



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E ENGENHARIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE  
ALIMENTOS

**ANDRESSA LADEIRA BERNARDES**

**BIOACESSIBILIDADE *IN VITRO* DE COMPOSTOS FENÓLICOS  
MICROENCAPSULADOS DO FRUTO JUSSARA (*Euterpe edulis* Martius) E  
APLICAÇÃO EM SISTEMA-MODELO DE GELATINA**

ALEGRE – ES  
JULHO – 2017

ANDRESSA LADEIRA BERNARDES

**BIOACESSIBILIDADE *IN VITRO* DE COMPOSTOS FENÓLICOS  
MICROENCAPSULADOS DO FRUTO JUSSARA (*Euterpe edulis* Martius) E  
APLICAÇÃO EM SISTEMA-MODELO DE GELATINA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo, como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Prof. André Gustavo Vasconcelos Costa

Coorientadora: Prof<sup>a</sup>. Maria das Graças Vaz Tostes

Coorientador: Prof. Francisco de Paula Careta

ALEGRE - ES

JULHO – 2017

- B518b Bernardes, Andressa Ladeira, 1993 -  
Bioacessibilidade in vitro de compostos fenólicos microencapsulados do fruto jussara (*euterpe edulis* Martius) e aplicação em sistema-modelo de gelatina / Andressa Ladeira Bernardes. – 2017.  
68 f. : il.

Orientador: André Gustavo Vasconcelos Costa.

Coorientadores: Maria das Graças Vaz Tostes ; Francisco de Paula Careta.

Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias.

1. Palmito - juçara. 2. Antocianinas. 3. Fenóis. I. Costa, André Gustavo Vasconcelos. II. Tostes, Maria das Graças Vaz. III. Careta, Francisco de Paula. IV. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências Agrárias e Engenharias. V. Título.

**ANDRESSA LADEIRA BERNARDES**

**BIOACCESSIBILIDADE *IN VITRO* DE COMPOSTOS FENÓLICOS  
MICROENCAPSULADOS DO FRUTO JUSSARA (*Euterpe edulis Martius*) E  
APLICAÇÃO EM SISTEMA-MODELO DE GELATINA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Espírito Santo, como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Aprovada em 20 de julho de 2017.

---

Prof. Dr. André Gustavo Vasconcelos Costa  
Universidade Federal do Espírito Santo  
Orientador

---

Profa. Dra. Maria das Graças Vaz Tostes  
Universidade Federal do Espírito Santo  
Coorientadora

---

Profa. Dra. Pollyanna Ibrahim Silva  
Universidade Federal do Espírito Santo  
Examinadora

Dedico esta dissertação aos meus pais Lucenir e Romário por todo amor, incentivo e por permanecerem ao meu lado sempre. As minhas avós Isaldite e Maria das Graças pelo carinho, amor e orações. E as minhas queridas afilhadas Ana Luiza Ladeira e Ana Luiza Conrado. Amo vocês!

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus por ter me concedido a vida, por me proporcionar mais essa conquista, por iluminar meus caminhos e nunca me abandonar! Obrigada meu Deus por ser a luz da minha vida.

Ao programa de pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (PCTA) da Universidade Federal do Espírito Santo pela oportunidade. E à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudo.

Ao meu orientador, professor André Gustavo Vasconcelos Costa pela confiança, atenção, ensinamentos ao longo do mestrado e pela oportunidade em trabalhar nesse experimento.

A professora Pollyanna Ibrahim Silva pela disponibilidade, atenção e por compartilhar seus conhecimentos. Sua ajuda foi essencial nesse trabalho.

Aos coorientadores Maria das Graças Vaz Tostes e Francisco de Paula Careta pela disponibilidade e contribuição nesse trabalho.

Ao Professor Sérgio Henriques Saraiva pelo auxílio no microencapsulamento, e por ajudar a solucionar minhas dúvidas.

Ao Professor Joel C. S. Carneiro pela disponibilidade em auxiliar nas análises estatísticas.

As minhas queridas ajudantes de laboratório Juliana Almeida e Bruna Garcia por toda ajuda, pelos dias e madrugadas no laboratório, pelo companheirismo, pelos risos. Vocês foram indispensáveis na parte experimental.

Aos meus amigos do PCTA pela amizade que tornou meus dias mais felizes.

A minha amiga Isabella por me acompanhar desde o primeiro dia de aula na graduação, por ser essa amiga tão especial na minha vida e pelos ótimos anos de convivência!

As minhas amigas de república Luziane, Ryvia, Joana e Ana Clara pela amizade, por tornar meus dias mais felizes, pelas brincadeiras, e por ser minha família em Alegre.

Aos técnicos de laboratório Eduardo e Letícia pela disponibilidade.

A minha família maravilhosa, meus pais Romário e Lucenir, minhas avós Isaldite e Maria das Graças, meus tios e tias (Marcos, Sebastião, Lucinéia), primos e primas por todo amor incondicional.

## SUMÁRIO

RESUMO.....	vi
ABSTRACT.....	vii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS .....	3
2.1 Objetivo geral .....	3
2.2 Objetivos específicos .....	3
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	4
3.1 Fruto Jussara .....	4
3.2 Compostos fenólicos.....	5
3.3 Antocianinas.....	6
3.4 Microencapsulamento e Aplicação.....	10
3.5 Digestão <i>in vitro</i> .....	12
4. MATERIAL E MÉTODOS .....	15
4.1 Matéria-prima.....	15
4.2 Composição centesimal da polpa do fruto jussara.....	15
4.3 Microencapsulamento .....	16
4.3.1 Preparo dos extratos.....	16
4.3.2 Elaboração das microcápsulas .....	16
4.4 Caracterização físico-química das microcápsulas e da polpa.....	17
4.4.1 Atividade de água .....	17
4.4.2 Solubilidade .....	18
4.4.3 pH .....	18
4.4.4 Determinação de polifenóis totais.....	18
4.4.5 Análise de antocianinas totais .....	19
4.4.6 Capacidade antioxidante (ABTS e DPPH) .....	20
4.5 Digestão <i>in vitro</i> .....	21
4.5.1 Determinação de compostos fenólicos, antocianinas e atividade antioxidante na fração bioacessível .....	22
4.5.2 Determinação de compostos fenólicos, antocianinas e atividade antioxidante na fração residual .....	23
4.6 Incorporação dos microencapsulados em sistema-modelo de gelatina .....	24
4.6.1 Estudo da cinética de estabilidade de polifenóis e antocianinas .....	25

4.6.2 Diferença global de cor das gelatinas .....	26
4.7 Análise estatística .....	27
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	28
5.1 Composição centesimal da polpa do fruto jussara.....	28
5.2 Caracterização físico-química das microcápsulas .....	28
5.3 Estudo da bioacessibilidade <i>in vitro</i> de compostos fenólicos e antocianinas .....	30
5.4 Atividade antioxidante .....	37
5.5 Aplicação dos pós microencapsulados em sistema-modelo de gelatina.....	40
5.5.1 Cinética de estabilidade de compostos fenólicos e antocianinas.....	40
5.5.2 Estabilidade da cor.....	47
6. CONCLUSÃO .....	53
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	54

## RESUMO

BERNARDES, Andressa Ladeira. **Bioacessibilidade *in vitro* de compostos fenólicos microencapsulados do fruto jussara (*Euterpe edulis* Martius) e aplicação em sistema-modelo de gelatina.** 2017. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre – ES. Orientador: Prof. Dr. André Gustavo Vasconcelos Costa. Coorientador(es): Prof. Dr. Maria das Graças Vaz Tostes; Francisco de Paula Careta.

O fruto jussara (*Euterpe edulis* Martius) é rico em compostos fenólicos e antocianinas, que são potentes antioxidantes com efeitos benéficos na saúde. As antocianinas são pigmentos solúveis, sendo utilizadas como corantes naturais pela indústria de alimentos, em substituição aos corantes artificiais. As antocianinas são instáveis em pH acima de 4,0, podendo ser mais degradadas, o que reduz sua bioacessibilidade. A tecnologia de microencapsulamento pode ser uma ferramenta útil para melhorar a estabilidade de polifenóis e antocianinas, proporcionando uma maior bioacessibilidade. O objetivo deste estudo foi analisar a bioacessibilidade de compostos fenólicos e antocianinas microencapsuladas do fruto jussara, por meio de digestão *in vitro* e posterior aplicação em sistema-modelo de gelatina. Foi realizada análise de composição centesimal da polpa do fruto. Os compostos fenólicos e antocianinas da polpa do fruto jussara (PO) foram extraídos e microencapsulados com maltodextrina (MD), inulina (IN) e goma arábica (GA). Realizou-se a digestão *in vitro* da polpa de jussara e dos microencapsulados, e posterior aplicação dos microencapsulados em sistema-modelo de gelatina. Foram realizadas análises físico-químicas (atividade de água -  $a_w$ , solubilidade, pH, polifenóis e antocianinas totais, capacidade antioxidante e diferença global de cor). Aplicou-se análise de variância (ANOVA), complementada com teste de Dunnett, para comparar os microencapsulados com a polpa ( $p < 0,05$ ). O teste de Tukey foi utilizado para comparação entre as microcápsulas ( $p < 0,05$ ). A constante de degradação ( $k$ ) e o tempo de meia-vida ( $t_{1/2}$ ) foram obtidos a partir da análise de regressão, assumindo-se como modelo de primeira ordem. As microcápsulas apresentaram  $a_w$  de 0,35-0,57, solubilidade de 99% e  $pH < 4,0$ . A bioacessibilidade de antocianinas entre os tratamentos foi maior para PO (24,90%), sendo seguida por GA (24,67%), IN (19,28%) e MD (18,71%), porém não diferindo entre si. No entanto, para o conteúdo fenólico, a GA (44,65%) apresentou um maior percentual de recuperação comparada à PO (30,32%;  $p < 0,05$ ). No sistema-modelo de gelatina o valor de  $k$  das antocianinas foi maior para GA (0,0047), sendo seguido por MD (0,0043) e IN (0,0039). Para os compostos fenólicos a constante de degradação seguiu a ordem: MD (0,0153) > IN (0,0114) > GA (0,0052). Os parâmetros de cor ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $C^*$ ,  $h^\circ$  e  $\Delta E^*$ ) mostraram tendência de cor do vermelho ao azul, exceto para GA que exibiu tonalidade mais amarela ( $h^\circ$ ). Ao longo de 72 horas não foi observada diferença de cor nos tratamentos. A bioacessibilidade *in vitro* de antocianinas, compostos fenólicos foi semelhante em todas as amostras microencapsuladas. A incorporação de microencapsulados com inulina é promissora, pois conferiu proteção ao pigmento e cor característica ao longo do armazenamento.

**Palavras-chave:** Fruto jussara, polifenóis, microencapsulação, bioacessibilidade, sistema-modelo de alimento.

## ABSTRACT

BERNARDES, Andressa Ladeira. ***In vitro* bioaccessibility of microencapsulated phenolic compounds of the jussara fruit (*Euterpe edulis* Martius) and application in gelatine model-system.** 2017. Dissertation (Master in Science and Food Technology) - Federal University of Espírito Santo, Alegre - ES. Advisor: Dr. André Gustavo Vasconcelos Costa. Co-advisers: Prof. Dr. Maria das Graças Vaz Tostes and Francisco de Paula Careta.

The fruit jussara (*Euterpe edulis* Martius) is rich in phenolic compounds and anthocyanins, which are strong antioxidants and bring beneficial effects on health. Anthocyanins are soluble pigments, they are used as natural colors in some products by the food industry as an alternative for artificial colorants. Anthocyanins are unstable at pH above 4.0 and may be more degraded, which reduces their bioaccessibility. Microencapsulation technology can be a useful tool to improve the stability of polyphenols and anthocyanins, providing greater bioaccessibility. The aim of this study was to analyze the bioaccessibility of phenolic compounds and microencapsulated anthocyanins of the Jussara fruit, through the *in vitro* digestion and later application in gelatine model system. An analysis of the centesimal composition of the fruit pulp was performed. The phenolic and anthocyanin compounds of the jussara fruit pulp (PO) were extracted and microencapsulated with maltodextrin (MD), inulin (IN) and gum arabic (GA). The *in vitro* digestion of jussara pulp and microencapsulated was made, and successive application of the microencapsulated in gelatine model system. Physicochemical analyzes (water activity - aw, solubility, pH, total polyphenols and anthocyanins, antioxidant capacity and overall color difference) were also executed. An analysis of variance (ANOVA), complemented with Dunnet's test, was applied to compare the microencapsulated with the pulp ( $p < 0.05$ ). The Tukey test was used to compare the microcapsules ( $p < 0.05$ ). The degradation constant (k) and the half-life ( $t_{1/2}$ ) were obtained by regression analysis, assuming it as a first-order model. The microcapsules showed aw 0.35-0.57, solubility of 99% and pH <4.0. The bioaccessibility of anthocyanins was higher for PO (24.90%), followed by GA (24.67%), IN (19.28%) and MD (18.71%), but there were no statistic differences between them. However, for the phenolic content, GA (44.65%) presented a higher percentage of recovery compared to PO (30.32%;  $p < 0.05$ ). In the gelatin model system the anthocyanin degradation constant (k) was higher in GA (0.0047), followed by MD (0.0043) and IN (0.0039). For phenolic compounds the degradation constant followed the order: MD (0.0153) > IN (0.0114) > GA (0.0052). The color parameters ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $C^*$ ,  $h^\circ$  and  $\Delta E^*$ ) showed a color trend from red to blue, except for GA that showed a more yellow ( $h^\circ$ ). During the 72 hours, no color difference was observed in the treatments. The *in vitro* bioaccessibility of anthocyanins and phenolic compounds were similar in all microencapsulated samples. The incorporation of microencapsulated anthocyanins with IN is promising, as it gave protection to the pigment and specific color throughout the storage.

**key words:** Fruit jussara, polyphenols, microencapsulation, bioaccessibility, food model-system.

## 1. INTRODUÇÃO

Jussara (*Euterpe edulis* Martius) é uma palmeira encontrada na região da Floresta Atlântica, principalmente nos estados brasileiros do Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná, São Paulo, Bahia, Rio de Janeiro, Minas Gerais e Espírito Santo. Essa palmeira produz um fruto redondo que cresce em cachos, sendo que sua semente constitui 85% do fruto. Durante o amadurecimento evolui da cor verde ao roxo escuro ou quase preto. O fruto dessa palmeira é normalmente utilizado sob a forma de bebidas, doces, geleias, sorvete e também como corantes naturais na indústria de alimentos (BICUDO; RIBANI; BETA, 2014).

O fruto é rico em compostos fenólicos, cujas propriedades antioxidantes estão envolvidas na redução do risco de doenças crônicas não transmissíveis (PAREDES-LÓPEZ et al., 2010). Entre os compostos fenólicos, as antocianinas constituem um grupo importante sendo responsável pela pigmentação do fruto (BICUDO; RIBANI; BETA, 2014).

As antocianinas são pigmentos solúveis, altamente instáveis, sendo afetados por fatores como pH, temperatura de armazenamento, oxigênio, luz, entre outros. A estabilização das antocianinas é de grande interesse, uma vez que é utilizada na indústria de alimentos em substituição a corantes sintéticos, e também por possuírem potenciais efeitos benéficos à saúde, atuando como antioxidantes (CASTAÑEDA-OVANDO et al., 2009; FANG, 2014; FERNANDES et al., 2014).

Uma alternativa para evitar a degradação de compostos bioativos é o processo de microencapsulamento, que consiste em empacotar os compostos com um material de revestimento, seguido por secagem por pulverização no equipamento *Spray Dryer*, o qual gera um produto em pó (DA ROSA et al., 2014; TONON; BRABET; HUBINGER, 2010). O microencapsulamento tem o objetivo de proteger compostos que são sensíveis à luz, oxigênio e a degradação de radicais livres (SILVA et al., 2013). A seleção do material de revestimento adequado pode aumentar sua solubilidade em água e com isso permitir a distribuição controlada desses compostos bioativos através do trato gastrointestinal (VITAGLIONE et al., 2012).

O processo de secagem por *spray dryer* pode resultar em um produto rico em antocianinas, tornando-se interessante na utilização como corante natural na indústria alimentícia ou para o enriquecimento nutricional (BICUDO; RIBANI; BETA,

2014).

A estabilidade dos compostos fenólicos ao longo da digestão gastrointestinal e sua liberação da matriz do alimento são fatores associados à bioacessibilidade ao final do processo, e que podem ser observados e quantificados por meio de métodos de digestão *in vitro*, possibilitando verificar o quanto é degradado ao longo desta etapa (TAGLIAZUCCHI et al., 2010).

Os métodos *in vitro* com simulação do processo digestivo possuem importantes vantagens como rapidez, menor custo financeiro, não havendo restrições éticas como em estudos realizados com humanos ou animais (KAMILOGLU et al., 2014; MINEKUS et al., 2014). Dessa forma, diversos estudos na literatura avaliaram a bioacessibilidade de compostos fenólicos por meio de métodos *in vitro* (SEIQUER et al., 2015; TAGLIAZUCCHI et al., 2010; GUERGOLETTTO et al., 2016; BOUAYED; HOFFMANN; BOHN, 2011).

Portanto, o principal interesse do estudo foi verificar se a tecnologia de microencapsulamento reduz a degradação dos compostos fenólicos e antocianinas que ocorre durante o processo digestivo, favorecendo sua bioacessibilidade. Além disso, objetivou-se avaliar a estabilidade de antocianinas e polifenóis totais, bem como da cor em sistema-modelo de gelatina.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 – Objetivo geral**

Analisar a bioacessibilidade de compostos fenólicos e antocianinas microencapsuladas do fruto Jussara, por meio de digestão *in vitro* e posterior aplicação em sistema-modelo de gelatina.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Avaliar a composição centesimal da polpa do fruto Jussara;
- Elaborar microencapsulados de compostos fenólicos e antocianinas do extrato da polpa do Jussara;
- Realizar a caracterização físico-química das microcápsulas;
- Promover a digestão *in vitro* da polpa de Jussara e das microcápsulas;
- Quantificar o teor de compostos fenólicos e antocianinas totais, bem como a capacidade antioxidante antes e após o processo de digestão *in vitro*;
- Estudar a cinética de degradação de antocianinas e polifenóis, bem como a modificação de cor em sistema-modelo de gelatina;

### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 Fruto jussara

A Palmeira Jussara (*Euterpe edulis* Martius) da família Arecaceae é típica da região da Floresta Atlântica brasileira sendo encontrada principalmente nos estados desde o sul da Bahia até a parte norte do Rio Grande do Sul. O fruto dessa palmeira cresce em forma de bagas com características semelhantes ao Açaí (*Euterpe oleracea*), conhecido como açaí da Amazônia. Além disso, é de alto valor nutricional rico em nutrientes, destacando-se o conteúdo lipídico (18,45-44,08%), no qual encontram-se altas proporções de ácido oleico e linoleico, e conteúdo proteico (5,13-8,21%). Ao avaliar o conteúdo mineral, os predominantes foram o potássio (1051.67-1291.54 mg / 100 g), cálcio (349.39-596.69 mg / 100 g), manganês (4.84-8.46 mg / 100 g) e ferro (4,61-7,26 mg / 100 g) (SCHULZ et al., 2015). O fruto também é rico em compostos fenólicos, conferindo-lhe uma fonte promissora de antioxidantes (CARDOSO et al., 2015).

O fruto jussara é redondo, sendo que sua semente constitui 85% do fruto. Durante o amadurecimento evolui da cor verde ao roxo escuro ou quase preto devido ao acúmulo de antocianinas nos tecidos exocarpo e mesocarpo durante a maturação (CUNHA JÚNIOR et al., 2016). O jussara é normalmente utilizado sob a forma de bebidas, doces, geleias, sorvete e também como corante natural na indústria de alimentos (BICUDO; RIBANI; BETA, 2014).

As regiões onde são cultivados os frutos de jussara exercem influência sobre sua composição química, teor de compostos bioativos, perfis de ácidos graxos e atividade antioxidante. Frutos cultivados em regiões com colheita no verão apresentam maiores teores de compostos fenólicos em relação às colheitas no inverno (BORGES et al., 2011; SCHULZ et al., 2015). Dessa forma, a região de cultivo, época de colheita, entre outros fatores, são dados relevantes ao se analisar a composição do fruto. Assim, o teor de antocianinas pode variar em 14,8-410 mg cianidina-3-glicosídeo / 100 g de acordo com regiões geográficas diferentes (BORGES et al., 2011). Guergoletto et al. (2016), encontraram um conteúdo fenólico no fruto jussara de 2611 mg de ácido gálico equivalente (AGE) / 100 g.

