



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

LARA LOUZADA AGUIAR

**MICROENCAPSULADOS DE EXTRATO DE CASCA DE JABUTICABA
(*Plinia ssp.*) EM SISTEMA-MODELO DE *COOKIE*: ASPECTOS FÍSICO-
QUÍMICOS E ESTUDO DA ESTABILIDADE E BIOACESSIBILIDADE DE
POLIFENÓIS**

ALEGRE – ES
MARÇO - 2023

LARA LOUZADA AGUIAR

**MICROENCAPSULADOS DE EXTRATO DE CASCA DE JABUTICABA
(*Plinia ssp.*) EM SISTEMA-MODELO DE *COOKIE*: ASPECTOS FÍSICO-
QUÍMICOS E ESTUDO DA ESTABILIDADE E BIOACESSIBILIDADE DE
POLIFENÓIS**

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.

Orientadora: Prof^a. Pollyanna Ibrahim Silva
Coorientador: Prof. André Gustavo Vasconcelos Costa
Coorientadora: Prof^a. Raquel Vieira de Carvalho

ALEGRE- ES
MARÇO – 2023

Ficha catalográfica disponibilizada pelo Sistema Integrado de Bibliotecas - SIBI/UFES e elaborada pelo autor

A282 m Aguiar, Lara Louzada, 1997-
Microencapsulados de extrato da casca de jabuticaba (*Plinia ssp*) em sistema-modelo de cookie: aspectos físico-químicos e estudo da estabilidade e bioacessibilidade de polifenóis / Lara Louzada Aguiar. - 2023.
90 f. : il.

Orientadora: Pollyanna Ibrahim Silva.

Coorientadores: André Gustavo Vasconcelos Costa, Raquel Vieira de Carvalho.

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

1. Jabuticaba. 2. Compostos bioativos. 3. Antioxidante. 4. Secagem. I. Silva, Pollyanna Ibrahim. II. Costa, André Gustavo Vasconcelos. III. de Carvalho, Raquel Vieira. IV. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências Agrárias e Engenharias. V. Título.

CDU: 664

LARA LOUZADA AGUIAR

**“ MICROENCAPSULADOS DE EXTRATO DE CASCA DE
JABUTICABA (*Myrciaria cauliflora*) EM SISTEMA-MODELO DE
COOKIE: ASPECTOS FÍSICO-QUÍMICOS E ESTUDO DA
ESTABILIDADE E BIOACESSIBILIDADE DE POLIFENÓIS ”**

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 17 de março de 2023.

Profª. Drª. Pollyanna Ibrahim Silva
Universidade Federal do Espírito Santo-UFES
Orientadora

Profª. Drª. Raquel Vieira de Carvalho
Universidade Federal do Espírito Santo-UFES
Examinadora Interna

Pós Doutoranda Cintia da Silva Araújo
Universidade Federal do Espírito Santo-UFES
Examinadora Interna

Prof. Dr. Paulo Cesar Stringheta
Universidade Federal de Viçosa-UFV
Examinador Externo





documentos defesa dissertação Lara Louzada

Data e Hora de Criação: 20/03/2023 às 10:07:49

Documentos que originaram esse envelope:

- 116ª Ata Defesa de Dissertação -Lara Louzada Aguiar.pdf (Arquivo PDF) - 1 página(s)
- Folha de Aprovação Defesa -Lara Louzada Aguiar.pdf (Arquivo PDF) - 1 página(s)
- Folha de Rosto Defesa Dissertação - Lara Louzada Aguiar.pdf (Arquivo PDF) - 1 página(s)



Hashs únicas referente à esse envelope de documentos

[SHA256]: 1717a9e2dd0e6761018f1be9ddb23f898fbb6aa07920cc07f2afcb9c1dbb1742

[SHA512]: 3f770dacf3829d3f0198f55ed109b0f564ffbba131af29209805bef1137e06f32eb5a9f314eb28f4024b49ae9c5ef7b9bd99a2498d66791f2dae892193b824549

Lista de assinaturas solicitadas e associadas à esse envelope



ASSINADO - Cintia Araújo (araujo.s.cintia@gmail.com)

Data/Hora: 20/03/2023 - 11:19:11, IP: 186.193.18.191

[SHA256]: 220e29c4725036f37d3cbc5204adabe4190f525a1980faba8cab3379d32f6eed



ASSINADO - Pollyanna Ibrahim Silva (pollyanna.silva@ufes.br)

Data/Hora: 20/03/2023 - 10:16:45, IP: 200.137.72.202, Geolocalização: [-20.762229, -41.535364]

[SHA256]: 491fc0d565f6b068836ef79963a359859f9254b96d7f326b8c6f0d494dfc4340



ASSINADO - Paulo Stringheta (pstringheta@gmail.com)

Data/Hora: 21/03/2023 - 09:02:10, IP: 200.235.231.174, Geolocalização: [-20.761217, -42.865803]

[SHA256]: 7c26d4531865b9feedaf5b45383c63aa76cd28a2856d45b04757ead129e260d8



ASSINADO - Raquel Vieira de Carvalho (raquelvcarvalho@hotmail.com)

Data/Hora: 20/03/2023 - 13:41:34, IP: 200.137.72.202, Geolocalização: [-20.762243, -41.535276]

[SHA256]: 09357719b99e3f36fd98096a89ab4b4f32fba3962886f73182b25351c2e2cf89

Histórico de eventos registrados neste envelope

21/03/2023 09:02:10 - Envelope finalizado por pstringheta@gmail.com, IP 200.235.231.174

21/03/2023 09:02:10 - Assinatura realizada por pstringheta@gmail.com, IP 200.235.231.174

21/03/2023 09:01:54 - Envelope visualizado por pstringheta@gmail.com, IP 200.235.231.174

20/03/2023 13:41:34 - Assinatura realizada por raquelvcarvalho@hotmail.com, IP 200.137.72.202

20/03/2023 11:19:11 - Assinatura realizada por araujo.s.cintia@gmail.com, IP 186.193.18.191

20/03/2023 10:16:45 - Assinatura realizada por pollyanna.silva@ufes.br, IP 200.137.72.202

20/03/2023 10:15:42 - Envelope registrado na Blockchain por pollyanna.silva@ufes.br, IP 200.137.72.202

20/03/2023 10:15:40 - Envelope encaminhado para assinaturas por pollyanna.silva@ufes.br, IP 200.137.72.202

20/03/2023 10:07:51 - Envelope criado por pollyanna.silva@ufes.br, IP 200.137.72.202

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, gostaria de agradecer a Deus por seu amparo e cuidado, por me guiar e iluminar durante todos os momentos dessa longa jornada, e me dar tranquilidade para seguir em frente com os meus objetivos e não desanimar com as dificuldades encontradas.

À minha família que tanto amo, por sempre me motivarem e apoiarem, por entenderem as minhas ausências. Ao meu pai Rogério e minha mãe Vani por não medirem esforços para o meu melhor, por serem meu exemplo de vida, e me mostrarem o quanto é importante estudar. A minha irmã Luara por todos seus conselhos, apoios e incentivos, por ser minha motivação e inspiração em nunca desistir dos meus sonhos, e que recentemente, nos presenteou com minha sobrinha que é a alegria da família. Aos meus avós paternos e maternos, principalmente, minha avó materna Adeir pelo cuidado, carinho e orações de sempre, e não poderia deixar de agradecer à senhora por ter ajudado a me educar quando meus pais não podiam estar presentes, sou eternamente grata à senhora Vó.

À Marilza Macêdo e Vicente Dellarmelina pelo fornecimento dos frutos de jabuticaba.

Aos meus amigos e colegas do Mestrado Gisele, Mariana, Betsy, Vinícius e Matheus pelo companheirismo e incentivo de sempre.

À minha orientadora, professora Dr. Pollyanna Ibrahim Silva, que foi e sempre será meu exemplo de competência e profissionalismo. Muito obrigada por me receber e me instruir tão bem em todos esses anos de orientação, dedicação e apoio, serei muito grata a você por ser essa referência que quero seguir.

Aos meus co-orientadores Prof. Dr. André Gustavo Vasconcelos Costa e Prof^a. Dr^a. Raquel Vieira de Carvalho por toda a ajuda, conselhos, auxílio, atenção e ensinamento.

Ao professor Dr. Sérgio Henriques Saraiva, por estar sempre disposto a ajudar e pelas valiosas sugestões que agregaram o trabalho.

Aos técnicos dos laboratórios de Química de Alimentos, Microbiologia de Alimentos, Operações Unitárias e Nutrição experimental Letícia, Maurício e Eduardo, que sempre estiveram dispostos a ajudar e ensinar.

Agradeço à Universidade Federal do Espírito Santo (UFES) por ter me recebido tão bem como discente, e por proporcionar todo conhecimento e crescimento pessoal e profissional, e a todo o Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (PCTA) que sempre se mostrou disponível e atencioso com seus alunos.

Agradeço também ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, Edital Universal, proc. 409221/2018-0), à Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (FAPES, Edital 16/2019, T.O 139/2020 e Edital 11/2020), pelo financiamento do projeto e pela bolsa de estudos. Agradecemos a cooperação CAPES/FAPES – PDPG (proc. 2021-5S41N).

E as pessoas que não citei, mas que fizeram parte desse momento até aqui, meu muito obrigada, sem vocês esse trabalho não teria sido realizado.

SUMÁRIO

RESUMO.....	ix
ABSTRACT	xi
1.INTRODUÇÃO	1
1.1 Referências bibliográficas	3
2. OBJETIVO.....	7
2.1 Objetivo geral	7
2.2 Objetivos específicos	7
3. ARTIGO 1.....	8
Microencapsulação por <i>spray drying</i> e liofilização de extratos de casca de jabuticaba usando agentes emulsificantes: influência em características físicas, tecnológicas e bioativas	8
RESUMO.....	8
1. INTRODUÇÃO.....	9
1. Material e métodos	11
1.1 Material.....	11
1.2 Métodos.....	11
1.2.1 Preparo do extrato do resíduo de jabuticaba.....	11
1.2.2 Microencapsulação dos extratos – <i>Spray drying</i> e Liofilização	12
1.2.3 Caracterização físico-química dos extratos e dos microencapsulados da casca de jabuticaba.....	13
1.2.3.1 Umidade	13
1.2.3.2 Higroscopicidade	14
1.2.3.3 Solubilidade.....	14
1.2.3.4 Análise colorimétrica	14
1.2.3.5 Eficiência de encapsulamento.....	15
1.2.3.6 Morfologia das partículas	15
1.2.4 Compostos bioativos e capacidade antioxidante dos extratos e dos microencapsulados das cascas de jabuticaba	16
1.2.4.1 Conteúdo fenólico total.....	16
1.2.4.2 Antocianinas totais	16
1.2.4.3 Capacidade antioxidante – ABTS.....	17
1.2.4.4 Capacidade antioxidante – DPPH	17
1.2.4.5 Capacidade antioxidante - FRAP	18

2.2.5 – Análise desejabilidade.....	18
2.2.6 – Análise estatística	19
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	19
3.1 Caracterização do extrato concentrado da casca de jabuticaba	19
3.2 Caracterização físico-química dos pós microencapsulados	21
3.3 Morfologia dos pós microencapsulados	24
3.4 Análise colorimétrica dos pós microencapsulados	26
3.5 Compostos bioativos e capacidade antioxidante dos pós microencapsulados	29
3.6 Eficiência de microencapsulação (EE%).....	33
3.7 Análise desejabilidade dos pós microencapsulados	34
4. CONCLUSÃO.....	36
AGRADECIMENTOS	36
5. REFERÊNCIAS.....	37
4. ARTIGO 2.....	45
Estabilidade e bioacessibilidade de microencapsulados de extratos da casca de jabuticaba incorporados em sistema-modelo de cookies	45
RESUMO.....	45
1. INTRODUÇÃO.....	46
1. Material e métodos	48
1.1 Material.....	48
2.2 Métodos.....	48
2.2.1 Preparo do extrato concentrado e dos pós microencapsulados da casca de jabuticaba	48
2.2.2 Incorporação em sistema-modelo de cookie	50
2.2.3 Estabilidade do sistema-modelo de <i>cookie</i>	52
2.2.4 Caracterização do sistema-modelo de cookie	52
2.2.4.1 Análise colorimétrica	52
2.2.4.2 Conteúdo fenólico total.....	53
2.2.4.3 Capacidade antioxidante – ABTS.....	54
2.2.4.4 Capacidade antioxidante – DPPH	54
2.2.4.5 Capacidade antioxidante – FRAP	54
2.2.5 Bioacessibilidade do sistema-modelo de cookies	55
2.2.6 Delineamento experimental e análises estatísticas.....	56

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	56
3.1 Estabilidade da cor, compostos fenólicos e, capacidade antioxidante dos <i>cookies</i>	56
3.3 Bioacessibilidade de polifenóis do sistema-modelo de <i>cookies</i>	63
4. CONCLUSÃO.....	67
AGRADECIMENTO.....	68
5. REFERÊNCIAS.....	68
5. CONCLUSÃO GERAL.....	73

RESUMO

AGUIAR, Lara Louzada. **Microencapsulados de extrato de casca de jabuticaba (*Plinia ssp.*) em sistema-modelo de cookie: aspectos físico-químicos e estudo da estabilidade e bioacessibilidade de polifenóis**. 2023. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre – ES. Orientadora: Prof^a. Dra. Pollyanna Ibrahim Silva. Coorientadores: Prof^a. Dra. Raquel Vieira de Carvalho e Prof. Dr. André Gustavo Vasconcelos Costa.

A casca de jabuticaba é uma das frações da fruta que é usualmente descartada em indústrias, sendo denominada como biorresíduo. O seu elevado teor de compostos fenólicos, quando comparado com a polpa da fruta, a torna promissora como produto comercial para a indústria alimentícia. Dessa forma, este estudo teve o objetivo de microencapsular extratos da casca da jabuticaba utilizando diferentes métodos de secagem e agentes carreadores para produção de pós e incorporá-los em sistemas-modelo de *cookies*, estudando a estabilidade e bioacessibilidade de polifenóis. O extrato concentrado da casca de jabuticaba foi obtido pela extração assistida por ultrassom de banho, utilizando etanol 80% como solvente, e microencapsulado por *spray drying* (SD) e liofilização (FD), utilizando proteína isolada do soro do leite (WPI) e goma arábica (GA) como agentes encapsulantes. Os pós microencapsulados, foram avaliados quanto às características físico-químicas de umidade, higroscopicidade, solubilidade, cor, eficiência de encapsulamento e microestrutura, bem como aos compostos bioativos (conteúdo fenólico total e antocianinas totais) e a capacidade antioxidante (ABTS, DPPH e FRAP). Após a caracterização dos pós, estes foram incorporados em sistema-modelo de *cookies* em concentrações de 10 e 15%, e foi investigado a estabilidade de cor e de compostos bioativos, durante 3 meses de armazenamento sendo analisado de 10 em 10 dias, bem como a bioacessibilidade de compostos fenólicos. Os pós com GA exibiram tendência de cor vermelho para o amarelo (h° (SD) = 22,79 \pm 0,35; h° (FD) = 14,03 \pm 0,3), enquanto os pós com WPI mostraram coloração vermelho voltada para o roxo (h° (SD) = 359,83 \pm 0,00; h° (FD) = 359,93 \pm 0,01). Em relação às propriedades tecnológicas, as microcápsulas produzidas por FD

e WPI se destacaram, apresentando menor umidade ($3,01 \pm 0,38\%$) e quando obtidos por SD apresentou menor higroscopicidade ($8,41 \pm 0,99\%$). Os pós obtidos por FD e GA apresentaram melhor eficiência de encapsulamento. Já em relação à atividade bioativa, os pós microencapsulados por WPI destacaram-se quanto aos maiores teores de compostos fenólicos para ambos os métodos de secagem, SD ($633,86 \text{ mg AGE}/100$) e FD ($581,57 \text{ mg AGE}/100\text{g}$). Já para os pós microencapsulados com GA, o melhor método para preservação da capacidade antioxidante, foi a secagem por SD, tanto para ABTS ($3231,81 \pm 501,67 \text{ } \mu\text{mol TE}/ 100\text{g}$), DPPH ($2311,90 \pm 22,81 \text{ } \mu\text{mol TE}/ 100\text{g}$) e FRAP ($9358,38 \pm 335,61 \text{ } \mu\text{mol SFE}/ 100\text{g}$). E determinando o melhor pó aos parâmetros tecnológicos e bioativos, os pós produzidos com GA obtidos por FD se destacaram com o maior valor de desejabilidade global. No estudo de estabilidade, os *cookies* apresentaram diferença global de cor mínima, indicando pequena degradação dos pigmentos. Para o conteúdo fenólico total e as atividades antioxidantes, os *cookies* obtiveram resultados proporcionais ao aumento das concentrações dos pós adicionados, sendo os *cookies* adicionados com 15% de microcápsulas produzidas por SD e GA com maior estabilidade de armazenamento. A microencapsulação permitiu a liberação controlada dos compostos bioativos durante a digestão, os *cookies* adicionados com microcápsulas de WPI secos por FD apresentaram maior fração bioacessível ($375,12 \pm 35,62\%$). Dessa forma, pode-se concluir que as cascas de jabuticaba apresentam potencial para serem utilizados como fontes de bioativos a serem microencapsulados como alternativa de uso como aditivos em alimentos.

Palavra-chave: Compostos bioativos; Microencapsulação; Jabuticaba; *Plinia ssp.*; *Cookies*; *spray drying*; liofilização

ABSTRACT

AGUIAR, Lara Louzada. **Microencapsulation of jabuticaba peel extract (*Plinia ssp.*) in a cookie model system: physicochemical aspects and study of polyphenol stability and bioaccessibility.** 2023. Dissertation (Master in Food Science and Technology) - Federal University of Espírito Santo, Alegre – ES. Advisor: Prof. Dr. Pollyanna Ibrahim Silva. Co-advisors: Prof. Dr. Raquel Vieira de Carvalho and Prof. Dr. André Gustavo Vasconcelos Costa.

Jabuticaba peel is one of the fruit fractions that is typically discarded in industries, referred to as a byproduct. Its high content of phenolic compounds, compared to the fruit pulp, makes it promising as a commercial product for the food industry. Therefore, this study aimed to microencapsulate extracts from jabuticaba peel using different drying methods and encapsulating agents to produce powders and incorporate them into cookie model systems, investigating the stability and bioaccessibility of polyphenols. The concentrated jabuticaba peel extract was obtained by ultrasound-assisted extraction using 80% ethanol as the solvent, and microencapsulated using spray drying (SD) and freeze drying (FD), with whey protein isolate (WPI) and gum arabic (GA) as encapsulating agents. The microencapsulated powders were evaluated for their physicochemical characteristics, including moisture, hygroscopicity, solubility, color, encapsulation efficiency, and microstructure, as well as their bioactive compounds (total phenolic content and total anthocyanins) and antioxidant capacity (ABTS, DPPH, and FRAP). After powder characterization, they were incorporated into a cookie model system at concentrations of 10% and 15%, and the stability of color and bioactive compounds was investigated during 3 months of storage, with analysis conducted every 10 days, as well as the bioaccessibility of phenolic compounds. Powders with GA exhibited a tendency towards reddish-yellow color (h° (SD) = 22.79 ± 0.35 ; h° (FD) = 14.03 ± 0.3), while powders with WPI showed a reddish-purple color (h° (SD) = 359.83 ± 0.00 ; h° (FD) = 359.93 ± 0.01). In terms of technological properties, the microcapsules produced by FD and WPI stood out, presenting lower moisture ($3.01 \pm 0.38\%$) and lower hygroscopicity ($8.41 \pm 0.99\%$) when obtained by SD. Powders obtained by FD and GA presented better encapsulation efficiency. Regarding bioactive activity, the microencapsulated

powders by WPI stood out for having higher levels of phenolic compounds for both drying methods, SD (633.86 mg GAE/100 g) and FD (581.57 mg GAE/100 g). For microencapsulated powders with GA, the best method for preserving antioxidant capacity was SD drying, both for ABTS ($3231.81 \pm 501.67 \mu\text{mol TE}/100 \text{ g}$), DPPH ($2311.90 \pm 22.81 \mu\text{mol TE}/100 \text{ g}$), and FRAP ($9358.38 \pm 335.61 \mu\text{mol SFE}/100 \text{ g}$). Determining the best powder for technological and bioactive parameters, the powders produced with GA obtained by FD stood out with the highest overall desirability value. In the stability study, the cookies showed minimal overall color difference, indicating slight degradation of pigments. Regarding total phenolic content and antioxidant activities, the cookies yielded results proportional to the increase in the concentrations of the added powders. Among them, the cookies supplemented with 15% microcapsules produced by SD and GA exhibited the highest storage stability. Microencapsulation allowed for controlled release of bioactive compounds during digestion, with cookies supplemented with WPI microcapsules showing a higher bioaccessible fraction ($377.93 \pm 51.88\%$). Thus, it can be concluded that jabuticaba peels have the potential to be used as sources of microencapsulated bioactives, offering an alternative as food additives.

