e em fluidos que simulam as condições gástricas (SFG) e intestinais (SFI), conforme as figuras 19 (apêndice A) e 20 (apêndice B), respectivamente.

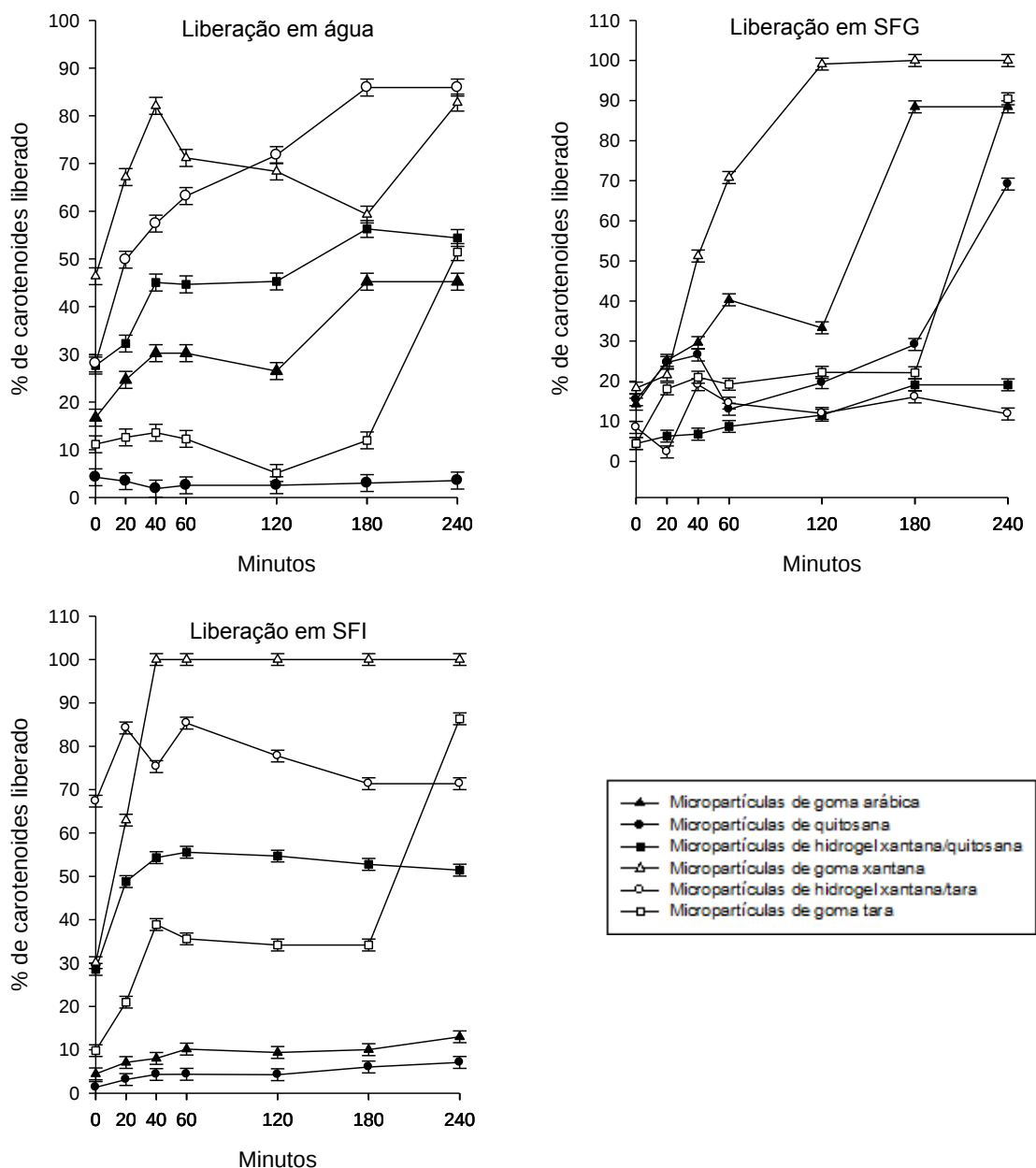


Figura 19 - Perfil de liberação dos carotenoides encapsulados, em água e em fluidos que simulam condições gástricas (SFG) e intestinais (SFI).

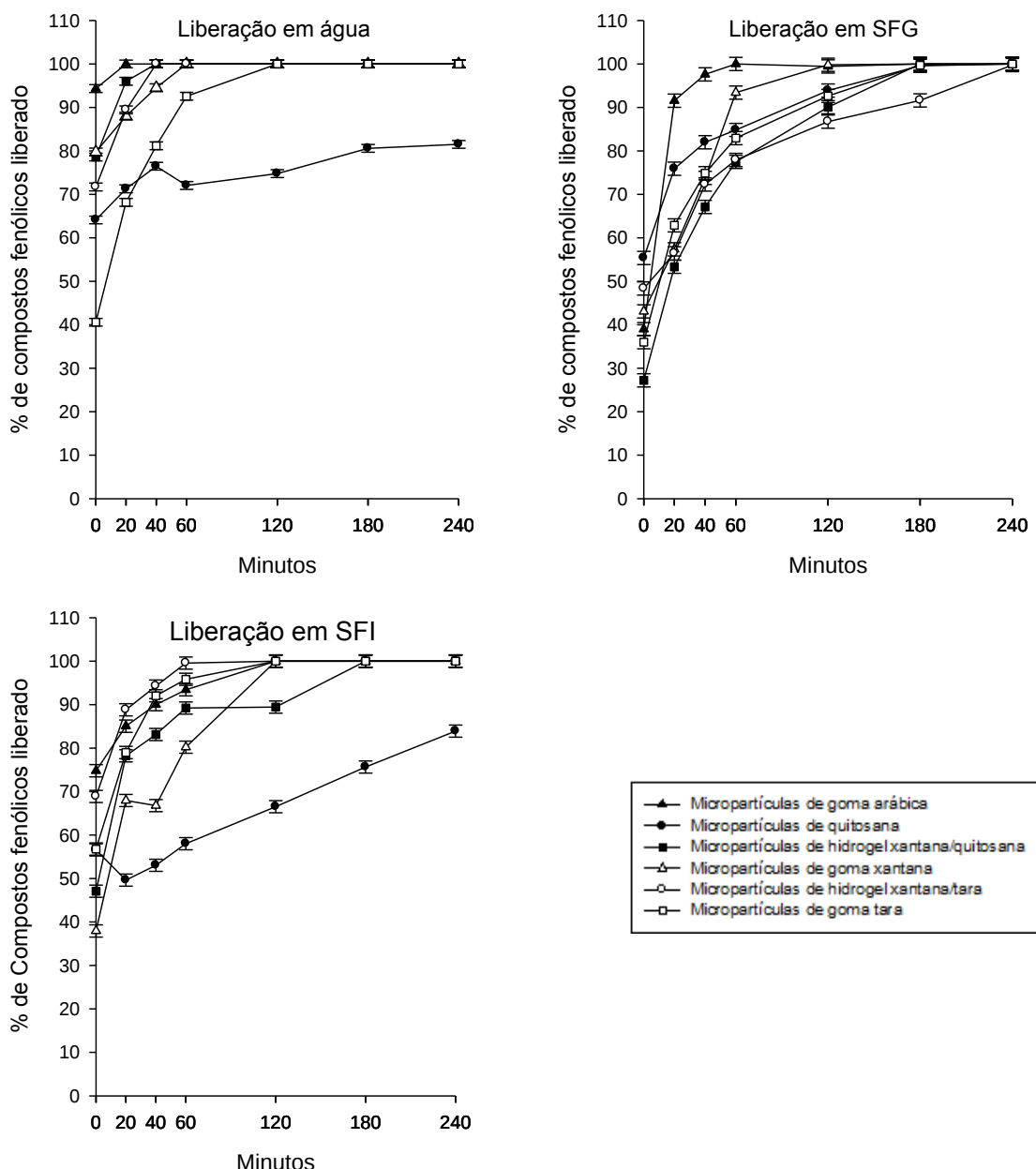


Figura 20 - Perfil de liberação dos compostos fenólicos encapsulados, em água e em fluidos que simulam condições gástricas (SFG) e intestinais (SFI).

3.6.1 Liberação em água

A liberação dos carotenoides das micropartículas foi dependente do polímero utilizado na encapsulação. As micropartículas revestidas com goma arábica e com os hidrogéis xantana/tara e xantana/quitosana, proporcionaram uma liberação dos carotenoides em água de forma gradual, sendo obtido em 180 minutos o máximo de liberação, de 45 %, 56 % e 86 %, respectivamente.

Comportamento diferenciado foi observado com as micropartículas de quitosana, que liberaram baixo conteúdo de carotenoides na água no momento

da dissolução, cerca de 4 %. Comportamento oposto foi observado pelas partículas revestidas com goma xantana, as quais liberaram 46 % no momento da dissolução, alcançando 82 % em 40 minutos. As micropartículas com goma tara propiciaram baixa liberação até 180 minutos, aproximadamente 12 %, e em 240 minutos liberaram 51 %.

O comportamento observado na liberação dos compostos fenólicos das micropartículas foi semelhante para aquelas revestidas com goma arábica, xantana e os hidrogeis xantana/tara e xantana/quitosana, ou seja, todas apresentaram altos percentuais de liberação no momento da dissolução, variando de 71 % a 94 %, sendo liberado o conteúdo total entre 20 a 60 minutos. As micropartículas de goma tara propiciaram menor liberação inicial, 40 %, atingindo 100 % somente aos 120 minutos. As micropartículas de quitosana liberaram no máximo 81 %, em 240 minutos.

São escassos os estudos relacionados à liberação de carotenoides em água. Em relação aos compostos fenólicos, Deladino et al. (2008) estudaram a liberação destes compostos provenientes de extrato de erva mate de cápsulas de alginato de cálcio e alginato de cálcio/quitosana, sendo liberado 35,5 % e 47,4 %, respectivamente, valores inferiores aos obtidos no presente estudo. Belščak-cvitanović et al. (2011) ao avaliar o perfil de liberação de compostos fenólicos proveniente de extratos de plantas medicinais encapsulados com alginato de cálcio/quitosana observaram que o perfil de liberação dos compostos encapsulados foi semelhante, independente da origem dos extratos. Além disto, a maior parte dos compostos foi liberada nos primeiros 20 minutos de contato com a água, corroborando com os resultados obtidos neste estudo.

Uma das formas mais comuns de liberação de compostos encapsulados é a ativação pela água, visto que a maioria dos materiais de parede é hidrossolúvel. Ao entrar em contato com o solvente, o material encapsulante pode se dissolver completamente liberando rapidamente os compostos encapsulados, ou então expandir-se, favorecendo a liberação gradual dos compostos (AZEREDO, 2005; MATALANIS; JONES; MCCLEMENTS, 2011). A característica de liberação controlada de compostos bioativos é de fundamental importância para que seja possível a aplicação de encapsulados em produtos alimentícios, pois auxilia a evitar a perda de compostos durante o processamento (AZEREDO, 2005; BELŠČAK-CVITANOVIĆ et al., 2011). Neste

contexto, os revestimentos utilizados neste estudo são mais recomendados na proteção de carotenoides, uma vez que a maioria dos revestimentos proporcionou a rápida liberação dos compostos fenólicos em água.

3.6.2 Liberação em fluido gástrico e intestinal

As micropartículas formadas com a utilização dos hidrogéis de xantana/tara e xantana/quitosana apresentaram baixa liberação de carotenoides no SFG, alcançando no máximo 19 % em 40 e 180 minutos, respectivamente. Este comportamento foi bem diferente do observado para as micropartículas revestidas com os polímeros individuais. As micropartículas revestidas com goma xantana liberaram 100 % do conteúdo em 180 minutos, e as revestidas com quitosana e com goma tara apresentaram altos percentuais de liberação até 180 minutos, de 69 % e 90 % do conteúdo, respectivamente. As partículas revestidas com a goma arábica também apresentaram altos percentuais de liberação, alcançando 88 % em 180 minutos.