Sant'ana (2014) ao avaliar o fruto jussara liofilizado, encontrou valores de compostos fenólicos de 47,84 mg AGE / g de amostra liofilizada, antocianinas 1,80 g de cianidina-3-glicosídeo / 100 g de amostra e capacidade antioxidante de 408,05

µmols trolox / g de amostra.

Os compostos fenólicos mais abundantes no fruto jussara identificados são ácido gálico (22,72%), ácido protocatecúico (24,14%), epicatequina (22,32%) e quercetina (23,39%) (BORGES et al., 2011). Este fruto contém efeitos antioxidantes que são atribuídos a sua riqueza de compostos fenólicos, que por sua vez tem a habilidade de eliminar as espécies reativas de oxigênio (ROS) que são produtos formados no metabolismo celular e conhecidos como radicais livres (SCHULZ et al., 2016; SAIKIA; MAHNOT; MAHANTA, 2015). O desequilíbrio na formação de radicais livres está associado ao surgimento de doenças como as cardiovasculares, câncer, diabetes, entre outras relacionadas ao estresse oxidativo. Portanto, esse efeito antioxidante auxilia na redução do risco de algumas patologias (RODRIGUES et al., 2012; SAIKIA; MAHNOT; MAHANTA, 2015; REDAN et al., 2016; RODRÍGUEZ-MORATÓ et al., 2015).

### **3. 2 Compostos fenólicos**

Os compostos fenólicos possuem em sua estrutura pelo menos um anel aromático com um ou mais grupos hidroxilas ligados (DEL RIO et al., 2013). Os polifenóis são um grupo heterogêneo com inúmeros compostos, e de acordo com sua estrutura química, ou seja, números de anéis de fenol, tipo e número de compostos vinculados, são divididos em dois grupos: 1) os flavonoides, que compreende as antocianinas, flavonóis, flavanóis, flavonas, flavanonas e isoflavonas, 2) o grupo dos não flavonoides, representados pelos ácidos fenólicos e estilbenos (SCHULZ et al., 2016).

A extração de compostos fenólicos pode ser influenciada por alguns fatores, como o tamanho de sua estrutura, a natureza química do composto, o tempo de extração e a presença de substâncias interferentes. Outro fator a ser considerado é a polaridade que varia de um composto fenólico para o outro, pois, em sua estrutura pode haver grupos hidroxilas conjugados ou não com açúcares, ácidos ou grupos alquila. Desse modo, se torna inviável desenvolver um método único e eficiente para extração de todos os compostos. Portanto, para uma avaliação precisa dos compostos fenólicos é necessária à otimização do processo de extração de diferentes matrizes alimentares (MOKRANI; MADANI, 2016; DEL RIO et al., 2013).

Os polifenóis representam a maior parte de antioxidantes da dieta, atuam como agentes redutores e em conjunto com as vitaminas C, E e os carotenoides são

considerados potentes antioxidantes no organismo (MOKRANI; MADANI, 2016). Relatos na literatura sobre a associação do consumo de antioxidantes e proteção contra os danos causados pelo estresse oxidativo e em maior extensão com o surgimento de algumas doenças, fez com que aumentasse o interesse no consumo de alimentos fonte de antioxidantes (RODRIGUES et al., 2012; SOMASAGARA et al., 2012; AYOUB; DE CAMARGO; SHAHIDI, 2016).

Teores elevados de compostos fenólicos presentes nas frutas, são associados à redução do risco de doenças crônicas causadas pelo estresse oxidativo (REDAN et al., 2016; RODRÍGUEZ-MORATÓ et al., 2015). Sua atividade antioxidante é devido a sua função de neutralizar e evitar a formação de radicais livres, o que resulta em benefícios à saúde (KUCK; WESOLOWSKI; NOREÑA, 2017; AYOUB; DE CAMARGO; SHAHIDI, 2016; AYOUB; DE CAMARGO; SHAHIDI, 2016).

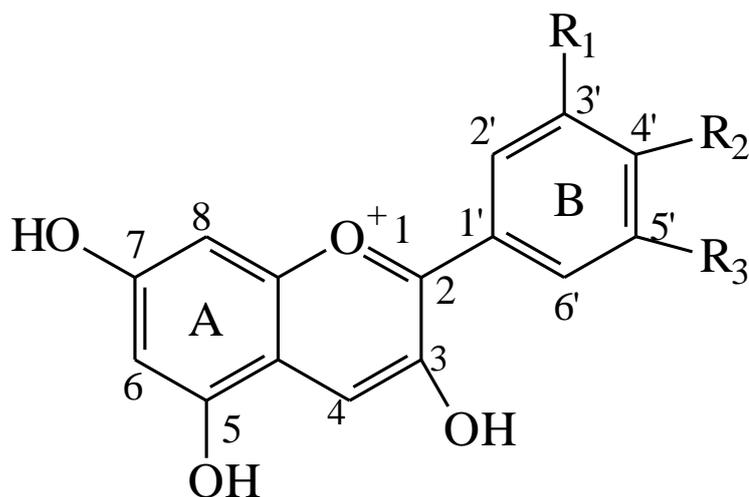
Entretanto, os efeitos antioxidantes dos polifenóis dependem do processo digestivo e absorptivo, bem como do metabolismo desses compostos (GUERGOLETTTO et al., 2016; SEIQUER et al., 2015). Investigações a respeito da biacessibilidade e estabilidade de compostos fenólicos após digestão gastrointestinal mostraram que varia de um polifenol para o outro e que depende de sua liberação da matriz alimentar. De forma que, se o composto apresentar baixa biacessibilidade poderá acarretar em menor benefício para a saúde (YDJEDD et al., 2017; TAGLIAZUCCHI et al., 2010; KUCK; WESOLOWSKI; NOREÑA, 2017).

Durante o processamento e armazenamento de alimentos, os polifenóis são instáveis diante de várias condições do meio como pH, altas temperaturas, presença de enzimas oxidativas, umidade, luz e oxigênio, desse modo, o encapsulamento desses compostos representa um processo alternativo para aumentar sua estabilidade a condições ambientais adversas (KUCK; WESOLOWSKI; NOREÑA, 2017; SOUZA et al., 2014; SILVA, 2011; CARVALHO et al., 2016).

### **3.3 Antocianinas**

As antocianinas são pigmentos pertencentes à família dos flavonoides, este pigmento é responsável pela coloração do fruto jussara, e os flavonoides são os principais fitoquímicos presentes no fruto (CUNHA JÚNIOR et al., 2016). É a classe mais importante de pigmentos, responsáveis pelas cores azul e vermelha, encontrada em uma variedade de plantas (CARDONA; MERTENS-TALCOTT; TALCOTT, 2015). As antocianinas ocorrem como glicosídeos de suas respectivas

agliconas, constituídas normalmente por duas ou três porções: uma antocianidina, um grupo de açúcares podendo ser mono, di, ou trissacarídeos ligados na posição 3 ou 5 do anel C e posição 7 do anel A, e frequentemente, um dos grupos de ácido orgânico (FANG, 2014; CASTAÑEDA-OVANDO et al., 2009). A estrutura geral das antocianidinas mais comumente encontradas podem ser observadas na Figura 1.



<b>Antocianidinas</b>	<b>R<sub>1</sub></b>	<b>R<sub>2</sub></b>	<b>R<sub>3</sub></b>
Cianidina	OH	OH	H
Delfinidina	OH	OH	OH
Pelargonidina	H	OH	H
Petunidina	OMe	OH	OH
Malvidina	OMe	OMe	OMe
Peonidina	OMe	OH	H

Figura 1. Estrutura geral das antocianidinas encontradas na natureza

Fonte: Silva, (2011)

As antocianinas são solúveis em água com potencial capacidade antioxidante e redução dos danos à molécula de DNA, assim evidências científicas sugerem que o consumo de fontes de antocianinas auxilia na redução do risco de patologias associadas ao estresse oxidativo (HE et al., 2017; REDAN et al., 2016; RODRÍGUEZ-MORATÓ et al., 2015).

A capacidade antioxidante desses pigmentos ocorre por meio da doação de elétrons ou átomos de hidrogênio aos radicais livres presentes no organismo. Este grupo de antioxidantes pertence à classe de antioxidantes exógenos, ou seja, absorvidos através da alimentação, que compreende também os minerais e

vitaminas (CUNHA JÚNIOR et al., 2016). Estudos na literatura mostraram redução do risco de doenças crônicas por meio do consumo de alimentos fontes de compostos fenólicos, sendo que esses efeitos benéficos correlacionam-se, em parte, à presença de antocianinas existentes nos alimentos (CARDONA; MERTENS-TALCOTT; TALCOTT, 2015; REDAN et al., 2016; RODRÍGUEZ-MORATÓ et al., 2015).

Em relação à estabilidade, as antocianinas são muito sensíveis e podem ser afetadas por fatores como variações de pH, temperatura, luz, oxigênio, solventes, enzimas, íons metálicos (FANG, 2014).

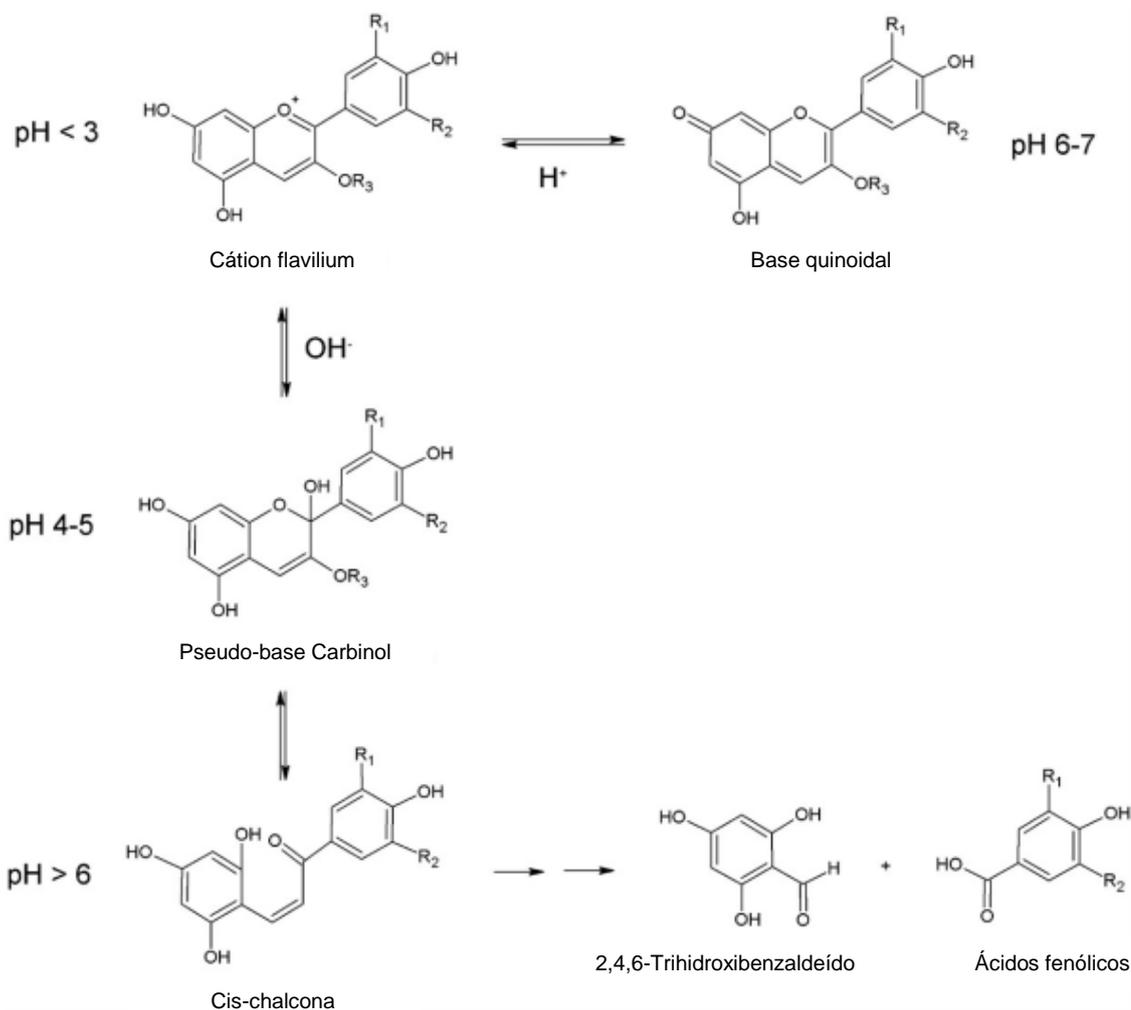


Figura 2. Estruturas das antocianinas em diferentes faixas de pH.

Fonte: Fang (2014); Castañeda-Ovando et al. (2009).

O pH do meio exerce influencia significativa sobre as antocianinas, e estas

podem sofrer rearranjos estruturais em resposta as mudanças do pH em quatro espécies moleculares: cátion flavilium, base quinoidal, pseudo-base carbinol e chalcona (Figura 2). Em pH ácido ( $\text{pH} < 3$ ) as antocianinas são mais estáveis apresentando a estrutura do cátion flavilium. Valores de pH acima de 4,0 podem ser observadas as espécies pseudo-base carbinol e chalcona, esta última por sua vez, pode sofrer degradações químicas para produzir ácidos fenólicos. Em faixa de pH 6-7 as antocianinas apresentam a estrutura de base quinoidal. Investigações sobre a estabilidade das antocianinas mostram que a variação de cor destes compostos é mais significativa em meios alcalinos devido à sua instabilidade (CASTAÑEDA-OVANDO et al., 2009; FANG, 2014; SUI; DONG; ZHOU, 2014).

Ekici et al. (2014), ao verificar o efeito do pH e temperatura sobre a degradação de diferentes fontes de antocianinas observaram que, ocorreu maior degradação do pigmento com aumento dos valores de pH e da temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ). A degradação de antocianinas ocorreu mais rapidamente quando os extratos foram aquecidos a  $90^{\circ}\text{C}$ , e quando a faixa de pH foi maior que 4,0.

O pH e a temperatura são um dos fatores que afetam significativamente a estabilidade desses pigmentos, assim verificou-se que a constante de degradação da cianidina-3-glicosídeo foi menor em pH 2,2 e  $100^{\circ}\text{C}$  e foi maior em pH 6,0 e  $165^{\circ}\text{C}$  (SUI; DONG; ZHOU, 2014)

LI et al. (2013) em seu estudo sobre a estabilidade das antocianinas a diferentes temperaturas mostraram que, a degradação desses pigmentos seguiu cinética de reação de primeira ordem. Foi observado um aumento da constante de degradação ( $k$ ) e um declínio correspondente nos valores do tempo de meia-vida ( $t_{1/2}$ ) com o aumento da temperatura de aquecimento.

Algumas pesquisas *in vivo* e *in vitro*, mostraram que a absorção de antocianinas é baixa, impedindo que ela exerça seu potencial efeito sobre a saúde (BOUAYED; HOFFMANN; BOHN, 2011; GUERGOLETTTO et al., 2016; FLORES et al., 2014). Essa limitada absorção das antocianinas pode estar associada a sua propriedade polar, a presença de grupos hidroxilas ou metoxilas como parte de sua estrutura, que diminui sua estabilidade em meios neutros e os substituintes do anel B. Outro fator a ser considerado é o pH, pois sugere-se que esses pigmentos são mais degradados no pH elevado do duodeno (CARDONA; MERTENS-TALCOTT; TALCOTT, 2015).

Ao avaliar a estabilidade de antocianinas durante o processo de digestão gastrointestinal simulada, observou-se que na digestão gástrica (pH 2,0) as antocianinas foram relativamente estáveis, no entanto, durante a digestão intestinal (pH 7,0) o teor de antocianinas diminuiu acentuadamente, isso em decorrência da variação do pH (LIU et al., 2014).

### **3.4 Microencapsulamento e Aplicação**

O microencapsulamento é uma tecnologia comumente empregada na indústria farmacêutica e alimentícia e consiste em empacotar compostos sob a forma de micro ou nano partículas protegendo-os de fatores como umidade, luz ou oxidação (KHAZAEI et al., 2014; LAOKULDILOK; KANHA, 2017).

A produção de pós microencapsulados envolve a formação de uma emulsão estável na qual o material de parede atua como um estabilizador para o material do núcleo. Essa técnica é caracterizada pela transformação de um fluido em produto seco por pulverização e secagem em ar quente (BOTREL et al., 2014; TONON; BRABET; HUBINGER, 2010). O processo de microencapsulamento pode proporcionar benefícios ao material a ser encapsulado, pois pode protegê-lo de reações oxidativas, degradação por diversos fatores e volatilização (PAINI et al., 2015; AHMED et al., 2010)

A natureza e composição dos materiais utilizados como parede no processo de microencapsulamento são fatores importantes, podendo ser selecionados a partir de uma grande variedade de polímeros naturais e sintéticos (AHMED et al., 2010). O material de parede deve ser solúvel em água, possuir boas propriedades de emulsificação, formação de película e baixa viscosidade (BOTREL et al., 2014).

Os materiais de parede que são geralmente disponíveis e adequados para microencapsulação são os carboidratos e proteínas do leite (BOTREL et al., 2014). A utilização de diferentes agentes encapsulantes para produção de pó pode resultar em produtos com propriedades físico-químicas diferentes, que está associado à estrutura e características de cada agente (MAHDAVI et al., 2016; CHRANIOTI; NIKOLOUDAKI; TZIA, 2015; FERNANDES; BORGES; BOTREL, 2014).

A maltodextrina, obtida pela hidrólise ácida ou enzimática de vários amidos (milho, batata, e outros) (BAKOWSKA-BARCZAK; KOLODZIEJCZYK, 2011), possui muitas propriedades que permitem que sejam utilizadas para diversos fins na indústria alimentícia e farmacêutica (GUPTA et al., 2015). Por apresentar baixa

viscosidade, alta solubilidade, sabor suave e soluções incolores, considera-se a maltodextrina um bom agente encapsulante e são utilizadas para encapsular antocianinas e compostos fenólicos (BALASUBRAMANI et al., 2015; MAHDAVI et al., 2016; KHAZAEI et al., 2014). A maltodextrina é o biopolímero mais comum utilizado como agente encapsulante na secagem por pulverização, devido ao seu baixo custo e eficácia (NEGRÃO-MURAKAMI et al., 2017; MAHDAVI et al., 2016; FERRARI et al., 2013).

Por outro lado, a inulina é formada por uma mistura de polissacarídeos composta por cadeias de frutose de vários comprimentos e terminada geralmente por uma unidade de glicose, sendo classificada como fibra alimentar (FERNANDES; BORGES; BOTREL, 2014). É um frutoligossacarídeo obtido comercialmente da raiz de chicória e da alcachofra de Jerusalém. Além disso, a inulina possui várias propriedades tecnológicas e funcionais, sendo também um agente encapsulante alternativo na indústria de alimentos (BOTREL et al., 2014; FERNANDES; BORGES; BOTREL, 2014). A inulina é hidrolisada em pequenas quantidades apenas no estômago e no intestino grosso, não ocorrendo formação de monossacarídeos, não ocasionando elevação do índice glicêmico, e, portanto, é interessante seu uso em alimentos para diabéticos (BAKOWSKA-BARCZAK; KOLODZIEJCZYK, 2011).

A goma arábica é proveniente de um exsudato de árvores, com uma estrutura altamente ramificada. É amplamente utilizada como material de revestimento de microcápsulas, devido a sua baixa viscosidade, boa propriedade emulsificante, alta estabilização, boa capacidade de retenção de substâncias voláteis e proteção efetiva contra o processo de oxidação (GUPTA et al., 2015; MAHDAVI et al., 2016; KHAZAEI et al., 2014).

Há estudos sobre a estabilidade de microencapsulados de compostos fenólicos e antocianinas. Bakowska-Barczak; Kolodziejczyk (2011) verificaram elevada estabilidade de microencapsulados de polifenóis provenientes da groselha durante o armazenamento por um período de 12 meses nas temperaturas de 8 °C e 25 °C.