Keywords: Bioactive compounds; Microencapsulation; Jabuticaba; *Plinia ssp.*; Cookies; Spray drying; Freeze-drying.

1. INTRODUÇÃO

A jabuticaba (*Plinia ssp.*), pertencente à família botânica *Myrtaceae*, é uma fruta nativa brasileira que se encontra principalmente distribuída pela mata atlântica da região Sudeste. É composta pela casca de coloração roxa escura, polpa esbranquiçada, geralmente possui de uma a quatro sementes e característica sensorial adocicada e levemente ácida (DE ANDRADE NEVES et al., 2021; DE ANDRADE NEVES et al., 2022).

A produção da fruta ocorre uma vez no ano (agosto a novembro), com a vida útil de 3 a 7 dias, apresentando alta perecibilidade por ser composto por teores elevados de água e açúcar. Com isso, a fruta proporciona tempo curto de comercialização, sendo uma opção para aplicação em geleias, doces, sorvetes, iogurtes, licores, polpas, dentre outros produtos (DE ANDRADE NEVES et al., 2021; FIDELIS et al., 2021).

A casca de jabuticaba é uma das frações da fruta que é usualmente descartada em indústrias, representando uma média de 43% da fruta, sendo denominada como biorresíduo (MARQUES et al., 2019). A presença dos compostos bioativos em teores mais elevados na casca e sementes, quando comparados com a polpa da fruta, torna a jabuticaba muito promissora como produto comercial para a indústria alimentícia (GARCIA et al., 2019; DE ANDRADE NEVES et al., 2022).

As espécies de jabuticaba são conhecidas por apresentarem uma elevada concentração de polifenóis, tais como flavonoides, ácidos fenólicos e elagitaninos. (DE ANDRADE NEVES et al., 2021; FIDELIS et al., 2021). Entre estes estão ácido elágico, miricetina, quercetina, ácido *p*-cumárico, ácido gálico e antocianinas, como delphinidina-3-glicosídeo e cianidina-3-glicosídeo, que podem ser encontradas nas frações comestíveis da fruta (SALOMÃO et al., 2018; LENQUISTE et al., 2019; SENES et al., 2021). Esses compostos estão associados às propriedades antioxidantes, antivirais, antimicrobianas, anti-inflamatórias e antitumorais, que são consideradas benéficas para a saúde humana, na qual estão associadas à redução de risco de desenvolvimento de câncer, doenças degenerativas, cardiovasculares, dislipidemias, diabetes, entre outras doenças crônicas (INADA et al., 2015; PORFÍRIO et al., 2020; SENES et al., 2021).

Além disso, as antocianinas são consideradas uma boa opção para a substituição dos corantes artificiais, já que a preocupação com alguns efeitos adversos destes corantes vem aumentando na sociedade. Porém, questões tecnológicas como instabilidade química, descoloração em relação a uma variedade de estresses ambientais, como pH, oxigênio, enzimas, luz e altas temperaturas e, alto custo de extração, dificultam a sua aplicação, tornando as propriedades benéficas desse composto ineficazes (PLAZA et al., 2016; ALBUQUERQUE et al., 2020).

Dentro desse contexto, o encapsulamento surge como uma opção viável para melhorar a estabilidade desses compostos, conferindo uma proteção contra condições ambientais desfavoráveis. O encapsulamento é um processo no qual os compostos bioativos de interesse são envolvidos por uma camada protetora uniforme ou heterogênea, conhecida como agentes carreadores, agentes encapsulantes ou materiais de parede, resultando em cápsulas de tamanho reduzido (Rezende et al., 2018). Entre as técnicas disponíveis, tanto a secagem por *spray drying* (SD) quanto a liofilização (FD) são amplamente empregadas. No entanto, esses métodos operam em condições de tempo e temperatura distintas, o que resulta em produtos finais com características diferentes. Enquanto a secagem por SD se destaca por sua simplicidade, rapidez, baixo custo, flexibilidade e escalabilidade, a FD é preferencialmente empregada para compostos termossensíveis devido à sua operação em baixas temperaturas. No entanto, a liofilização é um processo mais complexo, demorado e oneroso (Zhang et al., 2020).

A escolha dos agentes carreadores adequados é um fator importante para a proteção dos compostos bioativos. A proteína isolada do soro do leite (WPI) tem sido amplamente utilizada como agentes encapsulantes para compostos bioativos sensíveis por apresentar boas propriedades funcionais como, boa solubilidade, capacidade emulsificantes, estabilizante e geleificantes, além de apresentar boa interação com polifenóis, o que pode contribuir para a formação e estabilidade das microcápsulas (Liu et al., 2016; Wu et al., 2021) . Já a goma arábica (GA) é um polissacarídeo amplamente utilizado como agente encapsulante por possuir boas propriedades como boa capacidade de formação de filme, alta solubilidade, baixa viscosidade, boa retenção de componentes

voláteis e propriedades emulsificantes (Rezende et al., 2018; Nascimento Filho et al., 2022).

Esses fatores, combinados com o crescente interesse global em tecnologias ecologicamente sustentáveis, juntamente com o enriquecimento nutricional de alimentos, fundamentam o interesse na utilização dos subprodutos gerados pelas indústrias de processamento de frutas (Rezende et al., 2018). Logo, apesar de ser um desafio para a pesquisa científica, por se tratar de um sistema-modelo complexo e que passa pelo processo de assamento com temperaturas acima de 100 °C, os *cookies* são uma opção para a suplementação nutricional, pois são alimentos populares, amplamente consumidos, prontos para o consumo e acessíveis em termos de preço (Tumbas Šaponjac et al., 2016; Wu, Hui, Stipkovits, et al., 2021).

Neste contexto, o objetivo do trabalho foi avaliar a bioacessibilidade de *cookies* formulados com adição de pós microencapsulados de extratos da casca de jabuticaba utilizando diferentes métodos de secagem e agentes carreadores, buscando promover a estabilização dos compostos fenólicos e antociânicos e, conseqüentemente, o aumento da bioacessibilidade desses compostos benéficos à saúde presentes na casca de jabuticaba.

1.1 Referências bibliográficas

Albuquerque, B. R., Pinela, J., Barros, L., Oliveira, M. B. P. P., & Ferreira, I. C. F. R. (2020). Anthocyanin-rich extract of jabuticaba epicarp as a natural colorant: Optimization of heat- and ultrasound-assisted extractions and application in a bakery product. *Food Chemistry*, 316(December 2019), 126364. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126364>

de Andrade Neves, N., César Stringheta, P., Ferreira da Silva, I., García-Romero, E., Gómez-Alonso, S., & Herмосín-Gutiérrez, I. (2021). Identification and quantification of phenolic composition from different species of Jabuticaba (*Plinia* spp.) by HPLC-DAD-ESI/MSn. *Food Chemistry*, 355(February), 129605. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129605>

de Andrade Neves, N., Gómez-Alonso, S., García-Romero, E., Herмосín-Gutiérrez, I., Ferreira da Silva, I., & Stringheta, P. C. (2022). Chemical composition of jabuticaba (*Plinia jaboticaba*) liquors produced from cachaça and cereal

alcohol. *Lwt*, 155. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112923>

Fidelis, M., Santos, J. S., Escher, G. B., Rocha, R. S., Cruz, A. G., Cruz, T. M., Marques, M. B., Nunes, J. B., do Carmo, M. A. V., de Almeida, L. A., Kaneshima, T., Azevedo, L., & Granato, D. (2021). Polyphenols of jaboticaba [*Myrciaria jaboticaba* (Vell.) O.Berg] seeds incorporated in a yogurt model exert antioxidant activity and modulate gut microbiota of 1,2-dimethylhydrazine-induced colon cancer in rats. *Food Chemistry*, 334(May 2020). <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127565>

Garcia, N. O. S., Fernandes, C. P., & da Conceição, E. C. (2019). Is it possible to obtain nanodispersions with jaboticaba peel's extract using low energy methods and absence of any high cost equipment? *Food Chemistry*, 276(October 2018), 475–484. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.10.037>

Inada, K. O. P., Oliveira, A. A., Revorêdo, T. B., Martins, A. B. N., Lacerda, E. C. Q., Freire, A. S., Braz, B. F., Santelli, R. E., Torres, A. G., Perrone, D., & Monteiro, M. C. (2015). Screening of the chemical composition and occurring antioxidants in jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) and jussara (*Euterpe edulis*) fruits and their fractions. *Journal of Functional Foods*, 17, 422–433. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.06.002>

Lenquiste, S. A., de Almeida Lamas, C., da Silva Marineli, R., Moraes, É. A., Borck, P. C., Camargo, R. L., Quitete, V. H. A. C., Carneiro, E. M., & Junior, M. R. M. (2019). Jaboticaba peel powder and jaboticaba peel aqueous extract reduces obesity, insulin resistance and hepatic fat accumulation in rats. *Food Research International*, 120(November 2018), 880–887. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.11.053>

Liu, W., Chen, X. D., Cheng, Z., & Selomulya, C. (2016). On enhancing the solubility of curcumin by microencapsulation in whey protein isolate via spray drying. *Journal of Food Engineering*, 169, 189–195. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2015.08.034>

Marques, T. R., Braga, M. A., Cesar, P. H. S., Marcussi, S., & Corrêa, A. D. (2019). Jaboticaba (*Plinia jaboticaba*) skin extracts as inhibitors of phospholipases a2 and proteases. *Anais Da Academia Brasileira de Ciencias*, 91(2). <https://doi.org/10.1590/0001-3765201920180248>

Nascimento Filho, E. do, Barroca Silva, N. N., Converti, A., Ferreira Grosso, C. R., Pinheiro Santos, A. M., Silva Ribeiro, D., & Maciel, M. I. S. (2022).

Microencapsulation of acerola (*Malpighia emarginata* DC) AND ciriguela (*Spondias purpurea* L) mixed juice with different wall materials. *Food Chemistry Advances*, 1(May), 100046. <https://doi.org/10.1016/j.focha.2022.100046>

Neves, N. de A., & Stringheta, P. C. (2021). Caracterização da fração volátil minoritária de bebida alcoólica fermentada de jaboticaba (*Plinia jaboticaba*) por CG/MS. *Research, Society and Development*, 10(4), e41010414122. <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i4.14122>

Pereira, L. D., Barbosa, J. M. G., Ribeiro Da Silva, A. J., Ferri, P. H., & Santos, S. C. (2017). Polyphenol and Ellagitannin Constituents of Jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) and Chemical Variability at Different Stages of Fruit Development. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(6), 1209–1219. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b02929>

Plaza, M., Batista, Â. G., Cazarin, C. B. B., Sandahl, M., Turner, C., Östman, E., & Maróstica Júnior, M. R. (2016). Characterization of antioxidant polyphenols from *Myrciaria jaboticaba* peel and their effects on glucose metabolism and antioxidant status: A pilot clinical study. *Food Chemistry*, 211, 185–197. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.04.142>

Porfírio, M. C. P., Gonçalves, M. S., Borges, M. V., Leite, C. X. D. S., Santos, M. R. C., da SILVA, A. G., Fontan, G. C. R., Leão, D. J., de JESUS, R. M., Gualberto, S. A., Lannes, S. C. da S., & da SILVA, M. V. (2020). Development of isotonic beverage with functional attributes based on extract of *myrciaria jaboticaba* (Vell) berg. *Food Science and Technology*, 40(3), 614–620. <https://doi.org/10.1590/fst.14319>

Rezende, Y. R. R. S., Nogueira, J. P., & Narain, N. (2018). Microencapsulation of extracts of bioactive compounds obtained from acerola (*Malpighia emarginata* DC) pulp and residue by spray and freeze drying: Chemical, morphological and chemometric characterization. *Food Chemistry*, 254(January), 281–291. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.02.026>

Salomão, L. C. C., de Siqueira, D. L., Aquino, C. F., & de Lins, L. C. R. (2018). Jaboticaba— *Myrciaria* spp. *Exotic Fruits*, 237–244. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-803138-4.00030-7>

Senes, C. E. R., Rodrigues, C. A., Nicácio, A. E., Boeing, J. S., Maldaner, L., & Visentainer, J. V. (2021). Determination of phenolic acids and flavonoids from *Myrciaria cauliflora* edible part employing vortex-assisted matrix solid-phase

dispersion (VA-MSPD) and UHPLC-MS/MS. *Journal of Food Composition and Analysis*, 95(September 2020), 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2020.103667>

Tumbas Šaponjac, V., Četković, G., Čanadanović-Brunet, J., Pajin, B., Djilas, S., Petrović, J., Lončarević, I., Stajčić, S., & Vulić, J. (2016). Sour cherry pomace extract encapsulated in whey and soy proteins: Incorporation in cookies. *Food Chemistry*, 207, 27–33. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.03.082>

Wu, G., Hui, X., Mu, J., Brennan, M. A., & Brennan, C. S. (2021). Functionalization of whey protein isolate fortified with blackcurrant concentrate by spray-drying and freeze-drying strategies. *Food Research International*, 141(January), 110025. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.110025>

Wu, G., Hui, X., Stipkovits, L., Rachman, A., Tu, J., Brennan, M. A., & Brennan, C. S. (2021). Whey protein-blackcurrant concentrate particles obtained by spray-drying and freeze-drying for delivering structural and health benefits of cookies. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 68(January), 102606. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2021.102606>

Zhang, R., Zhou, L., Li, J., Oliveira, H., Yang, N., Jin, W., Zhu, Z., Li, S., & He, J. (2020). Microencapsulation of anthocyanins extracted from grape skin by emulsification/internal gelation followed by spray/freeze-drying techniques: Characterization, stability and bioaccessibility. *Lwt*, 123(January), 109097. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109097>

2. OBJETIVO

2.1 Objetivo geral

Microencapsular extratos da casca da jabuticaba por *spray drying* e liofilização, utilizando proteína isolada do soro do leite e goma arábica como agentes carreadores para produção de pós e incorporá-los em sistemas-modelo de cookies, avaliando a estabilidade e bioacessibilidade de polifenóis.

2.2 Objetivos específicos

- Realizar a extração dos compostos bioativos das cascas de jabuticaba;
- Realizar a secagem de extratos das cascas de jabuticaba por *spray drying* e liofilização utilizando diferentes agentes carreadores;
- Caracterizar os pós produzidos com relação a umidade, higroscopicidade, cor, solubilidade, concentrações de polifenóis, atividade antioxidante, eficiência de encapsulamento e microestrutura;
- Aplicar os pós produzidos em sistema-modelo de cookie em substituição parcial à farinha de trigo;
- Avaliar a estabilidade de compostos fenólicos durante o tempo de armazenamento dos cookies;
- Realizar análises de bioacessibilidade dos compostos fenólicos e atividade antioxidante nos cookies formulados com a adição dos pós.

3. ARTIGO 1

Microencapsulação por *spray drying* e liofilização de extratos de casca de jabuticaba usando agentes emulsificantes: influência em características físicas, tecnológicas e bioativas

RESUMO

O presente estudo teve como objetivo microencapsular extrato da casca de jabuticaba por *spray drying* (SD) e liofilização (FD), utilizando proteína isolada do soro do leite (WPI) e goma arábica (GA) como agentes encapsulantes, e avaliar a característica bioativa e tecnológica dos pós obtidos. Os pós microencapsulados da casca de jabuticaba foram avaliados quanto às características físico-químicas de umidade, higroscopicidade, solubilidade, cor, eficiência de encapsulamento e microestrutura, bem como aos compostos bioativos (conteúdo fenólico total e antocianinas totais) e a capacidade antioxidante (ABTS, DPPH e FRAP). Os pós com GA exibiram tendência de cor vermelho amarelado (h° (SD) = $22,79 \pm 0,35$; h° (FD) = $14,03 \pm 0,3$), enquanto os pós com WPI mostraram coloração vermelho arroxeado (h° (SD) = $359,83 \pm 0,00$; h° (FD) = $359,93 \pm 0,01$). Em relação às atividades tecnológicas, as microcápsulas com WPI apresentaram menores valores de umidade ($3,01 \pm 0,38\%$) pelo método de secagem por FD e, higroscopicidade ($8,41 \pm 0,99 \%$) quando secos por SD. A melhor eficiência de encapsulamento de fenólicos totais foi obtida pelo método de secagem por FD utilizando GA como agente encapsulante. Em relação à atividade bioativa, os pós microencapsulados por WPI destacaram-se quanto aos maiores teores de compostos fenólicos para ambos os métodos de secagem, SD ($633,86 \text{ mg AGE}/100$) e FD ($581,57 \text{ mg AGE}/100\text{g}$). Já para os pós microencapsulados com GA, o melhor método para preservação da atividade antioxidante, foi a secagem por SD, tanto para ABTS ($3231,81 \pm 501,67 \mu\text{mol TE}/ 100\text{g}$), DPPH ($2311,90 \pm 22,81 \mu\text{mol TE}/ 100\text{g}$) e FRAP ($9358,38 \pm 335,61 \mu\text{mol SFE}/ 100\text{g}$). Os pós microencapsulados com GA obtidos pelo método de secagem FD apresentaram maior valor de desejabilidade global, se destacando quanto aos parâmetros tecnológicos e bioativas. Logo, as cascas de jabuticaba apresentam potencial

para serem utilizadas como fontes de bioativos a serem microencapsulados, como alternativa de uso como aditivos em alimentos.

Palavras-chave: Compostos bioativos; Microencapsulação; Estabilidade; Jabuticaba; *Plinia ssp.*

1. INTRODUÇÃO

Frutas e hortaliças são bastante conhecidas por conter altos níveis de compostos bioativos, como os polifenóis, que são fitoquímicos secundários metabolizados pelos vegetais. Jabuticabas (*Plinia ssp.*) são frutas que apresentam potencial terapêutico com altos teores de fibras alimentares e polifenóis, principalmente antocianinas, que são responsáveis por sua casca espessa de coloração roxo-escuro, que fornecem propriedades antioxidantes ao serem consumidas [1].

A produção de jabuticaba ocorre uma vez no ano (correspondendo o período de agosto a novembro), com a vida útil de 3 a 7 dias, apresentando alta perecibilidade por ser composta por teores elevados de água e açúcar, proporcionando tempo curto de comercialização [2, 3]. A casca de jabuticaba é uma das frações da fruta que é descartada, representando uma média de 43% da fruta, logo são consideradas biorresíduos agroindustriais [4, 5]. A presença dos compostos bioativos como compostos fenólicos e antocianinas em teores mais elevados na casca quando comparados com a polpa da fruta, torna a jabuticaba muito promissora como produto comercial para a indústria alimentícia [6].

Os polifenóis são compostos orgânicos e possuem estrutura química variada e são agrupados em diferentes subgrupos, como flavonoides, ácidos fenólicos, ligninas, taninos, antocianinas e entre outros. Apresentam atividades biológicas e antioxidantes, ação antimicrobiana, anti-inflamatória, e atividades tecnológicas como corante e, ou alimento funcional [7, 8].