No fluido SFI as micropartículas revestidas com os hidrogéis de xantana/tara e xantana/quitosana apresentaram liberação dos carotenoides superior àquelas obtidas no SFG, alcançando respectivamente 85 % e 55 % em 60 minutos. As micropartículas revestidas com goma arábica e quitosana proporcionaram baixos valores de liberação, proporcionando respectivamente 13 % e 7 %, em 240 minutos. As micropartículas revestidas com goma tara liberaram os carotenoides de forma gradual, proporcionando liberação máxima de 86 % do conteúdo em 240 minutos. E as partículas revestidas com goma xantana liberaram 100 % do conteúdo em apenas 40 minutos.

Em relação à liberação dos compostos fenólicos, tanto no fluido SFG quanto no SFI, todas as micropartículas apresentaram altos percentuais de liberação, com liberação de cerca de 50 % ou mais do conteúdo após 20 minutos.

Preconiza-se que os revestimentos utilizados na encapsulação sejam capazes de proteger os compostos encapsulados, liberando apenas pequenas quantidades em condições gástricas. Entretanto, no fluido intestinal devem liberar completamente seu conteúdo de forma gradual, visto que a maioria dos nutrientes e vitaminas são melhores absorvidos no intestino (SOMCHUE et al., 2009). Esta característica foi observada nas micropartículas revestidas por

ambos os hidrogéis, mas somente na encapsulação de carotenoides. Durante a formação dos hidrogéis ocorrem ligações entre as moléculas que fazem com que as propriedades dos polímeros isolados sejam fortemente afetadas, o que pode ter contribuído para a maior resistência à liberação dos compostos encapsulados no fluido gástrico.

São poucos os estudos relacionados à liberação de compostos lipofílicos encapsulados, dentre estes destacam-se as proteínas como material encapsulante. Chiu et al. (2007) avaliaram a liberação de licopeno extraído de resíduo de polpa de tomate, encapsulado com gelatina e ácido poli-glutâmico. No fluido gástrico (pHs 2,0 e 3,5) não houve liberação e no fluido intestinal (pHs 5,5 e 7,0) a liberação variou de 71 a 98 %. No estudo realizado por Somchue et al. (2009), utilizando β -lactoglobulina e proteína de ovo branco de galinha juntamente com alginato, para encapsular α -tocoferol; foi observado que a liberação do tocoferol foi dependente do revestimento, sendo liberado de 1,4 a 17,5 % no fluido gástrico e 21 a 54,8 % no fluido intestinal.

Em relação aos compostos fenólicos, Zheng et al. (2011) encapsularam extratos de *bayberry* utilizando etil celulose como material de parede e avaliaram o perfil de liberação em fluidos que simulam as condições gástricas e intestinais. A liberação dos polifenóis em fluido gástrico (pH 2,0) variou de 13,78 a 14,53 %, no qual foi mais acentuada nos primeiros 20 minutos, já em fluido intestinal (pH 8,0) a taxa de liberação foi de até 87,37 %, aos 40 minutos, sugerindo que os polifenóis serão eficientemente absorvidos no intestino. Sansone et al. (2011a) avaliaram a liberação de naringina e quercitina de micropartículas de celulose acetato ftalato; e observaram que no fluido gástrico foram liberados no máximo 14,8 % de quercitina e 21 % de naringina, e no intestinal, aproximadamente 100 %.

3.7 Estabilidade

3.7.1 Estabilidade a luz

Os resultados referentes ao estudo da estabilidade dos carotenoides, compostos fenólicos e atividade antioxidante das micropartículas armazenadas na presença e ausência de luz estão dispostos nas figuras 21 (apêndice C), 22 (apêndice D) e 23 (apêndice E) respectivamente.

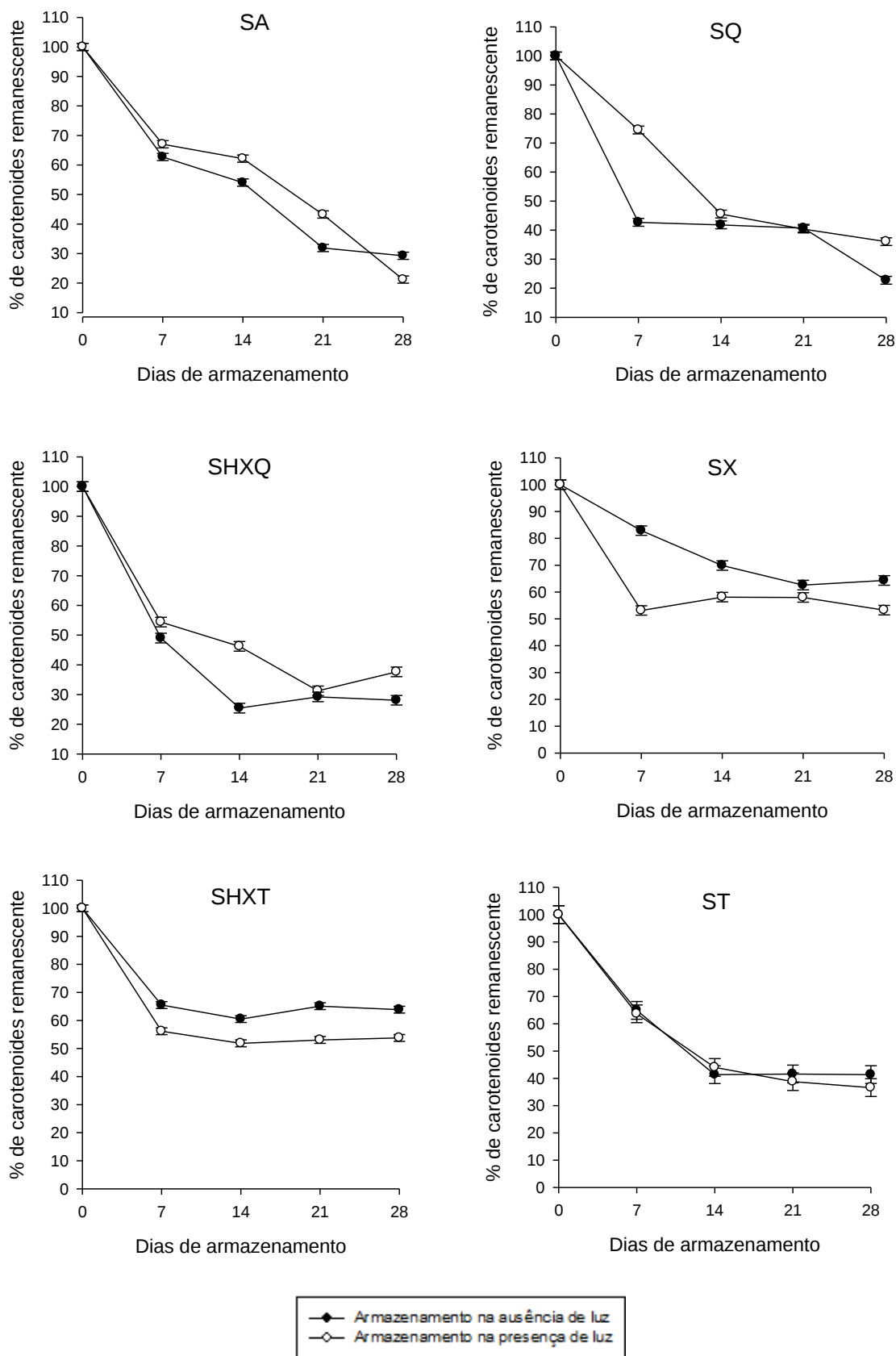


Figura 21 - Percentual de retenção de carotenoides em micropartículas armazenadas na presença e ausência de luz pelo período de 28 dias.

A proteção dos carotenoides proporcionada pela técnica de encapsulação em relação à exposição à luz foi dependente do polímero utilizado como revestimento. Até 7 dias de armazenamento na presença de luz, as micropartículas revestidas com quitosana, goma tara e goma arábica proporcionaram maior retenção dos carotenoides (74,5 %, 63,6 % e 62,7%, respectivamente), após estes compostos se degradaram gradualmente ao longo dos 28 dias. As micropartículas de goma xantana e de hidrogel xantana/tara proporcionaram maior estabilidade aos carotenoides após 7 dias de armazenamento, na presença e ausência de luz. Com estes revestimentos o teor de carotenoides permaneceu constante a partir da segunda semana de armazenamento, restando cerca de 53 % dos carotenoides ao término do armazenamento das micropartículas, na presença de luz.

Dentre os demais revestimentos expostos à luz, os carotenoides presentes nas micropartículas de hidrogel xantana/quitosana degradaram-se gradualmente ao longo dos 28 dias, enquanto nas micropartículas revestidas de quitosana a degradação foi mais acentuada após os 21 dias de armazenamento, revestimento com o qual as micropartículas apresentaram o maior percentual de degradação.

Na ausência de luz, as micropartículas revestidas com goma xantana e hidrogel xantana/tara proporcionaram maior estabilidade aos carotenoides em relação aos demais revestimentos, restando 64,3 % e 63,8 %, respectivamente, em 28 dias de armazenamento. As micropartículas revestidas com goma arábica e quitosana apresentaram degradação gradual dos carotenoides durante todo o período de armazenamento, enquanto que nas micropartículas revestidas com o hidrogel xantana/quitosana e goma tara, a degradação foi maior nos primeiros 14 dias. Nas micropartículas com os revestimentos de goma arábica e hidrogel xantana/quitosana ocorreu os maiores percentuais de degradação.

De acordo com a literatura, a proteção ao núcleo bioativo proporcionada pela técnica de encapsulação é dependente do composto encapsulado, do revestimento e das condições aplicadas. Mاتيoli e Rodriguez-Amaya (2002) ao avaliar a estabilidade de licopeno extraído de goiabas vermelhas (*Psidium guajava*) e encapsulado com goma arábica e com goma arábica e maltodextrina, pelo processo de liofilização e *spray-dryer*, constataram que a

degradação do licopeno foi mais acentuada nos primeiros 15 dias de armazenamento, tanto na presença como na ausência de luz. Estes autores também microencapsularam o licopeno em matriz de β - e γ -ciclodextrinas e verificaram que após 180 dias de estocagem o licopeno manteve-se constante no complexo licopeno/ γ -ciclodextrina e reduziu cerca de 80 % no complexo licopeno/ β -ciclodextrina (MATIOLI; RODRIGUEZ-AMAYA, 2003).

Blanch et al. (2007) extraíram licopeno de tomates, encapsularam com α -, β - e γ -ciclodextrinas, pela técnica de liofilização e pelo processo de extração em fluido supercrítico, e armazenaram as microcápsulas a temperatura ambiente, na presença de luz e oxigênio. Estes autores concluíram que a β -ciclodextrina foi o material de parede que proporcionou maior estabilidade para o licopeno após 6 meses de armazenamento.

Em relação aos compostos fenólicos, todos os polímeros utilizados como revestimento proporcionaram proteção destes compostos quando estocados na presença e ausência de luz. Todas as micropartículas apresentaram altos percentuais de retenção, sendo superiores a 83,3 %, tanto na ausência quanto na presença de luz, ao final do período de 28 dias de armazenamento.

Em relação à estabilidade dos compostos fenólicos, comportamento semelhante ao obtido com as micropartículas de suco de pitanga roxa foi observado por Zheng et al. (2011) e Wang et al. (2011). Ambos obtiveram percentual de retenção de compostos fenólicos superior a 85 % em microcápsulas armazenadas na presença de luz.