Segundo Lacerda et al. (2016), ao avaliar a estabilidade de microcápsulas de antocianinas da polpa de jussara, verificou-se que, o conteúdo de antocianinas das microcápsulas permaneceram inalteradas após 38 dias de armazenamento a 50 °C, mesmo sob exposição à luz.

Durante o processo de microencapsulamento são observadas poucas perdas de antocianinas, uma vez que segundo o estudo de Carvalho et al. (2016), o extrato concentrado de jussara apresentou  $8,8 \pm 0,5$  mg de cianidina-3-glicosídeo / g de extrato seco, e as microcápsulas mostraram um valor médio de  $8,8 \pm 0,5$  mg de cianidina-3-glicosídeo / g de amostra seca. Desse modo o microencapsulamento pode ser considerado uma boa alternativa para estabilização das antocianinas.

Portanto, o microencapsulamento tem por objetivo aumentar a vida útil dos produtos, por meio da formação de uma barreira entre os componentes encapsulados e o ambiente, assim o uso dessa técnica pode aumentar a estabilidade dos compostos fenólicos durante o processamento e armazenamento (KUCK; WESOLOWSKI; NOREÑA, 2017). Além de conferir cor aos alimentos e produtos, as antocianinas possuem inúmeros benefícios à saúde que torna a busca de sua estabilidade interessante para aumentar seu uso na indústria alimentícia (SIGURDSON; TANG; M, [s.d.]; BRIDLE; TIMBERLAKE, 1997).

A coloração do produto é um atributo importante avaliado pelos indivíduos, e reflete a qualidade dos alimentos e conseqüentemente sua aceitação pelo consumidor. Geralmente a cor dos alimentos é devido à ocorrência de pigmentos naturais ou mesmo de corantes sintéticos ou artificiais que são incorporados durante o processamento de alimentos (SHEN et al., 2014).

Há estudos na literatura com incorporação de pigmentos de antocianinas como corantes naturais em sistema-modelo alimentares. Burin et al. (2011) realizou a aplicação de antocianinas encapsuladas em sistema isotônico de refrigerantes. Outros estudos realizaram a incorporação de extrato de antocianinas microencapsuladas com diferentes materiais de parede na preparação de bebidas lácteas e iogurte (LIMA, 2016; DOS PASSOS et al., 2015).

### **3.5 Digestão *In Vitro***

A bioacessibilidade é a liberação de um composto de sua matriz alimentar durante a digestão gastrointestinal e que no final estará disponível para ser absorvido no intestino (TAGLIAZUCCHI et al., 2010). Os fatores que podem influenciar na bioacessibilidade de um composto dietético é sua liberação da matriz do alimento, estabilidade a variação do pH no processo digestivo e contato com as enzimas digestivas (SCHULZ et al., 2017; BERMÚDEZ-SOTO; TOMÁS-BARBERÁN; GARCÍA-CONESA, 2007). A baixa bioacessibilidade das antocianinas

em meio biológico pode ser atribuída, pelo menos parcialmente, à grande instabilidade desses compostos no meio alcalino do intestino delgado (TAGLIAZUCCHI et al., 2010).

Os métodos *in vitro* são amplamente utilizados para simulação do processo de digestão gastrointestinal, sendo utilizadas enzimas digestivas comerciais como a pepsina e pancreatina. São métodos rápidos, seguros, e não possuem as mesmas restrições éticas requeridas para os métodos empregados para estudos com humanos e com animais (KAMILOGLU et al., 2014). Esses métodos representam uma boa alternativa para simulação da digestão gastrointestinal, permitindo avaliar a estabilidade e bioacessibilidade de minerais e também de compostos bioativos como os polifenóis, assim como a capacidade antioxidante de diferentes alimentos após o processo de digestão (SEIQUER et al., 2015; HART et al., 2015; MINEKUS et al., 2014).

Os métodos *in vitro* são úteis para avaliar a estabilidade dos compostos fenólicos sob condições gastrointestinais e sua liberação da matriz do alimento. Vários estudos relatam o efeito da digestão gastrointestinal sobre a estabilidade e bioacessibilidade de polifenóis (GUERGOLETTO et al., 2016; TAGLIAZUCCHI et al., 2010; PINEDA-VADILLO et al., 2017; MCDOUGALL et al., 2005; SAURA-CALIXTO; SERRANO; GOÑI, 2007).

Por meio de métodos *in vitro* para simulação da digestão gastrointestinal, um estudo verificou que, após o processo de digestão, o conteúdo fenólico de bebidas a base de frutas reduziu 47% em comparação às bebidas que não sofreram o processo de digestão gastrointestinal (CILLA et al., 2009). Outro estudo observou que, após o processo digestivo, 62% dos polifenóis originais da uva estavam bioacessíveis, ao passo que 80% das antocianinas totais foram perdidas após digestão intestinal (TAGLIAZUCCHI et al., 2010). Guergoletto et al. (2016) verificou que ao final da digestão intestinal todas as antocianinas foram degradadas devido a variação do pH.

É importante verificar a bioacessibilidade dos compostos bioativos após o processo digestivo, uma vez que, nem toda quantidade presente no alimento é absorvida, pois uma parcela desses compostos é perdida durante as etapas da digestão. Por meio da digestão *in vitro* é possível analisar a bioacessibilidade dos compostos fenólicos e seus potenciais efeitos antioxidantes que são influenciados

pela sua liberação da matriz do alimento e sua estabilidade ao longo do processo digestivo (KAMILOGLU et al., 2014).

Em matrizes alimentares líquidas os polifenóis são prontamente bioacessíveis para exercer seus benefícios no trato gastrointestinal, porém em alimentos sólidos esses compostos estão contidos em matrizes sólidas como frutas e vegetais ligados a outros componentes do alimento, dessa forma os polifenóis devem primeiramente ser extraídos para serem bioacessíveis. O trato gastrointestinal é considerado um bom extrator, por sua ação mecânica da digestão e a ação química ao longo do processo, os quais contribuem para extração a partir de suas matrizes alimentares (BERMÚDEZ-SOTO; TOMÁS-BARBERÁN; GARCÍA-CONESA, 2007).

Os polifenóis, independente de sua bioacessibilidade podem desempenhar um papel relevante na proteção do próprio trato gastrointestinal aos danos oxidativos. Os compostos presentes no plasma a baixas concentrações podem estar presentes no lúmen gastrointestinal em concentrações mais elevadas após o consumo de uma refeição rica em frutas, vegetais e derivados. Desse modo, os fatores mais importantes na determinação dos efeitos benéficos dos polifenóis sobre as células epiteliais do intestino é sua estabilidade sob as condições gastrointestinais (TAGLIAZUCCHI et al., 2010; BERMÚDEZ-SOTO; TOMÁS-BARBERÁN; GARCÍA-CONESA, 2007; GUERGOLETTTO et al., 2016).

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Matéria prima

A polpa do fruto Jussara (*Euterpe edulis* Martius) foi adquirida de agricultores da região de Rio Novo do Sul no Espírito Santo no mês de agosto de 2016. O produto foi transportado sob refrigeração e permaneceu armazenado em freezer a -20 °C, até o momento das análises.

O estudo foi desenvolvido nos laboratórios de Química de Alimentos, Operações Unitárias e Nutrição Experimental e Fisiologia Humana da Universidade Federal do Espírito Santo, campus de Alegre – ES.

As etapas do estudo são apresentadas na Figura 3.

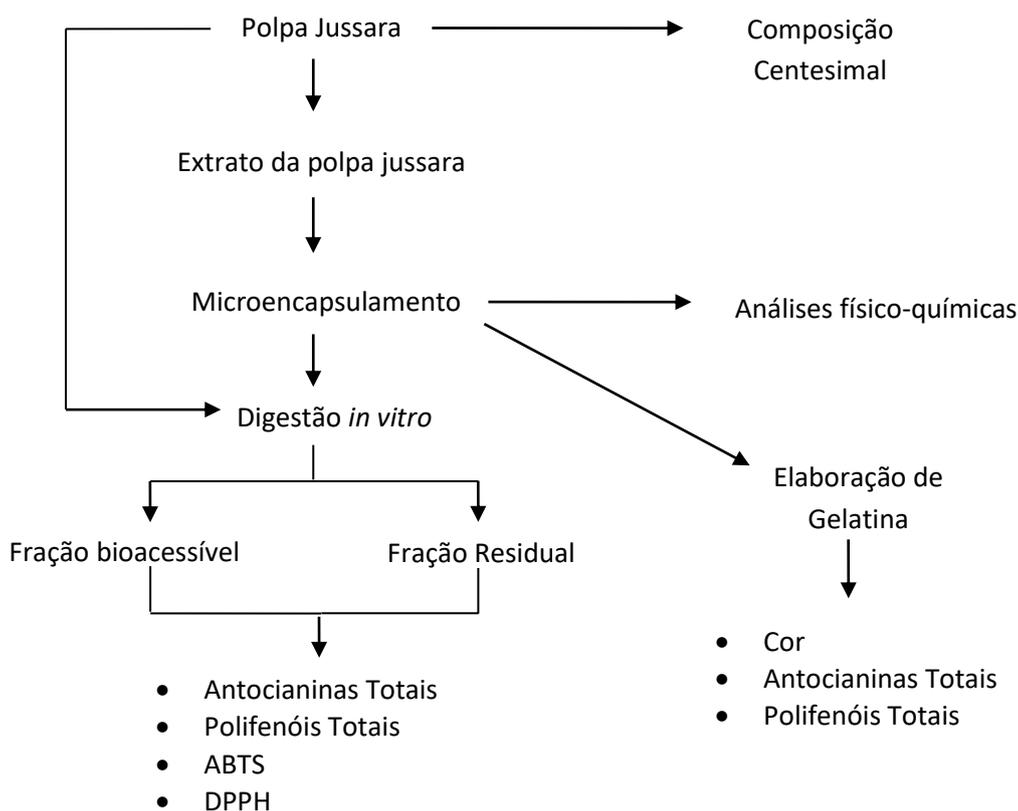


Figura 3. Esquema do procedimento geral do experimento.

### 4.2 Composição centesimal da polpa do fruto jussara

A partir de amostras da polpa do fruto foram realizadas análises de proteínas,

lipídios e umidade, de acordo com as Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (2005). As cinzas foram avaliadas segundo a Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 1997), determinadas por incineração em mufla a uma temperatura de 550 °C até obtenção de cinzas de cor clara. As proteínas foram determinadas segundo o método de Kjeldahl, em que o teor de nitrogênio foi convertido em teor de proteína multiplicando-se o valor resultante pelo fator 6,25. O teor de lipídios foi determinado por meio de uma extração em aparelho Soxhlet (MARCONI® MA491), durante aproximadamente 6 horas utilizando-se o éter de petróleo como solvente. A umidade foi determinada por secagem em estufa (BIOPAR®) a 105°C até atingir peso constante. A concentração de carboidratos foi realizada por diferença, sendo 100% subtraído do valor obtido das análises de proteína, lipídios, umidade e cinzas. Todas as análises foram realizadas em triplicatas.

### **4.3 Microencapsulamento**

#### **4.3.1 Preparo dos extratos**

A extração de compostos fenólicos totais foi por meio de metodologia adaptada de Francis (1982). A polpa do fruto Jussara foi macerada com etanol 70% e acidificada com uma solução de ácido clorídrico (HCl) para atingir pH 2,0. A extração ocorreu durante um período de 2 horas, à temperatura de refrigeração ( $8 \pm 2$  °C). Posteriormente, o extrato foi filtrado e levado a um evaporador rotatório para concentração a vácuo, em temperatura máxima de 50 °C. A extração e a concentração foram realizadas até obtenção de volume necessário para o microencapsulamento.

#### **4.3.2 Elaboração das microcápsulas**

Foram utilizados os agentes encapsulantes maltodextrina 10 DE (Cargill®), inulina (Cargill®) e goma arábica (Synth®) na concentração de 30%. A concentração do agente encapsulante utilizado e a temperatura do ar de saída do *spray dryer* durante o processo de microencapsulamento foram padronizados segundo o estudo de Lima (2016).

Os extratos concentrados (Figura 4A) foram adicionados aos agentes encapsulantes na proporção de 1:3 (v/v), segundo Silva et al., (2013). As misturas

resultantes foram homogeneizadas em agitador magnético, mantidas a 30 °C e submetidas à secagem em *spray dryer* (Figura 4B).

Os pós foram obtidos utilizando um mini *spray dryer* da marca Yamato, modelo ADL 311S, com pressão manométrica máxima do ar comprimido de 0,1 Mpa, vazão de alimentação de 2,0 mL/min e fluxo do ar de secagem igual a 0,21 m<sup>3</sup>/min. A temperatura do ar de saída foi fixada em 50 °C. Ao final do processo, os pós foram acondicionados em embalagens de polietileno contendo camada laminada e armazenados em freezer -18 °C até o momento da realização da digestão *in vitro*, da elaboração do sistema-modelo de gelatina e das análises físico-químicas.



Figura 4. Fotografia do extrato concentrado de antocianinas incorporado do agente encapsulante (A). Processo de secagem do extrato concentrado por pulverização em *spray dryer* (B).

#### 4.4 Caracterização físico-química das microcápsulas e da polpa

##### 4.4.1 Atividade de água

Atividade de água das microcápsulas foi mensurada com o auxílio de um

medidor de atividade de água LabMaster, da marca Novasina por meio de leitura direta.

#### 4.4.2 Solubilidade

O método para determinação de solubilidade das microcápsulas consistiu da adição de 0,5 g de amostras em um béquer contendo 50 mL de água destilada e levado a agitação de 100 rpm durante 30 minutos. Em seguida centrifugou-se a 1700 g por 5 minutos. Posteriormente, uma alíquota de 25 mL do sobrenadante foi recolhido e levado à estufa aquecida a 105 °C até peso constante. O resultado da solubilidade foi expresso em porcentagem, com base na diferença de peso da amostra solubilizada, de acordo com a Equação 1 (DE SOUZA et al., 2015).

Equação 1

$$\% Sol. = \frac{P_{am} - P_{ams}}{P_{am}} \times 100$$

Em que:

P<sub>am</sub> = peso da amostra (sobrenadante)

P<sub>ams</sub> = peso da amostra seca

#### 4.4.3 pH

Para análise de pH das microcápsulas foi utilizado um pH metro (Kasvi®). Foram pesados 5 g dos microencapsulados e misturados em 50 mL de água destilada sob agitação por uma hora. Em seguida, o material foi filtrado e realizada a leitura do pH (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2005).

#### 4.4.4 Determinação de polifenóis totais

O teor de polifenóis totais foi determinado segundo método colorimétrico Folin-Ciocalteu de acordo com a metodologia adaptada de Singleton; Rossi (1965).

O preparo dos microencapsulados para determinação de polifenóis totais envolveu a pesagem de 1 g de amostra e reconstituição em 16 mL de água acidificada (pH 2,0). Após a solubilização dos microcápsulas, uma alíquota foi retirada e diluída em etanol 70% (3:10 v/v), e foi centrifugada a 5400 g, 20 °C,

durante 20 minutos. O sobrenadante foi recolhido e utilizado para quantificação de polifenóis.

O extrato da polpa de jussara foi diluído (0,5:10 v/v) em etanol 70% e seguiu para quantificação de polifenóis.

A determinação do conteúdo fenólico total consistiu na adição de 0,6 mL da amostra (previamente prepara e diluída) em 3,0 mL de reagente Folin-Ciocalteu diluído em água destilada (1:10; v/v); após 3 minutos de repouso ao abrigo da luz, foi adicionado 2,4 mL de solução saturada de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (7,5 %; m/v). Após 60 minutos de repouso em ausência de luz, a leitura da absorbância foi realizada a 760 nm por espectrofotometria. O total de polifenóis foi determinado utilizando curva padrão de ácido gálico (0 – 200 mg/L) e os resultados expressos em ácido gálico equivalente (mg AGE/100 g).

#### 4.4.5 Análise de antocianinas totais

A determinação de antocianinas totais foi realizada segundo Giusti; Wrolstad (2005), por meio do método de pH diferencial. As amostras foram previamente preparadas e diluídas em uma solução tampão de cloreto de potássio 0,025 M (pH 1,0) e acetato de sódio 0,4 M (pH 4,5) e mantidas em repouso ao abrigo de luz por 15 minutos. A absorbância foi mensurada a 510 e 700 nm.

Os microencapsulados reconstituídos (1 g em 16 mL de água acidificada pH 2,0) foram diluídos nas soluções tampões (2:10 v/v) e centrifugados 5400 g, 20 °C, durante 10 minutos antes da leitura espectrofotométrica. O extrato da polpa de jussara foi diluído na proporção de 0,4:10 (v/v) para as duas soluções tampões.

Para o cálculo do teor de antocianinas utilizou-se a Equação 2 e 3, considerando a massa molar de 449,2 g.mol<sup>-1</sup> e coeficiente de absortividade molar de 26900 L<sup>-1</sup>. cm<sup>-1</sup>.mol<sup>-1</sup>, e o resultado foi expresso em mg de cianidina-3-glicosídeo/100 g do Jussara.

Equação 2:

$$A = (A_{\lambda \text{ vis-max}} - A_{700})_{\text{pH } 1.0} - (A_{\lambda \text{ vis-max}} - A_{700})_{\text{pH } 4.5}$$

Em que:

A = absorbância da amostra

A<sub>λ vis-max</sub> = absorbância a 510 nm

A<sub>700</sub> = absorbância a 700 nm

Equação 3:

$$\text{mg/L} = \frac{A \times \text{MW} \times \text{DF} \times 100}{(\epsilon \times 1)}$$

Em que:

A = absorvância da amostra

MW = massa molar da antocianina

DF= fator de diluição da amostra

$\epsilon$  = absortividade molar

#### 4.4.6 Capacidade antioxidante (ABTS e DPPH)

A determinação da atividade antioxidante por meio do método do radical ABTS (ácido 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina)-6-sulfônico) foi segundo a metodologia proposta por Re et al. (1999).

O extrato da polpa de jussara foi diluído na proporção de 0,1:10 em etanol 80% e seguiu para quantificação. Os microencapsulados reconstituídos (1g em 16 mL de água acidificada pH 2,0) foram diluídos (0,5:10 v/v) em etanol 80% e centrifugados a 5400 g, 20 °C durante 20 minutos, o sobrenadante foi recolhido e utilizado para quantificação de antioxidantes.

No preparo do radical ABTS, quantidades iguais da solução de persulfato de potássio (2,45 mM) e a solução de ABTS (7 mM) foram misturadas e armazenadas em vidro âmbar, permanecendo sob refrigeração por 16 horas, até o momento da análise. Posteriormente, em um tubo de ensaio foi adicionado 0,5 mL das amostras (previamente preparada e diluída), em seguida adicionou-se 3,5 mL do radical ABTS, e a mistura foi homogeneizada em vórtex. Os tubos permaneceram em repouso por 6 minutos na ausência de luz. Após repouso, a leitura foi realizada por espectroscopia a 734 nm, e os resultados expressos como capacidade antioxidante equivalente ao Trolox por 100 gramas de amostra ( $\mu\text{mols Trolox}/ 100 \text{ g}$  de amostra).

O ensaio com o reagente DPPH (2,2,-difenil-2-picryl-didrazil) foi realizado segundo a metodologia de Oliveira et al. (2011); Oliveira (2011); Pukalskas et al. (2002). Preparou-se uma solução etanólica de DPPH (0,1 mM), com ajuste de absorvância para padronizar a solução controle.

O extrato de jussara foi diluído em álcool etílico P.A. (1:10 v/v) e prosseguiu

para determinação da atividade antioxidante. Os microencapsulados reconstituídos em água acidificada, foram diluídos em álcool etílico PA (3:10 v/v) e centrifugados a 5400 g, 20 °C durante 20 minutos. O sobrenadante foi utilizado para determinação do percentual de sequestro de radicais livres.

Após preparo do radical DPPH, uma alíquota das amostras (previamente preparadas e diluídas) foi adicionada a solução etanólica de DPPH 0,1 mM (1,0 mL), a mistura foi agitada e após 60 min em repouso na ausência de luz foi realizada leitura da absorbância a 517 nm. Concomitantemente leu-se absorbância do branco. A atividade de sequestro dos radicais foi expressa como % SRL (sequestro de radicais livres) e calculada utilizando a Equação 4.