As antocianinas são pigmentos solúveis em água de espectro de cor que varia do vermelho ao azul, dependendo do pH das frutas [9, 10]. Embora as antocianinas sejam ótimos corantes naturais, elas têm aplicações limitadas devido à sua instabilidade frente a fatores intrínsecos como pH, estrutura química, enzimas e íons metálicos, e extrínsecos como temperatura de processamento, armazenamento, presença de radiação ultravioleta e oxigênio

[11]. As antocianinas mais comuns encontradas na jabuticaba são cianidina-3-glicosídeo, malvidina-3-glicosídeo, delphinidina-3-glicosídeo e peonidina-3-glicosídeo [12].

Uma técnica alternativa para proteger compostos bioativos sensíveis aos efeitos ambientais é a microencapsulação, na qual os compostos são dispersos ou aprisionados em materiais de revestimento que podem ser denominados também como agentes carreadores ou agentes encapsulantes [13]. Esse processo permite a liberação dos compostos em condições controladas. Além disso, essa técnica é utilizada para melhorar a estabilidade, aumentar a vida útil, solubilidade, bioacessibilidade e eficácia de nutrientes bioativos. Como resultado, a proteção desses fitoquímicos podem ser melhorados tecnologicamente [14, 15].

Os métodos mais eficientes para preservar compostos sensíveis ao calor durante a secagem são o *spray drying* e a liofilização. O *spray drying* é a técnica mais comum para encapsular compostos bioativos, pois é fácil de utilizar e econômica, além de operar em altas temperaturas (150°C a 200°C) por um curto período de tempo. Já a liofilização é um processo mais demorado e menos econômico que envolve a sublimação do produto congelado para produzir materiais secos [16].

Algumas considerações importantes são destacadas para alcançar o sucesso no processo de encapsulamento, tais como as propriedades dos compostos bioativos, a seleção adequada dos agentes encapsulantes, os métodos de microencapsulamento e as características desejadas dos produtos finais. No entanto, é importante salientar que a efetividade dos agentes carreadores na preservação dos compostos bioativos pode variar de acordo com as condições do processo de secagem e a composição do alimento [17].

Carboidratos, proteínas, gomas, fibras e polissacarídeos são considerados agentes carreadores comuns utilizados para encapsular extratos polifenólicos ricos em antocianinas. A goma arábica (GA) é utilizada devido às suas características de alta solubilidade em água, baixa viscosidade e propriedades emulsificantes. Já a proteína isolada do soro do leite (WPI) é uma proteína animal que apresenta alta atividade emulsificante e facilidade de formar filme interfacial. Possui estrutura globular, o que facilita a sua ligação com outros compostos com características aniônicas, mostrando ser eficiente na formação

de microcápsulas [18]. Existem estudos relatando sua proteção a compostos fenólicos [19, 20].

Diante do exposto, o presente estudo objetivou produzir pós por *spray drying* e liofilização a partir de extratos de jabuticaba ricos em compostos fenólicos e antocianinas, avaliando o impacto dos agentes carreadores emulsificantes goma arábica e proteína isolada do soro do leite, nas características tecnológicas e bioativas dos produtos.

1. Material e métodos

1.1 Material

As frutas de jabuticaba (*Plinia ssp.*) foram coletados na região de Amorim, distrito localizado no município de Muniz-Freire (20°31'34.4"S 41°25'27.7"W), Sul do estado do Espírito Santo, Brasil. A jabuticaba foi higienizada e despulpada manualmente para a obtenção dos resíduos da fruta (cascas), que foram armazenados em freezer (-18 ± 2 °C), até o momento da extração e análises.

2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH), 2,2'azinobis-(3etilbenzotiazolin-6sulphonic) acid (ABTS), 2,4,6-tripiridil-s-triazina (TPTZ), ácido 6-hidroxi-2,5,7,8 tetrametilcroman-2-carboxílico (Trolox), foram obtidos da Sigma-Adrich (Germany). Ácido gálico, ácido clorídrico, carbonato de sódio, cloreto de potássio, cloreto de sódio, álcool etílico e reagente para fenol Folin-Ciocalteau foram adquiridos de Dinâmica Química Contemporânea (Brasil). Acetato de sódio triidratado, cloreto férrico, cloreto de alumínio, nitrito de sódio, hidróxido de sódio, persulfato de potássio e sulfato ferroso foram adquiridos da Neon (Brasil). Todos os reagentes foram de grau analítico ou HPLC. Os agentes carreadores utilizados foram goma arábica (Labsynth, Brasil) e proteína isolada do soro de leite (Vitafor, Brasil).

2.2 Métodos

2.2.1 Preparo do extrato do resíduo de jabuticaba

O extrato rico em fitoquímicos foi produzido de acordo com Lima, et al., [21]. 25 g das cascas de jabuticaba, com umidade resultante de 74,90±0,06 % (m/m), foram previamente trituradas em mixer (Britânia, Brasil) com adição de 250 mL

de etanol 80% (v/v), acidificada com ácido cítrico até pH 2,5. Posteriormente, o resíduo adicionado do solvente extrator foi sonificado em ultrassom de banho (Ultrasonic Power IGBT, CTA do Brasil), a uma potência de 900 W, temperatura de 35°C, durante 30 minutos. Os extratos foram filtrados e concentrados em evaporador rotatório a vácuo (Fisatom 801, Brasil), até a remoção do etanol. O teor de sólidos solúveis foi medido e expresso em °Brix. Em seguida, o extrato concentrado (30,2 °Brix e pH 2,0) foi acondicionado em frasco âmbar e armazenado em freezer (-18 ± 2 °C) até o momento das análises. A etapa de extração foi repetida até se obter volume suficiente de extrato concentrado para as etapas posteriores de microencapsulação. O fluxograma do preparo do extrato concentrado da casca de jabuticaba pode ser visualizado na Figura 1.

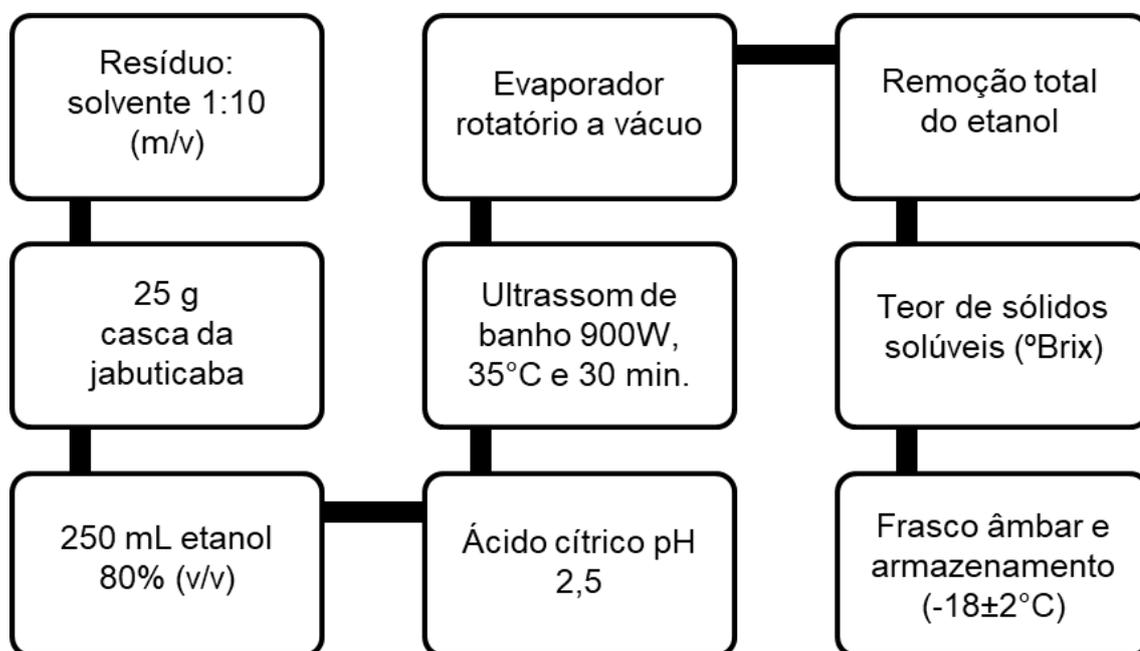


Figura 1: Preparo do extrato concentrado da casca de jabuticaba

Fonte: De autoria própria.

2.2.2 Microencapsulação dos extratos – *Spray drying* e Liofilização

As microcápsulas foram obtidas a partir da secagem do extrato concentrado da casca de jabuticaba (item 2.2.1) dispersos em soluções de 30% (m/v) dos agentes carreadores, proteína isolada do soro do leite (WPI) [16], e goma arábica (GA) [22, 12], na proporção de extrato:agente carreador de 1:3 (v/v), de acordo com Lima, et al., [21]. As misturas resultantes foram

homogeneizadas em agitador magnético (KASVI, K40-1810H, Brasil), mantidas a 30 °C e submetidas à secagem em *spray dryer* (YAMATO, Modelo ADL 3115, China) utilizando os seguintes parâmetros: temperatura de entrada: 180 °C; temperatura de saída: 60 °C; vazão de alimentação: 4 mL/min.; fluxo de ar comprimido: 0,21 m³/min e pressão do ar: 0,1 Mpa [19]. Já para a liofilização, as amostras foram previamente congeladas a -20 °C por 48 horas, e, em seguida, foram liofilizadas (por 48 horas) em liofilizador de bandejas (JJ CIENTÍFICA JJ-02, LJW, Brasil) a vácuo de 39,99 Pa e temperatura: - 25 °C. Os pós obtidos foram moídos e acondicionados em embalagens de polietileno contendo camada laminada, e armazenados sob refrigeração (-18 ± 2 °C) até o momento das análises. Os pós microencapsulados podem ser visualizados na Figura 2.

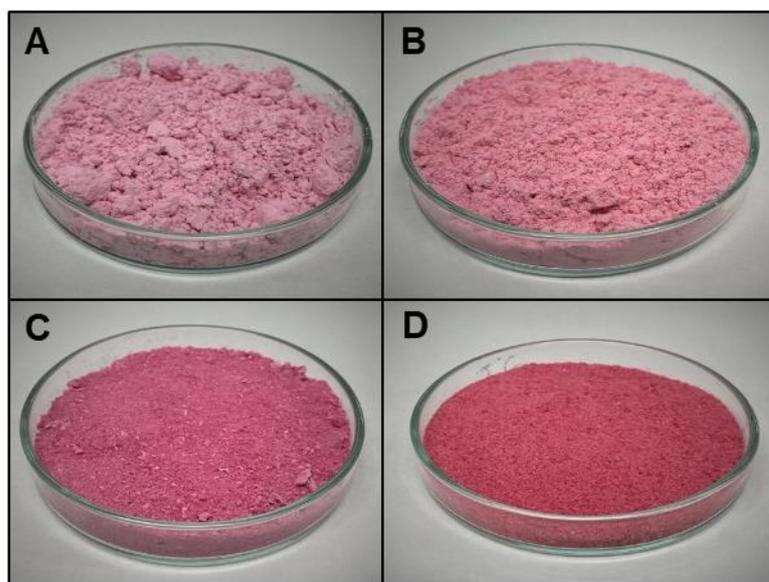


Figura 2: Pós microencapsulados do extrato concentrado da casca de jaboticaba

Fonte: De autoria própria. A: microcápsula com proteína isolada do soro do leite seco por *spray drying*; B: microcápsula com goma arábica seco por *spray drying*; C: microcápsula com proteína isolada do soro do leite seco por liofilização; D: microcápsula com goma arábica seco por liofilização.

2.2.3 Caracterização físico-química dos extratos e dos microencapsulados da casca de jaboticaba

2.2.3.1 Umidade

A umidade foi determinada de acordo com AOAC, [59] pelo método

gravimétrico, que consiste na secagem em estufa a uma temperatura de 105 °C até peso constante.

2.2.3.2 Higroscopicidade

A higroscopicidade (H) dos pós foi medida em dessecadores contendo soluções saturadas de NaCl (75% de umidade relativa, $A_w = 0,75$). Após uma semana, as amostras foram pesadas e a H foi expressa como gramas de umidade absorvida por 100 g de sólidos secos [22,23].

2.2.3.3 Solubilidade

A solubilidade dos pós foi determinada de acordo com o método proposto por Bernardes, et al., [24]. Foi adicionada 1 g da amostra em pó em um béquer com 50 mL de água destilada e feita a homogeneização em um agitador magnético (100 rpm), durante 30 min. Em seguida, a solução foi centrifugada a 847 g por 5 minutos. Uma alíquota de 25 mL do sobrenadante foi transferida para uma placa de Petri e seca em estufa a 105 °C até atingir peso constante. O resultado foi expresso em porcentagem (Equação 1).

$$\text{Solubilidade (\%)} = (P_a \times 2) / P_b \times 100 \quad (\text{Equação 1})$$

Onde:

P_a (g) é a massa da alíquota de 25 mL do sobrenadante após a secagem em estufa;

P_b (g) é a massa da amostra em pó inicial seca, incorporada em 50 mL de água.

2.2.3.4 Análise colorimétrica

A análise colorimétrica foi analisada utilizando um colorímetro (Konica Minolta, CR-5, Japão), no sistema CIELAB com iluminante D65 e ângulo de observação de 10°, com leitura direta no modo reflectância das coordenadas “L*” - luminosidade (0 = preto e 100 = branco), “a*” - intensidade de vermelho (+) e verde (-), e, “b*” - intensidade de amarelo (+) e azul (-). O ângulo de tonalidade cromática (h°) e saturação de cor ou chroma (C^*) foram calculados de acordo com as Equações 2 e 3.

$$h^{\circ} = \arctg \frac{b^*}{a^*} \quad (\text{Equação 2})$$

$$C^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad (\text{Equação 3})$$

Esta análise foi realizada no extrato adicionado dos carreadores, antes de ser submetido ao *spray drying* e à liofilização. Adicionalmente, após a secagem, cada pó produzido foi reconstituído com água para equivaler à condição inicial de entrada no *spray drying*/liofilizador, atingindo os teores de sólidos solúveis do extrato das cascas de jabuticaba conforme Silva, et al., [22], com o intuito de verificar as perdas de cor causadas pelos processos de desidratação, e foi então calculada a diferença global de cor (ΔE) dos pós microencapsulados. A ΔE foi calculada pela Equação 4:

$$\Delta E = \{[(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{\frac{1}{2}}\} \quad (\text{Equação 4})$$

Em que ΔE é a diferença global de cor, ΔL é a variação da coordenada L^* , Δa é a variação da coordenada a^* e Δb é a variação da coordenada b^* .

2.2.3.5 Eficiência de encapsulamento

A eficiência do encapsulamento dos compostos fenólicos e antocianinas totais foi calculada de acordo com a Equação 5 e conforme Lima, et al., [25]. Para tal, a quantificação de compostos fenólicos e antocianinas totais no extrato e nas microcápsulas foi realizada de acordo com o descrito nos itens 2.2.4.1 e 2.2.4.2, respectivamente.

$$(\%)EE = \left(1 - \left(\frac{MC}{EC}\right)\right) \times 100 \quad (\text{Equação 5})$$

Onde:

EC: conteúdo fenólico ou antociânico do extrato (mg/100 g);

MC: conteúdo fenólico ou antociânicos encapsulado (mg/100 g).

2.2.3.6 Morfologia das partículas

A morfologia dos pós foi avaliada utilizando microscopia eletrônica de varredura (JEOL, JSM-IT200, Japão), de acordo com a metodologia adaptada por Lima, et al., [21]. Pequenas quantidades de amostras foram colocadas na superfície de fitas dupla face, fixada em “stubs”. Em seguida, foram recobertas com uma fina camada de ouro sob vácuo. As amostras foram observadas

sistematicamente a 100, 500, 2000 e 4000 vezes de magnificação.

2.2.4 Compostos bioativos e capacidade antioxidante dos extratos e dos microencapsulados das cascas de jabuticaba

Para a determinação dos compostos bioativos e da capacidade antioxidante, o extrato foi convenientemente diluído com uma solução de etanol 80% (v/v). Os pós foram diluídos na proporção de pó:solução de 1:16 (m/v), e macerados para ocorrer o rompimento das membranas das microcápsulas e liberação dos compostos bioativos [21, 22, 24]. Após, as amostras preparadas foram centrifugadas a 13520 g durante 5 minutos a 20 °C.

2.2.4.1 Conteúdo fenólico total

O índice de polifenóis totais (IPT) foi determinado pelo ensaio do reagente Folin-Ciocalteu, com base em metodologia adaptada de Singleton, Rossi e Jr [61]. Inicialmente, foi adicionado uma alíquota de 0,6 mL do extrato em 3,0 mL de reagente Folin Ciocalteu previamente diluído em água destilada (1:10; v/v). Após 3 minutos de repouso ao abrigo da luz, foram adicionados 2,4 mL de solução saturada de Na₂CO₃. A absorbância foi determinada a 760 nm por espectrofotometria, após 1 hora de repouso em ausência de luz. O IPT foi determinado utilizando curva padrão de ácido gálico (0-150 mg/L) e os resultados expressos em ácido gálico equivalente (mg AGE / 100g), em base seca [54].

2.2.4.2 Antocianinas totais

O teor de antocianinas monoméricas totais (AMT) foi determinado utilizando a metodologia do pH diferencial, com base em Giusti e Wrolstad [26], com modificações. Os extratos (item 2.2.4) foram centrifugados por 30 min, 2846 g a 20 °C. A um balão de 10 mL foi adicionada uma alíquota de 0,5 mL da amostra centrifugada e completado o volume com dois sistemas tampão, cloreto de potássio/ácido clorídrico 0,025 M (pH 1,0) e acetato de sódio 0,4 M (pH 4,5). A absorbância foi medida com auxílio de espectrômetro (Thermo Fisher Scientific, Evolution 300 UV-Vis, Estados Unidos) a 510 nm (cloreto de potássio/ácido clorídrico pH 1,0) e a 710 nm (acetato de sódio pH 4,5). AMT foi

calculado de acordo com as Equações 6 e 7, e expresso em mg de cianidina-3-glicosídeo.100 g⁻¹ de amostra, em base seca.

$$A = (ABS_{520 \text{ nm}} - ABS_{700 \text{ nm}})_{\text{pH } 1.0} - (ABS_{520 \text{ nm}} - ABS_{720 \text{ nm}})_{\text{pH } 4.5} \quad (\text{Equação 6})$$

$$\text{AMT (mg/L)} = (A \times \text{PM} \times \text{FD}) \times 100 / (\epsilon \times \lambda) \quad (\text{Equação 7})$$

Onde: PM = 449,2 g/mol (massa molar de cianidina-3-glicosídeo); FD = fator de diluição utilizado; ϵ = 26.900 (coeficiente de absorvidade molar da cianidina-3-glicosídeo); λ = 1 cm (caminho óptico da cubeta).

2.2.4.3 Capacidade antioxidante – ABTS

A atividade anti-radical livre foi medida nos extratos e nos pós microencapsulados da casca de jabuticaba utilizando-se o método de ensaio do radical ABTS, de acordo com Re, et al. [60]. Para a formação do radical ABTS•+, uma solução aquosa de ABTS 7 mM foi adicionada a uma solução de persulfato de potássio 2,45 mM. Esta mistura foi mantida no escuro à temperatura ambiente por 16 horas. Após este tempo a absorbância foi corrigida para 0,700 (\pm 0,05) a 734 nm com adição de etanol 80% (v/v) em espectrofotômetro (Thermo Fisher Scientific, Evolution 300 UV-Vis, Estados Unidos). 3,5 mL da solução radical ABTS•+ foram adicionados em 0,5 mL da amostra, e foi realizada a leitura espectrofotométrica após 6 minutos de reação [56]. Foi utilizado Trolox como padrão (0-150 μ mol/L) e os resultados foram expressos em equivalente de Trolox (μ mol TE/100 g), em base seca.