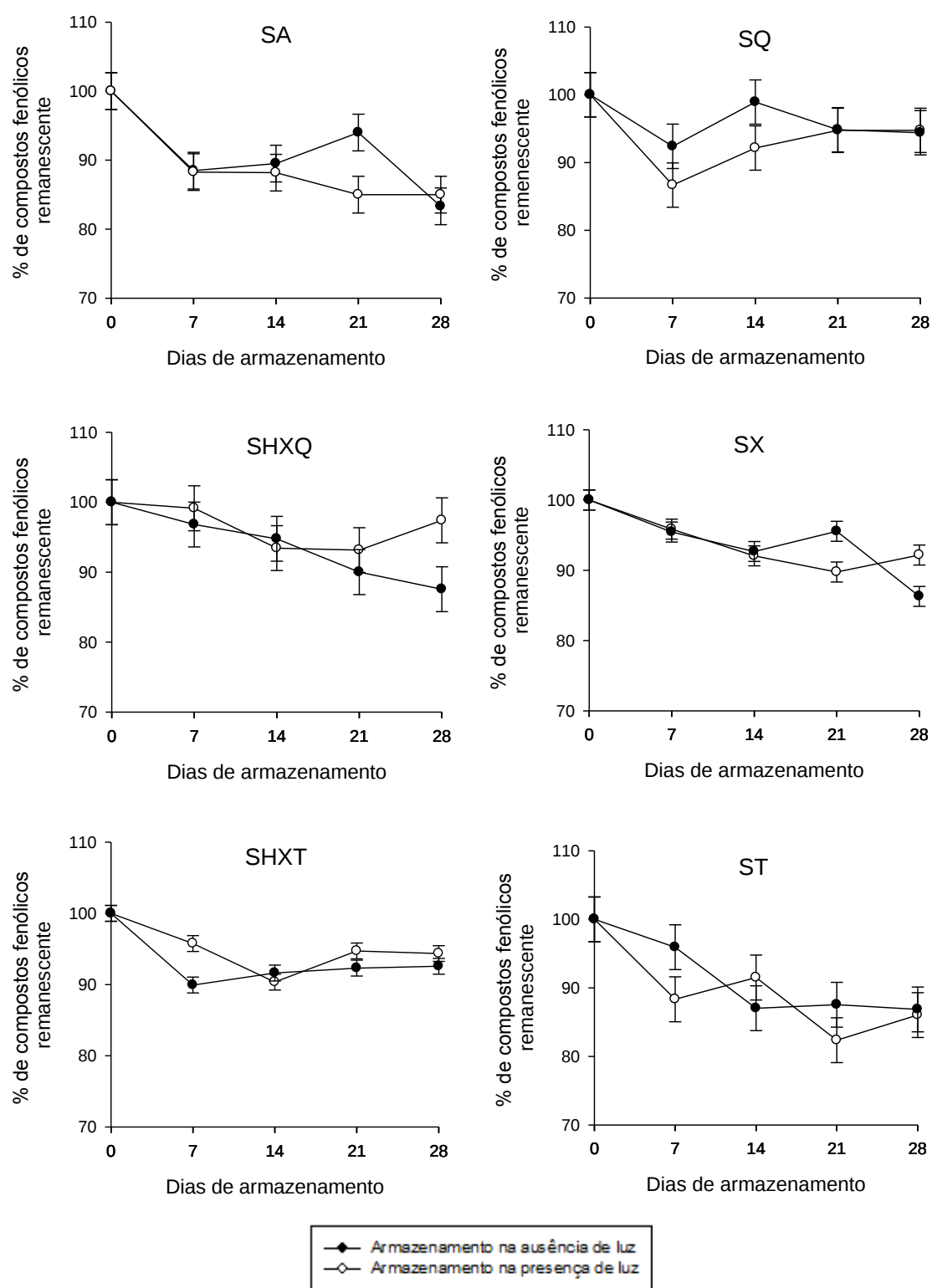


Figura 22 - Percentual de retenção de compostos fenólicos em micropartículas armazenadas na presença e ausência de luz pelo período de 28 dias.

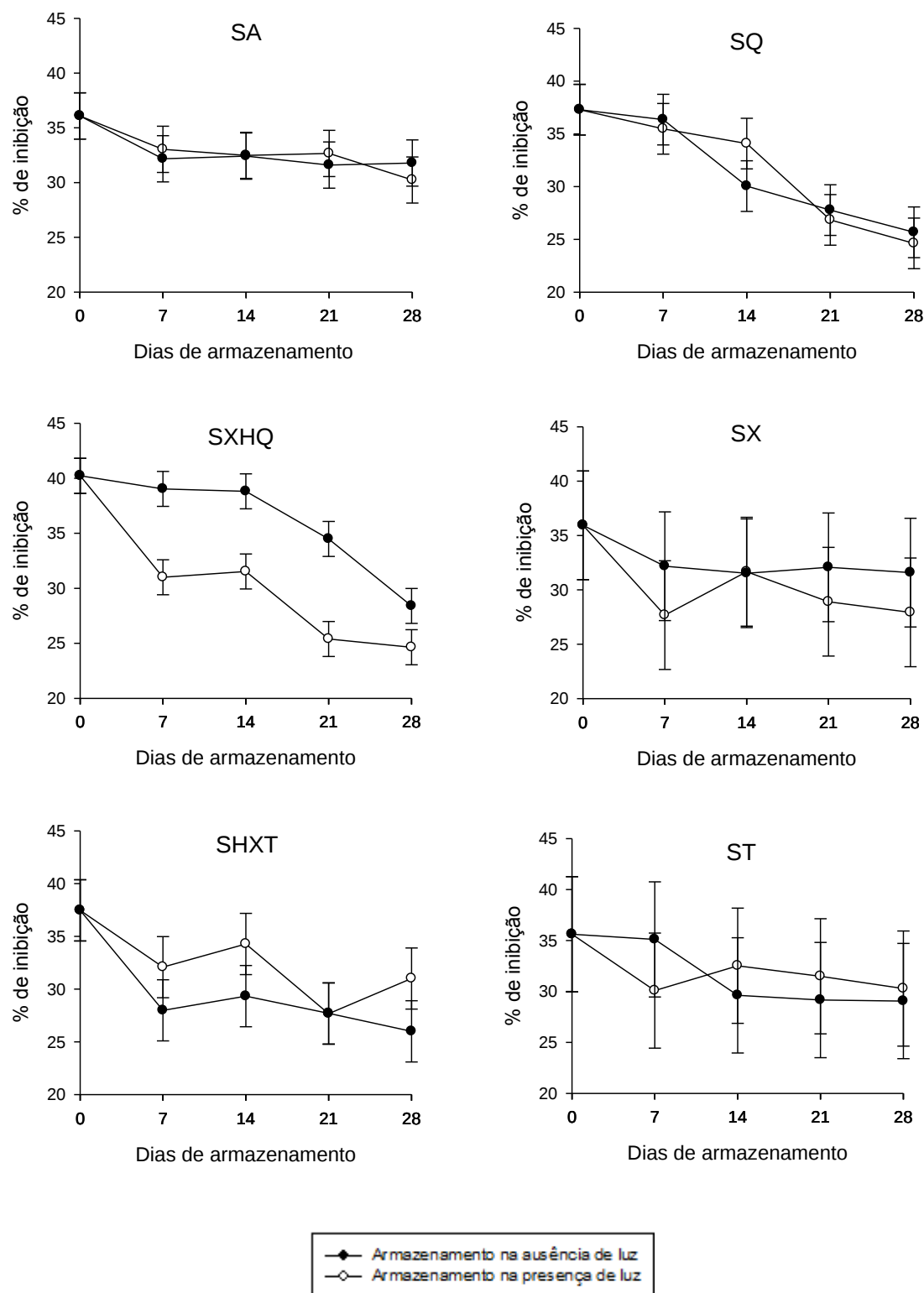


Figura 23 - Atividade antioxidante, expressa em percentual de inibição, dos compostos bioativos presentes nas micropartículas armazenadas na presença e ausência de luz pelo período de 28 dias.

A atividade antioxidante das micropartículas apresentou pequena redução durante o período de armazenamento na presença e ausência de luz,

onde as micropartículas revestidas de quitosana e hidrogel xantana/quitosana foram as que apresentaram redução mais acentuada (figura 22). Para estas micropartículas armazenadas na presença de luz, a redução foi maior após os 14 dias de armazenamento. A atividade antioxidante das micropartículas de hidrogel xantana/tara apresentou redução mais acentuada nos primeiros 7 dias de armazenamento; no entanto, as demais micropartículas apresentaram uma redução gradual durante o período de armazenamento.

Ao final do período de armazenamento a atividade antioxidante não variou significativamente entre micropartículas revestidas com o mesmo material de parede quando armazenadas na ausência e presença de luz, exceto para as micropartículas revestidas de hidrogel xantana/quitosana, que apresentaram menor atividade antioxidante quando armazenadas na presença de luz.

3.7.2 Estabilidade a temperatura

Os resultados referentes ao estudo da estabilidade dos carotenoides e compostos fenólicos e a atividade antioxidante das micropartículas armazenadas a 4°C e 25 °C estão dispostos nas figuras 24 (apêndice F), 25 (apêndice G) e 26 (apêndice H) respectivamente.

De acordo com os resultados observou-se uma degradação dos carotenoides ao longo do período de armazenamento, independente do revestimento e temperatura aplicada nas micropartículas. As micropartículas revestidas com goma xantana e o hidrogel xantana/tara proporcionaram a maior proteção aos carotenoides durante todo o período de armazenamento a 25 °C, retendo 41,4 % e 44, 3 %, respectivamente. Para as micropartículas revestidas com quitosana obteve-se os maiores percentuais de degradação. A 4 °C pode-se observar maior retenção dos carotenoides, principalmente, para as micropartículas revestidas com goma xantana, as quais preservaram 55,8 % destes compostos em 84 dias de armazenamento. As micropartículas revestidas com a goma arábica apresentaram o maior percentual de degradação.

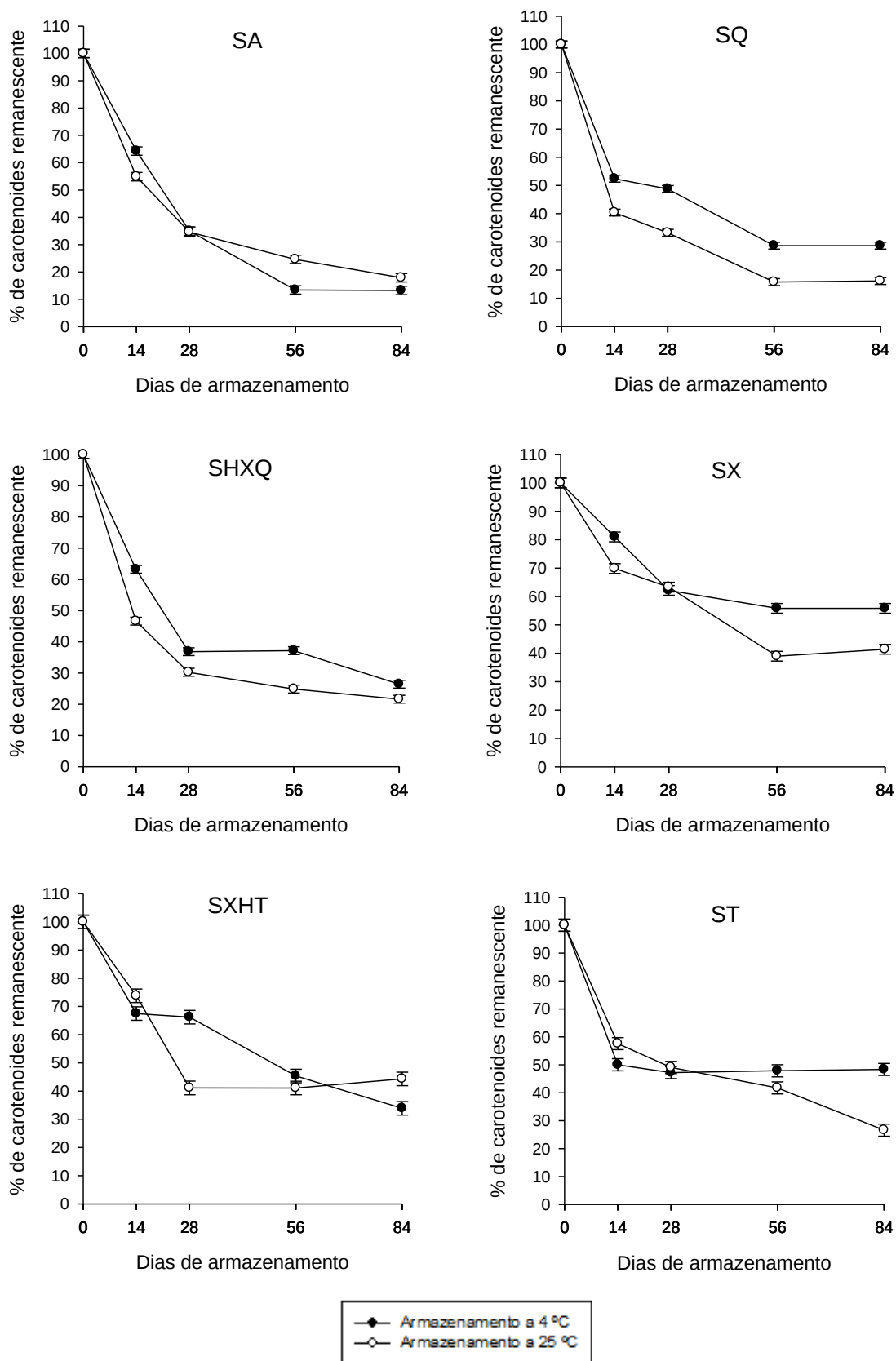


Figura 24 - Percentual de retenção de carotenoides em micropartículas armazenadas a 4 °C e 25 °C pelo período de 84 dias.