Equação 4:

$$\%SRL = 100 - [(A_A - A_B) / A_C] \times 100$$

Em que:

$A_A$  = absorbância da amostra

$A_B$  = absorbância do solvente de extração (etanol)

$A_C$  = absorbância do controle (solução etanólica de DPPH)

#### **4.5 Digestão *in vitro***

A polpa do fruto jussara e os microencapsulados de maltodextrina, inulina e goma arábica foram submetidos ao processo de digestão gastrointestinal simulada.

Inicialmente realizou-se uma digestão gástrica, na qual 15 g de amostra foram misturadas a 30 mL de água destilada, sendo o pH ajustado para 2,0 com HCl 0,1 N, e a pepsina foi adicionada a uma concentração final de 0,04 g de pepsina / g de amostra. Em seguida, as amostras foram incubadas a 37 °C em banho maria com água sob agitação em 110 rpm durante 2 h. Após a digestão gástrica, foi realizada a segunda etapa que consistiu em uma digestão intestinal. O pH foi ajustado para 7,0 com NaOH 1 M gota a gota, em seguida 0,14 g de pancreatina e 0,87 g de sais biliares foram adicionados. As amostras foram novamente incubadas a 37 °C, 110 rpm durante um período de 2 horas. Todos os procedimentos utilizados na digestão *in vitro* foram segundo o estudo de Guergoletto et al. (2016).

Ao final do processo, as enzimas foram inativadas, por meio de banho com gelo durante 10 minutos (KOSIŃSKA-CAGNAZZO et al., 2015), sendo o pH novamente ajustado para pH 2,0 a fim de manter a estabilidade dos compostos fenólicos. Após, as amostras foram centrifugadas a 5400 g, 4 °C, durante 60 minutos, para ocorrer a separação da fração bioacessível e residual (TAGLIAZUCCHI et al. 2010). Quantificou-se as antocianinas, polifenóis totais e capacidade antioxidante, em ambas as frações bioacessível e residual.

#### **4.5.1 Determinação de compostos fenólicos, antocianinas e atividade antioxidante da fração bioacessível**

As amostras da fração bioacessível foram preparadas e diluídas para as quantificações. Para análise de polifenóis totais (item 4.4.4) a amostra do extrato de jussara foi diluído na proporção de 0,5:10 (v/v) e os microencapsulados maltodextrina, inulina e goma arábica na proporção de 1:10 (v/v) em água destilada.

Em relação a determinação de antocianinas (item 4.4.5), o sobrenadante da amostra da polpa de jussara foi diluída na proporção de 0,5:10 (v/v) e os microencapsulados 2:10 (v/v) nas soluções tampões.

Para o ensaio com radical ABTS, o sobrenadante da polpa de jussara e os microencapsulados foram diluídos em etanol 80% na proporção de 0,1:10 (v/v) e 0,5:10 (v/v), respectivamente, e seguiu para análise de antioxidantes (item 4.4.6). Quanto ao método com o reagente DPPH, os sobrenadantes de todos os tratamentos foram diluídos em álcool etílico PA (1:10 v/v) e prosseguiram para quantificação do percentual de sequestro de radicais livres (item 4.4.6).

Após as quantificações foi calculado o percentual de recuperação de antocianinas, compostos fenólicos e atividade antioxidante na fração bioacessível e residual utilizando as Equações 5A e 5B (PINEDA-VADILLO et al., 2017).

Equação 5A:

$$\text{Fração bioacessível (\%)} = (\text{Qt sobrenadante} / \text{Qt digerida}) \times 100$$

Equação 5B:

$$\text{Fração residual (\%)} = (\text{Qt resíduo} / \text{Qt digerida}) \times 100$$

Onde:

Qt refere-se à quantidade de antocianinas, compostos fenólicos ou compostos antioxidantes.

Finalmente, o total de recuperação de antocianinas, compostos fenólicos ou compostos antioxidantes durante todo processo de digestão *in vitro* foi calculado segundo a Equação 6 (PINEDA-VADILLO et al., 2017).

Equação 6:

$$\text{Total de recuperação} = \text{fração bioacessível (\%)} + \text{fração residual (\%)}$$

#### **4.5.2 Determinação de compostos fenólicos, antocianinas e atividade antioxidante da fração residual.**

A fração residual foi submetida ao processo de extração química, de acordo com o procedimento descrito por Pérez-Jiménez; Saura-Calixto, (2005). Brevemente, 2 g de amostra foram misturados em béquer, juntamente com 20 mL de etanol acidificado (50:50 v/v, pH 2). Após, o béquer foi cuidadosamente agitado 20 rpm à temperatura ambiente durante 1 hora e centrifugado a 2500 g durante 10 min. Em seguida o sobrenadante foi recuperado e então realizou-se a segunda extração adicionando ao resíduo 2,5 mL de acetona/água (70:30, v/v). As amostras foram novamente centrifugadas, e os sobrenadantes das duas extrações foram utilizados para as determinações de antocianinas, polifenóis totais e atividade antioxidante.

Os sobrenadantes das amostras de extrato de jussara e dos microencapsulados foram diluídos (1:10 v/v) e (2:10 v/v), respectivamente, em etanol acidificado (50/50 v/v), e centrifugados a 5400 g, 20 °C, durante 20 minutos. O sobrenadante foi recolhido e seguiu para quantificação de polifenóis totais (item 4.4.4).

Para o conteúdo de antocianinas totais, os sobrenadantes foram diluídos diretamente nas duas soluções tampões na proporção de 2:10 (v/v) para todos os tratamentos (item 4.4.5).

Quanto a determinação da atividade antioxidante com radical ABTS, as amostras foram diluídas em etanol 80%, sendo a polpa de jussara na proporção de 0,3:10 (v/v) e os microencapsulados 1:10 (v/v), e prosseguiu para quantificação dos antioxidantes (item 4.4.6). Em relação ao método do reagente DPPH, todas as

amostras foram diluídas em álcool etílico PA (1:10 v/v) e prosseguiram para quantificação do percentual de sequestro de radicais livres (item 4.4.6).

#### 4.6 Incorporação dos microencapsulados em sistema-modelo de gelatina

Utilizou-se gelatina incolor (Tabela 1) e a incorporação dos microencapsulados para o estudo da degradação de compostos bioativos e análise de cor. Foram utilizados 12 g de gelatina (Royal<sup>®</sup>), adicionou-se 200 mL de água fervente. Posteriormente, adicionou-se 100 mL de água gelada, permanecendo em repouso para esfriar à temperatura ambiente.

Após, as amostras de microencapsulados foram reconstituídas em água gelada na proporção de 5 gramas de pó para 5 mL de água (1:1 m/v).

Foram misturados 5 mL de gelatina com 5 mL do pó reconstituído, e a mistura foi acondicionada em copos descartáveis de 50 mL, armazenados sob refrigeração ( $8 \pm 2$  °C).

Foram quantificados o total de antocianinas e compostos fenólicos. Análiseu-se parâmetros de cor para o estudo da degradação ao longo de 72 horas.

Tabela 1. Informação nutricional da gelatina incolor utilizada na elaboração do sistema-modelo de gelatina com incorporação de pós microencapsulados.

Informação nutricional, porção de 12 g (1 colher de sopa)		
Quantidade por porção		% VD
Valor energético	43 kcal = 180 KJ	2
Proteínas	10 g	13
Sódio	7,0 mg	0
Não contém quantidade significativa de carboidratos, gorduras totais, gorduras saturadas, gorduras <i>trans</i> e fibra alimentar.		

A gelatina foi submetida ao processo de extração de compostos fenólicos totais segundo Francis (1982), no qual a gelatina foi macerada com etanol 70% e acidificada com uma solução de ácido clorídrico (HCl) para atingir pH 2,0. A extração ocorreu durante 2 horas, à temperatura de refrigeração ( $8 \pm 2$  °C), por fim o extrato foi filtrado e utilizado para as análises de polifenóis e antocianinas totais.

O extrato de cada microencapsulado foi diluído em etanol 70% na proporção de 3:10 (v/v) e seguiu para determinação do conteúdo fenólico total (item 4.4.4).

Quanto as antocianinas totais, os extratos de maltodextrina, inulina e goma arábica foram diluídos nas soluções tampões na proporção de 2:10 (v/v) para quantificação (item 4.4.5).

#### **4.6.1 Estudo da cinética de estabilidade de polifenóis e antocianinas**

A degradação das antocianinas e de compostos fenólicos totais no sistema-modelo de gelatina foi analisada ao longo de 72 horas, na qual coletou-se amostras nos tempos zero ( $T_0$ ), 12 ( $T_{12}$ ), 24 ( $T_{24}$ ), 48 ( $T_{48}$ ) e 72 ( $T_{72}$ ) horas de armazenamento.

Para as análises assumiu-se que a cinética de degradação foi reação de primeira ordem, segundo estudos na literatura científica (CHRANIOTI; NIKOLOUDAKI; TZIA, 2015; KIRCA; ÖZKAN; CEMEROĞLU, 2006; KIRCA; CEMEROGLU, 2003; LI et al., 2013; SOUZA et al., 2014).

As constantes de degradação ( $k$ ) e os tempos de meia-vida ( $t_{1/2}$ ), isto é, o tempo necessário para a degradação de 50% do composto, foram calculados utilizando as Equações 7A e 7B, respectivamente:

Equação 7A:

$$\ln (C_t / C_0) = - k \times t$$

Equação 7B:

$$t_{1/2} = - \ln 0.5 \times k^{-1}$$

Onde:

$\ln$ : logaritmo neperiano

$C_t$  = teor de antocianinas após 72 horas

$C_0$  = conteúdo inicial de antocianinas

$K$ : constante de degradação

$t$ : tempo

$t_{1/2}$ : tempo de meia vida

#### **4.6.2 Diferença global de cor das gelatinas**

As análises de cor foram realizadas em 3 repetições, por meio de leitura direta de reflectância utilizando um colorímetro Minolta (Konica Minolta, modelo CM-

5).

A escala de cores CIELab foi utilizada para medir os parâmetros  $L^*$  (luminosidade),  $a^*$  (variação do vermelho ao verde),  $b^*$  (variação do amarelo ao azul). As análises foram realizadas na gelatina durante um período de três dias e as medições foram nos seguintes tempos:  $T_0$ ,  $T_{12}$ ,  $T_{24}$ ,  $T_{48}$  e  $T_{72}$  horas. Foram calculados a cromaticidade ( $C^*$ ) e o ângulo de tonalidade cromática ( $H^\circ$ ), de acordo com as Esquações 9A e 9B, respectivamente. O  $\Delta E^*$ , que verifica a diferença global de cor no tempo inicial e final, foi calculado de acordo com a Equação 10.

Equação 9A:

$$h^\circ = \arctan(b^*/a^*)$$

Equação 9B:

$$C^* = [(a^*)^2 + (b^*)^2]^{1/2}$$

Em que:

$b^*$  = valor da coordenada cromática b

$a^*$  = valor da coordenada cromática a

Equação 10:

$$\Delta E^* = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2}$$

Em que:

$\Delta E$  = diferença global de cor

$\Delta L$  = variação da coordenada  $L^*$

$\Delta a$  = variação da coordenada  $a^*$

$\Delta b$  = variação da coordenada  $b^*$

#### 4.7 Análise estatística

A etapa de digestão *in vitro* foi realizada em 5 repetições e a incorporação de microencapsulados em sistema-modelo de gelatina foi realizada em 3 repetições. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

Para a comparação dos microencapsulados com a polpa de jussara aplicou-se análise de variância (ANOVA), complementada com teste de Dunnett. A comparação entre as microcápsulas foi realizada por meio da ANOVA, complementada com teste de Tukey. As análises estatística foram realizadas com auxílio do software GraphPad Prism 5 (versão 5.01), a um nível de 5% de probabilidade.

A constante de degração ( $k$ ) e o tempo de meia-vida ( $t_{1/2}$ ) foram obtidos a partir da análise de regressão, assumindo-se como modelo de primeira ordem. O programa Microsoft Office Excel (2010) foi utilizado para tabulação dos dados, análise e confecção dos gráficos de regressão.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Composição centesimal da polpa do fruto jussara

A composição centesimal da polpa do fruto jussara é apresentada na Tabela 2. A polpa do fruto mostrou um conteúdo lipídico próximo a valores encontrados por outros estudos, entretanto o conteúdo de cinzas e proteínas do presente estudo são superiores aos relatados por outros autores.

A composição centesimal pode variar em decorrência das características de cultivo do fruto, como demonstrado no estudo de Borges et al. (2011), com diferentes cultivares de fruto jussara. Os autores observaram variação nos teores de proteína bruta (5,13-8,21%), cinzas (1,99-3,32%) e lipídios (18,45 a 44,05%) em matéria seca. Essas variações na composição do fruto ocorreram em função de regiões geográficas diferentes, clima, tipo de solo e época de colheita.

Tabela 2. Composição centesimal em matéria seca da polpa do fruto Jussara.

Análises	Resultados (%)
Carboidratos	49,41
Lipídios	28,20
Proteínas	18,75
Cinzas	3,64

Schulz et al. (2015), ao analisar a composição do fruto jussara em sete diferentes estágios de amadurecimento, encontrou valores de proteína de 2,48-3,02 g / 100 g, e lipídios de 7,06 a 22,07 g / 100 g de matéria seca, mostrando uma grande variação durante os diferentes estágios de maturação do fruto. Portanto, compostos nutricionalmente importantes como proteínas, lipídios e minerais podem aumentar de acordo com a maturação do fruto, condições de cultivo e época de colheita (SCHULZ et al., 2015).

### 5.2 Caracterização físico-química das microcápsulas

A Figura 5 ilustra os microencapsulados analisados neste estudo.

Os pós microencapsulados apresentaram valores de atividade de água que variaram de 0,35 a 0,57 (Tabela 3). O revestimento com inulina apresentou um valor significativamente menor comparado aos revestimentos com maltodextrina e goma

arábica. A atividade de água é um fator importante a ser considerado uma vez que exerce influência sobre a estabilidade e vida útil dos pós secos por pulverização. Bicudo et al. (2015), encontraram valores de atividade de água de 0,40 a 0,44 nos microencapsulados de polpa de jussara com goma arábica, maltodextrina e gelatina. Valores de  $a_w$  ainda menores foram observados no estudo de Franceschinis et al. (2014), que encontraram aproximadamente 0,19 de  $a_w$  para microencapsulados com maltodextrina e trealose.

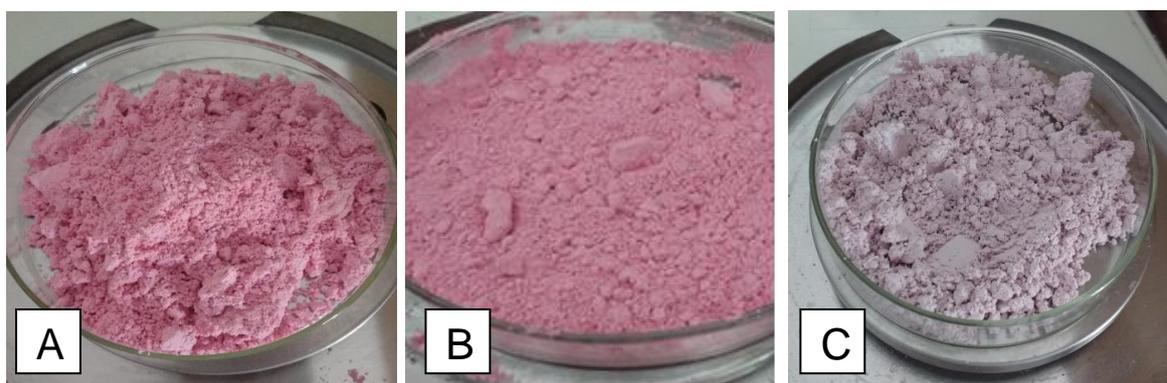


Figura 5. Fotografia dos pós microencapsulados com maltodextrina (A), inulina (B) e goma arábica (C).

Tabela 3. Caracterização físico-química das microcápsulas

Análises	Pós Microencapsulados		
	MD	IN	GA
Atividade de água ( $a_w$ )	0,57 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,35 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,53 ± 0,01 <sup>c</sup>
Solubilidade (%)	99,10 ± 0,02 <sup>a</sup>	99,05 ± 0,11 <sup>a</sup>	99,00 ± 0,11 <sup>a</sup>
pH	3,62 ± 0,12 <sup>b</sup>	3,89 ± 0,07 <sup>a</sup>	3,96 ± 0,06 <sup>a</sup>

Valores expressos com média ± desvio-padrão. Maltodextrina (MD), inulina (IN) e goma arábica (GA). Letras diferentes na mesma linha indica diferença estatística pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

A solubilidade refere-se à capacidade dos pós microencapsulados em formar solução ou suspensão em água, sendo o critério mais confiável para avaliar o comportamento do pó em solução aquosa. Todos os microencapsulados mostraram boa solubilidade em solução aquosa, aproximadamente 99%, não diferindo entre si (Tabela 3). Semelhante aos resultados do presente estudo, Franceschinis et al. (2014) verificaram solubilidades próximas a 100% para os pós microencapsulados

com maltodextrina e trealose. Por outro lado, Bicudo et al. (2015) encontrou solubilidades inferiores para maltodextrina (93,68%) e goma arábica (93,18%).

Os valores de pH obtidos foram inferiores a 4,0, sendo que a MD apresentou o menor valor de pH ( $p < 0,05$ ) (Tabela 3). O pH é considerado um dos fatores mais importantes na estabilidade e manutenção da cor das antocianinas. Há relatos na literatura que em faixas de pH entre 5 e 6, esses compostos apresentam estruturas com coloração não característica de extratos ricos em antocianinas (CASTAÑEDA-OVANDO et al., 2009; FANG, 2014; SUI; DONG; ZHOU, 2014).

Em solução aquosa, as antocianinas são submetidas a reorganizações estruturais em resposta às variações no pH, em quatro estruturas moleculares: as formas de cátion *flavilium*, base quinoidal, pseudo-base carbinol e chalcona. Em soluções ácidas (pH 1-3) as antocianinas existem principalmente como cátions de *flavilium*, apresentando uma coloração vermelha. Em pH acima de 4, há uma perda gradual da intensidade da cor, sendo que as antocianinas apresentam-se as formas das pseudo-base carbinol e chalcona (DOS PASSOS et al., 2015; FANG, 2014). Segundo Flores; Singh; Kong (2014) as microcápsulas de goma arábica reidratadas apresentaram pH 5,2 e um maior teor de monômeros estáveis de antocianinas totais, quando comparada com as microcápsulas de proteínas do soro do leite que mostraram um valor de pH mais elevado na faixa de 6,9.

### **5.3 Estudo da bioacessibilidade *in vitro* de compostos fenólicos e antocianinas**

Os resultados das quantificações de antocianinas e compostos fenólicos totais na matéria-prima, ou seja, que não passou pelo processo de digestão *in vitro*, e nas frações bioacessível e residual são apresentadas na Tabela 4.

Em todas as frações quantificadas, o total de compostos fenólicos foi predominante na polpa do fruto comparado a MD, IN e GA. Ao considerar apenas os microencapsulados, a GA apresentou maior teor de compostos fenólicos na matéria-prima e fração bioacessível em relação a MD e IN. No entanto, na fração residual a amostra GA mostrou menor conteúdo fenólico comparado aos demais tratamentos. A microcápsula de IN foi o tratamento com menor e maior teor de polifenóis na fração bioacessível e residual, respectivamente, entre as microcápsulas.

Tabela 4. Total de antocianinas, compostos fenólicos, ABTS e DPPH, na matéria prima e nas frações bioacessível e residual.