2.2.4.4 Capacidade antioxidante – DPPH

A capacidade antioxidante pelo método DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) foi conduzida de acordo com Brand-Williams; Cuvelier; Berset, [27] com modificações. Após o preparo do radical a 1 mM (0,03943 g do reativo DPPH dissolvido em 100 mL de metanol a 80% (v/v)), uma alíquota de 3,5 mL foi colocada em tubos de ensaio, aos quais foram adicionados 0,5 mL dos extratos. As amostras foram mantidas ao abrigo da luz e as medidas de absorbância foram

realizadas em espectrofotômetro (Thermo Fisher Scientific, Evolution 300 UV-Vis, Estados Unidos) a 515 nm a cada 5 minutos até a estabilização. Os resultados foram calculados usando uma curva padrão preparada com Trolox (0 - 150 $\mu\text{mol/L}$), e expressos em equivalente de Trolox ($\mu\text{mol TE/100 g}$), em base seca.

2.2.4.5 Capacidade antioxidante - FRAP

A capacidade antioxidante foi avaliada pelo poder redutor (potencial de redução do ferro), de acordo com Benzie e Strain [28]. O reagente FRAP foi preparado a partir da combinação de 25 mL de tampão acetato 0,3 M; 2,50 mL de uma solução aquosa de cloreto férrico 20 mM e 2,50 mL de 2,4,6-Tripyridyl-S-triazine (TPTZ) 10 mM. Em um tubo de ensaio, alíquotas dos extratos foram adicionados a 0,27 mL de água destilada e 2,70 mL de reagente FRAP. Após 30 min de incubação a 37 °C, a absorbância foi lida a 595 nm. O potencial antioxidante dos extratos foi determinado com base em curva de calibração, traçada usando $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0-2000 $\mu\text{mol/L}$). Os resultados foram expressos em μmol sulfato ferroso/100g, em base seca.

2.2.5 – Análise desejabilidade

A análise desejabilidade foi utilizada com intuito de determinar o melhor pó microencapsulado em função das variáveis-resposta higroscopicidade, solubilidade, eficiência de encapsulamento de fenólicos, eficiência de encapsulamento antociânico, conteúdo fenólico total, antocianinas totais e atividade antioxidante pelo métodos ABTS, DPPH e FRAP, utilizando o software Microsoft Office Excel [29]. Cada variável resposta y_i , foi convertida em uma função desejabilidade individual d_i dentro do intervalo $0 \leq d_i \leq 1$. Para isso, foi utilizada a Equação 8 para calcular a desejabilidade individual das variáveis repostas que se desejou minimizar e maximizar.

$$d_i = \begin{cases} 0, & \hat{y}_i \leq y_i \text{ max} \\ \left[\frac{\hat{y}_i - y_i \text{ min}}{y_i \text{ max} - y_i \text{ min}} \right], & y_i \text{ min} < \hat{y}_i < y_i \text{ max} \\ 1, & \hat{y}_i \geq y_i \text{ max} \end{cases}, \text{ para } i = 1, 2, \dots, k \text{ (Equação 8)}$$

Onde os valores y_{imin} e y_{imax} são os valores mínimos e máximos aceitáveis das variáveis respostas, respectivamente.

A partir das desejabilidades individuais obtidas, foram então calculadas a desejabilidade global (D_{global}) realizadas por médias geométricas (Equação 8).

$$D_{global} = d_1 \times d_2 \times \dots \times d_k)^{\frac{1}{k}} \quad (\text{Equação 8})$$

Onde D_{global} é a desejabilidade global e k é o número de variáveis respostas.

2.2.6 – Análise estatística

O experimento foi conduzido seguindo o delineamento inteiramente casualizado (DIC) por um esquema fatorial com dois fatores e em triplicata. Os fatores e os níveis correspondentes foram: agentes encapsulantes (proteína isolada do soro do leite (WPI) e goma arábica (GA)) e o procedimento de secagem (*spray drying* e liofilização), totalizando 12 observações. Para a análise dos dados foi aplicada a análise de variância (ANOVA) e o teste Tukey para comparação entre médias, com nível de significância de 5%, utilizando o software Statistica 12 (StatSoft, EUA) e o software Graphpad prism 9. E foi realizada a estatística desejabilidade para otimização múltipla de variáveis [29].

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Caracterização do extrato concentrado da casca de jabuticaba

Na Tabela 1, pode-se encontrar os resultados obtidos para a caracterização dos compostos bioativos e capacidade antioxidante do extrato concentrado da casca de jabuticaba.

O conteúdo fenólico total obtido foi de $3731,53 \pm 111,78$ mg AGE/100 g de extrato concentrado da casca de jabuticaba. Os estudos trazem dados variáveis desde componente. Azevedo et al. [31] encontraram 5410 mg AGE/100 g em amostras de farinha de jabuticaba. Já Marsiglia et al. [33] obtiveram $958,22 \pm 5,56$ mg AGE/100 g em casca de jabuticaba fresca. Essas variações são esperadas, pois fatores como estágio de maturação, manejo do solo, clima,

radiação solar, processamento e armazenamento, entre outros, podem influenciar no metabolismo e concentração final dos fenólicos no vegetal [33].

Tabela 1: Compostos bioativos e antioxidantes do extrato concentrado da casca de jabuticaba

Característica físico-química	Teor
Compostos fenólicos (mg AGE/100 g)	3731,53 ± 111,78
Antocianinas (mg cy-3-glu/100 g)	260,04 ± 6,90
Capacidade antioxidante (ABTS) (mmol TE/100 g)	26,38 ± 0,95
Capacidade antioxidante (DPPH) (mmol TE/100 g)	67,91 ± 2,67
Capacidade antioxidante (FRAP) (mmol SFE/100 g)	186,70 ± 8,20

Dados expressos em média ± desvio padrão, em base seca*. ABTS: capacidade de eliminação do cátion ABTS, DPPH: capacidade de eliminação do radical DPPH, FRAP: poder antioxidante de redução do ferro, AGE: ácido gálico equivalente; cy-3-glu: cianidina-3-glicosídeo; TE: trolox equivalente.

Para antocianinas totais, pode-se observar o extrato concentrado da casca de jabuticaba como uma boa fonte do pigmento, apresentando valor de 260,04 ± 6,90 mg cy-3-glu/100 g. Marsiglia et al.[33] encontraram em seus estudos um valor de 29,66 ± 0,50 mg cy-3-glu/100 g da casca de jabuticaba fresca, valor inferior ao encontrado por Seraglio et al. [35], que foi 930,56 ± 31,06 mg cy-3-glu/100 g. A antocianina é o pigmento predominante em jabuticabas, e sua estrutura e cor podem ser influenciadas pela mudança do pH, pois os íons H⁺ e OH⁻ podem interagir com os grupos hidroxilas e metoxilas distribuídos no anel aromático B da molécula de antocianidina. Além das antocianinas, a casca da jabuticaba fornece uma composição rica em diversos outros polifenóis e, conseqüentemente, capacidade antioxidante, que em âmbito industrial pode agregar valor nutricional e várias aplicações em setores alimentícios, cosméticos e farmacológicos [4].

Em relação a quantificação da capacidade antioxidante do extrato da casca de jabuticaba, os valores obtidos mostram bom comportamento de eliminação de radicais pelos três métodos avaliados. A atividade antioxidante pela eliminação do cátion radical ABTS, foi de 26,38 ± 0,95 mmol TE/100 g de extrato concentrado. Enquanto a atividade antioxidante por DPPH, foi

encontrado o valor de $67,91 \pm 2,67$ mmol TE/100 g da amostra. E pelo método FRAP o valor obtido foi de $186,70 \pm 8,20$ mmol SFE/100 g.

Os três métodos para determinação da capacidade antioxidante foram utilizados para observar o comportamento do extrato concentrado na presença de radicais livres distintos, sendo estes avaliados a partir de comprimentos de ondas específicos. Tanto a capacidade antioxidante avaliada pelo método ABTS, quanto pelo método DPPH, têm como princípio doar elétrons e reduzir os seus radicais, sendo assim, quanto maior for a capacidade de redução do radical, maior será a atividade antioxidante da amostra analisada. Já pelo método FRAP, o princípio utilizado é a redução dos compostos em espécies menos reativas, a partir da doação de elétrons a compostos oxidantes [36]. Logo, os resultados mostram o extrato concentrado da casca de jabuticaba como uma fonte promissora de compostos antioxidantes para aplicação em alimentos, visto que, mostrou elevada capacidade antioxidante.

3.2 Caracterização físico-química dos pós microencapsulados

Os parâmetros tecnológicos como umidade, solubilidade e higroscopicidade, verificados nos pós secos por *spray drying* (SD) e liofilização (FD), utilizando dois agentes microencapsulantes, podem ser observados na Tabela 2.

Tabela 2: Parâmetros tecnológicos dos pós provenientes dos extratos concentrados da casca de jabuticaba secos por *spray drying* (SD) e liofilização (FD) com diferentes agentes carreadores

Parâmetros	Métodos	Agentes carreadores	
		WPI	GA
Umidade (%)	SD	$5,24 \pm 0,18$ aA	$6,18 \pm 0,18$ bC
	FD	$3,01 \pm 0,38$ aB	$6,21 \pm 0,09$ bC
Solubilidade (%)	SD	$94,01 \pm 1,19$ aA	$94,49 \pm 1,15$ aA
	FD	$94,14 \pm 2,52$ aA	$95,50 \pm 2,42$ aA
Higroscopicidade (%)	SD	$8,41 \pm 0,99$ aA	$16,11 \pm 0,15$ bA
	FD	$11,42 \pm 0,29$ aB	$13,65 \pm 0,10$ bB

Dados expressos em média \pm desvio padrão. Pares de médias seguidas por uma mesma letra minúscula, em uma mesma linha, não diferem entre si ($p > 0,05$) pelo teste Tukey. Pares de médias seguidas por uma mesma letra maiúscula, em uma mesma coluna, não diferem entre si ($p > 0,05$) pelo teste Tukey. WPI: proteína isolada do soro do leite; GA: goma arábica; SD: *spray drying* e FD: liofilização.

No geral, a umidade das microcápsulas obtidas variou de 3,01 a 6,21%, estando de acordo com a faixa recomendada por Braber et al., [37], em torno de 3 a 10%. Houve diferença significativa na umidade (Tabela 2) entre os pós de WPI e GA. A secagem por SD e FD dos pós utilizando WPI como agente carreador, ocasionou menores teores de água, em relação aos pós produzidos com GA, o que contribuiu para sua alta estabilidade de armazenamento. Ao se comparar o efeito dos métodos de secagem na umidade, a FD utilizando WPI produziu pós mais secos. No entanto, nenhuma diferença significativa foi observada ao se utilizar a GA como agente encapsulante.

Em estudos com secagem por SD e FD de extratos de frutas como uva, jabuticaba, juçara e mirtilo, os autores relataram faixas de umidade de 2,81% a 6,3% [12, 14, 18]. A umidade é um parâmetro tecnológico que influencia a estabilidade do produto durante seu armazenamento. Dessa forma, valores baixos de umidade são desejáveis por contribuir uma alta estabilidade e mais tempo de vida útil dos pós secos, permitindo a retenção de compostos fenólicos, impedindo a fluidez e a dispersão desses compostos presentes nos pós [62]

Para a solubilidade, não houve diferença significativa ($p>0,05$) para ambos os métodos de secagem e agentes encapsulantes utilizados para a produção dos pós. Foram obtidos valores elevados, na faixa de 94,01 a 95,50%. A solubilidade, pode ser afetada por alguns fatores como a composição da matéria-prima do extrato a ser seco, natureza dos agentes encapsulantes, taxa de fluxo de ar comprimido e temperatura de alimentação na secagem por pulverização [38].

Em estudos que utilizaram microcápsulas de extratos de acerola verde, chokeberry, mirtilo e licopeno, com WPI e GA, foram encontrados valores de solubilidade em uma faixa de 68,4 a 96,56% [9, 39, 40, 41]. Valores altos de solubilidade de produtos em pó são desejáveis, visto que caracterizam a sua facilidade de reconstituição quando adicionado em produtos líquidos ou em misturas [9].

A análise de solubilidade é fundamental para a predição do comportamento e qualidade de pós microencapsulados, pois esse parâmetro está relacionado à posterior facilidade de reconstituição e dispersão dos pós, quando utilizado como ingrediente de um produto alimentício [9, 38]. A maior solubilidade pode estar relacionada com o tamanho de partícula, visto que

quanto menor for o tamanho, maior será a superfície de contato para a hidratação [42].

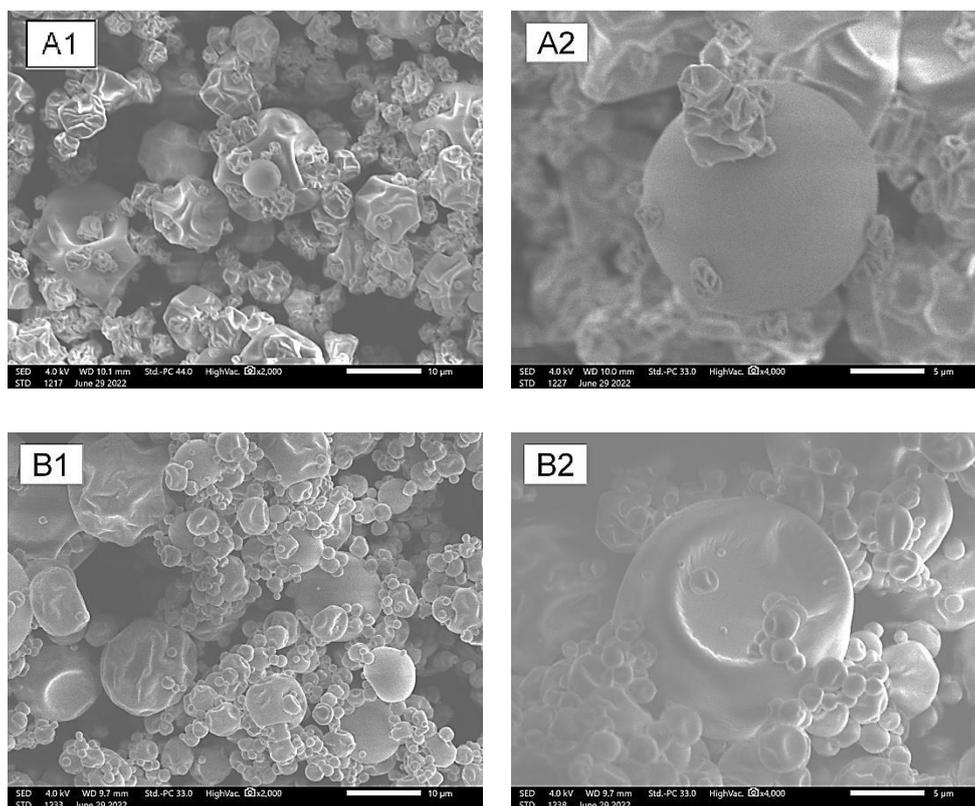
A higroscopicidade apresentou um efeito significativo ($p < 0,05$) para as microcápsulas utilizando diferentes agentes encapsulantes e métodos de secagem. A higroscopicidade variou de 8,41 a 16,11%, sendo o pó com GA e usando o método de secagem SD, menos estável em relação à higroscopicidade, já que apresentou maior valor, enquanto os pós com WPI, pelo método de secagem por SD, apresentou menor valor desse parâmetro.

A associação entre FD e WPI resultou em pós com menor valor de higroscopicidade. Devido às suas propriedades específicas, como a baixa higroscopicidade, capacidade de interação com proteínas e sua proteção para materiais encapsulados, a WPI vêm se destacando em aplicações de pós microencapsulados [14, 43]. Valores de higroscopicidade semelhantes ao deste trabalho foram obtidos em estudos que avaliaram esse parâmetro em microcápsulas de extratos de frutas como jabuticaba, juçara e mirtilo, secos por SD e FD em que variou de 9,06 a 16,22% [12, 14]. A higroscopicidade significa a capacidade de um produto seco em absorver água do ambiente. Baixos valores de higroscopicidade são desejáveis em pós, visto que remetem a menor absorção de umidade do ambiente e, conseqüentemente, menor degradação dos compostos bioativos devido ao contato com o ar atmosférico e radicais livres [32].

A higroscopicidade está relacionada aos açúcares de baixo peso molecular, ácidos orgânicos com baixa transição vítrea (T_g) e umidade de sucos e extratos de frutas em pó, o que leva a altos valores desse parâmetro, devido à afinidade com a água [41, 42]. A baixa umidade dos pós pode levar a elevados valores de higroscopicidade, devido ao maior gradiente de concentração de água entre o pó e o ambiente. Logo, a medida da higroscopicidade dos pós pode ajudar a solucionar problemas associados a aglomerações e, conseqüentemente, ao endurecimento durante o armazenamento, para pós muito higroscópicos. Quando os pós são poucos higroscópicos, há influência negativa na solubilidade e densidade [18, 44].

3.3 Morfologia dos pós microencapsulados

A morfologia externa dos pós do extrato concentrado, secos por SD e FD com diferentes agentes encapsulantes, obtida por fotomicrografias eletrônica de varredura (MEV), encontra-se na Figura 3. A estrutura dos pós microencapsulados obtidos por SD para os agentes encapsulantes WPI (Fig. 3, A1 e A2) e GA (Fig. 3, B1 e B2) apresentaram formatos típicos de secagem por pulverização, de tamanhos variados, com superfície em forma esférica, irregular e com concavidades. Além disso, pode-se perceber nas imagens que não foram observadas rachaduras ou fissuras. A ausência de colapsos na parede das microcápsulas garante maior proteção e retenção do material bioativo do núcleo, além de aumentar a estabilidade da cor, já que permite a impermeabilidade ao oxigênio atmosférico [45].



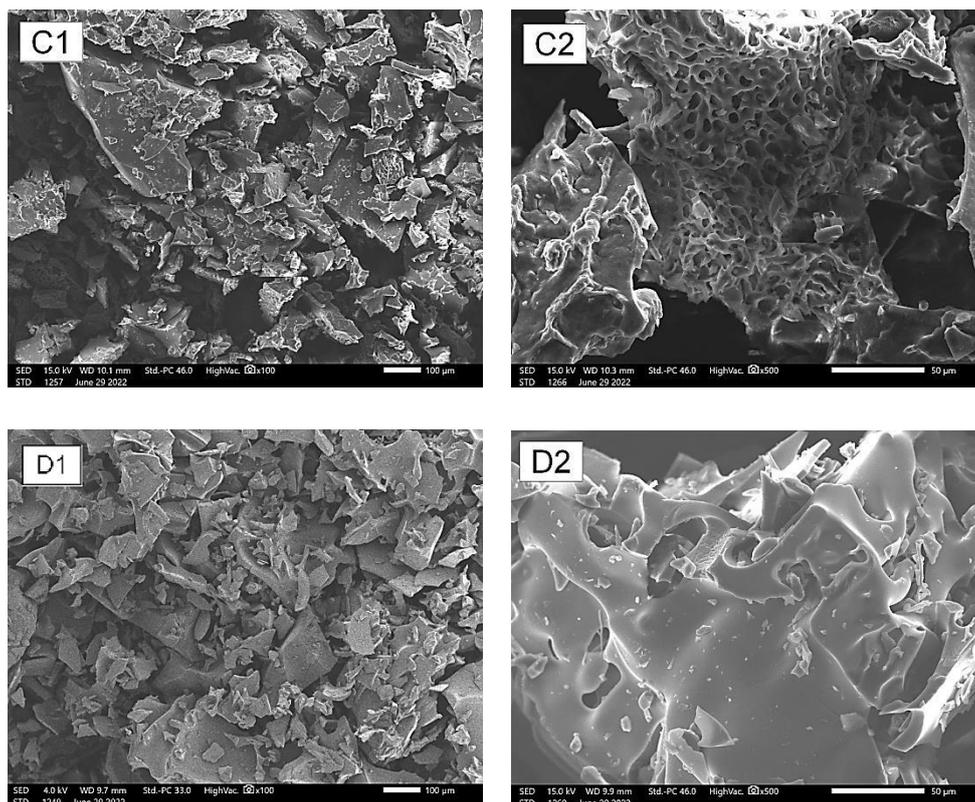


Figura 3 : Fotomicrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) dos pós provenientes dos extratos concentrados da casca de jabuticaba secos por spray drying (SD) e liofilização (FD) com diferentes agentes carreadores.