Chiu et al. (2007) avaliaram a estabilidade do licopeno de resíduos de polpa de tomate microencapsulado em 4,5 % de gelatina e 10 % de poli (ácido γ -glutâmico). Ao final de 30 dias de armazenamento a 4 °C, as microcápsulas apresentaram 81,4 % de licopeno remanescente, no entanto, as microcápsulas armazenadas a 25 °C pelo mesmo período, apresentaram 53,1 % de licopeno. O licopeno encapsulado apresentou menor percentual de degradação do que os carotenoides presentes nas micropartículas de suco de pitanga roxa armazenadas em ambas as temperaturas, ao final do período de 28 dias de armazenamento.

Em relação aos compostos fenólicos, independente do polímero utilizado como revestimento, houve maior preservação destes compostos nas micropartículas armazenadas a 25 °C, onde foram obtidos altos percentuais de preservação ao término do armazenamento. Até 84 dias de armazenamento, as micropartículas revestidas de hidrogel xantana/tara reteram 99,6 % destes compostos. Pelo fato de baixas temperaturas proporcionarem maior estabilidade aos compostos fenólicos, esperava-se que a maior preservação destes fosse observada para as micropartículas armazenadas a 4 °C, no entanto ocorreu o inverso, o que pode ter sido ocasionado por outras variáveis que não foram avaliadas, como por exemplo, a umidade relativa do ambiente.

Comportamento diferenciado em relação a temperatura foi observado por Bakowska-barczak e Kolodziejczyk (2011) e Nori et al. (2011). Ambos obtiveram maior preservação dos compostos fenólicos em temperaturas de refrigeração de 8 a 10 °C; entretanto, os valores foram semelhantes aos obtidos com as micropartículas de suco de pitanga roxa.

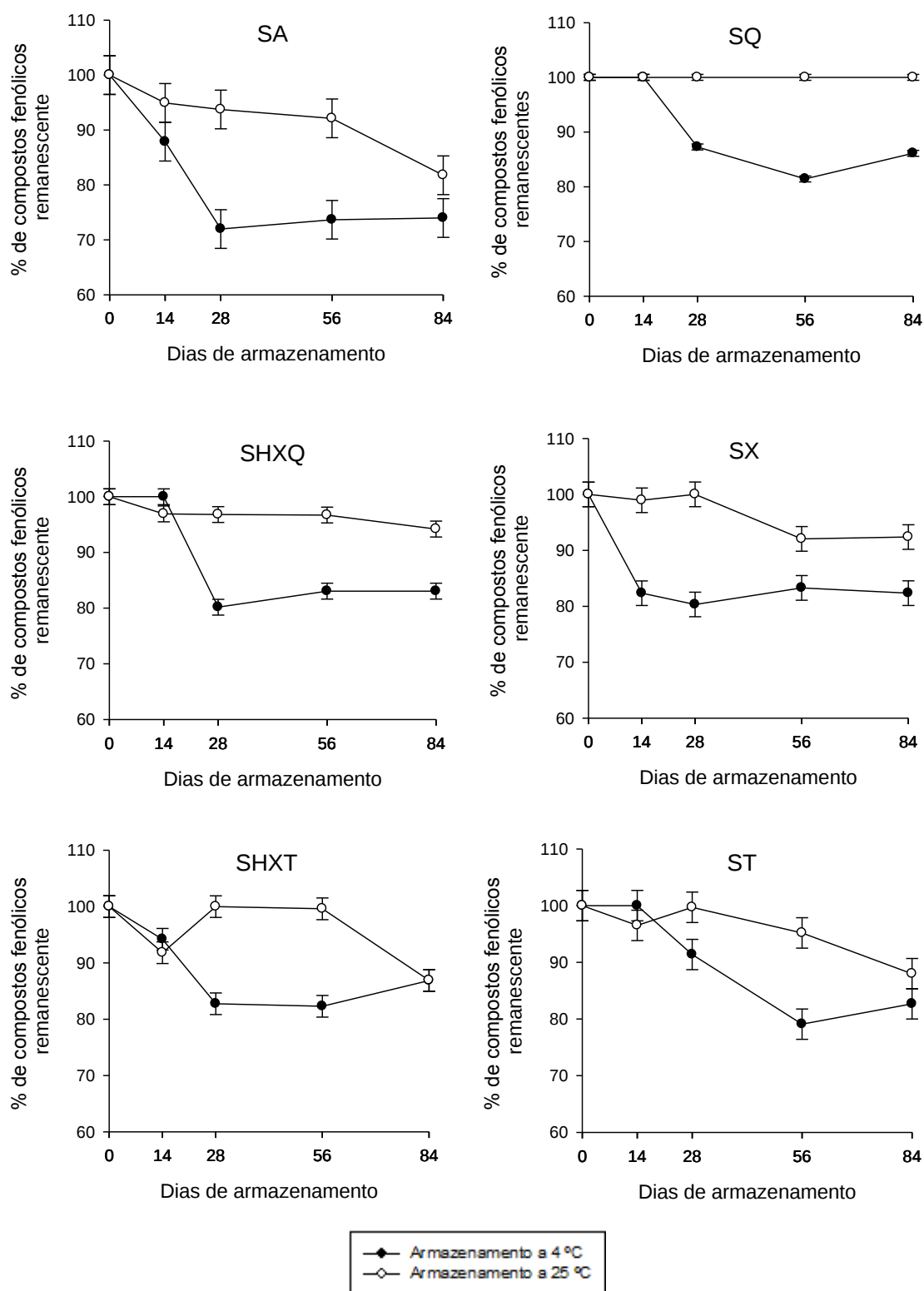


Figura 25 - Percentual de retenção de compostos fenólicos em micropartículas armazenadas a 4 °C e 25 °C pelo período de 84 dias.

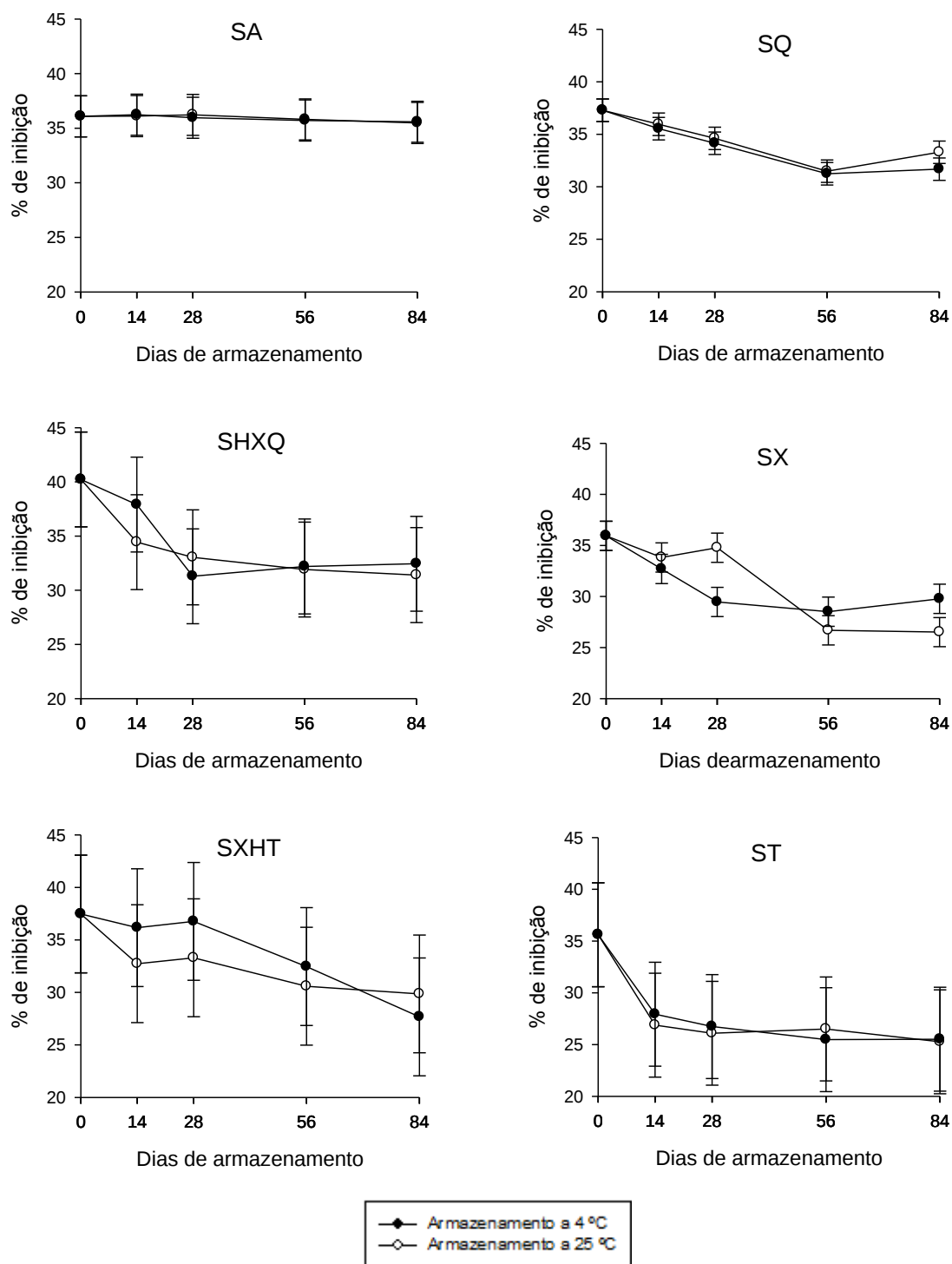


Figura 26 - Atividade antioxidante, expressa em percentual de inibição, dos compostos bioativos presentes nas micropartículas armazenadas a 4 °C e 25 °C pelo período de 84 dias.

Pode-se observar que houve pequena redução da atividade antioxidante em todas as micropartículas durante os 84 dias de armazenamento, em ambas as temperaturas. A maior redução foi observada para as micropartículas revestidas de goma tara. Estas micropartículas, assim como as micropartículas

revestidas pelo hidrogel de goma xantana e quitosana, apresentaram redução da atividade antioxidante mais acentuada nos primeiros 14 dias de armazenamento, em ambas as temperaturas. A atividade antioxidante das micropartículas de goma xantana armazenadas a 25 °C foi menor a partir dos 56 dias, enquanto que para as demais micropartículas a redução da atividade antioxidante foi gradual ao longo dos 84 dias de armazenamento, independente da temperatura utilizada.