	PO	MD	IN	GA
Compostos fenólicos totais (mg AGE/100g)				
Matéria-prima	1006,77 ± 19,22	222,50 ± 2,35 * <sup>c</sup>	255,90 ± 6,29 * <sup>b</sup>	285,77 ± 2,58 * <sup>a</sup>
Fração Bioacessível	301,03 ± 4,24	96,85 ± 1,92 * <sup>b</sup>	86,59 ± 1,11 * <sup>b</sup>	127,26 ± 2,94 * <sup>a</sup>
Fração Residual	128,86 ± 2,22	33,78 ± 1,16 * <sup>a,b</sup>	56,73 ± 1,28 * <sup>a</sup>	25,63 ± 0,52 * <sup>b</sup>
Antocianinas Totais (mg cianidina-3-glicosídeo/100g)				
Matéria-prima	233,81 ± 8,98	42,94 ± 1,60 * <sup>a,b</sup>	43,48 ± 1,01 * <sup>a</sup>	40,34 ± 1,14 * <sup>b</sup>
Fração Bioacessível	57,76 ± 1,93	8,07 ± 1,49 * <sup>a</sup>	8,41 ± 1,55 * <sup>a</sup>	9,98 ± 0,36 * <sup>a</sup>
Fração Residual	10,94 ± 1,80	9,10 ± 2,82 <sup>a</sup>	12,33 ± 5,87 <sup>a</sup>	5,97 ± 1,75 <sup>a</sup>
ABTS (mM equivalent Trolox/ 100g)				
Matéria-prima	1719,32 ± 63,68	262,77 ± 10,07 * <sup>b</sup>	266,85 ± 11,7 * <sup>b</sup>	362,00 ± 31,02 * <sup>a</sup>
Fração Bioacessível	519,13 ± 11,79	66,76 ± 4,50 * <sup>a</sup>	46,23 ± 1,67 * <sup>b</sup>	64,43 ± 4,68 * <sup>a</sup>
Fração Residual	157,79 ± 13,27	31,67 ± 2,67 * <sup>b</sup>	96,72 ± 3,68 * <sup>a</sup>	27,55 ± 7,91 * <sup>b</sup>
DPPH (% SRL)				
Matéria-prima	80,32 ± 1,01	56,60 ± 0,42 * <sup>a</sup>	57,42 ± 0,42 * <sup>a</sup>	58,06 ± 1,03 * <sup>a</sup>
Fração Bioacessível	75,80 ± 0,59	50,58 ± 0,45 * <sup>a</sup>	47,23 ± 0,89 * <sup>a</sup>	56,19 ± 2,09 * <sup>a</sup>
Fração Residual	49,95 ± 0,84	22,38 ± 1,30 * <sup>a</sup>	26,67 ± 0,45 * <sup>a</sup>	34,19 ± 0,65 <sup>a</sup>

Dados em média ± desvio-padrão. PO: polpa jussara; MD: maltodextrina; IN: inulina; GA: goma arábica; AGE: ácido gálico equivalente; SRL: sequestro de radicais livres; Matéria-prima: não passou pelo processo de digestão *in vitro*; Frações bioacessível e residual: obtidas após digestão *in vitro*. \* (indica diferença estatística entre a polpa e os microencapsulados de acordo com teste de Dunnett). Valores com letras diferentes na mesma linha representa diferença estatística segundo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

Com relação à concentração de antocianinas totais, a polpa de jussara apresentou o maior teor comparada as microcápsulas na matéria-prima e fração bioacessível. No que se refere à fração residual não foi observada diferença significativa entre as amostras. Entre os microencapsulados, apenas na matéria-prima foi observada diferença estatística com maior conteúdo de antocianinas apresentado pela IN. Nas frações bioacessível e residual não houve diferença entre as microcápsulas, ou seja, a estabilidade desses pigmentos ao longo do processo digestivo não foi influenciada pelo material de parede utilizado no processo de secagem em *spray dryer*.

Quanto ao maior conteúdo fenólico e de antocianinas apresentado pela polpa de jussara, deve-se considerar que, o extrato de compostos fenólicos totais provenientes desse fruto foi microencapsulado na proporção de 1:3 (v/v), ou seja, uma parte de extrato para três partes de agente encapsulante, de forma que o material de parede estava em maior proporção, por essa razão os microencapsulados apresentaram menor teor desses compostos bioativos comparado a polpa do fruto fresco.

O maior teor de polifenóis encontrado na microcápsula de GA pode ser atribuído a sua estrutura química, uma vez que a goma arábica é constituída por ácido D-galacturônico, L-ramnose, D-galactose e L-arabinose, incluindo 2% de proteínas (NIE et al., 2013). Essas proteínas podem ser compostas por aminoácidos aromáticos com anel semelhante aos compostos fenólicos, podendo influenciar na leitura espectrofotométrica.

Estudos sugerem que o fruto jussara apresenta um elevado conteúdo de compostos fenólicos e antocianinas. Segundo Bicudo; Ribani; Beta (2014) o total de compostos fenólicos no fruto jussara variou de 490,9 a 816,9 mg AGE / 100g de matéria fresca de acordo com o período de colheita. Rufino et al. (2010), ao avaliar a concentração de polifenóis no fruto jussara, encontrou valores de 755 mg AGE / 100 g de matéria fresca. No presente trabalho os teores de compostos fenólicos foram mais elevados em relação aos relatados por estes estudos.

O conteúdo fenólico pode variar em decorrência da região de cultivo e condições climáticas, uma vez que os ácidos fenólicos e flavonoides são metabolizados em resposta a radiação solar intensa nas bagas, assim o teor será diferente entre os frutos de cada região (BORGES et al., 2011).

Em outro estudo, ao se avaliar a concentração de antocianinas no fruto jussara, em sete diferentes estágios de amadurecimento, observou que no penúltimo estágio foram encontrados valores máximos para as antocianinas (634,26 mg cianidina-3-glicosídeo / 100 g de matéria fresca) e na fase seguinte, ou seja, último estágio de amadurecimento, o conteúdo diminuiu para 425,76 mg de cianidina-3-glicosídeo / 100 g. Esses resultados mostram que o período de amadurecimento do fruto, além das condições de cultivo, condições climáticas, exerce grande influência sobre a síntese de compostos fenólicos e antocianinas refletindo também sobre a capacidade antioxidante (SCHULZ et al., 2015).

Com base no percentual de recuperação de antocianinas e compostos fenólicos no presente estudo (Figura 6), nota-se que na fração bioacessível, o percentual de recuperação de antocianinas variou entre as amostras PO (24,90%), MD (18,71%), IN (19,28%) e GA (24,67%), porém não houve diferença significativa. No entanto, para o conteúdo fenólico, a GA (44,65%) apresentou um maior percentual de recuperação comparada à PO (30,32%;  $p < 0,05$ ). Ao analisar apenas as microcápsulas não houve diferença significativa.

A fração bioacessível deve conter as antocianinas, compostos fenólicos e antioxidantes bioacessíveis, ou seja, uma vez liberados das matrizes alimentares e solubilizados nos fluidos digestivos, deverão estar disponíveis para serem absorvidos. A fração residual, por outro lado, inclui os compostos não bioacessíveis, isto é, que não são liberadas de forma eficiente da matriz do alimento e aquelas que, uma vez liberados, precipitam durante a digestão. Esses compostos não disponíveis para absorção podem atingir o intestino grosso ao final da digestão (PINEDA-VADILLO et al., 2017).

Os polifenóis aprisionados na matriz alimentar são liberados ao longo do trato digestivo (BERMÚDEZ-SOTO; TOMÁS-BARBERÁN; GARCÍA-CONESA, 2007), sendo que o meio químico parece ser um fator que afeta de forma direta a liberação desses compostos (GUERGOLETTTO et al., 2016). Tagliazucchi et al. (2010), observaram que a bioacessibilidade de polifenóis da uva submetidas ao processo de digestão *in vitro* na ausência de enzimas digestivas, foram semelhantes às amostras que passaram pelo processo digestivo na presença dessas enzimas. Dessa forma, os autores sugerem que os polifenóis são liberados como consequência do ambiente químico e não necessariamente a ação de enzimas digestivas.

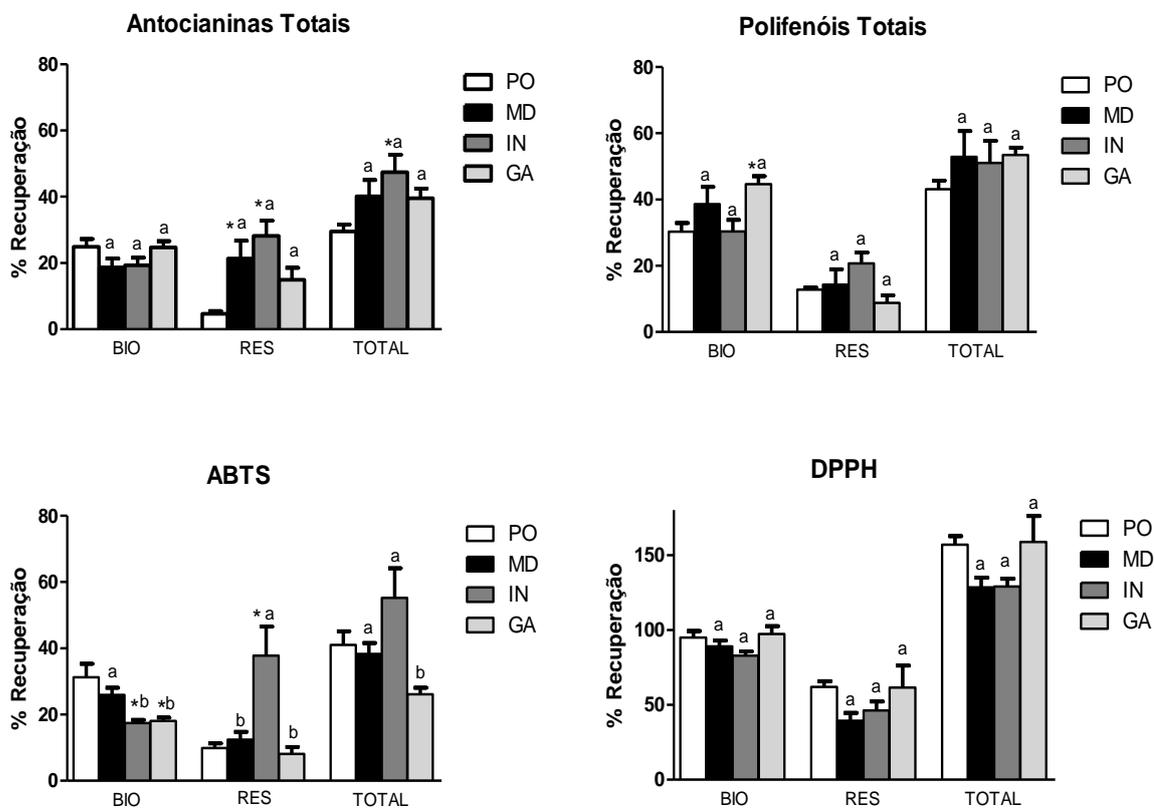


Figura 6. Percentual de recuperação de antocianinas, compostos fenólicos e capacidade antioxidante (ABTS e DPPH) nas frações bioacessível e residual, após a digestão *in vitro*. BIO: fração bioacessível; RES: fração residual; PO: polpa jussara; MD: maltodextrina; IN: inulina; GA: goma arábica. Dados apresentados com Média  $\pm$  desvio-padrão. \* indica diferença significativa entre a polpa e as microcápsulas. Letras diferentes em cada fração representa diferença estatística pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

Em um estudo com fruto jussara liofilizado, foi realizado o monitoramento por HPLC da degradação dos principais flavonoides presentes no fruto durante a digestão gastrointestinal simulada. Na fase oral e gástrica quantidades de antocianinas foram degradadas em cerca de 40%, e mais da metade ainda se fazia presente após a digestão gástrica. Entretanto, após a fase intestinal as antocianinas foram reduzidas em grandes quantidades, aproximadamente 99%, comparada a amostra original. Apesar da elevada degradação de antocianinas, o teor de compostos fenólicos totais presentes no fruto jussara liofilizado após a digestão foi de 46% (GUERGOLETTO et al., 2016).

Em outro estudo, Tagliazucchi et al. (2010) observaram que após a digestão gástrica da uva a concentração de polifenóis e antocianinas bioacessíveis aumentou. No entanto, com a transição do meio ácido do estômago para o pH levemente alcalino do intestino causou uma redução na quantidade de polifenóis totais, antocianinas e flavonoides bioacessíveis. As antocianinas representaram 56% do total de polifenóis que foram perdidos no processo de digestão *in vitro*, e o restante (44% dos polifenóis degradados) corresponde aos não flavonoides, principalmente ácidos fenólicos. Os autores relataram que as antocianinas são amplamente afetadas pela mudança do pH do meio, sugerindo que são estáveis em pH ácido do estômago mas são altamente degradadas em condições de pH alcalino como no meio intestinal, e que o fator mais importante que afeta a liberação dos polifenóis da matriz alimentar parece ser o meio químico do trato gastrointestinal.

Vale ressaltar ainda que há relatos na literatura que o ensaio com o reagente Folin-Ciocalteu é influenciado pelas enzimas utilizadas no processo de simulação da digestão gastrointestinal, assim este ensaio sozinho pode não ser suficiente para refletir mudanças no teor de compostos fenólicos durante a digestão (KAMILOGLU et al., 2014).

Segundo estudos na literatura, a maioria dos flavonoides perdidos durante digestão simulada são antocianinas, e que outros flavonoides que não as antocianinas são mais estáveis à variação do ambiente químico (TAGLIAZUCCHI et al., 2010; BOUAYED; HOFFMANN; BOHN, 2011; GUERGOLETTTO et al., 2016). Semelhante ao presente estudo, que observou maior degradação de antocianinas em relação ao conteúdo fenólico total, esse resultado mostra a maior sensibilidade desses pigmentos as variações de pH ao longo da digestão.

Uma das razões para baixa recuperação de antocianinas pode ser a transformação do cátion flavilium de coloração vermelha (pH ácido) para compostos de coloração incolor a pH alcalino, ou seja, o valor de pH do meio intestinal (KUCK; WESOLOWSKI; NOREÑA, 2017; CASTAÑEDA-OVANDO et al., 2009; FANG, 2014).

Durante o processo de digestão *in vitro*, na fase gástrica é possível observar um aumento gradual do teor de compostos fenólicos e antocianinas, entretanto, ao analisar a fase intestinal o teor de compostos fenólicos é relativamente inferior e as antocianinas podem não ser detectadas (GUERGOLETTTO et al., 2016). Ambas as

fases gástrica e intestinal possuem conteúdo reduzido desses compostos comparado com a extração realizada diretamente no alimento, podendo indicar uma liberação incompleta de compostos bioativos da matriz ou mesmo sua degradação ao longo do processo digestivo devido a fatores como a transição do ambiente gástrico ácido para o levemente alcalino do intestino e o contato com sais biliares e pancreatina (BOUAYED; HOFFMANN; BOHN, 2011; BERMÚDEZ-SOTO; TOMÁS-BARBERÁN; GARCÍA-CONESA, 2007).

A taxa de liberação de antocianinas a partir de nanopartículas de quitosana foi investigada no fluido gastrointestinal e mostrou uma liberação inferior a das antocianinas livres em solução ao longo de 360 minutos. No fluido gástrico (pH 2,0) a porcentagem de antocianinas liberadas das nanopartículas foi de 47,73% e das antocianinas livres foi 68,53%. No fluido intestinal (pH 7,2), as nanopartículas liberaram 30,61% comparada a 50,49% das antocianinas livres durante 360 min. Assim, os resultados mostraram que as nanopartículas de quitosana carregadas com antocianinas poderiam reduzir sua taxa de liberação, reduzindo sua disponibilidade. Portanto deve-se considerar a matriz em que o composto bioativo se encontra, e o meio do trato gastrointestinal, pois, em meio ácido ocorreu maior liberação de antocianina comparada ao meio alcalino do intestino (HE et al., 2017)

A fração residual é referente ao resíduo formado ao término da digestão. A quantificação da fração residual é relevante uma vez que após a digestão *in vitro* quantidades significativas de compostos bioativos podem permanecer nos resíduos sendo geralmente ignorados (SEIQUER et al., 2015). No presente estudo a PO demonstrou um percentual de recuperação de antocianinas no resíduo significativamente menor em relação a MD (21,40%) e IN (28,19%) (Figura 6). Esses resultados sugerem que em ambos os tratamentos (MD e IN) uma quantidade menor de antocianinas estaria bioacessível devido à degradação ou menor taxa de liberação durante a digestão.

Com relação aos compostos fenólicos, não foi observada diferença significativa entre os tratamentos, mas observa-se que o resíduo de GA (8,80%) apresentou menor teor de compostos fenólicos e IN (20,68%) mostrou maior conteúdo dos mesmos na fração residual.

Entre as microcápsulas, a IN apresentou o maior percentual de recuperação de antocianinas e compostos fenólicos, quando comparada a MD e GA, mesmo não

sendo significativo.

Ao considerar todas as etapas da digestão *in vitro*, ou seja, o percentual de recuperação total, em relação às antocianinas as microcápsulas apresentaram maior percentual de recuperação comparada a polpa de jussara, porém esse resultado foi significativo apenas para a IN (Figura 6). Entre as microcápsulas não houve diferença estatística.

Quanto ao percentual total de recuperação de compostos fenólicos, as amostras não diferiram entre si estatisticamente. Entretanto, observa-se que as microcápsulas apresentaram maior percentual de recuperação total em relação à polpa do fruto mesmo não sendo significativo.

A inulina é um prebiótico, que são carboidratos resistentes à digestão no trato gastrointestinal superior, ou seja, não sofre a ação de enzimas digestivas. Ao chegar no intestino grosso, esses componentes alimentares sofrem fermentação pelas bactérias do cólon, conferindo benefícios a saúde intestinal (FERNANDES; BORGES; BOTREL, 2014). Dessa forma, sugere-se que o microencapsulamento com inulina seja interessante, uma vez que, com a fermentação da inulina no cólon, o composto bioativo no interior da microcápsula pode ser liberado para desempenhar benefícios à saúde intestinal.

Os compostos bioativos, uma vez não disponíveis para absorção, podem desempenhar papel importante no intestino, atuando como antioxidantes, mantendo o equilíbrio redox e dessa forma auxiliando na redução do risco de algumas patologias que podem acometer o trato intestinal.

#### **5.4 Atividade Antioxidante**

A quantificação da capacidade antioxidante é apresentada na Tabela 4.

A PO apresentou em todas as frações quantificadas uma maior atividade antioxidante ( $p < 0,05$ ), por meio do ensaio com ABTS e DPPH. Esses resultados podem estar associados ao fato de que a capacidade antioxidante seja proporcional à concentração de compostos fenólicos e flavonoides (BOUAYED; HOFFMANN; BOHN, 2011).

Entre as microcápsulas, por meio do ensaio com ABTS, observa-se que a GA apresentou maior atividade antioxidante na matéria-prima em relação a MD e IN, podendo estar associado ao seu maior conteúdo fenólico. Entretanto, nota-se que a

microcápsula de IN mostrou menor atividade antioxidante na fração bioacessível e maior na fração residual comparada a MD e GA. Esses resultados podem indicar uma redução na taxa de liberação de compostos antioxidantes durante a digestão ou a degradação dos mesmos ao longo do processo digestivo.

Rufino et al. (2010) ao avaliar a atividade antioxidante do fruto jussara, encontrou valores de 7830  $\mu\text{mol}$  de trolox / 100 g de amostra pelo método do ABTS, resultados superiores ao presente estudo. Ainda, observou-se associação entre a capacidade antioxidante e o conteúdo fenólico.

Em relação ao reagente DPPH, são utilizadas diferentes metodologias para realização do ensaio com esse reagente, desse modo os resultados obtidos entre os estudos na literatura são expressos em unidades diferentes dificultando a comparação da atividade antioxidante por meio do método com DPPH.

Schulz et al. (2015) avaliou a atividade antioxidante do fruto jussara em sete diferentes estágio de maturação, a análise de regressão mostrou que a inibição do radical DPPH foi fortemente relacionada ao estágio de amadurecimento, de forma que o estágio 5 obteve a maior inibição do radical. Estes resultados estão associados ao maior conteúdo de fenólicos e antocianinas nesses estágios de amadurecimento mais avançados.

A região de cultivo influencia a capacidade antioxidante do fruto jussara, uma vez que, a atividade antioxidante está relacionada ao teor de compostos fenólicos, assim em regiões onde o fruto apresentou maior conteúdo fenólico consequentemente a atividade antioxidante pelo método do DPPH foi maior (BORGES et al., 2011).

Ressalta-se que a fração residual é a parte não digerível e que não está disponível para ser absorvida e utilizada pelo organismo, assim é desejável que menor atividade antioxidante seja encontrada no resíduo, e que maior quantidade esteja na fração bioacessível. Para que um antioxidante exerça seus benefícios à saúde atenuando os danos causados pela geração de radicais livres, é necessário estar disponível para ser absorvido e utilizado pelo organismo (RODRIGUES et al., 2012). Por outro lado, uma vez não absorvido, o antioxidante pode desempenhar um papel benéfico para a composição dos microrganismos intestinais, especialmente aqueles que colonizam o colón intestinal. Além dos benefícios no meio biológico, os antioxidantes podem desempenhar um papel importante no trato gastrointestinal

mantendo o equilíbrio redox, contra ação de espécies reativas de oxigênio, auxiliando na redução do risco de doenças associadas à geração de radicais livres que acometem o trato gastrointestinal (BOUAYED; HOFFMANN; BOHN, 2011).