A1 e A2 (*spray drying*, com WPI); B1 e B2 (*spray drying*, com GA); C1 e C2 (liofilizado, com WPI); D1 e D2 (liofilizado, com GA). Aumentos: 2000X (A1 e B1); 4000X (A2 e B2); 100X (C1 e D1); 500X (C2 e D2). WPI: proteína isolada do soro do leite; GA: goma arábica; SD: *spray drying* e FD: liofilização.

O comportamento de formação de superfícies rugosas na secagem por SD tem associação com a perda drástica da umidade e a rápida queda de temperatura, o que resulta no encolhimento das paredes protetoras dos compostos bioativos [45, 46]. As microcápsulas obtidas pela secagem por SD com WPI (Fig. 3, A1 e A2) apresentaram superfícies mais rugosas quando comparado com as microcápsulas secas por SD com GA (Fig. 3, B1 e B2). As concavidades e o aspecto mais rugoso da superfície dos pós com WPI pode ser atribuída pelas características das proteínas globulares como a β -lactoglobulinas presentes na proteína do soro do leite [18].

Já para os pós obtidos pelo método de secagem por FD (Figura 3, C e D), pode-se observar nas imagens geradas pela micrografia o formato de partículas de aspectos semelhantes ao vítreo/amorfo, típico de microcápsulas liofilizadas

[14]. Além disso, os pós apresentaram características irregulares, e formato semelhante ao de cacos de vidro em tamanhos variados, devido ao processo de moagem do complexo de agente carreador mais extrato formado após a secagem [18].

A irregularidade e porosidade dos pós liofilizados, é proporcionada pelo processo de congelamento utilizado em uma das etapas da liofilização, seguida da sublimação e a perda de umidade, resultando na rigidez e grânulos maiores, formando uma estrutura porosa e sem encolhimento [42].

3.4 Análise colorimétrica dos pós microencapsulados

Os parâmetros de cor são indicadores importantes na produção de pós microencapsulados oriundos de extratos ricos em antocianinas, visto que estes pigmentos podem ser bons substitutos para os pigmentos sintéticos. Como a cor é um importante parâmetro de qualidade, pode tornar um produto alimentício adicionado do pó sensorialmente atraente para o consumidor, aumentando sua aceitação [11].

Na avaliação instrumental da cor pelos parâmetros L^* , a^* , b^* , h° , C^* e ΔE das microcápsulas do extrato da casca de jabuticaba, observou-se diferenças significativas ($p < 0,05$) nas características de cor dos pós produzidos por SD e FD com os diferentes agentes carreadores (Tabela 3).

As coordenadas de cor (L^* , a^* e b^*) determinadas para os pós microencapsulados com GA e WPI (Tabela 3), revelaram que as microcápsulas obtidas com GA mostraram-se mais escuras e voltadas para uma tonalidade avermelhada, já que os valores de a^* e b^* foram positivos. Já os pós obtidos com WPI apresentaram cor mais clara, devido ao seu valor mais alto de luminosidade (L^*), porém, quando analisados as coordenadas a^* e b^* , percebe-se que as microcápsulas ficaram com a cor vermelha com tendência para a cor roxa, visto que o valor de b^* foi negativo.

Tabela 3: Análise colorimétrica dos pós provenientes dos extratos concentrados da casca de jabuticaba secos por spray drying (SD) e liofilização (FD) com diferentes agentes carreadores

Parâmetros	Métodos	Agentes carreadores	
		WPI	GA
L*	SD	57,25 ± 0,02aA	27,82 ± 0,02bA
	FD	53,21 ± 0,02aB	27,68 ± 0,03bB
a*	SD	17,80 ± 0,18aA	8,57 ± 0,14bA
	FD	22,69 ± 0,56aB	5,20 ± 0,02bB
b*	SD	-3,14 ± 0,02aA	3,56 ± 0,03bA
	FD	-1,54 ± 0,10aB	1,30 ± 0,04bB
C*	SD	18,07 ± 0,18aA	9,18 ± 0,13bA
	FD	22,75 ± 0,55aB	5,36 ± 0,03bB
h°	SD	359,83 ± 0,00aA	22,79 ± 0,35bA
	FD	359,93 ± 0,01aA	14,03 ± 0,34bB
ΔE	SD	26,41 ± 0,05aA	3,76 ± 0,16bA
	FD	21,18 ± 0,11aB	2,24 ± 0,07bB

Dados expressos em média ± desvio padrão. Pares de médias seguidas por uma mesma letra minúscula, em uma mesma linha, não diferem entre si ($p > 0,05$) pelo teste Tukey. Pares de médias seguidas por uma mesma letra maiúscula, em uma mesma coluna, não diferem entre si ($p > 0,05$) pelo teste Tukey. WPI: proteína isolada do soro do leite; GA: goma arábica; SD: *spray drying* e FD: liofilização.

Segundo Kuck & Noreña [42], a cor pode estar associada ao tamanho dos poros formados na superfície das partículas. A estrutura dos poros dos pós liofilizados pode ser alterada com o processo de congelamento para posterior sublimação. Por essa razão, as partículas liofilizadas podem apresentar cor mais escura, visto que essa alteração pode interferir nas propriedades de dispersão de luz dos espaços vazios.

A saturação de cor C* é a distância radial do centro do espaço até o ponto da cor, sendo que no centro das coordenadas se encontram os valores mínimos da saturação e, à medida que se distancia para as extremidades, aumenta-se este valor, que indica o quão vívida é a cor [47]. Em relação a C*, as

microcápsulas obtidas utilizando o WPI como agente encapsulante, apresentaram maior saturação em sua cor do que os pós produzidos com GA.

O h° representa o ângulo de tonalidade cromática, que é um atributo qualitativo de cor que de forma gráfica considera os ângulos 0° como a cor vermelha, 90° amarelo, 180° verde e 270° azul [47]. O h° em ambos os métodos de secagem, SD e FD, apresentou maior valor para os pós microencapsulados com WPI, enquanto as microcápsulas com GA obtiveram valores de h° menores. Logo, o valor de h° confirmou o comportamento dos pós com GA e WPI com uma tonalidade mais avermelhada e de vermelho voltado para a cor roxa, respectivamente, com o valor de tonalidade dos pós produzidos com GA e WPI localizado no primeiro e quarto quadrante, respectivamente.

Esse comportamento pôde ser observado no estudo realizado por Rocha et al., [12] em pós produzidos com extrato de jabuticaba, juçara e mirtilo, em que correlacionou a diferença de cores das microcápsulas quando o extrato fenólico foi adicionado aos materiais de parede com a diferença de pH estrutural das antocianinas. Os autores encontraram o valor de pH 4,00 e 2,93 para os pós microencapsulados com WPI e GA, respectivamente, sendo as espécies de azul quinoidal (pH 2,0 – 4,0) predominantes das antocianinas, mais evidentes para as microcápsulas com WPI, e espécies de cátion flavilium (pH 1,0 – 2,0) os pós com GA.

O pH do extrato concentrado da casca da jabuticaba situou-se na faixa de 2,0, enquanto o pH das microcápsulas produzidas com WPI e GA foi de 3,72 e 2,50, respectivamente. Logo, isso explica a coloração vermelho para roxo com mais intensidade para os pós microencapsulados com WPI, e vermelho claro para as microcápsulas com GA.

A diferença global de cor (ΔE) pode ser usada para medir a variação de cor resultante dos processos de secagem ou avaliar a mudança de cor ao longo do tempo, comparado a um padrão. Logo, quanto menor o seu valor, maior é a estabilidade da cor dos pós [47, 48]. No presente estudo, para o cálculo da ΔE considerou-se como padrão a solução de agente carreador mais extrato antes do processo de secagem. Em uma visão geral, todos os parâmetros de cor foram influenciados pelos diferentes métodos de secagem, mas principalmente, pela utilização dos diferentes agentes encapsulantes. É perceptível que os valores de ΔE para pós produzidos com WPI foram superiores ao das microcápsulas

produzidas com GA, indicando que o agente encapsulante WPI, em comparação com a GA, influenciou significativamente a diferença de cor entre as amostras. Assim, pode-se dizer que, devido ao seu menor valor de ΔE , os pós microencapsulados com GA apresentaram maior efetividade na manutenção da cor do produto, para os dois métodos de secagem, o que favoreceria sua aplicação como corante natural.

3.5 Compostos bioativos e capacidade antioxidante dos pós microencapsulados

O comportamento dos pós microencapsulados do extrato concentrado da casca de jabuticaba quanto aos compostos fenólicos e antocianinas, e capacidade antioxidante medida por ABTS, DPPH e FRAP, pode ser visualizado nas Figuras 4 e 5, respectivamente.

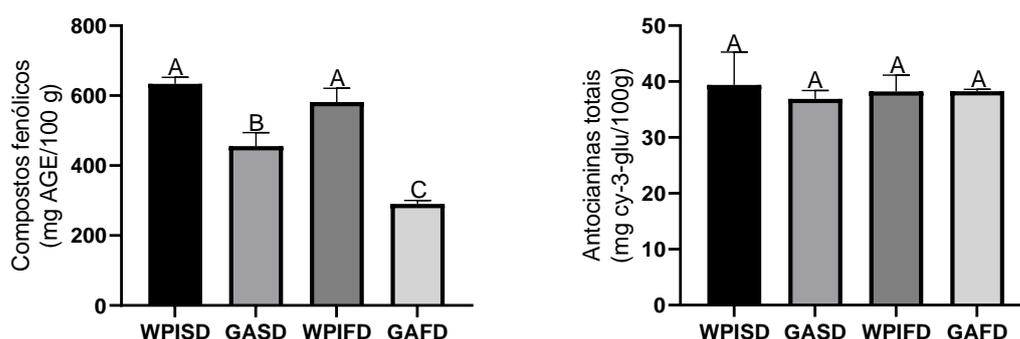


Figura 4: Compostos fenólicos e antocianinas totais dos pós provenientes dos extratos concentrados da casca de jabuticaba secos por spray drying (SD) e liofilização (FD) com diferentes agentes carreadores

Dados expressos em média \pm desvio padrão. Médias seguidas por uma mesma letra maiúscula, não diferem entre si ($p > 0,05$) pelo teste Tukey. WPI: proteína isolada do soro do leite; GA: goma arábica; SD: *spray drying* e FD: liofilização. AGE: ácido gálico equivalente; cy-3-glu: cianidina-3-glicosídeo.

Para os compostos fenólicos dos pós produzidos com WPI, não houve diferença significativa ($p < 0,05$) ao se utilizar a secagem por SD (633,86 mg AGE/100 g) e FD (581,57 mg AGE/100 g). Já para os pós produzidos com GA, o método de secagem mais eficiente foi SD (455,85 mg AGE/100 g), comparado a FD (290,51 mg AGE/100 g) ($p < 0,05$). Da Rocha; Noreña [18], ao estudar métodos de secagem de microcápsulas do extrato do bagaço de uva,

observaram que a secagem por SD apresentou valores maiores quando comparado com a secagem por FD, utilizando a mistura de WPI e GA como material de parede.

Os métodos de secagem e os agentes carreadores não influenciaram significativamente ($p < 0,05$) nas antocianinas totais dos pós produzidos, cujos valores variaram de 36,88 a 39,40 mg cy-3-glu/100 g. Wu et al., [16] avaliaram antocianinas totais em microcápsulas de groselha utilizando WPI como material de parede, e obtiveram valores de 52,26 mg cy-3-glu/100 g para secagem por SD e de 3,78 mg cy-3-glu/100 g para pós microencapsulados por FD.

No método de secagem por SD, as perdas de compostos fenólicos dos pós estão associadas à exposição a altas temperaturas e ao oxigênio, que podem levar a degradação e polimerização dos polifenóis, porém, embora a secagem por SD utilize temperaturas de entrada mais elevadas, o tempo de secagem é muito curto, logo, resulta na menor degradação dos compostos fenólicos em comparação com a FD [42, 49]. Já por liofilização, a moagem dos pós microencapsulados após o processo de secagem, pode induzir a ocorrência de reações de oxidação, devido ao aumento da superfície de contato com o oxigênio atmosférico, tendendo maior perda dos compostos bioativos [42].

Elevados valores de compostos fenólicos e antocianinas são desejáveis em pós microencapsulados, visto que apresentam atividades biológicas como ação antimicrobiana, anti-inflamatória e antioxidantes, além de apresentar atividades tecnológicas como corantes e compostos funcionais, podendo agregar valor nutricional em produtos alimentícios. Porém, fatores como métodos de extração e de análise dos compostos podem levar a variações desses compostos. Observa-se, também, que os compostos fenólicos e antocianinas totais dos pós apresentaram diminuição quando comparados com o extrato concentrado da casca de jabuticaba (Tabela 1), o que pode ocorrer devido as condições de secagem aplicadas, que podem levar à degradação desses compostos.

A capacidade antioxidante (Figura 5) está relacionada à presença de compostos fenólicos nas amostras de pós microencapsulados da casca de jabuticaba [9]. Observou-se que todos os métodos de atividade antioxidante avaliados, foram influenciados significativamente ($p < 0,05$) pelos fatores agente

carreador e método de secagem, dessa forma as análises dos resultados foram feitas considerando a dependência entre os fatores.

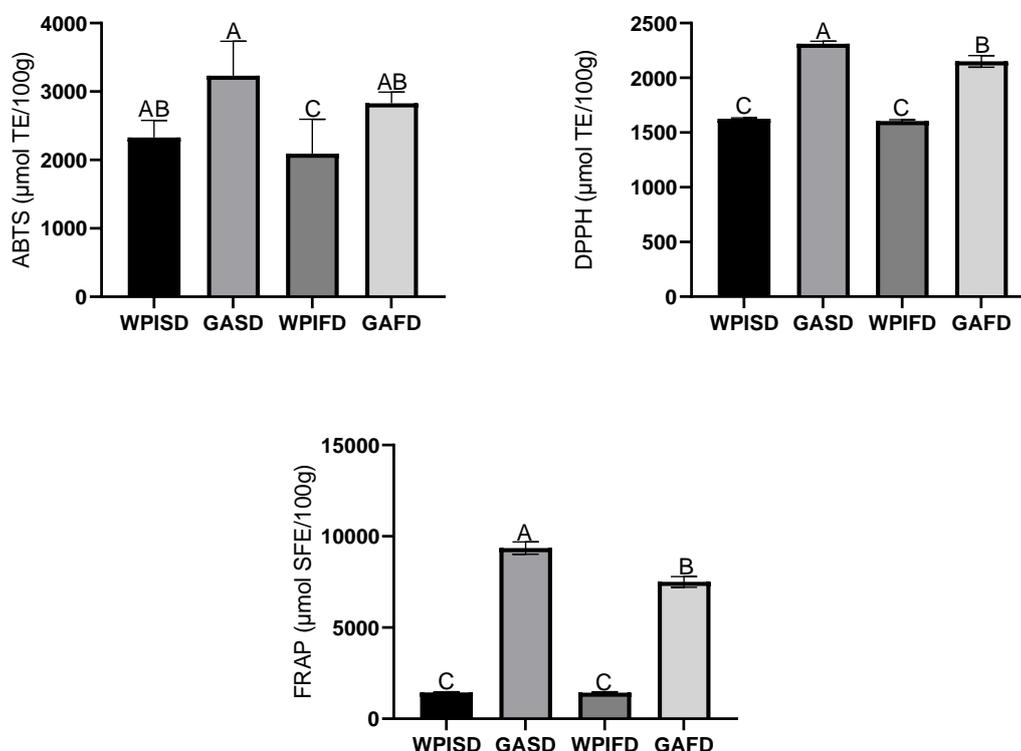


Figura 5: Capacidade antioxidante dos pós provenientes dos extratos concentrados da casca de jabuticaba secos por spray drying (SD) e liofilização (FD) com diferentes agentes carreadores

Dados expressos em média \pm desvio padrão. Médias seguidas por uma mesma letra maiúscula, não diferem entre si ($p > 0,05$) pelo teste Tukey. WPI: proteína isolada do soro do leite; GA: goma arábica; SD: *spray drying* e FD: liofilização. TE: Trolox equivalente; SFE: sulfato ferroso equivalente. ABTS: capacidade de eliminação do cátion ABTS, DPPH: capacidade de eliminação do radical DPPH, FRAP: poder antioxidante de redução do ferro.

Foi observado um efeito significativo ($p < 0,05$) para a capacidade de eliminação do radical ABTS, logo, houve diferença entre os pós produzidos com diferentes agentes carreadores e métodos de secagem. A microcápsula produzida com WPI obtida pelo método de secagem de FD apresentou diferença significativa dos outros pós produzidos. Os valores da capacidade antioxidantes dos pós microencapsulados obtidos pelo método ABTS variaram de 2091,25 a 3231,81 $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$. De acordo com o estudo realizado por Souza et al. [13], o valor da capacidade antioxidante, pelo método ABTS, obtida das partículas com diferentes agentes encapsulantes variou entre 620 a 27720 $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$.

Ao analisar a capacidade antioxidante pelo radical DPPH, observou-se não haver diferença estatística entre as microcápsulas produzidas com WPI, para a FD ($1605,41 \pm 11,38 \mu\text{mol TE/ 100g}$) e o SD ($1627,02 \pm 6,46 \mu\text{mol TE/ 100g}$). Os pós secos por SD utilizando GA como material de revestimento apresentaram capacidade antioxidante superior aos demais ($2311,90 \pm 22,81 \mu\text{mol TE/ 100g}$) ($p < 0,05$).

Comparado ao DPPH, o mesmo comportamento foi observado para a capacidade antioxidante pelo método FRAP. As amostras com WPI não apresentaram diferença significativa em relação aos métodos de secagem ($p < 0,05$), e foram encontrados baixos valores, tanto para os pós obtidos pela secagem por SD ($1440,37 \pm 38,63 \mu\text{mol SFE/ 100 g}$), quanto para FD ($1436,39 \pm 47,95 \mu\text{mol SFE/ 100 g}$). Estes baixos valores podem ser associados à menor compatibilidade da análise FRAP com a natureza dos compostos presentes na constituição da microcápsula com o extrato concentrado da casca de jabuticaba com WPI. Já em relação aos pós produzidos com GA, observa-se que os pós secos pelo método de secagem SD apresentaram uma capacidade antioxidante superior ($9358,38 \pm 335,61 \mu\text{mol SFE/ 100g}$) comparado ao liofilizado ($7504,06 \pm 292,63 \mu\text{mol SFE/ 100g}$) ($p < 0,05$).

Pode-se observar que diferentes métodos de análise da capacidade antioxidante, apresentaram resultados distintos para os pós microencapsulados da casca de jabuticaba. Isso se deve a cada método mensurar a capacidade antioxidante a partir da interação dos radicais livres com diferentes substâncias [50, 51, 52]. O método ABTS se baseia na captura do cátion ABTS pelos antioxidantes presentes no sistema, podendo ser estabilizado pela doação de átomos de hidrogênio. É vantajoso por ser rápido e pode ser aplicado em antioxidantes hidrossolúveis e lipossolúveis [50]. Já o método DPPH é utilizado em sistemas biológicos pela capacidade de sequestrar radicais livres pelos antioxidantes. É um radical de nitrogênio orgânico que na presença de um doador de hidrogênio ou elétron, resulta na redução do radical DPPH, ficando com coloração amarelada. A capacidade antioxidante DPPH é bastante utilizada por ser um método rápido, prático e estável [51]. E o método FRAP baseia-se na redução do complexo férrico (Fe^{+3}) ao complexo ferroso (Fe^{+2}) na presença de um antioxidante, podendo ser reprodutível e correlaciona-se com os teores de ácido ascórbicos e grupos fenólicos [52].

Analisando de forma global os métodos para determinação de antioxidantes e compostos bioativos, as amostras desidratadas por SD juntamente com GA foram as de melhor desempenho, podendo ser utilizadas em formulações de sorvetes, bebidas lácteas, geleias, *cookies*, entre outros [53, 25, 35, 54].