Ao final do período de armazenamento a atividade antioxidante não variou significativamente para as micropartículas revestidas com o mesmo material de parede armazenadas em ambas as temperaturas, exceto para as micropartículas revestidas com quitosana e xantana, que apresentaram menor atividade antioxidante quando armazenadas a 4 °C e 25 °C, respectivamente.

Bakowska-Barczak; Kolodziejczyk (2011), Sansone et al. (2011a) e Sansone et al. (2011b) avaliaram a atividade antioxidante de compostos bioativos microencapsulados, e constaram que a atividade permaneceu inalterada ou apresentou redução de aproximadamente 10 % durante o período de 6 a 12 meses de armazenamento.

4 Conclusões

O suco de pitanga roxa apresentou altos teores de compostos fenólicos e de carotenoides. Dos compostos fenólicos presentes no suco de pitanga roxa o ácido gálico foi o composto majoritário, seguido pelas antocianinas catequina, epicatequina e quercetina. O licopeno foi o carotenoide encontrado em maior quantidade, seguido pelo β -caroteno, zeaxantina e luteína.

A confirmação da encapsulação do suco de pitanga roxa nas matrizes de goma arábica, quitosana, HXQ, X, HXT e T foi realizada pelas técnicas de DSC e raio-x, no entanto nenhuma das micropartículas apresentou formato característico, como foi observado através da técnica de MEV.

Os resultados foram influenciados pelo revestimento e grupo de compostos encapsulados. Com a goma xantana obteve-se a maior eficiência de encapsulação.

Os hidrogéis HXQ e HXT são os mais indicados para a liberação dos carotenoides em SFG e SFI, apresentando ainda liberação gradual destes compostos na água. Os compostos fenólicos apresentaram altas taxas de liberação, entretanto não de forma gradual, independente dos revestimentos e fluidos analisados.

As micropartículas armazenadas tanto na ausência quanto na presença de luz, como a 4 e 25 °C, apresentaram degradação dos carotenoides, sendo a goma xantana e o hidrogel HXT os revestimentos que proporcionaram maior estabilidade para estes compostos. Os compostos fenólicos demonstraram alta estabilidade, independente do revestimento utilizado. A atividade antioxidante das micropartículas apresentou redução durante o armazenamento, sendo atribuída principalmente em função da degradação dos carotenoides.

Referências

AHARONI, A.; GALILI, G. Metabolic engineering of the plant primary–secondary metabolism interface. **Current Opinion in Biotechnology**, v.22, n.2, p.239-244, 2011.

ALEEM, O.; KUCHEKAR, B.; PORE, Y.; LATE, S. Effect of β -cyclodextrin and hydroxypropyl β -cyclodextrin complexation on physicochemical properties and antimicrobial activity of cefdinir. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.47,n. 3, p. 535-540, 2008.

ANGELO, P. M.; JORGE, J. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, n. 1, p. 232-240, 2007.

ARGIN-SOYSAL, S.; KOFINAS, P.; LO, Y. L. Effect of complexation conditions on xanthan-chitosan polyelectrolyte complex gels. **Food Hydrocolloids**, v. 23, p. 202-209, 2009.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists** (method 920.47) Gaithersburg: A.O.A.C., 2005, Revision 1, 2006, chapter 26. p.6.

AZEREDO, H. M. C. de. Encapsulação: aplicação à tecnologia de alimentos. **Alimentos e Nutrição**, v. 16, n. 1, p. 89-97, 2005.

BAGETTI, Milena. **Caracterização físico-química e capacidade antioxidante de pitanga (*Eugenia uniflora* L.)**. 2009. 85f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos)-Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.

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

BASTOS, D. da S.; GONÇALVES, M. do P.; ANDRADE, C. T. de; ARAÚJO, K. G. de L.; LEÃO, M. H. M. da R. Microencapsulation of cashew apple (*Anacardium occidentale*, L.) juice using a new chitosan–commercial bovine whey protein isolate system in spray drying. **Food and Bioprocess Processing**, v.90, n.4, p.683-692, 2012.

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

BELŠČAK-CVITANOVIĆ, A.; STOJANOVIĆ, R.; MANOJLOVIĆ, V.; KOMES, D.; CINDRIĆ, I. J.; NEDOVIĆ, V.; BUGARSKI, B. Encapsulation of polyphenolic antioxidants from medicinal plant extracts in alginate–chitosan system enhanced with ascorbic acid by electrostatic extrusion. **Food Research International**, v. 44, p. 1094-1101, 2011.

BEZERRA, J. E. F.; SILVA, J. R. J. F.; LEDERMAN, I. E. **Pitanga (*Eugenia uniflora* L.)**. (Série Frutas Nativas, 1). Jaboticabal: Funep, 2000. 30p.

BHATTACHARYA, A.; CHATTOPADHYAY, B.; CHAKRABORTY, S.; ROY, B. N.; SINGH, G. P.; GODBOLE, H. M.; RANANAWARE, U. B.; MUKHERJEE, A. K. Tris(hydroxymethyl) aminomethane salt of ramipril: Synthesis, structural characterization from X-ray powder diffraction and stability studies. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.70, p.280-287, 2012.

BLANCH, G. P. CASTILLO, M. L. R. DEL; CAJA, M. DEL M.; PÉREZ-MÉNDEZ, M.; SÁNCHEZ-CORTÉS, S. Stabilization of all-trans-lycopene from tomato by encapsulation using cyclodextrins. **Food Chemistry**, v.105, p.1335-1341, 2007.

BOBBIO, F. O.; BOBBIO, P. A. **Química do processamento de alimentos**. 2 ed. São Paulo: Varela. 1992.151p.

BOURGAUD, F.; GRAVOT, A.; MILESI, S.; GONTIER, E. Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. **Plant Science**, v.161, p.839-851, 2001.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSER, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant. **Lebensm-Wiss Technologic**, v. 28, p.25-30, 1995.

BRIONES, A. V.; SATO, T. Encapsulation of glucose oxidase (GOD) in polyelectrolyte complexes of chitosan–carrageenan. **Reactive & Functional Polymers**, v.70, p.19–27, 2010.

CALVO, P.; HERNÁNDEZ, T.; LOZANO, M.; GONZÁLEZ-GÓMEZ. Microencapsulation of extra-virgin olive oil by spray-drying: Influence of wall material and olive quality. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 112, p. 852-858, 2010.

CASTANEDA-OVANDO, A.; PACHECO-HERNANDEZ, M. DE L.; PAEZ-HERNANDEZ, M. E.; RODRIGUEZ, J. A.; GALAN-VIDAL, C. A. Chemical studies of anthocyanins: A review. **Food Chemistry**, v.113, p.859-871, 2009.

CELLI, G. B.; PEREIRA-NETTO, A. B.; BETA, T. Comparative analysis of total phenolic content, antioxidant activity, and flavonoids profile of fruits from two varieties of Brazilian cherry (*Eugenia uniflora* L.) throughout the fruit developmental stages. **Food Research International**, v.44, n.8, p.2442-2451, 2001.

CHELLAT, F.; TABRIZIAN, M.; DUMITRIU, S.; CHORNET, E.; MAGNY, P.; RIVARD, C. H.; YAHIA, L. *In vitro* and *in vivo* biocompatibility of chitosan-xanthan polyelectrolyte complex. **Journal Biomedical Material Research**, v. 51, p. 107-116, 2000.

CHITARRA, M. A. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2.ed. rev. e ampl. Lavras: UFLA, 2005. 785p.

CHIU, Y. T.; CHIU, C. P.; CHIEN, J. T.; HO, G. H.; YANG, J.; CHEN, B. H. Encapsulation of Lycopene Extract from Tomato Pulp Waste with Gelatin and Poly(γ -glutamic acid) as Carrier. **Journal and Agricultural and Food Chemistry**, v.55, p.5123-5130, 2007.

CILEK, B.; LUCA, A.; HASIRCI, V.; SAHIN, S.; SUMNU, G. Microencapsulation of phenolic compounds extracted from sour cherry pomace: effect of formulation, ultrasonication time and core to coating ratio. **European Food Research and Technology**, v.235, p.235:587–596, 2012.

COULTATE, T. P. **Alimentos: a química de seus componentes**. 3 ed. Porto Alegre: Artmed. 2004. 368p.

DASH, M.; CHIELLINI, F.; OTTENBRITE, R. M.; CHIELLINI, E. Chitosan-A versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications. **Progress in Polymer Science**, v.36, p.981-1014, 2011.

DELADINO, L.; ANBINDER, P. S.; NAVARRO, A. S.; MARTINO, M. N. Encapsulation of natural antioxidants extracted from *Ilex paraguariensis*. **Carbohydrate Polymers**, v. 71, p. 126-134, 2008.

ELÇİN, Y. M. Encapsulation of urease enzyme in xanthan-alginate spheres. **Biomaterials**, v.16, p.1157-1161, 1995.

EMERY, F. da S.; SANTOS, G. B. dos; BIANCHI, R. de C. **A química na natureza**. Coleção Química no Cotidiano, vol. 1. Rio de Janeiro: Cabeça de Papel Projeções e Design LTDA, 2011. 70p.

FANG, Z., BHANDARI, B. Encapsulation of polyphenols - a review. **Trends in Food Science & Technology**, v.21, p.510-523, 2010.

FAVARO-TRINDADE, C. S.; PINHO, S. C.; ROCHA, G. A. Revisão: Microencapsulação de ingredientes alimentícios. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 11, n. 2, p.103-112, 2008.

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

GARCÍA-OCHOA, F.; SANTOS, V. E.; CASAS, J. A.; GÓMEZ, E. Xanthan gum: production, recovery, and properties. **Biotechnology Advances**, v.18, p.549-579, 2000.

- GOMES, P. **Fruticultura brasileira**. 13.ed. São Paulo: Nobel, 2007. 446p.
- GONNET, M.; LETHUAUT, L.; BOURY, F. New trends in encapsulation of liposoluble vitamins. **Journal of Controlled Release**, v.146, p.276–290, 2010.
- GOY, R. C.; ASSIS, O. B. G.; CAMPANA-FILHO, S. P. Produção de esferas de quitosana: meio para interação com metais em fase aquosa. **Revista Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, n. 33, p. 30-34 2004.
- GUILHEME, M. R. **Desenvolvimento de hidrogéis superabsorventes para uso eficiente de água**. 2006. 125f. Tese (Doutorado em Ciências)- Departamento de Química, Centro de Ciências Exatas, Universidade Estadual de Maringá, Maringá.
- HÄKKINEN, S. H.; KÄRENLAMPI, S. O.; HEINONEN, M.; MYKKANEN, M.; TORRONEN, A. R. HPLC Method for screening of flavonoids and phenolic acids in berries. **Journal Science Food Agricultural**, v.77, p. 543-551, 1998.
- HIGUERA-CIAPARA, I.; FELIX-VALENZUELA, L.; GOYCOOLEA, F. M.; ARGÜELLES-MONAL, W. Microencapsulation of astaxanthin in a chitosan matrix. **Carbohydrate Polymers**, v.56, p.41-45, 2004.
- HUBER, L. S.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Flavonóis e Flavonas: fontes brasileiras e fatores que influenciam a composição em alimentos. **Revista Alimentos e Nutrição (Araraquara)**, v.19, n.1, p.97-108, 2008.
- JACQUES, A.C.; PERTUZATTI, P.B.; BARCIA, M.T.; ZAMBIAZI, R.C. Compostos bioativos em pequenas frutas cultivadas na região sul do estado do Rio Grande do Sul. **Brazilian Journal of Food technology**, v.12, p. 123-127, 2009.
- JIMÉNEZ-PRANTEDA, M. L.; PONCELET, D.; NÁDER-MACÍAS, M. E.; ARCOS, A.; AGUILERA, M.; MONTEOLIVA-SÁNCHEZ, M.; RAMOS-CORMENZANA, A. Stability of lactobacilli encapsulated in various microbial polymers. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 113, p.179-184, 2012.