De acordo com a Figura 6, o percentual de recuperação para o ensaio com ABTS mostrou que a disponibilidade de antioxidantes na fração bioacessível, provenientes da PO (31,25%) foram maiores estatisticamente em relação à IN (17,46%) e GA (18,04%). Ao considerar apenas os microencapsulados, nota-se que a MD (25,91%) apresentou maior recuperação de antioxidantes na fração bioacessível. No que se refere ao resíduo da digestão, observa-se uma atividade antioxidante maior na IN (37,75%) comparada as demais microcápsulas. Esse resultado pode estar associado ao fato de a IN ter apresentado maiores quantidades de antocianinas e compostos fenólicos na fração residual ( $p > 0,05$ ) o que refletiu sobre a capacidade antioxidante no resíduo.

Quanto ao DPPH, observa-se que o sequestro de radicais livres (% SRL) não apresentou diferença significativa em nenhum dos tratamentos considerando todas as frações quantificadas.

Os antioxidantes presentes no alimento sem sofrerem o processo digestivo são superiores ao conteúdo da fase gástrica e intestinal, sendo dependentes também de sua liberação da matriz do alimento. Em geral a atividade antioxidante é proporcional à concentração de compostos fenólicos e flavonoides. Souza et al. (2014) em um estudo com extrato de uva microencapsulado com maltodextrina relatou uma correlação positiva entre a quantidade de compostos fenólicos e a atividade antioxidante. Por outro lado, não descarta-se a possibilidade de outros compostos presente na amostra, como ácido gálico, ácido protocatecuico, epicatequina e quercetina, influenciarem na atividade antioxidante das frações quantificadas (BORGES et al., 2011).

Com base no percentual total de recuperação para o ensaio com ABTS, a GA foi o tratamento que apresentou o menor percentual de recuperação, ao passo que a microcápsula de IN mostrou uma maior recuperação total para atividade antioxidante.

## 5.5 Aplicação dos pós microencapsulados em sistema-modelo de gelatina

### 5.5.1 Cinética de estabilidade de compostos fenólicos e antocianinas

Em relação ao percentual de compostos fenólicos e antocianinas no sistema-modelo de gelatina, o tempo 0 min foi fixado como controle (100%) para comparação com os demais tempos 12, 24, 48 e 72 horas (Figura 7).

O conteúdo de antocianinas totais nos tempos 24 e 48 horas, foi menor ( $p < 0,05$ ) para o revestimento com GA (79,77% e 78,63%), em relação a MD (92,64% e 82,02%) e IN (87% e 84,33%). Porém, ao final das 72 horas os tratamentos não diferiram entre si quanto ao percentual de antocianinas.

Para os compostos fenólicos totais, a MD e IN no  $T_{12}$  apresentaram um conteúdo significativamente maior que a GA. No entanto, no  $T_{24}$  esse percentual de polifenóis seguiu a ordem  $GA > MD > IN$ , diferentemente ao observado no  $T_{12}$ . No  $T_{48}$  e  $T_{72}$  a GA continuou apresentando valores de compostos fenólicos superiores (93,49% e 68,83%, respectivamente), comparada a MD e IN ( $p < 0,05$ ).

Em relação ao aumento no teor de compostos fenólicos apresentado pela GA, pode ser explicado por sua estrutura química. A goma arábica é um polímero constituído por ácido D-galacturônico, L-ramnose, D-galactose e L-arabinose, incluindo 2% de proteínas (NIE et al., 2013). Na composição dessas proteínas pode haver aminoácidos aromáticos, com anel semelhante ao dos compostos fenólicos, e que foram detectados no mesmo comprimento de onda dos polifenóis pelo espectrofotômetro.

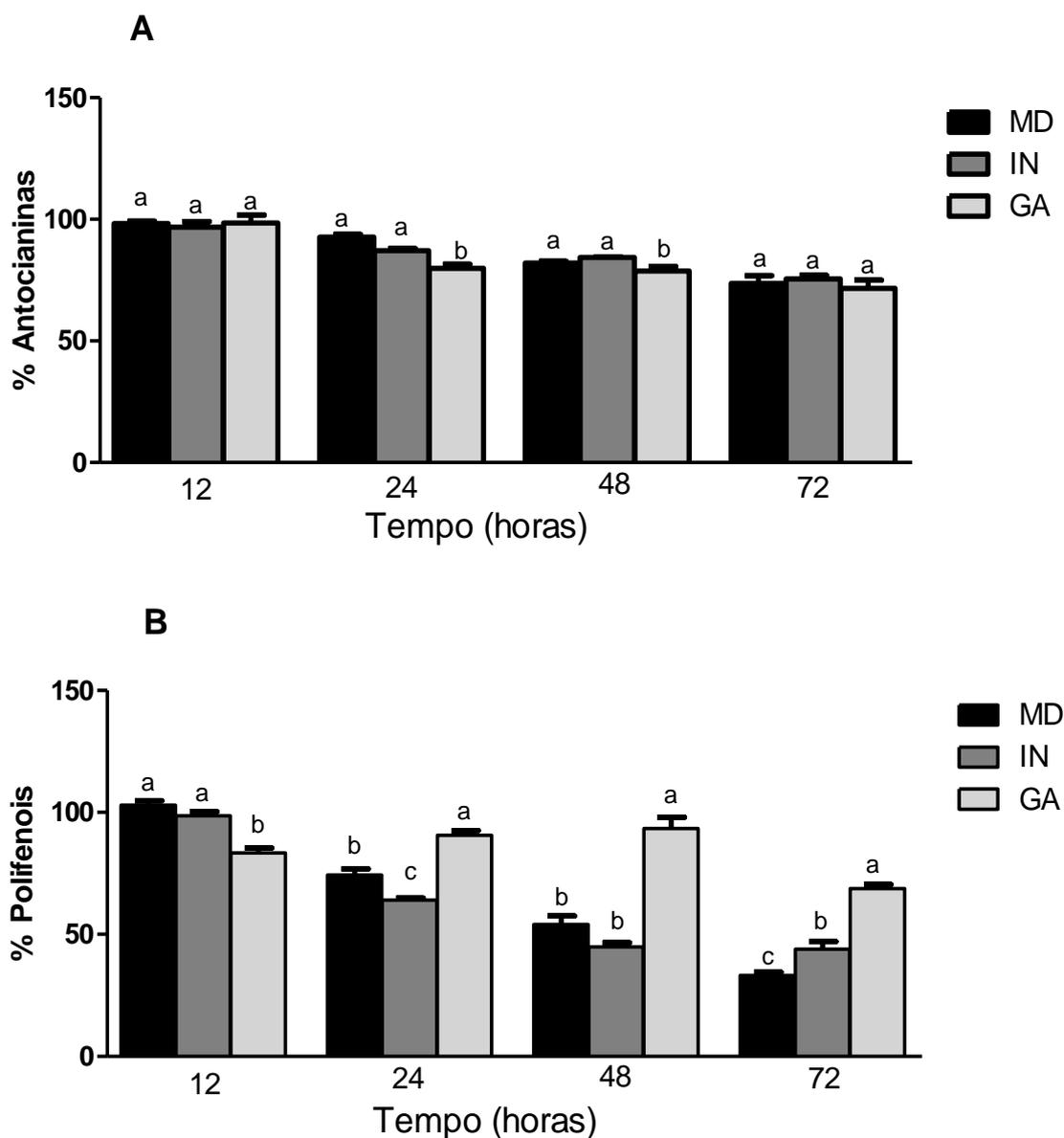


Figura 7. Percentual de antocianinas (A) e Polifenois (B), em relação ao tempo 0 minuto, no sistema-modelo de gelatina com incorporação de diferentes materiais de revestimento. MD: maltodextrina; IN: inulina; GA: goma arábica. Valores apresentados com Média  $\pm$  desvio-padrão. Letras diferentes em cada tempo avaliado (12, 24, 48 e 72 horas) diferem entre si segundo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

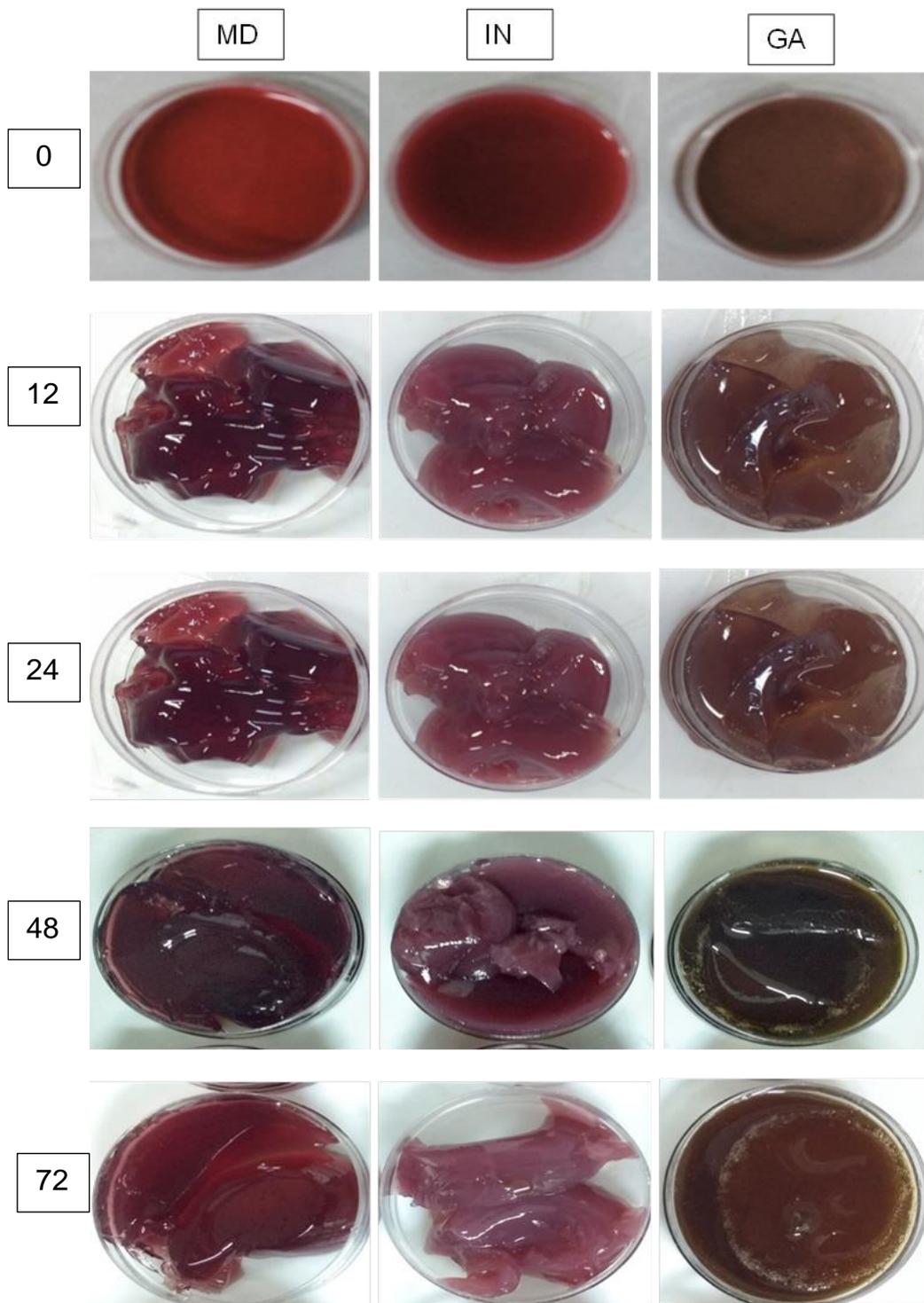


Figura 8. Fotografia da gelatina com incorporação dos pós microencapsulados de maltodextrina (MD), inulina (IN) e goma arábica (GA), durante três dias: T<sub>0</sub>, T<sub>12</sub>, T<sub>24</sub>, T<sub>48</sub> e T<sub>72</sub> horas.

Para o estudo da cinética de degradação dos compostos fenólicos e antocianinas, assumiu-se o modelo linear de regressão de primeira ordem (Figura 9), como evidenciado por estudos anteriores (LI et al., 2015; EKICI et al., 2014; CHRANIOTI; NIKOLOUDAKI; TZIA, 2015). Um comportamento cinético de primeira ordem na estabilidade das antocianinas mostra que a degradação desses pigmentos permanece de forma linear com o tempo (SOUZA et al., 2014).

A constante de degradação ( $k$ ), o tempo de meia-vida ( $t_{1/2}$ ) e o  $R^2$  são apresentados na Tabela 5. Observa-se que a constante de decaimento para antocianinas foi na seguinte ordem:  $GA > MD > IN$ . De forma oposta o  $t_{1/2}$  foi maior para IN e menor para GA. Por outro lado, na análise de compostos fenólicos verifica-se que a constante de decaimento seguiu a ordem:  $MD > IN > GA$ . Na mesma lógica que para antocianinas, o  $t_{1/2}$  foi o inverso, sendo GA com o maior tempo de meia-vida.

Tabela 5. Análise de regressão da degradação de compostos fenólicos e antocianinas em sistema-modelo de gelatina incorporado de microencapsulados com diferentes agentes durante um período de três dias.

Amostra	Antocianinas			Compostos Fenólicos		
	$k \text{ h}^{-1}$	$t_{1/2}$ horas	$R^2$	$k \text{ h}^{-1}$	$t_{1/2}$ horas	$R^2$
MD	0,0043	162,3	0,988	0,0153	45,3	0,967
IN	0,0039	177,0	0,952	0,0114	60,6	0,875
GA	0,0047	148,2	0,851	0,0052	133,4	0,540

Dados expressos em média  $\pm$  desvio-padrão. Maltodextrina (MD), inulina (IN) e goma arábica (GA). Constante de degradação ( $k$ ); tempo de meia-vida ( $t_{1/2}$ ).

A constante de degradação ( $k$ ) é um parâmetro que permite uma previsão da degradação das antocianinas, dessa forma quanto menor o valor da constante ( $k$ ) maior é a estabilidade desse pigmento (KUCK; WESOLOWSKI; NOREÑA, 2017). Por outro lado, o tempo de meia-vida representa a estimativa de tempo para que se atinja a metade da concentração inicial do composto. Observa-se que para a análise de antocianinas, o tempo total experimental (72 horas) foi inferior ao estimado para os cálculos. No entanto, o consumo da gelatina, após ser reconstituída, deve ser de no máximo de 3 dias, o que justifica a interrupção do estudo em 72 horas.

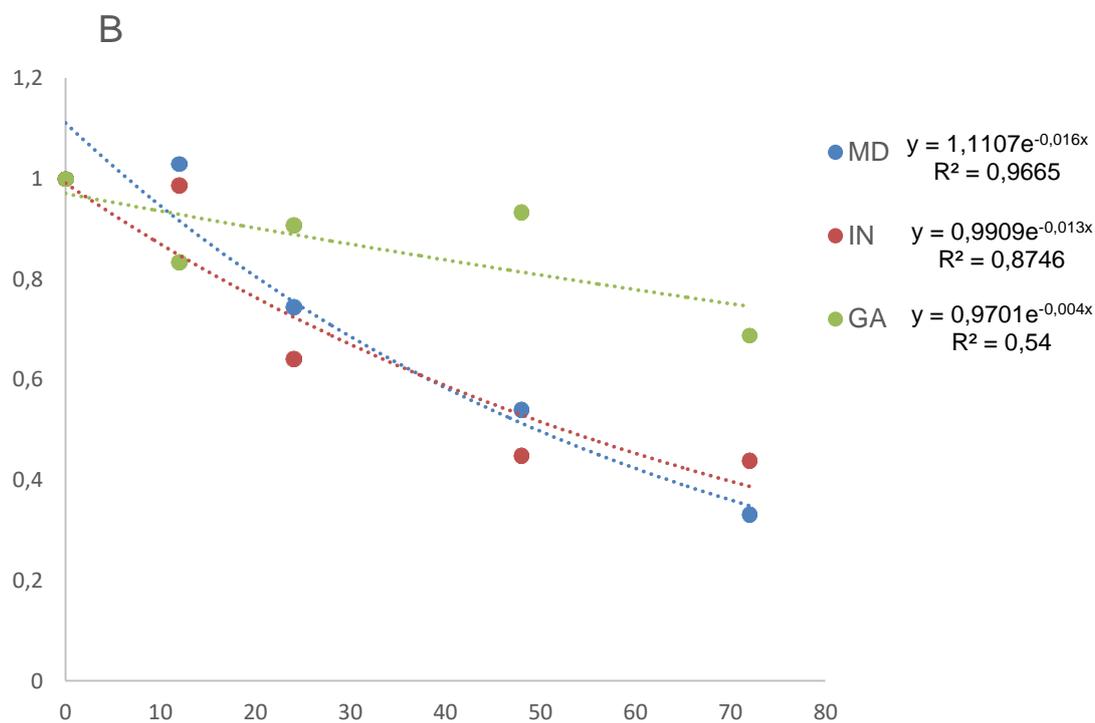
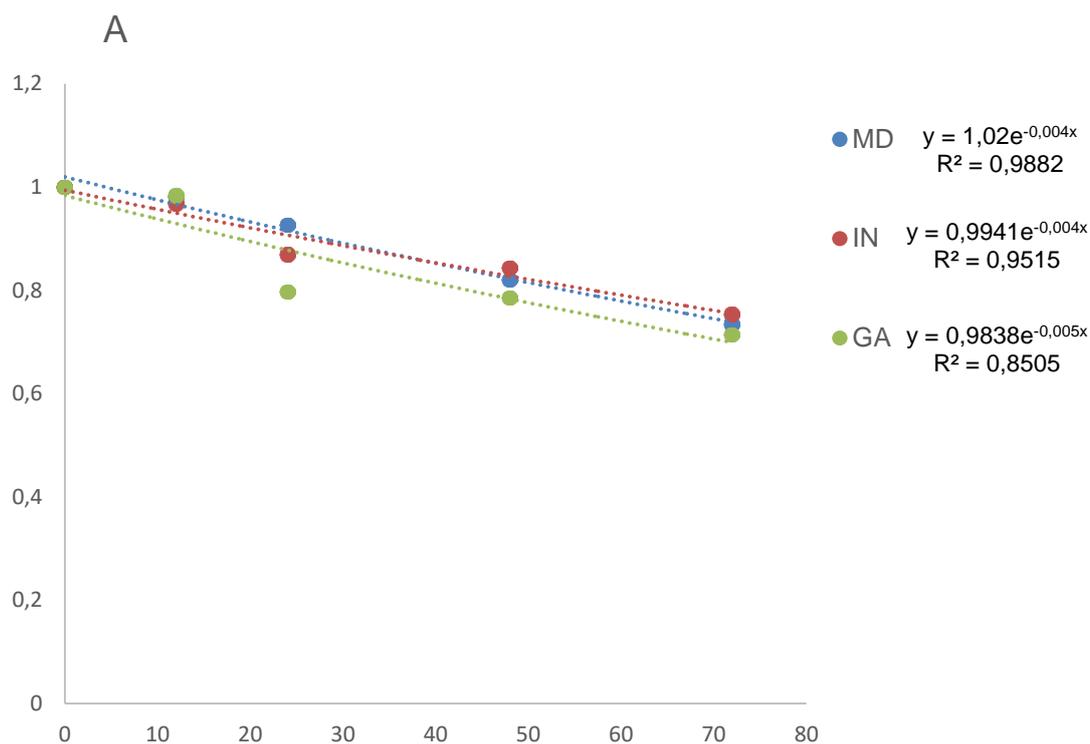


Figura 9. Representação gráfica da cinética de degradação de antocianinas (A) e polifenóis (B) nos tempos ( $T_0$ ,  $T_{12}$ ,  $T_{24}$ ,  $T_{48}$  e  $T_{72}$ ) em sistema-modelo de gelatina. Maltodextrina (MD), inulina (IN) e goma arábica (GA). São apresentados o modelo exponencial, a equação da reta e o valor de  $R^2$ .