3.6 Eficiência de microencapsulação (EE%)

A eficiência de microencapsulação dos compostos fenólicos e antocianinas totais dos pós microencapsulados do extrato concentrado da casca de jabuticaba pode ser observada na Tabela 4.

Tabela 4: Eficiência de encapsulamento dos extratos concentrados da casca de jabuticaba seco por spray drying (SD) e liofilização (FD) com diferentes agentes carreadores

Eficiência de encapsulamento	Métodos	Agentes carreadores	
		WPI	GA
EE fenólicos totais (%)	SD	94,93 ± 0,26 aA	96,40 ± 0,32 bB
	FD	95,13 ± 0,41 aA	97,71 ± 0,13 bA
EE Antocianinas totais (%)	SD	98,50 ± 1,19 aA	98,58 ± 1,15 aA
	FD	98,57 ± 2,52 aA	98,53 ± 2,42 aA

Dados expressos em média ± desvio padrão. Pares de médias seguidas por uma mesma letra minúscula, em uma mesma linha, não diferem entre si ($p > 0,05$) pelo teste Tukey. Pares de médias seguidas por uma mesma letra maiúscula, em uma mesma coluna, não diferem entre si ($p > 0,05$) pelo teste Tukey. WPI: proteína isolada do soro do leite; GA: goma arábica; SD: *spray drying* e FD: liofilização.

Em relação à eficiência de encapsulamento dos compostos fenólicos, observou-se que a GA mostrou melhor eficiência em relação ao WPI em ambos os métodos de secagem. A relação composto fenólico e o material de parede, bem como a proporção do agente encapsulante utilizado no revestimento, é um fator essencial para obtenção de uma boa eficiência de encapsulamento e estabilidade dos compostos encapsulados [9]. Geralmente, quanto maior o teor do material de parede utilizado, melhores são os resultados adquiridos [46].

Já para antocianinas, percebe-se que tanto o agente encapsulante GA, quanto WPI não apresentaram diferença significativa quanto ao valor de eficiência de encapsulamento para os dois métodos de secagem realizados. Portanto, os dois agentes encapsulantes e métodos de secagem foram eficientes para a preservação dos pigmentos.

A estrutura da GA é um dos fatores que influenciam na elevada eficiência de encapsulamento obtida quando utilizada na formação de paredes protetoras de polifenóis, pois trata-se de um heteropolímero altamente ramificado, composto por carboidratos (D-galactopiranosose, L-ramnose, L-arabinofuranose e ácido D-glucurônico) e proteínas em menor proporção, ligadas por ligações covalentes. Essa organização permite uma boa propriedade de emulsificação melhorando a eficiência de proteção das moléculas [42].

Em estudos que avaliaram a eficiência de encapsulamento utilizando proteína isolada do soro do leite, goma arábica, pectina e maltodextrina como agentes carreadores para a microencapsulação de extratos de jabuticaba, mirtilo, juçara, curcumina, casca de cebola e chokeberry, os autores encontraram valores em uma faixa de 71,28 a 97,5% [55, 56, 12, 9, 40]. Elevados valores de eficiência de encapsulamento são devido à alta capacidade de incorporação do núcleo pelos materiais de parede, ficando uma pequena parte na superfície das microcápsulas [57]. Dessa forma, pode-se concluir que ambos os métodos de secagem e materiais de parede utilizados para a proteção dos compostos bioativos, apresentaram alta eficiência de encapsulamento, sugerindo que todos os tratamentos foram suficientes para cobrir uma quantidade significativa dos compostos de interesse.

3.7 Análise desejabilidade dos pós microencapsulados

Para a definição do pó microencapsulado que se destacou quanto aos parâmetros tecnológicos, bioativos e antioxidantes, foi aplicada a análise de otimização simultânea de variáveis, utilizando a função desejabilidade, que pode ser visualizada na Tabela 5.

A análise foi realizada de forma que atendesse as características do pó desejado para incorporação em sistema-modelo alimentício apresentando melhor reconstituição e elevados valores de compostos bioativos. Esse método

tem como princípio transformar respostas individuais em uma escala adimensional de desejabilidade individuais (d_i), que varia de respostas indesejáveis ($d_i = 0$) a desejáveis ($d_i=1$), e a partir da média geométrica obter os valores da desejabilidade global (D_{global}) como resposta otimizada do pó microencapsulado que se destacou mais entre as variáveis-respostas [58]. Logo, os pós devem conter menor valor de higroscopicidade, para facilitar na sua conservação, sendo então minimizada, e as variáveis-resposta solubilidade, EE, conteúdo fenólico total, antocianinas totais e atividades antioxidante (ABTS, DPPH e FRAP) foram maximizadas.

Tabela 5: Análise de desejabilidade dos extratos concentrados da casca de jabuticaba seco por spray drying (SD) e liofilização (FD) com diferentes agentes carreadores

Agente carreador	Método	$d_{iHigrosc.}$	$d_{iSolub.}$	d_{iEEF}	d_{iEEA}	d_{iCF}	d_{iAT}	d_{iABTS}	d_{iDPPH}	d_{iFRAP}	D_{global}
WPI	SD	0,99	0,41	0,08	0,33	0,97	0,63	0,29	0,04	0,01	0,20
WPI	FD	0,61	0,43	0,14	0,56	0,82	0,44	0,17	0,01	0,00	0,17
GA	SD	0,01	0,49	0,54	0,61	0,48	0,40	0,75	0,97	0,98	0,40
GA	FD	0,32	0,64	0,96	0,45	0,03	0,53	0,54	0,75	0,75	0,43

d_i : desejabilidade individual; D_{global} : desejabilidade global. WPI: Proteína isolada do soro do leite; GA: Goma arábica; SD: *spray drying*; FD: liofilização. EEF: eficiência de encapsulamento de fenólicos; EEA: eficiência de encapsulamento de antocianinas; CF: compostos fenólicos; AT: antocianinas totais; ABTS: capacidade de eliminação do cátion ABTS, DPPH: capacidade de eliminação do radical DPPH, FRAP: poder antioxidante de redução do ferro.

Observa-se na Tabela 5 que os pós microencapsulados não alcançaram o valor máximo de desejabilidade global ($D_{global} = 1$), porém, percebe-se que os pós produzidos com GA apresentaram um melhor desempenho em comparação aos pós com WPI. Entre os pós produzidos com GA, aqueles secos pelo método de secagem FD apresentaram a maior desejabilidade global, seguido dos pós secos pelo método de secagem por SD, destacando-se dos outros pós microencapsulados produzidos com WPI.

4. CONCLUSÃO

Os pós provenientes do extrato concentrado da casca de jabuticaba, microencapsulados por SD e FD, com o uso de GA e WPI, mostraram-se promissores para aplicações tecnológicas, agregando manutenção de cor e compostos antioxidantes para serem aplicados em produtos alimentícios.

Em relação às características tecnológicas e à cor, cada método de secagem e agente carreador avaliados, apresentaram particularidades, mas de forma geral os pós produzidos foram adequados quanto à umidade, higroscopicidade e solubilidade.

Os pós apresentaram teores significativos de antocianinas e compostos fenólicos, o que possibilita sua utilização como corante e ingrediente funcional na adição em produtos processados, conseqüentemente, aumentando o valor agregado de alimentos industrializados. Cada microcápsula apresentou vantagens e desvantagens para a sua utilização como ingrediente em alimentos, os pós com WPI se destacaram quanto aos maiores teores de compostos fenólicos, o que pode ajudar na estabilização e ampliação das aplicações das proteínas e polifenóis em sistemas alimentares. E os pós com GA secos por SD apresentaram-se com potencial tecnológico e antioxidante, podendo ser utilizado como corante para uso em alimentos funcionais. Porém, a partir da resposta otimizada das variáveis-respostas, o pó microencapsulado com GA pelo método de secagem por FD apresentou melhores características quanto aos parâmetros tecnológicos, bioativos e antioxidantes.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, Edital Universal, proc. 409221/2018-0), à Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (FAPES, Edital 16/2019, T.O 139/2020 e Edital 11/2020), pelo financiamento do projeto e pela bolsa de estudos. Agradecemos a cooperação CAPES/FAPES – PDPG (proc. 2021-5S41N).

5. REFERÊNCIAS

- [1] M.C. Paludo, S.B.P. de Oliveira, L.F. de Oliveira, R.C. Colombo, S. Gómez-Alonso, I. Herмосín-Gutiérrez, R. Prata, A.F. Lima, J.T. Filho, C.A. Ballus, H.T. Godoy, Phenolic composition of peels from different Jaboticaba species determined by HPLC-DAD-ESI/MSn and antiproliferative activity in tumor cell lines, *Curr. Plant Biol.* 29 (2022). <https://doi.org/10.1016/j.cpb.2021.100233>.
- [2] N. de Andrade Neves, P. César Stringheta, I. Ferreira da Silva, E. García-Romero, S. Gómez-Alonso, I. Herмосín-Gutiérrez, Identification and quantification of phenolic composition from different species of Jaboticaba (*Plinia* spp.) by HPLC-DAD-ESI/MSn, *Food Chem.* 355 (2021) 129605. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129605>.
- [3] M. Fidelis, J.S. Santos, G.B. Escher, R.S. Rocha, A.G. Cruz, T.M. Cruz, M.B. Marques, J.B. Nunes, M.A.V. do Carmo, L.A. de Almeida, T. Kaneshima, L. Azevedo, D. Granato, Polyphenols of jaboticaba [*Myrciaria jaboticaba* (Vell.) O.Berg] seeds incorporated in a yogurt model exert antioxidant activity and modulate gut microbiota of 1,2-dimethylhydrazine-induced colon cancer in rats, *Food Chem.* 334 (2021). <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127565>.
- [4] B.R. Albuquerque, J. Pinela, L. Barros, M.B.P.P. Oliveira, I.C.F.R. Ferreira, Anthocyanin-rich extract of jaboticaba epicarp as a natural colorant: Optimization of heat- and ultrasound-assisted extractions and application in a bakery product, *Food Chem.* 316 (2020) 126364. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126364>.
- [5] T.R. Marques, M.A. Braga, P.H.S. Cesar, S. Marcussi, A.D. Corrêa, Jaboticaba (*Plinia jaboticaba*) skin extracts as inhibitors of phospholipases a₂ and proteases, *An. Acad. Bras. Cienc.* 91 (2019). <https://doi.org/10.1590/0001-3765201920180248>.
- [6] N.O.S. Garcia, C.P. Fernandes, E.C. da Conceição, Is it possible to obtain nanodispersions with jaboticaba peel's extract using low energy methods and absence of any high cost equipment?, *Food Chem.* 276 (2019) 475–484. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.10.037>.

- [7] I.A. Flores-Belmont, E. Palou, A. López-Malo, M.T. Jiménez-Munguía, Simple and double microencapsulation of *Lactobacillus acidophilus* with chitosan using spray drying, *Int. J. Food Stud.* 4 (2015) 188–200. <https://doi.org/10.7455/ijfs/4.2.2015.a7>.
- [8] B. Luiza Koop, M. Nascimento da Silva, F. Diniz da Silva, K. Thayres dos Santos Lima, L. Santos Soares, C. José de Andrade, G. Ayala Valencia, A. Rodrigues Monteiro, Flavonoids, anthocyanins, betalains, curcumin, and carotenoids: Sources, classification and enhanced stabilization by encapsulation and adsorption, *Food Res. Int.* 153 (2022). <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110929>.
- [9] E. Pieczykolan, M.A. Kurek, Use of guar gum, gum arabic, pectin, beta-glucan and inulin for microencapsulation of anthocyanins from chokeberry, *Int. J. Biol. Macromol.* 129 (2019) 665–671. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.02.073>.
- [10] M. Liao, L. Ma, S. Miao, X. Hu, X. Liao, F. Chen, J. Ji, antocianinas de mirtilo, 115 (2021).
- [11] C. Yamashita, M.M.S. Chung, C. dos Santos, C.R.M. Mayer, I.C.F. Moraes, I.G. Branco, Microencapsulation of an anthocyanin-rich blackberry (*Rubus* spp.) by-product extract by freeze-drying, *Lwt.* 84 (2017) 256–262. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.05.063>.
- [12] J. de C.G. Rocha, F.A.R. de Barros, Í.T. Perrone, K.W.C. Viana, G.M. Tavares, R. Stephani, P.C. Stringheta, Microencapsulation by atomization of the mixture of phenolic extracts, *Powder Technol.* 343 (2019) 317–325. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2018.11.040>.
- [13] A.G. De Souza, A.C. Fassina, F. Rosangela, D.S. Saraiva, COMPOSTOS BIOATIVOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM FRUTAS NATIVAS DO BRASIL Bioactive compounds and antioxidant activity in native fruits from Brazil . *Growing*, 30 (2018) 73–78. <https://doi.org/10.21757/0103-3816.2018v30n1p73-78>.
- [14] Y. Tao, P. Wang, J. Wang, Y. Wu, Y. Han, J. Zhou, Combining various wall materials for encapsulation of blueberry anthocyanin extracts: Optimization by artificial neural network and genetic algorithm and a comprehensive analysis of anthocyanin powder properties, *Powder Technol.* 311 (2017) 77–87. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2017.01.078>.

- [15] X. Chang, W. Feng, L. He, X. Chen, L. Liang, Fabrication and characterisation of whey protein isolate–propolis–alginate complex particles for stabilising α -tocopherol-contained emulsions, *Int. Dairy J.* 109 (2020) 104756. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2020.104756>.
- [16] G. Wu, X. Hui, J. Mu, M.A. Brennan, C.S. Brennan, Functionalization of whey protein isolate fortified with blackcurrant concentrate by spray-drying and freeze-drying strategies, *Food Res. Int.* 141 (2021) 110025. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.110025>.
- [17] J. Righi da Rosa, G.L. Nunes, M.H. Motta, J.P. Fortes, G.C. Cezimbra Weis, L.H. Rychecki Hecktheuer, E.I. Muller, C. Ragagnin de Menezes, C. Severo da Rosa, Microencapsulation of anthocyanin compounds extracted from blueberry (*Vaccinium* spp.) by spray drying: Characterization, stability and simulated gastrointestinal conditions, *Food Hydrocoll.* 89 (2019) 742–748. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.11.042>.
- [18] C.B. da Rocha, C.P.Z. Noreña, Microencapsulation and controlled release of bioactive compounds from grape pomace, *Dry. Technol.* 39 (2021) 1018–1032. <https://doi.org/10.1080/07373937.2020.1741004>.
- [19] V. Tumbas Šaponjac, G. Ćetković, J. Čanadanović-Brunet, B. Pajin, S. Djilas, J. Petrović, I. Lončarević, S. Stajčić, J. Vulić, Sour cherry pomace extract encapsulated in whey and soy proteins: Incorporation in cookies, *Food Chem.* 207 (2016) 27–33. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.03.082>.
- [20] G. Wu, X. Hui, J. Mu, X. Gong, L. Stipkovits, M.A. Brennan, C.S. Brennan, Functionalization of sodium caseinate fortified with blackcurrant concentrate via spray-drying and freeze-drying techniques: The nutritional properties of the fortified particles, *Lwt.* 142 (2021) 111051. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111051>.
- [21] E.M.F. Lima, M.C.M. Madalão, W.C. dos Santos, P.C. Bernardes, S.H. Saraiva, P.I. Silva, Spray-dried microcapsules of anthocyanin-rich extracts from *Euterpe edulis* M. as an alternative for maintaining color and bioactive compounds in dairy beverages, *J. Food Sci. Technol.* 56 (2019) 4147–4157. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-03885-5>.
- [22] P. Ibrahim Silva, P.C. Stringheta, R.F. Teófilo, I.R.N. De Oliveira, Parameter optimization for spray-drying microencapsulation of jaboticaba

- (*Myrciaria jaboticaba*) peel extracts using simultaneous analysis of responses, *J. Food Eng.* 117 (2013) 538–544. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.08.039>.
- [23] R. V. Tonon, C. Brabet, M.D. Hubinger, Influence of process conditions on the physicochemical properties of açai (*Euterpe oleraceae* Mart.) powder produced by spray drying, *J. Food Eng.* 88 (2008) 411–418. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2008.02.029>.
- [24] A.L. Bernardes, J.A. Moreira, M. das G.V. Tostes, N.M.B. Costa, P.I. Silva, A.G.V. Costa, In vitro bioaccessibility of microencapsulated phenolic compounds of jussara (*Euterpe edulis* Martius) fruit and application in gelatine model-system, *Lwt.* 102 (2019) 173–180. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.12.009>.
- [25] E.M.F. Lima, M.C.M. Madalão, D.B. Benincá, S.H. Saraiva, P.I. Silva, Effect of encapsulating agent and drying air temperature on the characteristics of microcapsules of anthocyanins and polyphenols from juçara (*Euterpe edulis* Martius), *Int. Food Res. J.* 26 (2019) 607–617.
- [26] R.E. Giusti, M. and Wrolstad, Current Protocols in Food Analytical Chemistry: Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy Anthocyanin, *Food Chem.* F1.2.1-F1. (2001) 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125373>.
- [27] W. Brand-Williams, M.E. Cuvelier, C. Berset, Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity, *LWT - Food Sci. Technol.* 28 (1995) 25–30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5).
- [28] I.F.F. Benzie, J.J. Strain, The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: The FRAP assay, *Anal. Biochem.* 239 (1996) 70–76. <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>.
- [29] G. Derringer, R. Suich, Simultaneous Optimization of Several Response Variables, *J. Qual. Technol.* 12 (1980) 214–219. <https://doi.org/10.1080/00224065.1980.11980968>.
- [30] B.R. Albuquerque, C. Pereira, R.C. Calhelha, M. José Alves, R.M.V. Abreu, L. Barros, M.B.P.P. Oliveira, I.C.F.R. Ferreira, Jaboticaba residues (*Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg) are rich sources of valuable compounds with bioactive properties, *Food Chem.* 309 (2020) 125735. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125735>.