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

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

KALOGEROPOULOS, N., YANNAKOPOULOU, K., GIOXARI, A., CHIOU, A., MAKRIS, D. P. Polyphenol characterization and encapsulation in b-cyclodextrin of a flavonoid-rich *Hypericum perforatum* (St John's wort) extract. **Food Science and Technology**, v. 43, p. 882–889, 2010.

KARWOWSKI, M. S. **Estudo da estabilidade, comportamento reológico e dos compostos fenólicos de frutas da mata atlântica Curitiba**. 2012. 99f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos)-Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

KAUSHIK, V.; ROOS, Y. H. Limonene encapsulation in freeze-drying of gum arabic–sucrose–gelatin systems. **LWT**, v. 40, p. 1381-1391, 2007.

KHA, T. C.; NGUYEN, M. H.; ROACH, P. D. Effects of spray drying conditions on the physicochemical and antioxidant properties of the Gac (*Momordica cochinchinensis*) fruit aril powder. **Journal of Food Engineering**, v.98, n.3, p.385-392, 2010.

KING, A. R.D.; YOUNG, G. E.de D. Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. **Journal of American Dietetic Association**, v.99, n.2, p.213-218, 1999.

KITTIKAIWAN, P.; POWTHONGSOOK, S.; PAVASANT, P.; SHOTIPRUK, A. Encapsulation of *Haematococcus pluvialis* using chitosan for astaxanthin stability enhancement. **Carbohydrate Polymers**, v. 70, p. 378-385, 2007.

KLAYPRADIT, W.; HUANG, Y.-W. Fish oil encapsulation with chitosan using ultrasonic atomizer. **Food Science and Technology**, v.41, n.6, p.1133-1139, 2008.

KOBORI, C. N. **Composição e estabilidade de carotenoides em alimentos**. 2010. 247f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos)-Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

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

KOOP, H. S.; PRAES, C. E. DE O.; REICHER, F.; PETKOWICZ, C. L. DE O.; SILVEIRA, J. L. M. Rheological behavior of gel of xanthan with seed galactomannan: Effect of hydroalcoholic - ascorbic acid. **Materials Science & Engineering: C**, v. 29, p. 559-563, 2009.

KOSARAJU, L. S.; D'ATH, L.; LAWRENCE, A. Preparation and characterisation of chitosan microspheres for antioxidant delivery. **Carbohydrate Polymers**, v.64, p.163-167, 2006.

KRISHNAN, S.; KSHIRSAGAR, A. C.; SINGHAL, R. S. The use of gum arabic and modified starch in the microencapsulation of a food flavoring agent. **Carbohydrate Polymers**, v.62, p.309–315, 2005.

KUMARI, A.; YADAV, S. K.; YADAV, S. C. Biodegradable polymeric nanoparticles based drug delivery systems. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v.75, n.1, p.1-18, 2010.

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

LAOS, K.; LÕUGAS, T.; MÄNDMETS, A.; VOKK, R. Encapsulation of β -carotene from sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides* L.) juice in furcellaran beads. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, n.8, p.395-398, 2007.

LEE, J. W.; KIM, S. Y.; KIM, S. S.; LEE, Y. M.; LEE, K. H.; KIM S. J. Synthesis and Characteristics of Interpenetrating Polymer network Hydrogel Composed of Chitosan and Poly (acrylic acid). **Journal of Applied Polymer Science**, v.73, p.113-120, 1999.

LEES, D. H.; FRANCIS, F. J. Standardization of pigment analysis in Cranberries. **Hortiscience**, v.7, nº1, p.83-84, 1972.

LI, N.; ZHANG, Y-H.; WU, Y-N.; XIONG,X-L.; ZHANG, Y-H. Inclusion complex of trimethoprim with β -cyclodextrin. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.39, p.824–829, 2005.

LIMA, V. L. A. G. de; MÉLO, E. A.; LIMA, D. E. S. Fenólicos e carotenoides totais em pitanga. **Scientia Agricola**, Pernambuco, v.59, n.3, p.447-450, 2002.

LIRA JUNIOR, J. S.; BESERRA, J. E. F.; LEDEMAN, I. E.; SILVA JUNIOR, J. F. **Pitangueira**. Recife: Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária – IPA, 2007. 87p.

LIU, H.; NAKAGAWA, K.; KATO, D.-I.; CHAUDHARY, D.; TADE, M. O. Enzyme encapsulation in freeze-dried bionanocomposites prepared from chitosan and xanthan gum blend. **Materials Chemistry and Physics**, v.129, p.488-494, 2011.

LOKSUWAN, J. Characteristics of microencapsulated b-carotene formed by spray drying with modified tapioca starch, native tapioca starch and maltodextrin. **Food Hydrocolloids**, v.21, p.928-935, 2007.

LUCYSZYN, N.; QUORIN, M.; KOEHLER, H. S.; REICHER, F.; SIERAKOWSKI, M.- R. Agar/galactomannan blends for strawberry (*Fragaria x ananassa* Duchesne) cv. Pelican micropropagation. **Scientia Horticulturae**, v.4, p.358-364, 2006.

MAGNIN, D.; DUMITRIU, S.; CHORNET, E. Immobilization of enzymes into a polyionic hydrogel: chitoxan. **Journal of Bioactive and Compatible Polymers**, v. 18, p. 355-373, 2003.

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

MALATAINS, A.; JONES, O. G.; MCCLEMENTS, D. J. Structured biopolymer-based delivery systems for encapsulation, protection, and release of lipophilic compounds. **Food Hydrocolloids**, v.25, n.8, p.1865-1880, 2011.

MAO, C.-F.; ZENG, Y.-C.; CHEN, C.-H. Enzyme-modified guar gum/xanthan gelation: An analysis based on cascade model. **Food Hydrocolloids**, v.27, p.50-59, 2012.

MARTÍNEZ-RUVALCABA, A., CHORNET, E., RODRIGUE, D. Viscoelastic properties of dispersed chitosan/xanthan hydrogels. **Carbohydrate Polymers**, v.67, p.586-595, 2006.

MATIOLI, G.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Licopeno Encapsulado em Goma Arábica e Maltodextrina: Estudo da Estabilidade. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.5, p.197-203, 2002.

MATIOLI, G.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Microencapsulação do licoepno com ciclodextrinas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.23, p.102-105, 2003.

MCNAMEE, B. F.; O'RIORDAN, E. D.; O'SULLIVAN, M. Emulsification and microencapsulation properties of gum Arabic. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.46, p.4551-4555, 1998.

MORRIS, E. R. Bacterial polysaccharides. In: STEPHEN, A. M. **Food polysaccharides and their applications**. New York: Marcel-Dekker, 1995.

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

NEDOVIC, V.; KALUSEVIC, A.; MANOJLOVIC, V.; LEVIC, S.; BUGARSKI, B. An overview of encapsulation technologies for food applications. **Procedia Food Science**, v.1 p.1806-1815, 2011.

NERY, T. B. R.; BRANDAO, L. V.; ESPERIDIAO, M. C. A.; DRUZIAN, J. I. Biossíntese de goma xantana a partir da fermentação de soro de leite: rendimento e viscosidade. **Química Nova**, v.31, n.8, p.1937-1941, 2008.

NORI, M. P.; FAVARO-TRINDADE, C. S.; ALENCAR, S. M. de; THOMAZINI, M.; BALIEIRO, J. C. de C.; CASTILLO, C. J. C. Microencapsulation of propolis extract by complex coacervation. **LWT - Food Science and Technology**, v.44, p.429-435, 2011.

Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação. Universidade Estadual de Campinas. **Tabela brasileira de composição de alimentos** - TACO Versão II. 2. ed. Campinas: NEPA-UNICAMP, 2006. 113p.

NUNES, I. L.; MERCADANTE, A. Z. Encapsulation of Lycopene Using Spray-Drying and Molecular Inclusion Processes. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.50, n.5, p.893-900, 2007.

PARAMERA, E. I.; KONTELES, S. J.; KARATHANOS, V. T. Microencapsulation of curcumin in cells of *Saccharomyces cerevisiae*. **Food Chemistry**, v.125, p.892-902, 2011.

PARIZE, A. L.; SOUZA, T. C. R. de; BRIGHENTE, I. M. da C. Obtenção e caracterização de microesferas de quitosana contendo o corante urucum. **Tecnologia e Ciência Agropecuária**, v.2, n.1, p.15-18, 2008.

PARK, G. Y.; MUN, S.; PARK, Y.; RHEE, S.; DECKER, E. A.; WEISS, J.; MCCLEMENTS, D. J.; PARK, Y. Influence of encapsulation of emulsified lipids with chitosan on their in vivo digestibility. **Food Chemistry**, v.104, p.761-767, 2007.

PICOUT, D. R., ROSS-MURPHY, S. B., ERRINGTON, N., HARDING, S. E. Pressure Cell Assisted Solution Characterization of Polysaccharides. 1. Guar Gum. **Biomacromolecules**, v.2, p.1301-1309, 2001.

POLLARD, M.A.; FISCHER, P.A. Partial aqueous solubility of low-galactose-content galactomannans - What is the quantitative basis? **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v.11, p.184-190, 2006.

PRALHAD, T. RAJENDRAKUMAR, K. Study of freeze-dried quercetin–cyclodextrin binary systems by DSC, FT-IR, X-ray diffraction and SEM analysis. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.34, p.333-339, 2004.

QV, X.-Y.; ZENG, Z.-P.; JIANG, J.-G. Preparation of lutein microencapsulation by complex coacervation method and its physicochemical properties and stability. **Food Hydrocolloids**, v.25, p.1596-1603, 2010.

RAMAKRISHNAN , A.; PANDIT, N.; BADGUJAR, M.; BHASKAR, C.; RAO, M. Encapsulation of endoglucanase using a biopolymer Gum Arabic for its controlled release. **Bioresource Technology**, v.98, p.368-372, 2007.

RASCÓN, M. P.; BERISTAIN, C. I.; GARCÍA, H. S.; SALGADO, M. A. Carotenoid retention and storage stability of spray-dried encapsulated paprika oleoresin using gum Arabic and Soy protein isolate as wall materials. **LWT - Food Science and Technology**, v.44, p.549-557, 2011.

RIBEIRO, E. P.; SERAVALLI, E. A. G. **Química de alimentos**. 1.ed. São Paulo: Edgard Blücher Ltda, 2004. 184p.

ROCHA, G. A. **Produção, caracterização, estabilidade e aplicação de microcápsulas de licopeno**. 2009. 80f. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição)-Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

ROCHA, G. A.; FÁVARO-TRINDADE, C. S.; GROSSO, C. R. F. Microencapsulation of lycopene by spray drying: Characterization, stability and application of microcapsules. **Food and Bioproducts Processing**. v.90, n.1, p.37-42, 2012.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **A guide to carotenoid analysis in foods**. Washington: ILSI Press, 2001. 64p.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **Carotenoids and food preparation**: The retention of provitamin A carotenoids in prepared, processed, and stored foods. Washington DC: Usaid-Omni, 1997. 88p.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; KIMURA, M.; AMAYA-FARFAN, J. **Fontes brasileiras de carotenoides: Tabela brasileira de composição de carotenoides em alimentos**. Brasília: MMA/SBF. 100p. 2008.

ROMO-HUALDE, A.; YETANO-CUNCHILLOS, A. I.; GONZÁLEZ-FERRERO, C.; SÁIZ-ABAJO, M. J.; C. J. GONZÁLEZ-NAVARRO. Supercritical fluid extraction and microencapsulation of bioactive compounds from red pepper (*Capsicum annum* L.) by-products. **Food Chemistry**, v.133, p.1045-1049, 2012.

ROSA, C. G. da. **Microencapsulação de extratos metanólicos de amora-preta (*Rubus Fruticosus*) e ácido gálico**. 2012. 111f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) - Faculdade de Agronomia "Eliseu Maciel", Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

ROSSO, V. V. de; MERCADANTE, A. Z. Evaluation of colour and stability of anthocyanins from tropical fruits in an isotonic soft drink system. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v.8, n.3, p.347-352, 2007.