Souza et al. (2014) relatam que o agente encapsulante exerce efeito sobre a estabilidade das antocianinas, uma vez que o extrato líquido sem agente apresentou um  $t_{1/2}$  e um valor de k inferior comparado às amostras secas por pulverização com agente encapsulante, indicando uma baixa taxa de degradação nos microencapsulados. Dessa forma ocorre menor perda de antocianinas favorecendo sua utilização na indústria de alimentos.

Ferrari et al. (2013) observaram que durante o armazenamento a 25 °C, as microcápsulas produzidas com maltodextrina apresentaram um tempo de meia-vida mais longo, ao passo que com a goma arábica observou-se maior taxa de degradação, acompanhada de um tempo de meia-vida mais curto. Para as amostras armazenadas a 35 °C, a combinação dos agentes encapsulantes maltodextrina/goma arábica resultaram em tempo de meia-vida mais longo para essas microcápsulas. De forma semelhante, em outro estudo, que incorporou microcápsulas de antocianinas em refrigerantes isotônicos, mostrou cinética de degradação de primeira ordem em todas as situações avaliadas. A taxa de degradação foi influenciada pelo agente encapsulante, sendo que a combinação da maltodextrina/goma arábica apresentou um tempo de meia-vida mais longo e uma menor constante de degradação para todas as condições avaliadas, proporcionando assim uma melhor proteção das antocianinas (BURIN et al., 2011)

O tempo de estocagem é um importante fator para a degradação de compostos bioativos. Kuck; Wesolowski; Noreña, (2017) ao avaliar o efeito da umidade relativa (75% e 95%) e temperatura (35, 45 e 55 °C) na estabilidade de extrato fenólico de uva microencapsulado com polidextrose e goma guar, observaram que o conteúdo total de fenólicos diminuiu significativamente durante os primeiros 7 dias de armazenamento para todas as condições estudadas. Após sete dias, o conteúdo de fenólicos se estabilizou, não apresentando diferenças significativas em tempos superiores. Um estudo de estabilidade de antocianinas de pétalas de açafraão encapsuladas por liofilização com goma arábica e maltodextrina não evidenciou diferença na estabilidade em relação à proteção das antocianinas após 10 semanas de armazenamento dos pós. Por outro lado, os autores observaram que a degradação das antocianinas na amostra controle, ou seja, o extrato de antocianinas sem agente encapsulante comparado aos microencapsulados foi estatisticamente menor, com uma redução de 32% nas

antocianinas totais após armazenamento de 10 semanas a 35 °C. Portanto, diante desse resultado o autor relata um forte efeito protetor do material de parede contra o calor e outros fatores durante o armazenamento (KHAZAEI et al., 2014). Ainda, He et al. (2017) relataram uma melhora na estabilidade de antocianinas nanoencapsuladas em uma bebida sob diferentes condições de armazenamento, em comparação com as bebidas adicionadas de antocianinas livres. A longevidade desse pigmento pode ter sido devido à estrutura das nanopartículas de quitosana, que mostraram proteger esse pigmento de possíveis degradações, podendo potencialmente transportar e estabilizar as antocianinas para uso na indústria de alimentos.

A temperatura é outro fator importante a ser considerado ao avaliar a estabilidade das antocianinas, de forma que quanto maior a temperatura maior é a degradação desse pigmento (LAOKULDILOK; KANHA, 2017). Diante disso, como a gelatina foi elaborada e mantida em refrigeração (10 °C), o que contribuiu de certa forma para auxiliar na estabilidade das antocianinas e conseqüentemente na cor da gelatina.

Uma maior temperatura de armazenamento das microcápsulas de antocianinas pode resultar em maior constante de degradação e menor tempo de meia-vida para esse composto, resultando em menor disponibilidade (LAOKULDILOK; KANHA, 2017). Ferrari et al. (2013) observou que a degradação de antocianina em pós de amora seca por pulverização exibiu cinética de primeira ordem em todo o armazenamento, sendo que a temperatura afetou negativamente a estabilidade das antocianinas.

Ao avaliar a influência do microencapsulamento com maltodextrina no teor de compostos fenólicos durante o armazenamento, observou-se que todas as microcápsulas foram mais estáveis comparadas ao extrato de mate concentrado sem agente encapsulante nas diferentes temperaturas avaliadas (5, 25 e 45 °C). Esse resultado indica o efeito protetor do agente encapsulante conferido aos compostos fenólicos (NEGRÃO-MURAKAMI et al., 2017).

A estabilidade química das antocianinas é de grande relevância por seus benefícios a saúde, e pelas aplicações na indústria de alimentos como corantes naturais em substituição aos corantes artificiais (CASTAÑEDA-OVANDO et al., 2009). Desse modo, ao comparar a taxa de degradação das antocianinas

juntamente com a cor visual do produto (Figura 8) pode-se dizer em termos gerais que a microcápsula de MD seria uma boa alternativa para proteção das antocianinas e utilização como um corante natural na indústria de alimentos, uma vez que sua constante de degradação foi próxima do valor apresentado pela IN, e ambos mostraram uma menor degradação e  $t_{1/2}$  relativamente mais longos MD (133 horas) e IN (148 horas). Em relação à cor da gelatina, a MD apresentou coloração vermelha mais característica do pigmento podendo ser utilizada na elaboração de gelatina sabor morango em substituição ao corante sintético. Portanto, é possível e interessante a utilização da MD como agente encapsulante no processo de secagem por *spray dryer* para auxiliar na estabilidade das antocianinas e posterior incorporação em gelatinas para conferir cor ao produto.

### 5.5.2 Estabilidade da cor

De acordo com testes preliminares, o pigmento em pó foi reconstituído em água na proporção de 1:2 (m/v), e depois incorporado à gelatina na proporção de 1:1 (v/v), assim os microencapsulados estavam a uma concentração final de 25%.

Posteriormente, investigou-se a estabilidade da cor da gelatina ao longo de três dias (72 horas), e foram considerados os parâmetros  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $C^*$ ,  $h^\circ$  e cálculo do  $\Delta E^*$ , para verificar a diferença de cor entre o tempo inicial e final das amostras, e os dados foram apresentados na Tabela 6.

A Figura 10 ilustra o comportamento dos parâmetros de cor ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $C^*$ ,  $h^\circ$  e  $\Delta E^*$ ) no sistema-modelo de gelatina para as microcápsulas de maltodextrina, inulina e goma arábica, em todos os tempos quantificados ( $T_0$ ,  $T_{12}$ ,  $T_{24}$ ,  $T_{48}$  e  $T_{72}$  horas).

O  $L^*$  expressa a luminosidade da amostra, de forma que quanto mais o valor se aproxima de 100 (branco) significa que a amostra é mais clara, e se for mais próximo de 0 (preto), a amostra é mais escura. Portanto, estatisticamente observa-se que a IN foi a amostra mais clara, ao passo que a MD apresentou menores valores de  $L^*$ . A luminosidade ( $L^*$ ) é influenciada pela proporção de agente encapsulante utilizada e também sua cor inicial. Se o transportador for branco, a cor do pigmento adicionado irá predominar e assim os valores de  $L^*$  serão mais próximos de 0, ou seja, a amostra será mais escura. (DE SOUZA et al., 2015).

Tabela 6. Parâmetros de cor ( $a^*$ ,  $b^*$ ,  $L^*$ ,  $C^*$ ,  $h^\circ$  e  $\Delta E^*$ ) do sistema-modelo de gelatina com incorporação dos microencapsulados de maltodextrina (MD), inulina (IN) e goma arábica (GA), em função do tempo (0 e 72 horas).

	$L^*$		$a^*$		$b^*$		$C^*$		$H^\circ$		$\Delta E^*$
	$L^*_0$	$L^*_f$	$a^*_0$	$a^*_f$	$b^*_0$	$b^*_f$	$C^*_0$	$C^*_f$	$H^0_0$	$H^0_f$	
MD	10,25±1,74 <sup>c</sup>	13,45±0,24 <sup>b</sup>	3,72 ± 0,44 <sup>b</sup>	2,09±0,08 <sup>b</sup>	-1,91±0,51 <sup>a</sup>	-1,75±0,13 <sup>a</sup>	4,19±0,62 <sup>b</sup>	2,72±0,07 <sup>b</sup>	333,16±3,68	320,09±2,69	3,64±1,56 <sup>a</sup>
IN	24,67 ± 0,55 <sup>a</sup>	25,55±1,71 <sup>a</sup>	15,37±0,16 <sup>a</sup>	10,37±1,00 <sup>a</sup>	0,32±0,07 <sup>b</sup>	-0,54±0,06 <sup>b</sup>	15,38±0,16 <sup>a</sup>	10,38±0,99 <sup>a</sup>	1,19 ± 0,26	356,98±0,62	5,43±1,16 <sup>a</sup>
GA	13,31 ± 0,02 <sup>b</sup>	17,05±1,98 <sup>b</sup>	3,46±0,20 <sup>b</sup>	1,46 ± 0,14 <sup>b</sup>	0,64±0,16 <sup>b</sup>	1,42±0,33 <sup>c</sup>	3,52 ± 0,20 <sup>b</sup>	2,04 ± 0,33 <sup>b</sup>	10,44 ± 2,59	43,72 ± 4,57	4,40±1,73 <sup>a</sup>

Valores apresentados com Média ± desvio-padrão. Letras diferentes em cada coluna indicam diferença estatística pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).  $L^*$ : luminosidade;  $a^*$ ,  $b^*$ : coordenada cromática;  $C^*$ : cromaticidade;  $h^\circ$ : ângulo de tonalidade cromática;  $\Delta E^*$ : diferença global de cor.

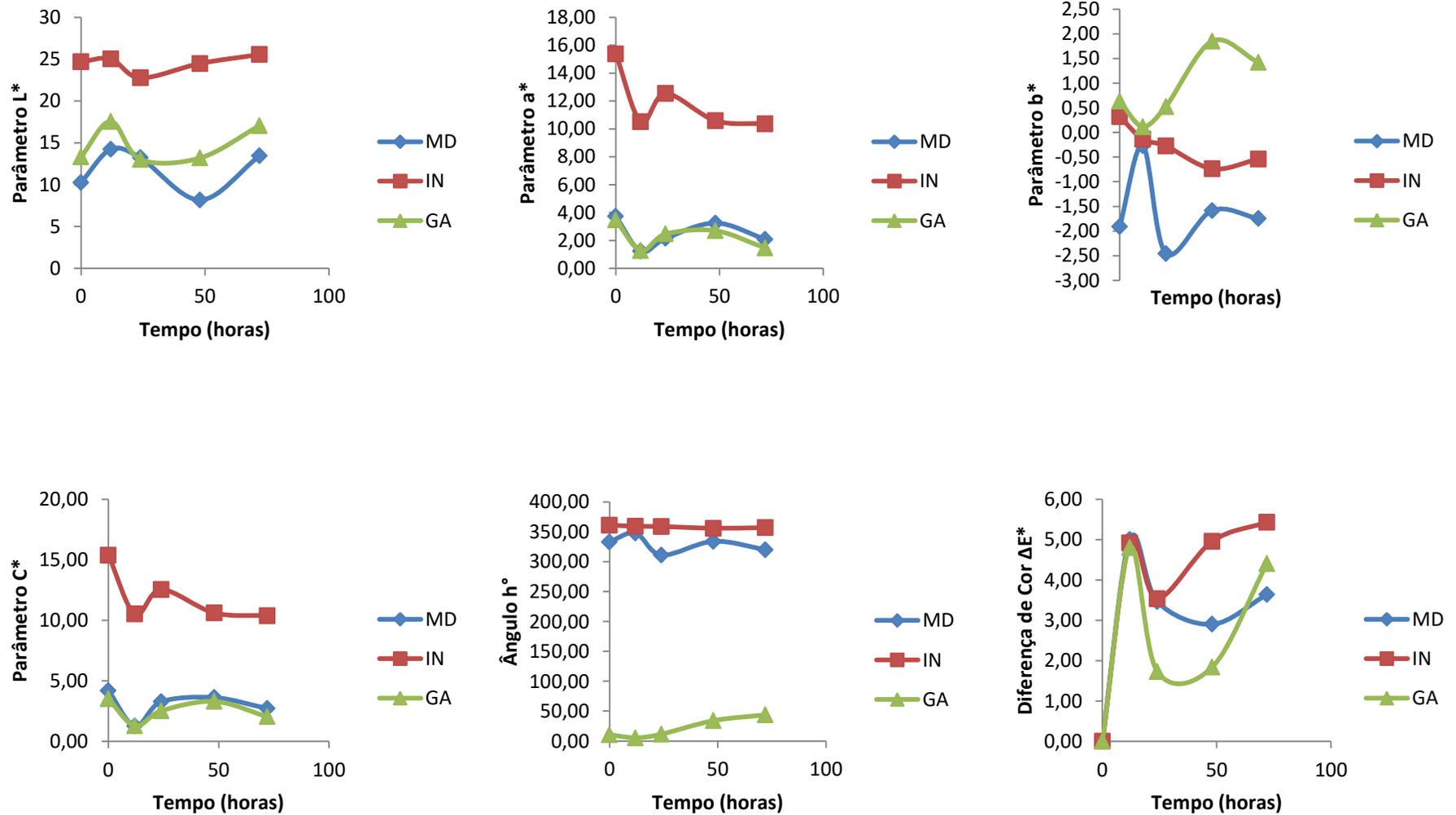


Figura 10. Comportamento dos Parâmetros de cor ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $C^*$ ,  $h^\circ$  e  $\Delta E^*$ ) do sistema-modelo de gelatina incorporada de microencapsulados de maltodextrina (MD), inulina (IN) e goma arábica (GA) nos tempos  $T_0$ ,  $T_{12}$ ,  $T_{24}$ ,  $T_{48}$  e  $T_{72}$  horas.

Com base na coordenada  $a^*$ , que mostra variação de cor do vermelho ( $+a^*$ ) ao verde ( $-a^*$ ), observa-se que todos os tratamentos exibiram cor vermelha sendo característica do pigmento antocianina. A IN foi a amostra que mostrou o maior valor de  $a^*$ , ou seja, sua coloração foi mais avermelhada em relação a MD e GA. Após 72 horas, ocorreu redução no parâmetro  $a^*$  em todas as amostras, entretanto as mesmas continuaram apresentando cor vermelha.

A coordenada  $b^*$  indica variação do amarelo ( $+b^*$ ) ao azul ( $-b^*$ ). A MD demonstrou cor tendendo ao azul ao longo do tempo, diferente da IN e GA que tenderam à cor amarela. A IN inicialmente exibiu valores mais próximos ao amarelo, mas ao final a cor tendeu ao azul. Já a GA apresentou valores no parâmetro  $b^*$  tendendo ao amarelo com o decorrer do tempo.

As antocianinas são pigmentos responsáveis pelas cores variando do vermelho ao azul em diversas plantas (BRIDLE; TIMBERLAKE, 1997), assim pode-se justificar a tendência de cor do vermelho ao azul observado na MD e IN. Outro fator é a cor inicial do agente utilizado, a GA possui cor mais amarelada, logo por meio do parâmetro  $b^*$  nota-se que a cor nessa amostra tendeu a maiores valores de  $b^*$ .

Ao se observar a cor da gelatina com microencapsulado de GA (Figura 8) sugere-se que ocorreu uma baixa liberação de antocianinas ou mesmo sua degradação ou polimerização em outras estruturas químicas, e assim não conferiu a cor característica do pigmento ao produto. A cor amarelada inicial da goma arábica também pode ter influenciado na aparência final da gelatina. Contrário ao que ocorreu com a gelatina incorporada de MD que apresentou cor característica do pigmento de antocianina.

A cromaticidade ( $C^*$ ) indica a vivacidade, saturação de cor nos alimentos ou produtos. Assim, a IN estatisticamente apresentou uma concentração maior da cor em termos de cromaticidade em relação à MD e GA. Ao final, todos os tratamentos mostraram uma redução no valor  $C^*$  em função do tempo, mas a IN permaneceu com maiores valores nesse parâmetro.

O ângulo de tonalidade cromática ( $h^\circ$ ) retrata a cor por meio de graus, ou seja,  $0^\circ$ , tonalidade vermelha,  $90^\circ$ , tonalidade amarela,  $180^\circ$ , tonalidade verde e  $270^\circ$ , tonalidade azul. A MD se manteve entre as tonalidades vermelho e azul no decorrer dos três dias. A IN inicialmente situou-se no sólido de cor entre vermelho e

amarelo, porém mais próxima do vermelho, e ao final apresentou tonalidade entre vermelho e azul. A GA apresentou tonalidade localizada entre o vermelho e o amarelo, à medida que ao final as amostras tenderam mais às tonalidades cromáticas amareladas.

No estudo de Mahdavee Khazaei et al. (2014) sobre aplicação de maltodextrina e goma arábica em diferentes proporções para o microencapsulamento de antocianinas de pétala de açafraão, foi avaliada a estabilidade de cor e os autores observaram que todos os pós tiveram alto valor para o parâmetro  $a^*$ , que foi atribuído ao alto teor de antocianinas que confere coloração vermelha.

Kuck; Noreña (2016) ao avaliar a cor de polifenóis da uva microencapsulados com goma arábica, polidextrose e goma guar parcialmente hidrolisada verificou que, os pós eram de coloração mais clara, com tendência de cor variando do vermelho ao azul segundo as coordenadas  $a^*$  e  $b^*$  sendo a cor característica conferida pelos pigmentos de antocianinas. O ângulo de tonalidade cromática ( $h^\circ$ ) indicou tonalidade vermelha nas amostras, e o parâmetro  $C^*$  mostrou valores variando de 46,41 a 47,27 com adequada saturação de cor entre os pós microencapsulados.

O  $C^*$  e o  $\Delta E^*$  são amplamente utilizados para avaliar mudança de cor nos alimentos (CHRANIOTI; NIKOLOUDAKI; TZIA, 2015). Desse modo, foi calculado o  $\Delta E^*$  entre o tempo inicial e final para todos os tratamentos. O  $T_0$  foi fixado como um controle para o cálculo do  $\Delta E^*$ , assim foi possível mostrar a variação de cor na gelatina ao longo de 72 horas. A gelatina de IN apresentou  $\Delta E^*$  no  $T_{72}$  maior que 5, ou seja, após 72 horas se tornou evidente a diferença de cor no produto. Porém, para as gelatinas de MD e GA não foram observadas diferença de cor ( $\Delta E^* < 5$ ) em nenhum momento, portanto em ambos os tratamentos não ocorreram mudanças evidentes na coloração do produto ao longo dos três dias (Figura 10).

Segundo Obón; Castellar; Alacid (2009), uma diferença de cor de 0 – 1,5 pode ser considerada pequena, indicando que a amostra é, por observação visual, quase idêntica a amostra original. Quando o valor de  $\Delta E^*$  se localiza no intervalo de 1,5 – 5 a diferença de cor já pode ser distinguida e essa diferença se torna evidente quanto o valor de  $\Delta E^*$  é superior a 5.

Bicudo et al. (2015), em um estudo com microencapsulados de jussara utilizando goma arábica (GA), maltodextrina (MD) e gelatina (GT) como agentes

encapsulantes, observou que a GA e GT resultaram em pós com valores de  $\Delta E^*$  mais elevados (15,84 e 12,80), respectivamente, e a MD mostrou um  $\Delta E^* = 4,45$ . Baixos valores de  $\Delta E^*$  indicam que o pigmento em pó mantém a cor da polpa, sendo desejável para posterior incorporação em alimentos.

A cor é a primeira propriedade que um consumidor observa em um alimento ou produto. Sabe-se que durante etapas do processamento dos alimentos pode ocorrer alteração da cor. Neste contexto, corantes artificiais ou naturais podem ser usados pela indústria. No entanto, alguns corantes sintéticos que são utilizados apresentam efeitos nocivos para a saúde. Assim, existe tendência ao uso de corantes naturais em alimentos, substituindo o uso dos sintéticos (KHAZAEI et al., 2014).

## 6. CONCLUSÃO

A polpa do fruto jussara apresentou maiores concentrações de compostos fenólicos e antocianinas totais e, conseqüentemente, maior atividade antioxidante em relação aos microencapsulados.

O percentual de recuperação de antocianinas e polifenóis na fração bioacessível, residual e total foram semelhantes entre todas as microcápsulas. Ao ser comparada à polpa de jussara, a microcápsula de goma arábica apresentou um maior percentual de recuperação de polifenóis na fração bioacessível. Por outro lado, na fração residual, a maltodextrina e inulina se destacaram por apresentar um maior percentual de recuperação de antocianinas. Em relação ao percentual total de recuperação, a inulina apresentou um maior percentual de antocianinas, em relação à polpa do fruto.