- [31] T. Azevedo, D. Santos¹, J. Pimentel De Abreu², ; Taíssa, L. Torres³, Avaliação das características físico-químicas, atividade antioxidante e fenólicos totais da farinha do extrato da jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*), Científic@ Multidiscip. J. 8 (2020) 1–13. <https://doi.org/10.29247/2358-260X.2020v7i2.4730>.
- [32] V. Šeregelj, G. Četković, J. Čanadanović-Brunet, V.T. Šaponjac, J. Vulić, S. Lević, V. Nedović, A. Brandolini, A. Hidalgo, Encapsulation of carrot waste extract by freeze and spray drying techniques: An optimization study, Lwt. 138 (2021) 110696. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110696>.
- [33] W.I.M. de L. Marsiglia, Â.M. Santiago, H.G. Alves, R.L.J. Almeida, N.C. Santos, C.E. de S. Muniz, P.O. Galdino, M.M. de A. Mota, M.M. de Almeida, Modelagem e simulação do processo de secagem das cascas de jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*), Res. Soc. Dev. 10 (2021) e21510313214. <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i3.13214>.
- [34] S.K.T. Seraglio, M. Schulz, P. Nehring, F. Della Betta, A.C. Valesse, H. Daguer, L.V. Gonzaga, R. Fett, A.C.O. Costa, Nutritional and bioactive potential of Myrtaceae fruits during ripening, Food Chem. 239 (2018) 649–656. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.06.118>.
- [35] M. Schulz, S.K.T. Seraglio, F. Della Betta, P. Nehring, A.C. Valesse, H. Daguer, L.V. Gonzaga, A.C.O. Costa, R. Fett, Blackberry (*Rubus ulmifolius* Schott): Chemical composition, phenolic compounds and antioxidant capacity in two edible stages, Food Res. Int. 122 (2019) 627–634. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.01.034>.
- [36] J. Rumpf, R. Burger, M. Schulze, Statistical evaluation of DPPH, ABTS, FRAP, and Folin-Ciocalteu assays to assess the antioxidant capacity of lignins, Int. J. Biol. Macromol. 233 (2023). <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.123470>.
- [37] N.L. Vanden Braber, L.I. Díaz Vergara, Y.E. Rossi, C.A. Aminahuel, A.N. Mauri, L.R. Cavaglieri, M.A. Montenegro, Effect of microencapsulation in whey protein and water-soluble chitosan derivative on the viability of the probiotic *Kluyveromyces marxianus* VM004 during storage and in simulated gastrointestinal conditions, Elsevier Ltd, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108844>.
- [38] S.M. Jafari, M. Ghalegi Ghalenoiei, D. Dehnad, Influence of spray drying on

- water solubility index, apparent density, and anthocyanin content of pomegranate juice powder, *Powder Technol.* 311 (2017) 59–65. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2017.01.070>.
- [39] A.L.R. Souza, D.W. Hidalgo-Chávez, S.M. Pontes, F.S. Gomes, L.M.C. Cabral, R. V. Tonon, Microencapsulation by spray drying of a lycopene-rich tomato concentrate: Characterization and stability, *Lwt.* 91 (2018) 286–292. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.01.053>.
- [40] J. Righi da Rosa, G.C. Cezimbra Weis, K.I. Bolson Moro, S. Sasso Robalo, C. Elias Assmann, L. Picolli da Silva, E. Irineu Muller, C. de Bona da Silva, C. Ragagnin de Menezes, C. Severo da Rosa, Effect of wall materials and storage temperature on anthocyanin stability of microencapsulated blueberry extract, *Lwt.* 142 (2021). <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111027>.
- [41] B.F. Teixeira, J.B. Aranha, T.M.F. de S. Vieira, Replacing synthetic antioxidants in food emulsions with microparticles from green acerola (*Malpighia emarginata*), *Futur. Foods.* 5 (2022) 100130. <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2022.100130>.
- [42] L.S. Kuck, C.P.Z. Noreña, Microencapsulation of grape (*Vitis labrusca* var. Bordo) skin phenolic extract using gum Arabic, polydextrose, and partially hydrolyzed guar gum as encapsulating agents, *Food Chem.* 194 (2016) 569–576. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.08.066>.
- [43] G.M. Tavares, T. Croguennec, A.F. Carvalho, S. Bouhallab, Milk proteins as encapsulation devices and delivery vehicles: Applications and trends, *Trends Food Sci. Technol.* 37 (2014) 5–20. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2014.02.008>.
- [44] M. Liao, L. Ma, S. Miao, X. Hu, X. Liao, F. Chen, J. Ji, The in-vitro digestion behaviors of milk proteins acting as wall materials in spray-dried microparticles: Effects on the release of loaded blueberry anthocyanins, *Food Hydrocoll.* 115 (2021). <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106620>.
- [45] E. do Nascimento Filho, N.N. Barroca Silva, A. Converti, C.R. Ferreira Grosso, A.M. Pinheiro Santos, D. Silva Ribeiro, M.I.S. Maciel, Microencapsulation of acerola (*Malpighia emarginata* DC) AND ciriguela (*Spondias purpurea* L) mixed juice with different wall materials, *Food*

- Chem. Adv. 1 (2022) 100046. <https://doi.org/10.1016/j.focha.2022.100046>.
- [46] S.C. Delia, G.M. Chávez, M. León-Martínez Frank, S.G.P. Araceli, A.L. Irais, A.A. Franco, Spray drying microencapsulation of betalain rich extracts from *Escontria chiotilla* and *Stenocereus queretaroensis* fruits using cactus mucilage, *Food Chem.* 272 (2019) 715–722. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.08.069>.
- [47] P.L. Dawson, J.C. Acton, Impact of proteins on food color, Second Edi, Elsevier Ltd., 2017. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100722-8.00023-1>.
- [48] J.M. Obón, M.R. Castellar, M. Alacid, J.A. Fernández-López, Production of a red-purple food colorant from *Opuntia stricta* fruits by spray drying and its application in food model systems, *J. Food Eng.* 90 (2009) 471–479. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2008.07.013>.
- [49] D.F. Cortés-Rojas, C.R.F. Souza, W.P. Oliveira, Optimization of spray drying conditions for production of *Bidens pilosa* L. dried extract, *Chem. Eng. Res. Des.* 93 (2015) 366–376. <https://doi.org/10.1016/j.cherd.2014.06.010>.
- [50] N.R. Sucupira, A.B. Da Silva, G. Pereira, J.N. Da Costa, Métodos Para Determinação da Atividade Antioxidante de Frutos, *UNOPAR Científica Ciências Biológicas e Da Saúde.* 14 (2014) 263–269.
- [51] G.L.S. Oliveira, Determinação da capacidade antioxidante de produtos naturais in vitro pelo método do dpph•: Estudo de revisão, *Rev. Bras. Plantas Med.* 17 (2015) 36–44. https://doi.org/10.1590/1983-084X/12_165.
- [52] M. do S.M. Rufino, R.E. Alves, E.S. de Brito, S.M. de Moraes, C. de G. Sampaio, J. Pérez-Jiménez, F.D. Saura-Calixto, FRAP embrapa, *Comun. Técnico*, 125 Embrapa. (2006) 3–6.
- [53] D. Zaeim, M. Sarabi-Jamab, B. Ghorani, R. Kadkhodae, W. Liu, R.H. Tromp, Microencapsulation of probiotics in multi-polysaccharide microcapsules by electro-hydrodynamic atomization and incorporation into ice-cream formulation, *Food Struct.* 25 (2020) 100147. <https://doi.org/10.1016/j.foostr.2020.100147>.
- [54] G. Wu, X. Hui, L. Stipkovits, A. Rachman, J. Tu, M.A. Brennan, C.S. Brennan, Whey protein-blackcurrant concentrate particles obtained by spray-drying and freeze-drying for delivering structural and health benefits of cookies, *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 68 (2021) 102606.

- <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2021.102606>.
- [55] W. Liu, X.D. Chen, Z. Cheng, C. Selomulya, On enhancing the solubility of curcumin by microencapsulation in whey protein isolate via spray drying, *J. Food Eng.* 169 (2016) 189–195. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2015.08.034>.
- [56] G. Horincar, I. Aprodu, V. Barbu, G. Râpeanu, G.E. Bahrim, N. Stănciuc, Interactions of flavonoids from yellow onion skins with whey proteins: Mechanisms of binding and microencapsulation with different combinations of polymers, *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* 215 (2019) 158–167. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2019.02.100>.
- [57] L.H. Pan, L.P. Chen, C.L. Wu, J.F. Wang, S.Z. Luo, J.P. Luo, Z. Zheng, Microencapsulation of blueberry anthocyanins by spray drying with soy protein isolates/high methyl pectin combination: Physicochemical properties, release behavior in vitro and storage stability, *Food Chem.* 395 (2022) 133626. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.133626>.
- [58] C.G. Novaes, R.T. Yamaki, V.F. De Paula, B.B. Do Nascimento Júnior, J.A. Barreto, G.S. Valasques, M.A. Bezerra, Optimization of analytical methods using response surface methodology part i: Process variables, *Rev. Virtual Quim.* 9 (2017) 1184–1215. <https://doi.org/10.21577/1984-6835.20170070>.
- [59] AOAC. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 16. ed. Whashington, 1995.
- [60] Re, R.; Pellegrini, N.; Proteggenete, A.; Pannala, A.; Yang, M.; Rice-Evans, C. Trolox ASSAY. International Antioxidant Research Centre, Guy's, King's and St Thomas' School of Biomedical Sciences, Kings College–Guy's Campus, London SE1 9RT, UK, v. 26, n. 98, p. Free Radical Biology & Medicine, Vol. 26, Nos. 9/1, 1999.
- [61] V. L. Singleton, Rossi, J. A., and J. . Jr, "Colorimetry of total phenolics with acid reagents," PHENOLICS Determ., pp. 144–158, 1965.
- [62] YILDIRIM, A. et al. Efeito da atividade de água e diferentes sistemas de secagem na estabilidade de compostos bioativos. *GIDA-Journal of Food* , v. 43, n. 3, pág. 512-522, 2018.

4. ARTIGO 2

Estabilidade e bioacessibilidade de microencapsulados de extratos da casca de jabuticaba incorporados em sistema-modelo de cookies

RESUMO

Este estudo teve como objetivo investigar a estabilidade físico-química e de compostos bioativos, bem como a bioacessibilidade de compostos fenólicos de cookies incorporados com pós microencapsulados do extrato da casca de jabuticaba, obtidos por *spray drying* (SD) e liofilização (FD), utilizando proteína isolada do soro do leite (WPI) e goma arábica (GA) como agentes encapsulantes. Os pós foram incorporados aos cookies em concentrações de 10 e 15%. Os cookies com pós microencapsulados foram avaliados quanto à estabilidade da diferença global de cor (ΔE^*), compostos fenólicos totais e a capacidade antioxidante (ABTS, DPPH e FRAP), durante 3 meses e quanto à bioacessibilidade dos polifenóis. Os cookies apresentaram ΔE^* mínima, indicando uma pequena degradação dos pigmentos. O conteúdo fenólico total e as atividades antioxidantes obtidas foram proporcionais com o aumento das concentrações dos pós adicionados nos cookies, sendo os cookies adicionados com 15% de pós obtidos a partir da GA e SD com maior estabilidade ao armazenamento. A microencapsulação permitiu a liberação controlada dos compostos bioativos durante a digestão, sendo que os cookies adicionados com WPI secos por FD apresentaram maior fração bioacessível. Logo, pode-se dizer que as microcápsulas ricas em polifenóis da casca de jabuticaba mostraram que existe um grande potencial como corante natural e fonte de compostos bioativos para o desenvolvimento de alimentos funcionais e/ou nutricionalmente mais atrativos.

Palavras-chave: Cookies; jabuticaba; microencapsulação; *spray drying*; liofilização

1. INTRODUÇÃO

A indústria alimentícia vem se destacando na fabricação de produtos com a utilização de biorresíduos de frutas e vegetais devido a sua agregação associada às propriedades biológicas e tecnológicas em alimentos como sorvetes, bebidas lácteas, geleias, cookies e entre outros (LIMA et al., 2019; SCHULZ et al., 2019; ZAEIM et al., 2020; WU et al., 2021a).

Além do sabor, a cor dos produtos é primordial para a aceitação do consumidor, uma vez que os tornam mais atrativos. A utilização dos pigmentos naturais desses resíduos agroindustriais é de grande importância para a substituição dos corantes artificiais, visto que, há uma preocupação em relação aos seus efeitos adversos (ALBUQUERQUE et al., 2020).

A jabuticaba (*Plinia ssp.*) é uma fonte natural de compostos fenólicos, que podem ser extraídos principalmente de suas cascas e sementes, que são classificados como biorresíduos em produções de vinhos, licores e sucos (Albuquerque et al., 2020). Dentre os compostos fenólicos, destacam-se as antocianinas, pigmentos responsáveis pela coloração roxo-escuro dos frutos de jabuticaba e que apresentam característica hidrossolúvel (Bernardes et al., 2019). As antocianinas são benéficas à saúde devido às suas propriedades antioxidantes, antivirais, antimicrobianas, anti-inflamatórias e antitumorais, que contribuem para a redução do risco de desenvolvimento de doenças crônicas como diabetes, doenças cardiovasculares, dislipidemias, obesidade, distúrbios hepáticos, entre outros (QUATRIN et al., 2020; SENES et al., 2021).

No entanto, os polifenóis apresentam baixa estabilidade quando submetidos à variações de pH, temperaturas elevadas, presença de oxigênio, radiação, umidade e ação de enzimas, limitando suas aplicações funcionais em alimentos e, especialmente, no processo de digestão, uma vez que as condições do trato gastrointestinal são fatores que induzem alterações estruturais e a degradação desses compostos (LIAO et al., 2021; RIGHI DA ROSA et al., 2021). A temperatura é um parâmetro crítico do processamento de alimentos que impacta em matrizes alimentares, afetando principalmente esses compostos que são instáveis e sensíveis ao calor (Albuquerque et al., 2021).

Nesse contexto, técnicas de encapsulamento são processos alternativos para minimizar a instabilidade dos polifenóis. Dentre estas técnicas, há a

secagem por *spray drying* e a liofilização, que permitem a proteção dos compostos bioativos evitando sua degradação por processos oxidativos e, aumentando a sua retenção em condições adversas e que são submetidos, visto que, são formadas estruturas específicas e ocorrem interações entre os polifenóis e os materiais encapsulantes (Liao et al., 2021). As proteínas e polissacarídeos são considerados materiais encapsulantes adequados, devido às suas características de biocompatibilidade e biodegradabilidade satisfatórias, baixa viscosidade, propriedades emulsificantes e capacidade de ligações (Song et al., 2022).

Diante do exposto, o presente estudo objetivou produzir *cookies* adicionados de microencapsulados de extrato de casca de jabuticaba e avaliar a estabilidade e a bioacessibilidade dos polifenóis.

1. Material e métodos

1.1 Material

Os frutos de jabuticaba (*Plinia spp.*) foram coletados na região de Amorim, distrito localizado no município de Muniz-Freire (20°31'34.4"S 41°25'27.7"W), Sul do estado do Espírito Santo, Brasil. A jabuticaba foi higienizada e despulpada manualmente para a obtenção dos resíduos da fruta (cascas), que foram armazenados em freezer (-18 ± 2 °C), até o momento da extração e análises.

2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH), 2,2'azinobis-(3etilbenzotiazolin-6sulphonic) acid (ABTS), 2,4,6-tripiridil-s-triazina (TPTZ), ácido 6-hidroxi-2,5,7,8 tetrametilcroman-2-carboxílico (Trolox), enzimas alfa-amilase, pepsina, pancreatina e sais biliares, foram obtidos da Sigma-Adrich (Germany). Ácido gálico, carbonato de sódio, cloreto de sódio, álcool etílico e reagente para fenol Folin-Ciocalteau foram adquiridos de Dinâmica Química Contemporânea (Brasil). Cloreto férrico, cloreto de alumínio, nitrito de sódio, hidróxido de sódio, persulfato de potássio e sulfato ferroso foram adquiridos da Neon (Brasil). Todos os reagentes foram de grau analítico ou HPLC. Os agentes carreadores utilizados foram goma arábica (Labsynth, Brasil) e proteína isolada do soro de leite (Vitafor, Brasil).

2.2 Métodos

2.2.1 Preparo do extrato concentrado e dos pós microencapsulados da casca de jabuticaba

O extrato rico em fitoquímicos foi produzido de acordo com Lima et al. (2019). 25 g das cascas de jabuticaba, com umidade resultante de 74,90±0,06 % (m/m), foram previamente trituradas em mixer (Britânia, Brasil) com adição de 250 mL de etanol 80% (v/v), acidificada com ácido cítrico até pH 2,5. Posteriormente, o resíduo adicionado do solvente extrator foi sonicado em ultrassom de banho (Ultrasonic Power IGBT, CTA do Brasil), a uma potência de 900 W, temperatura de 35 °C, durante 30 minutos. Os extratos foram filtrados e concentrados em evaporador rotatório a vácuo (Fisatom 801, Brasil), até a remoção do etanol. O teor de sólidos solúveis foi medido e expresso em °Brix. Em seguida, o extrato concentrado (30,2 °Brix e pH 2,0) foi acondicionado em frasco âmbar e

armazenado em freezer (-18 ± 2 °C) até o momento das análises. A etapa de extração foi repetida até se obter volume suficiente de extrato concentrado para as etapas posteriores de microencapsulação. O fluxograma do preparo do extrato concentrado da casca de jabuticaba pode ser visualizado na Figura 1.

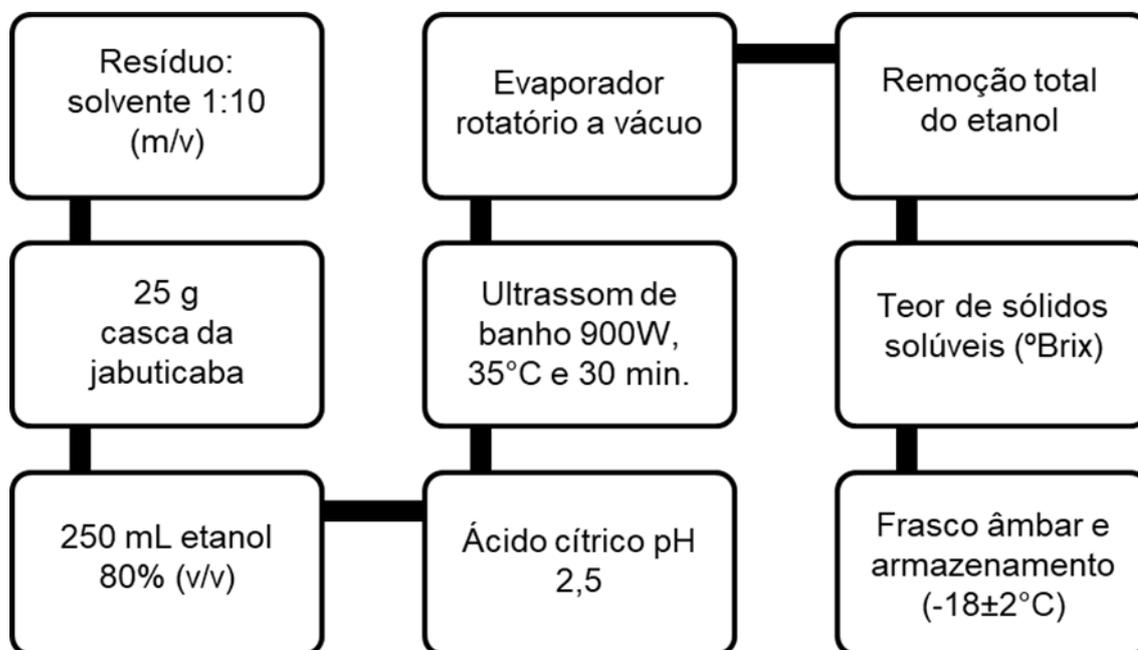


Figura 1: Preparo do extrato concentrado da casca de jabuticaba

Fonte: De autoria própria.

As microcápsulas foram obtidas a partir da secagem do extrato concentrado do resíduo da jabuticaba dispersos em soluções de 30% (m/v) dos agentes carreadores, proteína isolada do soro do leite (WPI) (Wu, Hui, Mu, Gong, et al., 2021), e goma arábica (GA) (Silva et al., 2013; Rocha et al., 2019), na proporção de extrato:agente carreador de 1:3 (v/v), de acordo com Lima et al. (2019). As misturas resultantes foram homogeneizadas em agitador magnético (KASVI, K40-1810H, Brasil), mantidas a 30 °C e submetidas à secagem em *spray drying* (YAMATO, Modelo ADL 3115, China) utilizando os seguintes parâmetros: temperatura de entrada: 180 °C; temperatura de saída: 60 °C; vazão de alimentação: 4 mL/min.; fluxo de ar comprimido: 0,21 m³/min e pressão do ar: 0,1 Mpa (SILVA et al., 2013). Já para a liofilização, as amostras foram previamente congeladas a -20 °C por 48 horas, e, em seguida, foram liofilizadas em liofilizador de bandejas (JJ CIENTÍFICA JJ-02, LJW, Brasil) a vácuo de 39,99 Pa e temperatura: -25°C. Os pós obtidos foram moídos e acondicionados em

embalagens de polietileno contendo camada laminada, e armazenados sob refrigeração ($-18 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$) até o momento das análises. Os pós microencapsulados podem ser visualizados na Figura 2.