SAÉNZ, C.; TAPIA, S.; CHÁVEZ, J.; ROBERT, P. Microencapsulation by spray drying of bioactive compounds from cactus pear (*Opuntia ficus-indica*). **Food Chemistry**, v.114, p.616–622, 2009.

SANSONE, F.; PICERNO, P.; MENCHERINI, T.; VILLECCO, F.; D'URSI, A. M.; AQUINO, R. P. LAURO, M. R. Flavonoid microparticles by spray-drying: Influence of enhancers of the dissolution rate on properties and stability. **Journal of Food Engineering**, v.103, n.2, p.188-196, 2011a.

SANSONE, F.; MENCHERINI, T.; PICERNO, P.; D'AMORE, M.; AQUINO, R. P. LAURO, M. R. Maltodextrin/pectin microparticles by spray drying as carrier for nutraceutical extracts. **Journal of Food Engineering**, v.105, p.468-476, 2011b.

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

SANTOS, D. T.; ALBARELLI, J. Q.; BEPPU, M. M.; MEIRELES, M. A. A. Stabilization of anthocyanin extract from jabuticaba skins by encapsulation using supercritical CO₂ as solvent. **Food Research International**, (on line) 2011.

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

SHAHIDI, F.; HAN, X. Encapsulation of food ingredients. **Critical review in food science and nutrition**, v.33, n.6, p.501-547. 1993.

SHU, B.; YU, W.; ZHAO, Y.; LIU, X. Study on microencapsulation of lycopene by spray-drying. **Journal of Food Engineering**, v.76, p.664-669, 2006.

SHUKLA, K. R.; TIWARI, A. Carbohydrate polymers: Applications and recent advances in delivering drugs to the colon. **Carbohydrate Polymers**, v.88 p.399-416, 2012.

SINHA, V. R.; SINGLA, A. K.; WADHAWAN, S.; KAUSHIK, R.; KUMRIA, R. Review - Chitosan microspheres as a potential carrier for drugs. **International Journal of Pharmaceutics**, v.274, n.1-2, p.1-33, 2004.

SIRIWOHARN, T.; WROLSTAD, R. E.; FINN, C. E.; PERERIRA, C. B. Influence of cultivar, maturity, and sampling on Blackberry (*Rubus* L. Hybrids) anthocyanins, polyphenolics, and antioxidant properties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.52, p.8021-8030, 2004.

SITTIKIYOTHIN, W., TORRES, D., GONÇALVES, M. P. Modelling the rheological behaviour of galactomannan aqueous solutions. **Carbohydrate Polymers**, v.59, p.339-350, 2005.

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

SOMCHUE, W.; SERMSRI, W.; SHIOWATANA, J.; SIRIPINYANOND, A. Encapsulation of α -tocopherol in protein-based delivery particles. **Food Research International**, v.42, p.909-914, 2009.

SOSA, M. V.; RODRÍGUEZ-ROJO, S.; MATTEA, F.; CISMONTI, M.; COCERO, M. J. Green tea encapsulation by means of high pressure antisolvent coprecipitation. **The Journal of Supercritical Fluids**, v.56, n.3, p.304-311, 2011.

SUN, W.; GRIFFITHS, M.W. Survival of bifidobacteria in yogurt and simulated gastric juice following immobilization in gellan–xanthan beads. **International Journal of Food Microbiology**, v.61, p.17-25, 2000.

SUTTER, S. C.; BUERA, M. P.; ELIZALDE, B. E. β -carotene encapsulation in a mannitol matrix as affected by divalent cations and phosphate anion. **International Journal of Pharmaceutics**, v.332, p.45-54, 2007.

SWAIN, T.; HILLIS, W. E. The phenolic constituents of *Prunus domestica* L.- The quantitative analysis of phenolic constituents. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.10, p. 63-68, 1959.

SWORN, G. Xanthan gum. In: PHILLIPS, G. O.; WILLIAMS, P. A. **Handbook of Hydrocolloids**. New York: CRC Press, 2000. p. 103-116.

TAIZ, L; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719p.

UGHINI, F. Evaluation of xanthan and highly substituted galactomannan from *M. scabrella* as a sustained release matrix. **International Journal of Pharmaceutics**, v.271, p.197-205, 2004.

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

VENDRUSCOLO, C. W. ; ANDREAZZ, I. F. ; GANTER, J. L. M. S. ; FERRERO, C. ; BRESOLIN, T. M. B. . Xanthan and Galactomannan (from *M. scabrella*)

matrix tablets for oral controlled delivery of theophylline. **International Journal of Pharmaceutics**, v.296, p.1-11, 2005.

VERPOORTE, R.; MEMELINK, J. Engineering secondary metabolite production in plants. **Current Opinion in Biotechnology**, v.13, p.181-187, 2002.

VERTZONI, M.; KARTEZINI, T.; REPPAS, C.; ARCHONTAKI, H.; VALSAMI, G. Solubilization and quantification of lycopene in aqueous media in the form of cyclodextrin binary systems. **International Journal of Pharmaceutics**, v.309, n.1-2, p.115–122, 2006.

VIEBKE, C.; PICULELL, L. Adsorption of galactomannans onto agarose. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 29, n.1, p. 1-5,1996.

VISENTIN, A.; RODRÍGUEZ-ROJO, S.; NAVARRETE, A.; MAESTRI, D.; COCERO, M. J. Precipitation and encapsulation of rosemary antioxidants by supercritical antisolvent process. **Journal of Food Engineering**, v.109, n.1, p.9-15, 2012.

WANG, J.; CAO, Y.; SUN, B.; WANG, C. Characterisation of inclusion complex of trans-ferulic acid and hydroxypropyl- β -cyclodextrin. **Food Chemistry**, v.124, p.1069-1075, 2011.

WANG, J.; CAO, Y.; SUN, B.; WANG, C. Physicochemical and release characterisation of garlic oil- β -cyclodextrin inclusion complexes. **Food Chemistry**, v.127, p.1680-1685, 2011.

WANG, X.; WENK, E.; MATSUMOTO, A.; MEINEL, L.; LI, C.; KAPLAN, D. L. Silk microspheres for encapsulation and controlled release. **Journal of Controlled Release**, v.117, n.3, p.360-370, 2007.

WEERAKODY, R.; FAGAN, P.; KOSARAJU, S. L. Chitosan microspheres for encapsulation of α -lipoic acid. **International Journal of Pharmaceutics**, v.357, p.213-218, 2008.

WU, T-H.; YEN, F-L.; LIN, L-T.; TSAI, T-R.; LIN, C-C.; CHAM, T-M. Preparation, physicochemical characterization, and antioxidant effects of quercetin

nanoparticles. **International Journal of Pharmaceutics**, v.346, p.160–168, 2008.

YEO, Y.; BELLAS, E.; FIRESTONE, W.; LANGER, R.; KOHANE, D. S. Complex coacervates for thermally sensitive controlled release of flavor compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, n.19, p.7518-7525, 2005.

ZAMBIAZI, R.C. **The role of endogenous lipid components on vegetable oil stability**. 1997. 304f. Tese (Doutorado em Foods and Nutritional)- Sciences Interdepartamental Program. University of Manitoba Winnipeg, Manitoba, Canada.

ZHENG, L.; DING, Z.; ZHANG, M.; SUN, J. Microencapsulation of bayberry polyphenols by ethyl cellulose: Preparation and characterization. **Journal of Food Engineering**, v.104, p.89-95, 2011.

ZHENG, L.; DING, Z.; ZHANG, M.; SUN, J. Microencapsulation of bayberry polyphenols by ethyl cellulose: Preparation and characterization. **Journal of Food Engineering**, v.104, n.1, p. 89-95, 2011.

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

Apêndices

APÊNDICE A - Perfil de liberação dos carotenoides encapsulados, em água, SFG e SFI.

Micropartículas	Minutos						
	0	20	40	60	120	180	240
	Liberação em água						
SA	16,72 cA	24,66 dA	30,25 dA	30,25 dB	26,48 cB	45,23 cB	45,23 cB
SQ	4,24 eB	3,41 fB	1,85 fC	2,54 fC	2,56 dB	3,02 eC	3,55 dC
SHXQ	27,65 bA	32,27 cB	45,06 cB	44,66 cB	45,28 bB	56,29 bA	54,39 bA
SX	46,38 aA	67,16 aA	82,09 aB	71,17 aB	68,35 aB	59,30 bB	82,77 aB
SHXT	28,10 bB	49,84 bB	57,40 bB	63,18 bB	71,76 aB	85,94 aA	85,94 aA
ST	11,15 dA	12,59 eC	13,58 eC	12,27 eC	5,13 dC	11,96 dC	51,44 bB
Liberação simulando fluido gástrico							
SA	14,27 bB	25,18 aA	29,63 bA	40,30 bA	33,32 bA	88,45 bA	88,45 bA
SQ	15,39 bA	24,66 aA	26,54 bA	13,00 dA	19,65 cA	29,15 cA	69,17 cA
SHXQ	4,66 dB	6,30 dC	6,79 dC	7,81 eC	11,53 dC	19,10 deB	19,10 dB
SX	18,28 aC	21,51 bC	51,23 aC	70,80 aB	99,10 aA	100,00 aA	100,00 aA
SHXT	8,47 cC	2,36 eC	19,13 cC	14,52 dC	11,96 dC	16,08 eC	11,82 eC
ST	4,46 dB	18,10 cB	20,99 cB	19,24 cB	22,21 cB	22,11 dB	90,46 dA

APÊNDICE A - Perfil de liberação dos carotenoides encapsulados, em água, SFG e SFI.

Micropartículas	Minutos						
	0	20	40	60	120	180	240
Liberação simulando fluido intestinal							
SA	4,46 dC	7,08 eB	8,02 eB	10,17 eC	9,40 eC	10,05 eC	13,01 eC
SQ	1,34 eC	3,15 fB	4,32 fB	4,36 fB	4,27 fB	6,03 fB	7,09 fB
SHXQ	28,54 bA	48,79 cA	54,32 cA	55,55 cA	54,68 cA	52,77 cA	51,44 dA
SX	30,10 bB	62,96 bB	100,00 aA	100,00 aA	100,00 aA	100,00 aA	100,00 aA
SHXT	67,34 aA	84,21 aA	75,30 bA	85,33 bA	77,74 bA	71,36 bB	71,36 cB
ST	9,81 cA	20,99 dA	38,89 dA	35,58 dA	34,17 dA	34,17 dA	86,34 bA

Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) avaliando os diferentes revestimentos, dentro de cada fluído em cada tempo de liberação. Médias seguidas por letras maiúsculas diferentes na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) avaliando o fluído de liberação, em de cada tempo, dentro de cada revestimento.

APÊNDICE B - Perfil de liberação dos compostos fenólicos encapsulados, em água e em fluídos que simulam condições gástricas (SFG) e intestinais (SFI).

Micropartículas	Minutos						
	0	20	40	60	120	180	240
Liberação em água							
SA	94,43 aA	100,00 aA	100,00 aA	100,00 aA	100,00 aA	100,00 aA	100,00 aA
SQ	64,12 dA	71,27 dB	76,46 dB	72,05 cB	74,78 bB	80,58 bB	81,51 bB
SHXQ	78,59 bA	96,01 bA	100,00 aA	100,00 aA	100,00 aA	100,00 aA	100,00 aA
SX	79,74 bA	87,99 cA	94,53 bA	100,00 aA	100,00 aA	100,00 aA	100,00 aA
SHXT	71,10 cA	89,43 cA	100,00 aA	100,00 aA	100,00 aA	100,00 aA	100,00 aA
ST	40,58 eB	68,17 dB	81,18 cB	92,57 bB	100,00 aA	100,00 aA	100,00 aA
Liberação simulando fluído gástrico							
SA	38,97 dC	91,55 aB	97,60 aA	100,00 aA	100,00 aA	100,00 aA	100,00 aA
SQ	55,37 aB	75,88 bA	81,98 bA	84,82 cA	93,88 bA	99,57 aA	100,00 aA
SHXQ	27,20 fC	53,34 dC	67,11 dC	77,49 eC	90,06 bcB	100,00 aA	100,00 aA
SX	43,09 cB	57,35 dC	73,79 cB	93,41 bB	99,81 aA	100,00 aA	100,00 aA
SHXT	48,36 bC	56,44 dB	72,28 cC	77,91 deB	86,73 cB	91,60 bB	99,75 aA
ST	36,01 eC	62,87 cC	74,86 cC	82,94 cdC	92,64 bB	99,71 aA	100,00 aA

APÊNDICE B - Perfil de liberação dos compostos fenólicos encapsulados, em água e em fluídos que simulam condições gástricas (SFG) e intestinais (SFI).