A degradação de antocianinas no sistema-modelo de gelatina foi maior para a microcápsula de goma arábica, seguida pela maltodextrina e inulina. Por outro lado, as microcápsulas de maltodextrina apresentaram uma maior degradação de polifenóis, sendo seguida pela inulina e goma arábica. A incorporação de microcápsulas revestidas com inulina ao sistema-modelo de gelatina pode ser considerada promissora, uma vez que conferiu maior proteção às antocianinas e apresentou os melhores parâmetros de cor para gelatina ao longo do armazenamento.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHMED, M. et al. Encapsulation by spray drying of bioactive components, physicochemical and morphological properties from purple sweet potato. **LWT - Food Science and Technology**, v. 43, n. 9, p. 1307–1312, 2010.

AOAC. **Official Methods of Analysis of the AOAC International**. 16th ed. Gaithersburg: 1997.

AYOUB, M.; DE CAMARGO, A. C.; SHAHIDI, F. Antioxidants and bioactivities of free, esterified and insoluble-bound phenolics from berry seed meals. **Food Chemistry**, v. 197, p. 221–232, 2016.

BAKOWSKA-BARCZAK, A. M.; KOŁODZIEJCZYK, P. P. Black currant polyphenols: Their storage stability and microencapsulation. **Industrial Crops and Products**, v. 34, n. 2, p. 1301–1309, 2011.

BALASUBRAMANI, P. et al. Microencapsulation of garlic oleoresin using maltodextrin as wall material by spray drying technology. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 72, p. 210–217, 2015.

BERMÚDEZ-SOTO, M. J.; TOMÁS-BARBERÁN, F. A.; GARCÍA-CONESA, M. T. Stability of polyphenols in chokeberry (*Aronia melanocarpa*) subjected to in vitro gastric and pancreatic digestion. **Food Chemistry**, v. 102, n. 3, p. 865–874, 2007.

BICUDO, M. O. P. et al. Microencapsulation of Juçara (*Euterpe edulis* M.) Pulp by Spray Drying Using Different Carriers and Drying Temperatures. **Drying Technology**, v. 33, n. 2, p. 153–161, 2015.

BICUDO, M. O. P.; RIBANI, R. H.; BETA, T. Anthocyanins, Phenolic Acids and Antioxidant Properties of Juçara Fruits (*Euterpe edulis* M.) Along the On-tree Ripening Process. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 69, n. 2, p. 142–147, 2014.

BORGES, G. DA S. C. et al. Chemical characterization, bioactive compounds, and antioxidant capacity of jussara (*Euterpe edulis*) fruit from the Atlantic Forest in southern Brazil. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 2128–2133, 2011.

BOTREL, D. A. et al. Optimization of Fish Oil Spray Drying Using a Protein:Inulin System. **Drying Technology**, v. 32, n. 3, p. 279–290, 2014.

BOUAYED, J.; HOFFMANN, L.; BOHN, T. Total phenolics, flavonoids, anthocyanins and antioxidant activity following simulated gastro-intestinal digestion and dialysis of apple varieties: Bioaccessibility and potential uptake. **Food Chemistry**, v. 128, n. 1, p. 14–21, 2011.

BRIDLE, P.; TIMBERLAKE, C. F. Anthocyanins as natural food colours—selected aspects. **Food Chemistry**, v. 58, n. 1–2, p. 103–109, 1997.

BURIN, V. M. et al. Anthocyanins: optimisation of extraction from Cabernet Sauvignon grapes, microcapsulation and stability in soft drink. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 46, n. 1, p. 186–193, 2011.

CARDONA, J. A.; MERTENS-TALCOTT, S. U.; TALCOTT, S. T. Phospholipids and terpenes modulate Caco-2 transport of açai anthocyanins. **Food Chemistry**, v. 175, p. 267–272, 2015.

CARDOSO, A. L. et al. Acute consumption of juçara juice (*Euterpe edulis*) and antioxidant activity in healthy individuals. **Journal of Functional Foods**, v. 17, p.

152–162, 2015.

CARVALHO, A. G. DA S. et al. Physical properties and morphology of spray dried microparticles containing anthocyanins of jussara (*Euterpe edulis* Martius) extract. **Powder Technology**, v. 294, p. 421–428, 2016.

CASTAÑEDA-OVANDO, A. et al. Chemical studies of anthocyanins: A review. **Food Chemistry**, v. 113, n. 4, p. 859–871, 2009.

CHRANIOTI, C.; NIKOLOUDAKI, A.; TZIA, C. Saffron and beetroot extracts encapsulated in maltodextrin, gum Arabic, modified starch and chitosan: Incorporation in a chewing gum system. **Carbohydrate Polymers**, v. 127, p. 252–263, 2015.

CILLA, A. et al. Availability of polyphenols in fruit beverages subjected to *in vitro* gastrointestinal digestion and their effects on proliferation, cell-cycle and apoptosis in human colon cancer Caco-2 cells. **Food Chemistry**, v. 114, n. 3, p. 813–820, 2009.

CUNHA JÚNIOR, L. C. et al. Quality evaluation of intact açai and juçara fruit by means of near infrared spectroscopy. **Postharvest Biology and Technology**, v. 112, p. 64–74, 2016.

DA ROSA, C. G. et al. Encapsulation of the phenolic compounds of the blackberry (*Rubus fruticosus*). **LWT - Food Science and Technology**, v. 58, n. 2, p. 527–533, 2014.

DE SOUZA, V. B. et al. Effect of spray drying on the physicochemical properties and color stability of the powdered pigment obtained from vinification byproducts of the Bordo grape (*Vitis labrusca*). **Food and Bioproducts Processing**, v. 93, n. October, p. 39–50, 2015.

DEL RIO, D. et al. Dietary (Poly)phenolics in Human Health: Structures, Bioavailability, and Evidence of Protective Effects Against Chronic Diseases. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 18, n. 14, p. 1818–1892, 2013.

DOS PASSOS, A. P. DA S. et al. The use of thermal analysis and photoacoustic spectroscopy in the evaluation of maltodextrin microencapsulation of anthocyanins from juçara palm fruit (*Euterpe edulis* Mart.) and their application in food. **Food Technology and Biotechnology**, v. 53, n. 4, p. 385–396, 2015.

EKICI, L. et al. Effects of Temperature, Time, and pH on the Stability of Anthocyanin Extracts: Prediction of Total Anthocyanin Content Using Nonlinear Models. **Food Analytical Methods**, v. 7, n. 6, p. 1328–1336, 2014.

FANG, J. Bioavailability of anthocyanins. **Drug Metabolism Reviews**, v. 46, n. 4, p. 508–520, 2014.

FERNANDES, I. et al. Bioavailability of anthocyanins and derivatives. **Journal of Functional Foods**, v. 7, n. 1, p. 54–66, 2014.

FERNANDES, R. V. D. B.; BORGES, S. V.; BOTREL, D. A. Gum arabic/starch/maltodextrin/inulin as wall materials on the microencapsulation of rosemary essential oil. **Carbohydrate Polymers**, v. 101, n. 1, p. 524–532, 2014.

FERRARI, C. C. et al. Storage Stability of Spray-Dried Blackberry Powder Produced with Maltodextrin or Gum Arabic. **Drying Technology**, v. 31, n. 4, p. 470–478, 2013.

FLORES, F. P. et al. Total phenolics content and antioxidant capacities of

microencapsulated blueberry anthocyanins during *in vitro* digestion. **Food Chemistry**, v. 153, p. 272–278, 2014.

FLORES, F. P.; SINGH, R. K.; KONG, F. Physical and storage properties of spray-dried blueberry pomace extract with whey protein isolate as wall material. **Journal of Food Engineering**, v. 137, p. 1–6, 2014.

FRANCIS, F.J. Analysis of anthocyanins in foods. In: MARKAKIS, P., Anthocyanins as Food Colors. New York: **Academic Press**, p. 181-207, 1982.

FRANCESCHINIS, L. et al. Physical and Functional Properties of Blackberry Freeze- and Spray-Dried Powders. **Drying Technology**, v. 32, n. 2, p. 197–207, 2014.

GIUSTI, M. Y; WROLSTAD, R. Characterization and measurement of anthocyanins by UV- Visible spectroscopy. **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**, n. August 2016, p. 19–31, 2005.

GUERGOLETTI, K. B. et al. *In vitro* fermentation of juçara pulp (*Euterpe edulis*) by human colonic microbiota. **Food Chemistry**, v. 196, p. 251–258, 2016.

GUPTA, C. et al. Iron microencapsulation with blend of gum arabic, maltodextrin and modified starch using modified solvent evaporation method - Milk fortification. **Food Hydrocolloids**, v. 43, p. 622–628, 2015.

HART, J. J. et al. Identification of Black Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Polyphenols That Inhibit and Promote Iron Uptake by Caco-2 Cells. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 63, n. 25, p. 5950–5956, 2015.

HE, B. et al. Loading of anthocyanins on chitosan nanoparticles influences anthocyanin degradation in gastrointestinal fluids and stability in a beverage. **Food Chemistry**, v. 221, p. 1671–1677, 2017.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. v. 1: Métodos químicos e físicos para análise de alimentos, 4. ed. São Paulo: **IMESP**, p. 70, 2005.

KAMILOGLU, S. et al. Evaluating the invitro bioaccessibility of phenolics and antioxidant activity during consumption of dried fruits with nuts. **LWT - Food Science and Technology**, v. 56, n. 2, p. 284–289, 2014.

KHAZAEI, K. M. et al. Application of maltodextrin and gum Arabic in microencapsulation of saffron petal's anthocyanins and evaluating their storage stability and color. **Carbohydrate Polymers**, v. 105, n. 1, p. 57–62, 2014.

KIRCA, A.; CEMEROGLU, B. Degradation kinetics of ACNs in blood orange juice and concentrate and concentrate. v. 81, p. 583–587, 2003.

KIRCA, A.; ÖZKAN, M.; CEMEROĞLU, B. Stability of black carrot anthocyanins in various fruit juices and nectars. **Food Chemistry**, v. 97, n. 4, p. 598–605, 2006.

KOSIŃSKA-CAGNAZZO, A. et al. Identification of bioaccessible and uptaken phenolic compounds from strawberry fruits in *in vitro* digestion/Caco-2 absorption model. **Food Chemistry**, v. 170, p. 288–294, 2015.

KUCK, L. S.; NOREÑA, C. P. Z. Microencapsulation of grape (*Vitis labrusca* var. Bordo) skin phenolic extract using gum Arabic, polydextrose, and partially hydrolyzed

- guar gum as encapsulating agents. **Food Chemistry**, v. 194, p. 569–576, 2016.
- KUCK, L. S.; WESOLOWSKI, J. L.; NOREÑA, C. P. Z. Effect of temperature and relative humidity on stability following simulated gastro-intestinal digestion of microcapsules of Bordo grape skin phenolic extract produced with different carrier agents. **Food Chemistry**, v. 230, p. 257–264, 2017.
- LACERDA, E. C. Q. et al. Starch, inulin and maltodextrin as encapsulating agents affect the quality and stability of jussara pulp microparticles. **Carbohydrate Polymers**, v. 151, p. 500–510, 2016.
- LAOKULDILOK, T.; KANHA, N. Microencapsulation of Black Glutinous Rice Anthocyanins Using Maltodextrins Produced from Broken Rice Fraction as Wall Material by Spray Drying and Freeze Drying. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 41, n. 1, p. 1–10, 2017.
- LI, J. et al. Identification and thermal stability of purple-fleshed sweet potato anthocyanins in aqueous solutions with various pH values and fruit juices. **Food Chemistry**, v. 136, n. 3–4, p. 1429–1434, 2013.
- LI, J. et al. Optimization of Microencapsulation of Fish Oil with Gum Arabic/Casein/Beta-Cyclodextrin Mixtures by Spray Drying. **Journal of Food Science**, v. 80, n. 7, p. C1445–C1452, 2015.
- LIMA, E. M. F. **Microencapsulamento por *spray dryer* de antocianinas e polifenóis de jussara (*Euterpes edulis* MARTIUS) e incorporação em sistema-modelo de bebidas lácteas**. 116 f. 2016.
- LIU, Y. et al. Stability and absorption of anthocyanins from blueberries subjected to a simulated digestion process. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 65, n. 4, p. 440–448, 2014.
- MAHDAVI, S. A. et al. Microencapsulation optimization of natural anthocyanins with maltodextrin, gum Arabic and gelatin. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 85, p. 379–385, 2016.
- MCDUGALL, G. J. et al. Anthocyanins from red wine - Their stability under simulated gastrointestinal digestion. **Phytochemistry**, v. 66, n. 21, p. 2540–2548, 2005.
- MINEKUS, M. et al. A standardised static *in vitro* digestion method suitable for food - an international consensus. **Food & function**, v. 5, n. 6, p. 1113–24, 2014.
- MOKRANI, A.; MADANI, K. Effect of solvent, time and temperature on the extraction of phenolic compounds and antioxidant capacity of peach (*Prunus persica* L.) fruit. **Separation and Purification Technology**, v. 162, p. 68–76, 2016.
- NEGRÃO-MURAKAMI, A. N. et al. Influence of DE-value of maltodextrin on the physicochemical properties, antioxidant activity, and storage stability of spray dried concentrated mate (*Ilex paraguariensis* A. St. Hil.). **LWT - Food Science and Technology**, v. 79, p. 561–567, 2017.
- OBÓN, J. M.; CASTELLAR, M. R.; ALACID, M. Production of a red – purple food colorant from *Opuntia stricta* fruits by spray drying and its application in food model systems. **Journal of Food Engineering**, v. 90, n. 4, p. 471–479, 2009.

OLIVEIRA, D. D. S.; AQUINO, P. P.; RIBEIRO, S. M. R.; PROENÇA, R. P. C.; PINHEIRO-SANT'ANNA, H. M. Vitamina C, carotenoides, fenólicos totais e atividade antioxidante de goiaba, manga e mamão procedentes da Ceasa do Estado de Minas Gerais. **Acta Scientiarum – Health Sciences**, v.33, n. 1, p. 89-98, 2011.

OLIVEIRA, I. R. N. **Antocianinas extraídas de capim-gordura (*Melinis minutiflora*): atividade antioxidante, microencapsulamento por atomização e estabilidade**. 2011. 130 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2011.

PAINI, M. et al. Microencapsulation of phenolic compounds from olive pomace using spray drying: A study of operative parameters. **LWT - Food Science and Technology**, v. 62, n. 1, p. 177–186, 2015.

PAREDES-LÓPEZ, O. et al. Berries: Improving Human Health and Healthy Aging, and Promoting Quality Life-A Review. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 65, n. 3, p. 299–308, 2010.

PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. Literature data may underestimate the actual antioxidant capacity of cereals. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 12, p. 5036–5040, 2005.

PINEDA-VADILLO, C. et al. The food matrix affects the anthocyanin profile of fortified egg and dairy matrices during processing and *in vitro* digestion. **Food Chemistry**, v. 214, p. 486–496, 2017.

PUKALSKAS, A.; BEEK, T. A. V.; VENSKUTONIS, R. P.; LINSSEN, J. P. H.; VELDHIJZEN, A. V.; GROOT, A. Identification of radical scavengers in sweet grass (*Hierochloa odorata*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, n. 10, p. 2914-2919, 2002.

RE, R. et al. Antioxidant Activity Applying an Improved Abts Radical Cation Decolorization Assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, n. 9, p. 1231–1237, 1999.

REDAN, B. W. et al. Altered Transport and Metabolism of Phenolic Compounds in Obesity and Diabetes: Implications for Functional Food Development and Assessment 1 , 2. n. 12, 2016.

RODRIGUES, E. et al. Microcapsules containing antioxidant molecules as scavengers of reactive oxygen and nitrogen species. **Food Chemistry**, v. 134, n. 2, p. 704–711, 2012.

RODRÍGUEZ-MORATÓ, J. et al. Potential role of olive oil phenolic compounds in the prevention of neurodegenerative diseases. **Molecules**, v. 20, n. 3, p. 4655–4680, 2015.

RUFINO, M. DO S. M. et al. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v. 121, n. 4, p. 996–1002, 2010.

SAIKIA, S.; MAHNOT, N. K.; MAHANTA, C. L. Optimisation of phenolic extraction from Averrhoa carambola pomace by response surface methodology and its microencapsulation by spray and freeze drying. **Food Chemistry**, v. 171, p. 144–152, 2015.

- SANT'ANA, M. R. **Avaliação do potencial anti-inflamatório e antioxidante da casca da jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*), do açaí jussara (*Euterpe edulis* Martius) e do jambolão (*Syzygium cumini*) em camundongos submetidos à dieta de cafeteria.** p. 44, 2014.
- SAURA-CALIXTO, F.; SERRANO, J.; GOÑI, I. Intake and bioaccessibility of total polyphenols in a whole diet. **Food Chemistry**, v. 101, n. 2, p. 492–501, 2007.
- SCHULZ, M. et al. Chemical composition, bioactive compounds and antioxidant capacity of juçara fruit (*Euterpe edulis* Martius) during ripening. **Food Research International**, v. 77, p. 125–131, 2015.
- SCHULZ, M. et al. Juçara fruit (*Euterpe edulis* Mart.): Sustainable exploitation of a source of bioactive compounds. **Food Research International**, v. 89, p. 14–26, 2016.
- SCHULZ, M. et al. Bioaccessibility of bioactive compounds and antioxidant potential of juçara fruits (*Euterpe edulis* Martius) subjected to *in vitro* gastrointestinal digestion. **Food Chemistry**, v. 228, p. 447–454, 2017.
- SEIQUER, I. et al. Assessing the bioavailability of polyphenols and antioxidant properties of extra virgin argan oil by simulated digestion and Caco-2 cell assays. Comparative study with extra virgin olive oil. **Food Chemistry**, v. 188, p. 496–503, 2015.
- SHEN, Y. et al. Simultaneous determination of red and yellow artificial food colourants and carotenoid pigments in food products. **Food Chemistry**, v. 157, p. 553–558, 2014.
- SINGLETON V. L.; ROSSI J. A. JR. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic Phosphotungstic Acid Reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, p. 144-158, 1965.
- SIGURDSON, G. T.; TANG, P.; M, M. Natural Colorants: Food Colorants from Natural Sources. [s.d.].
- SILVA, P. I. Otimização da extração e microencapsulamento de polifenóis e antocianinas de jaboticaba (*Myrciaria joboticaba*). p. 173, 2011.
- SILVA, P. I. et al. Parameter optimization for spray-drying microencapsulation of jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) peel extracts using simultaneous analysis of responses. **Journal of Food Engineering**, v. 117, n. 4, p. 538–544, 2013.
- SOMASAGARA, R. R. et al. Extracts of Strawberry Fruits Induce Intrinsic Pathway of Apoptosis in Breast Cancer Cells and Inhibits Tumor Progression in Mice. **PLoS ONE**, v. 7, n. 10, p. 1–12, 2012.
- SOUZA, V. B. DE et al. Functional properties and stability of spray-dried pigments from Bordo grape (*Vitis labrusca*) winemaking pomace. **Food Chemistry**, v. 164, p. 380–386, 2014.
- SUI, X.; DONG, X.; ZHOU, W. Combined effect of pH and high temperature on the stability and antioxidant capacity of two anthocyanins in aqueous solution. **Food Chemistry**, v. 163, p. 163–170, 2014.
- TAGLIAZUCCHI, D. et al. *In vitro* bio-accessibility and antioxidant activity of grape polyphenols. **Food Chemistry**, v. 120, n. 2, p. 599–606, 2010.

TONON, R. V.; BRABET, C.; HUBINGER, M. D. Anthocyanin stability and antioxidant activity of spray-dried açai (*Euterpe oleracea* Mart.) juice produced with different carrier agents. **Food Research International**, v. 43, n. 3, p. 907–914, 2010.

VITAGLIONE, P. et al. Curcumin bioavailability from enriched bread: The effect of microencapsulated ingredients. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 13, p. 3357–3366, 2012.

YDJEDD, S. et al. Effect of *in vitro* gastrointestinal digestion on encapsulated and nonencapsulated phenolic compounds of carob (*Ceratonia siliqua* L.) pulp extracts and their antioxidant capacity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 65, n. 4, p. 827–835, 2017.