Micropartículas	Minutos						
	0	20	40	60	120	180	240
Liberação simulando fluido intestinal							
SA	74,79 aB	85,04 bC	89,99 aB	93,41 bcB	100,00 aA	100,00 aA	100,00 aA
SQ	56,59 cB	49,63 eC	53,05 dC	58,01 eC	66,53 cC	75,66 bC	83,89 bB
SHXQ	47,07 dB	78,23 cB	83,13 bB	89,22 cB	89,44 bB	100,00 aA	100,00 aA
SX	37,94 eC	67,94 dB	66,76 cC	80,21 dC	100,00 aA	100,00 aA	100,00 aA
SHXT	68,88 bB	88,82 aA	94,26 aB	99,55 aA	100,00 aA	100,00 aA	100,00 aA
ST	56,78 cA	78,99 cA	92,04 aA	95,82 abA	100,00 aA	100,00 aA	100,00 aA

Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) avaliando revestimentos, dentro de cada fluído em cada tempo de liberação. Médias seguidas por letras maiúsculas diferentes na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) avaliando o fluído de liberação, em de cada tempo, dentro de cada revestimento.

APÊNDICE C - Percentual de retenção de carotenoides em micropartículas armazenadas na presença e ausência de luz pelo período de 28 dias.

Micropartículas	Dias de armazenamento				
	0	7	14	21	28
Armazenadas na presença de luz					
SA	100,00 aA	62,71 aB	54,04 abB	31,90 cB	29,24 cA
SQ	100,00 aA	74,50 Db	45,53 eB	40,38 bcA	36,05 dB
SHXQ	100,00 aA	54,39 bcA	46,23 cdA	31,26 cA	37,64 bA
SX	100,00 aA	53,12 cB	58,11 aB	57,99 aA	53,25 aB
SHXT	100,00 aA	56,16 bB	51,85 bcB	53,05 aB	53,79 aB
ST	100,00 aA	63,64 aA	43,98 dA	38,79 bA	36,59 bB
Armazenadas na ausência de luz					
SA	100,00 aA	67,02 bA	62,15 bA	43,22 bA	21,18 dB
SQ	100,00 aA	42,71 bA	41,82 eA	40,68 cdA	22,75 cA
SHXQ	100,00 aA	49,01 cB	25,44 fB	29,20 dA	28,08 cB
SX	100,00 aA	82,90 aA	69,88 aA	62,59 aA	64,32 aA
SHXT	100,00 aA	65,50 bA	60,48 cA	65,10 aA	63,85 aA
ST	100,00 aA	64,90 aA	41,33 dA	41,57 bcA	41,35 bA

Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) avaliando revestimentos, dentro de cada condição e tempo de armazenamento. Médias seguidas por letras maiúsculas diferentes na coluna diferem entre si pelo teste t ($p < 0,05$) avaliando a condição de armazenamento, em de cada tempo, dentro de cada revestimento.

APÊNDICE D - Percentual de retenção de compostos fenólicos em micropartículas armazenadas na presença e ausência de luz pelo período de 28 dias.

Micropartículas	Dias de armazenamento				
	0	7	14	21	28
Armazenadas na presença de luz					
SA	100,00 aA	88,27 cA	88,19 aA	85,00 bcB	85,00 dA
SQ	100,00 aA	86,67 cB	92,14 aB	94,75 aA	94,75 bA
SHXQ	100,00 aA	99,14 aA	93,44 aA	93,15 aA	97,41 aA
SX	100,00 aA	95,85 abA	92,05 aA	89,75 abB	92,17 cA
SHXT	100,00 aA	95,76 bA	90,35 aA	94,72 aA	94,35 bA
ST	100,00 aA	88,33 cB	91,51 aA	82,36 cB	86,03 dA
Armazenadas na ausência de luz					
SA	100,00 aA	88,48 aA	89,50 bA	94,00 aA	83,30 aA
SQ	100,00 aA	92,40 abcA	98,92 aA	94,84 aA	94,39 aA
SHXQ	100,00 aA	96,81 aA	94,77 abA	90,01 abA	87,56 aB
SX	100,00 aA	95,44 abA	92,67 abA	95,55 aA	86,28 aB
SHXT	100,00 aA	89,93 cB	91,62 abA	92,31 abB	92,57 aB
ST	100,00 aA	95,93 abA	87,03 aA	87,54 bA	86,86 aA

Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) avaliando revestimentos, dentro de cada condição e tempo de armazenamento. Médias seguidas por letras maiúsculas diferentes na coluna diferem entre si pelo teste t ($p < 0,05$) avaliando a condição de armazenamento, em de cada tempo, dentro de cada revestimento.

APÊNDICE E - Atividade antioxidante dos compostos bioativos presentes nas micropartículas armazenadas na presença e ausência de luz pelo período de 28 dias.

Micropartículas	Dias de armazenamento				
	0	7	14	21	28
Armazenadas na presença de luz					
SA	36,09 bA	33,04 bA	32,49 abA	32,66 aA	30,23 abA
SQ	37,29 bA	35,48 aA	34,08 aA	26,85 cA	24,62 bA
SHXQ	40,22 aA	31,00 cdB	31,53 bB	25,40 cB	24,64 bB
SX	35,94 bA	27,68 eA	31,67 bA	28,91 abcB	27,93 abA
SHXT	37,47bA	32,08 bcA	34,28 aA	27,67 bcA	31,00 aA
ST	35,61 bA	30,08 dA	32,52 abA	31,49 abA	30,29 aA
Armazenadas na ausência de luz					
SA	36,09 bA	32,17 aA	32,42 abA	31,60 abA	31,79 aA
SQ	37,29 bA	36,35 aA	30,05 bA	27,78 bA	25,67 aA
SHXQ	40,22 aA	39,04 aA	38,82 aA	34,49 aA	28,40 aA
SX	35,94 bA	32,18 aA	31,53 bA	32,08 abA	31,59 aA
SHXT	37,47 bA	27,98 aB	29,33 bB	27,70 bA	25,99 aA
ST	35,61 bA	35,11 aA	29,62 bA	29,16 bB	29,06 aA

Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) avaliando revestimentos, dentro de cada condição e tempo de armazenamento. Médias seguidas por letras maiúsculas diferentes na coluna diferem entre si pelo teste t ($p < 0,05$) avaliando a condição de armazenamento, em de cada tempo, dentro de cada revestimento. Resultados expressos em percentual de inibição.

APÊNDICE F - Percentual de retenção de carotenoides em micropartículas armazenadas a 4 °C e 25 °C pelo período de 84 dias.

Micropartículas	Dias de armazenamento				
	0	14	28	56	84
Armazenadas a 4 °C					
SA	100,00 aA	64,26 cA	35,00 dA	13,44 cB	12,59 cdB
SQ	100,00 aA	52,41 eA	48,77 deA	28,67 dA	28,67 dA
SHXQ	100,00 aA	63,24 dA	36,85 eA	37,17 cA	26,41 cA
SX	100,00 aA	80,99 bA	62,14 aA	55,82 6aA	55,82 aA
SHXT	100,00 aA	67,49 aB	66,20 cA	45,35 abA	33,89 aA
ST	100,00 aA	50,01 cB	47,22 bB	47,87 bA	36,63 bA
Armazenadas a 25 °C					
SA	100,00 aA	54,90 bcB	34,62 cA	24,63 eA	17,89 dA
SQ	100,00 aA	40,39 dB	33,20 bB	15,77 dB	16,14 cB
SHXQ	100,00 aA	46,63 cB	30,25 cB	24,85 cB	21,62 cB
SX	100,00 aA	69,86 aB	63,32 aA	38,95 aB	41,40 aA
SHXT	100,00 aA	73,79 bA	41,11 aB	41,09 bA	44,32 bA
ST	100,00 aA	57,60 dA	49,05 bA	41,72 bB	26,60 bB

Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$), dentro de cada condição e tempo de armazenamento. Médias seguidas por letras maiúsculas diferentes na coluna diferem entre si pelo teste t ($p < 0,05$), em de cada tempo de armazenamento, dentro de cada revestimento.

APÊNDICE G - Percentual de retenção de compostos fenólicos em micropartículas armazenadas a 4 °C e 25 °C pelo período de 84 dias.

Micropartículas	Dias de armazenamento				
	0	14	28	56	84
Armazenadas a 4 °C					
SA	100,00 aA	87,87 cB	71,98 dB	73,66 cB	73,98 bA
SQ	100,00 aA	100,00 aA	87,29 bB	81,44 abB	86,13 aB
SHXQ	100,00 aA	100,00 aA	80,16 cB	83,04 aB	83,04 aB
SX	100,00 aA	82,33 dB	80,32 cB	83,29 aB	82,34 aB
SHXT	100,00 aA	94,18 bA	82,75 cB	82,29 aB	86,86 aA
ST	100,00 aA	100,00 aA	91,37aB	79,09 bB	82,67 aA
Armazenadas a 25 °C					
SA	100,00 aA	94,92 cA	93,72 cA	92,12 bA	81,76 bA
SQ	100,00 aA	98,07 abA	97,87 abA	97,92 abA	96,97 aA
SHXQ	100,00 aA	96,92 bB	96,80 bA	96,71 abA	94,19 aA
SX	100,00 aA	98,95 aA	100,00 aA	92,04 bA	92,38 abA
SHXT	100,00 aA	91,79 dB	99,99 aA	99,60 aA	86,91 abA
ST	100,00 aA	96,51 bcB	99,70 aA	95,18 abA	87,99 abA

Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$), dentro de cada condição e tempo de armazenamento. Médias seguidas por letras maiúsculas diferentes na coluna diferem entre si pelo teste t ($p < 0,05$), em de cada tempo de armazenamento, dentro de cada revestimento.

APÊNDICE H - Atividade antioxidante dos compostos bioativos presentes nas micropartículas armazenadas a 4 °C e 25 °C pelo período de 84 dias.

Micropartículas	Dias de armazenamento				
	0	14	28	56	84
Armazenadas a 4 °C					
AS	36,09 bA	36,24 aA	35,96 abA	35,71 aA	35,59 aA
SQ	37,29 bA	35,54 aA	34,15 abA	31,24 bcA	31,68 abB
SHXQ	40,22 aA	37,91 aA	31,29 abcA	32,19 bA	32,44 abA
SX	35,94 bA	32,69 aA	29,47 bcB	28,51 cdA	29,77 bcA
SHXT	37,47 bA	36,17 aA	36,77 aA	32,46 abA	27,67 bcA
ST	35,61 bA	27,93 aA	26,74 cA	25,48 dA	25,52 cA
Armazenadas a 25 °C					
AS	36,09 bA	36,11 aA	36,22 aA	35,81 aA	35,48 aA
SQ	37,29 bA	35,95 aA	34,61 aA	31,49 aA	33,29 aA
SHXQ	40,22 aA	34,44 aA	33,04 aA	31,91 aA	31,40 aA
SX	35,94 bA	33,82 aA	34,77 aA	26,68 aB	26,51 aA
SHXT	37,47 bA	32,74 aA	33,30 aB	30,59 aA	29,86 aA
ST	35,61 bA	26,87 bA	26,09 bA	26,51 aA	25,27 aA

Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) avaliando revestimentos, dentro de cada condição e tempo de armazenamento. Médias seguidas por letras maiúsculas diferentes na coluna diferem entre si pelo teste t ($p < 0,05$) avaliando a condição de armazenamento, em de cada tempo, dentro de cada revestimento. Resultados expressos em percentual de inibição.