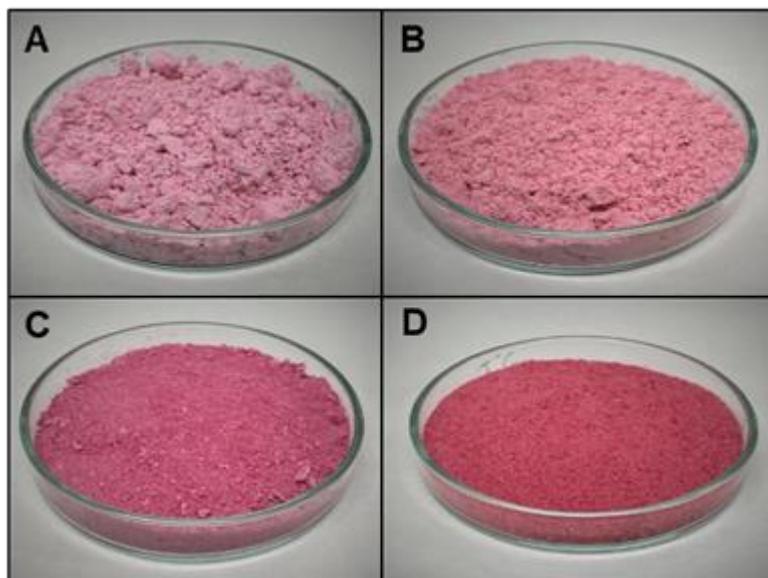


Figura 2: Pós microencapsulados do extrato concentrado da casca de jaboticaba

Fonte: De autoria própria. A: microcápsula com proteína isolada do soro do leite seco por *spray drying*; B: microcápsula com goma arábica seco por *spray drying*; C: microcápsula com proteína isolada do soro do leite seco por liofilização; D: microcápsula com goma arábica seco por liofilização.

2.2.2 Incorporação em sistema-modelo de cookie

Os pós secos por SD e FD, foram utilizados na formulação de sistema-modelo *cookie*, em triplicata. Para isso, os pós foram produzidos em batelada até obter quantidade suficiente para o preparo do *cookie* para, posteriormente, avaliar a variação de cor, degradação dos compostos fenólicos e atividades antioxidantes (ABTS, DPPH e FRAP). Foram formulados *cookies* controle (0%) e *cookies* contendo, por substituição parcial da farinha de trigo, 10% e 15% de pó microencapsulado do extrato da casca de jaboticaba (Tabela 1). Os *cookies* podem ser observados na Figura 3.

Após testes preliminares, a formulação de *cookie* foi composta por 225 g de farinha de trigo (100%), 90 g de açúcar cristal (40%), 2,1 g de sal (0,93%), 2,25 g de bicarbonato de sódio (1,0%), 180 g de margarina sem sal (80%) e 50 g de água potável (22,2%).

Tabela 1: Substituição parcial da farinha de trigo pelos pós microencapsulados

Amostras	Farinha de trigo	<i>Spray drying</i>	Liofilização
Controle (g)	225,00	-	-
10%WP (g)	202,5	22,5	22,5
15%WP (g)	191,25	33,75	33,75
10%GA (g)	202,5	22,5	22,5
15%GA (g)	191,25	33,75	33,75

Os ingredientes foram adquiridos no comércio local da cidade de Alegres, Brasil. A massa foi processada em batedeira planetária (Mondal BP-03, fixa, Brasil) onde os ingredientes secos (açúcar, sal e bicarbonato de sódio) foram misturados com a margarina sem sal na velocidade 1 por 3 minutos, seguida pela adição de 50 g de água potável e mistura da massa por 1 minuto na velocidade 2. A farinha de trigo e os pós microencapsulados com extrato da casca de jabuticaba foram adicionados e misturados por 2 minutos na velocidade 2. Após a adição de todos os ingredientes, a massa foi colocada em assadeiras quadradas de metal (35x35cm), com papel manteiga (Wyda, Brasil). Os *cookies* foram assados a 150 °C por 30 minutos, em forno elétrico automático (Miniconv, Brasil) (WU et al., 2021a). Após o assamento, estes foram resfriados a temperatura ambiente e armazenados a 25 °C em BOD, embalagens de polietileno transparente, com ausência de luz.

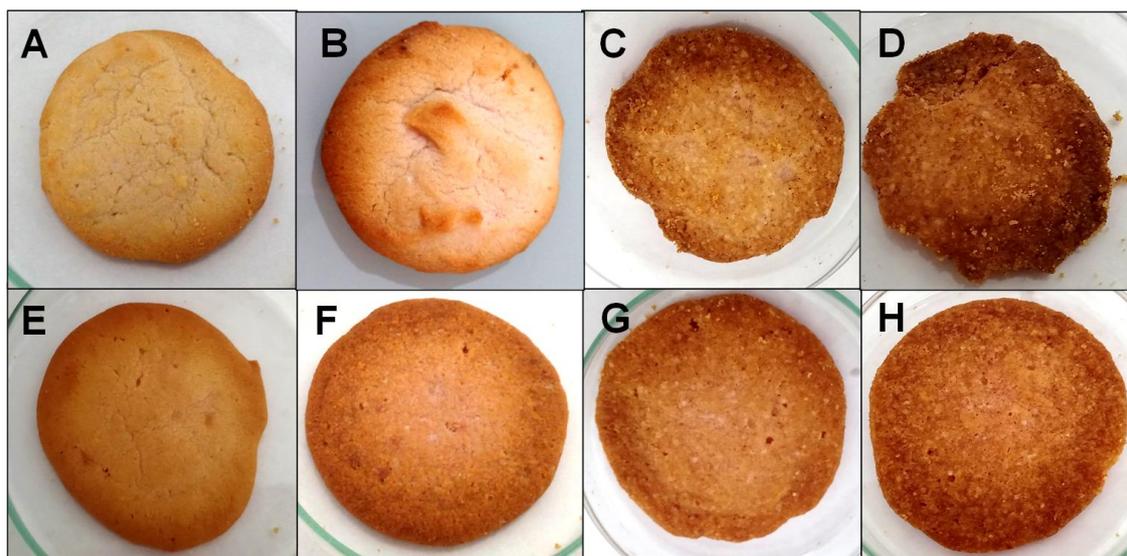


Figura 3: Cookies incorporados com pós microencapsulados do extrato concentrado da casca de jabuticaba

Fonte: De autoria própria. A: *Cookie* com microcápsula com 10% de proteína isolada do soro do leite seco por *spray drying*; B: *Cookie* com microcápsula com 15% de proteína isolada do soro do leite seco por *spray drying*; C: *Cookie* com microcápsula com 10% de proteína isolada do soro do leite seco por liofilização; D: *Cookie* com microcápsula com 15% de proteína isolada do soro do leite seco por liofilização; E: *Cookie* com microcápsula com 10% de goma arábica seco por *spray drying*; F: *Cookie* com microcápsula com 15% de goma arábica seco por *spray drying*; G: *Cookie* com microcápsula com 10% de goma arábica seco por liofilização; H: *Cookie* com microcápsula com 15% de goma arábica seco por liofilização.

2.2.3 Estabilidade do sistema-modelo de *cookie*

A estabilidade de cor e de degradação de compostos fenólicos e capacidade antioxidante (ABTS, DPPH e FRAP) dos *cookies* incorporados de pós microencapsulados, foi analisada durante 90 dias de armazenamento (3 meses). Os *cookies* foram armazenados a 25 °C em BOD, em embalagens de polietileno transparente, selados em seladora (Sulpack, Brasil), e as análises foram realizadas de 10 em 10 dias até que se completassem 90 dias, seguindo o método de análise descrito no item 2.2.4.

2.2.4 Caracterização do sistema-modelo de *cookie*

2.2.4.1 Análise colorimétrica

A cor foi determinada usando um colorímetro (Konica Minolta, CR-5, Japão), no sistema CIELAB com iluminante D65 e ângulo de observação de 10°, e foi realizada leitura direta no modo reflectância das coordenadas “L*” -

luminosidade (0 = preto e 100 = branco), “a*” - intensidade de vermelho (+) e verde (-), e, “b*” - intensidade de amarelo (+) e azul (-), dos *cookies* com pós microencapsulados moídos. O ângulo de tonalidade cromática (h°) e saturação de cor ou chroma (C*) foram calculados de acordo com as Equações 1 e 2.

$$h^{\circ} = \arctg \frac{b^*}{a^*} \quad (\text{Equação 1})$$

$$C^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad (\text{Equação 2})$$

Com o intuito de verificar as perdas de cor causadas resultante do tempo de armazenamento dos *cookies*, foi então calculada a diferença global de cor (ΔE) de cada amostra. A ΔE foi calculada pela Equação 3, utilizando as coordenadas L*, a* e b* do tempo zero, como padrão, e o tempo de 90 dias.

$$\Delta E = [\Delta L^2 + \Delta a^{*2} + \Delta b^{*2}]^{\frac{1}{2}} \quad (\text{Equação 3})$$

Em que ΔE é a diferença global de cor, ΔL é a variação da coordenada L*, Δa é a variação da coordenada a* e Δb é a variação da coordenada b*.

2.2.4.2 Conteúdo fenólico total

Para a determinação dos compostos fenólicos e da capacidade antioxidante, primeiramente foi realizada a extração dos compostos bioativos dos *cookies* (SAITO et al., 2019; WU et al., 2021a). Uma solução extratora de etanol:HCl 1,5 N (85:15 v/v), foi preparada para a extração dos *cookies*, na proporção de *cookie*:solução extratora de 1:3 (m/v) em erlenmeyers, a 25 °C por 12 horas. Posteriormente, essa solução foi levada ao ultrassom de banho (4 °C, 30 minutos, 100 Hz), filtrada a vácuo e centrifugada a 2846 g por 20 minutos.

O índice de polifenóis totais (IPT) foi determinado pelo ensaio do reagente Folin-Ciocalteu, com base em metodologia adaptada de Singleton, Rossi e Jr (1965). Inicialmente, foi adicionado uma alíquota de 0,6 mL do extrato em 3,0 mL de reagente Folin-Ciocalteu previamente diluído em água destilada (1:10 v/v). Após 3 minutos de repouso ao abrigo da luz, foram adicionados 2,4 mL de solução saturada de Na₂CO₃. A absorbância foi determinada a 760 nm por espectrofotometria, após 1 hora de repouso em ausência de luz. O IPT foi determinado utilizando curva padrão de ácido gálico (0-150 mg/L) e os resultados expressos em ácido gálico equivalente (mg AGE / 100 g), em base seca.

2.2.4.3 Capacidade antioxidante – ABTS

A atividade anti-radical livre foi medida utilizando-se o método de ensaio do radical ABTS, de acordo com Re et al. (1999). Para a formação do radical ABTS•+, uma solução aquosa de ABTS 7 mM foi adicionada a uma solução de persulfato de potássio 2,45 mM. Esta mistura foi mantida no escuro à temperatura ambiente por 16 horas. Após este tempo, a absorbância foi corrigida para 0,700 (\pm 0,05) a 734 nm com adição de etanol 80% (v/v) em espectrofotômetro (Thermo Fisher Scientific, Evolution 300 UV-Vis, Estados Unidos). 3,5 mL da solução radical ABTS•+ foram adicionados em 0,5 mL da amostra, e foi realizada a leitura espectrofotométrica após 6 minutos de reação (RE et al., 1999). Foi utilizado o Trolox como padrão (0-150 μ mol/L) e os resultados foram expressos em equivalente de Trolox (μ mol TE/100 g), em base seca.

2.2.4.4 Capacidade antioxidante – DPPH

A capacidade antioxidante pelo método DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) foi conduzida de acordo com Brand-Williams; Cuvelier; Berset (1995), com modificações. Após o preparo do radical a 1 mM (0,03943 g do reativo DPPH dissolvido em 100 mL de etanol a 80% (v/v)), uma alíquota de 3,5 mL foi colocada em tubos de ensaio, aos quais foram adicionados 0,5 mL dos extratos. As amostras foram mantidas ao abrigo da luz e as medidas de absorbância foram realizadas em espectrofotômetro (Thermo Fisher Scientific, Evolution 300 UV-Vis, Estados Unidos) a 515 nm a cada 5 minutos até a estabilização. Os resultados foram calculados usando uma curva padrão preparada com Trolox (0-150 μ mol/L), e expressos equivalente de Trolox (μ mol TE/100 g), em base seca.

2.2.4.5 Capacidade antioxidante – FRAP

A capacidade antioxidante foi avaliada pelo poder redutor (potencial de redução do ferro), de acordo com Benzie & Strain (1996). O reagente FRAP foi preparado a partir da combinação de 25 mL de tampão acetato 0,3 M; 2,50 mL de uma solução aquosa de cloreto férrico 20 mM e 2,50 mL de 2,4,6-Tripyridyl-S-triazine (TPTZ) 10 mM. Em um tubo de ensaio, alíquotas dos extratos foram

adicionados a 0,27 mL de água destilada e 2,70 mL de reagente FRAP. Após 30 min de incubação a 37 °C, a absorbância foi lida a 595 nm. O potencial antioxidante dos extratos foi determinado com base em curva de calibração, traçada usando FeSO₄.7H₂O (0-2000 µmol/L). Os resultados foram expressos em µmol sulfato ferroso/ 100g, em base seca.

2.2.5 Bioacessibilidade do sistema-modelo de cookies

A bioacessibilidade foi avaliada segundo protocolo INFOGEST, contemplando as fases oral, gástrica e intestinal (MINEKUS et al., 2014; BRODKORB et al., 2019). Os ensaios de digestão *in vitro* foram realizados no tempo zero, em triplicata para amostras controle (0%) e *cookies* contendo 10% e 15% de pó microencapsulados. Inicialmente, as amostras foram trituradas em mixer e 5 g foram incorporadas a 5 mL de solução salivar (75 U/mL de alfa-amilase), sendo o pH ajustado para 7 e mantidas em agitação por 2 minutos a 37 °C. Após, para simular a fase gástrica, 10 mL da fase oral foram adicionados a 10 mL de solução gástrica (2000 U/mL de pepsina), sendo o pH ajustado para 3 e mantidos em agitação por 2 horas a 37 °C. Na etapa intestinal, 20 mL da fase gástrica foram adicionados a 20 mL de solução intestinal (100 U/mL de pancreatina e 10 mM de sais biliares), sendo o pH ajustado para 7 e mantidos em agitação por 2 horas a 37 °C. Os ajustes de pH foram feitos com HCl 5M e NaOH 5M e todas as etapas foram realizadas em banho-maria a 37 °C sob agitação a 110 rpm. Ao final, as amostras foram submetidas a um banho de gelo por 10 minutos, para que interrupção da hidrólise, e o pH ajustado a pH 2,0 para a estabilização dos compostos fenólicos (Kosińska-Cagnazzo et al., 2015). As amostras foram centrifugadas a 5400 g a 4 °C por 60 minutos, para separar as frações bioacessível e residual (Tagliazucchi et al., 2010).

O teor de compostos fenólicos das frações bioacessível foi realizado de acordo com o descrito no item 2.2.4.2, em triplicata. O percentual de recuperação dessas frações foram calculados de acordo com Bernardes et al. (2019), segundo a equação 4.

$$\text{Fração bioacessível (\%)} = \frac{Qt_{\text{sobrenadante}}}{Qt_{\text{digerida}}} \times 100 \quad (\text{Equação 4})$$

Onde: Qt refere-se à quantidade de compostos fenólicos.

2.2.6 Delineamento experimental e análises estatísticas

O experimento foi conduzido seguindo o delineamento inteiramente casualizado (DIC) por um esquema fatorial com três fatores e em triplicata. Os fatores e os níveis correspondentes foram: agentes encapsulantes (proteína isolada do soro do leite e goma arábica), procedimento de secagem (*spray drying* e liofilização) e concentração (10% e 15%), totalizando 24 observações.

Para o estudo da estabilidade, os dados foram analisados por meio da análise de variância (ANOVA) e o teste Tukey para avaliar as diferenças entre os tratamentos, com nível de significância de 5%. Para o estudo da bioacessibilidade, os dados foram analisados por meio da análise de variância (ANOVA) e o teste Tukey para a comparação entre os tratamentos e teste de Dunnett para comparar o conteúdo de fenólicos totais da fração de recuperação dos tratamentos com o controle, com nível de significância de 5%. Para ambos estudos, estabilidade e bioacessibilidade, as análises foram realizadas utilizando os softwares Statistica 12 (StatSoft, EUA) e Graphpad prism 9.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Estabilidade da cor, compostos fenólicos e, capacidade antioxidante dos cookies

Os valores dos parâmetros colorimétricos dos cookies com pós microencapsulados (L^* , a^* , b^* , h° , C^* e ΔE) são apresentados na Tabela 2. Não foi possível ajustar modelos matemáticos adequados que explicassem as variações observadas nesses parâmetros. Portanto, a análise de variância (ANOVA) e teste Tukey foram empregados para comparar as médias desses parâmetros em cada concentração de pó, apresentando diferença significativa entre os tratamentos ($p < 0,05$). Logo, as diferentes concentrações de pós microencapsulados adicionados influenciaram significativamente na cor dos cookies ao longo do tempo de armazenamento (90 dias).

Tabela 2: Análise colorimétrica dos *cookies* com pós microencapsulados da casca de jabuticaba secos por *spray drying* (SD) e liofilização (FD) com diferentes agentes carreadores.

Parâmetros	Métodos	Agentes carreadores			
		10%WPI	15%WPI	10%GA	15%GA
L*	SD	70,91 ± 0,83 ^{aA}	66,81 ± 1,40 ^{bA}	66,40 ± 1,05 ^{cA}	57,60 ± 1,35 ^{gA}
	FD	64,01 ± 1,70 ^{dB}	61,04 ± 2,55 ^{fB}	62,95 ± 2,83 ^{eB}	57,32 ± 2,55 ^{fB}
a*	SD	8,22 ± 0,51 ^{hA}	10,67 ± 0,53 ^{cA}	9,95 ± 0,50 ^{eA}	12,65 ± 0,49 ^{aA}
	FD	8,66 ± 0,85 ^{gB}	10,08 ± 0,38 ^{dB}	9,88 ± 0,87 ^{fB}	11,70 ± 0,74 ^{bB}
b*	SD	26,39 ± 0,70 ^{aA}	24,60 ± 0,76 ^{cA}	25,26 ± 0,84 ^{bA}	23,16 ± 0,74 ^{fA}
	FD	23,32 ± 0,88 ^{eB}	22,34 ± 1,62 ^{gB}	23,73 ± 0,94 ^{dB}	22,14 ± 1,35 ^{hB}
C*	SD	27,64 ± 0,84 ^{aA}	26,82 ± 0,84 ^{cA}	27,15 ± 0,98 ^{bA}	26,39 ± 0,85 ^{dA}
	FD	24,88 ± 1,14 ^{gB}	24,51 ± 1,61 ^{hB}	25,72 ± 0,92 ^{eB}	25,07 ± 1,04 ^{fB}
h°	SD	72,72 ± 0,66 ^{aA}	66,55 ± 1,02 ^{eA}	68,51 ± 0,56 ^{cA}	61,37 ± 0,84 ^{hA}
	FD	69,69 ± 1,35 ^{bB}	65,64 ± 1,39 ^{fB}	67,40 ± 2,19 ^{dB}	62,08 ± 2,62 ^{gB}
ΔE	SD	0,75 ± 0,01 ^{fA}	1,62 ± 0,02 ^{eA}	4,20 ± 0,02 ^{bA}	3,33 ± 0,02 ^{cA}
	FD	4,19 ± 0,02 ^{bB}	4,41 ± 0,04 ^{aB}	2,00 ± 0,01 ^{dB}	4,39 ± 0,00 ^{aB}

Dados expressos em média ± desvio padrão. Médias seguidas por uma mesma letra minúscula, em uma mesma linha, não diferem entre si ($p > 0,05$) pelo teste Tukey. Médias seguidas por uma mesma letra maiúscula, em uma mesma coluna, não diferem entre si ($p > 0,05$) pelo teste Tukey. L*: luminosidade; a* intensidade de vermelho (+) e verde (-); b*: intensidade de amarelo (+) e azul (-); h°: ângulo de tonalidade cromática; C*: Chroma; ΔE*: Diferença global de cor. WPI: proteína isolada do soro do leite; GA: goma arábica; SD: *spray drying* e FD: liofilização.

Ao adicionar os pós microencapsulados com GA aos *cookies*, estes apresentaram cor mais escura, como evidenciado pelos valores menores de L*. Em relação às coordenadas retangulares a* e b*, tanto GA quanto WPI foram observados no primeiro quadrante, indicando uma tendência para as cores vermelha e amarela, pois seus valores foram positivos. Percebe-se, de forma geral, que os parâmetros de cor foram influenciados pela quantidade dos pós microencapsulados adicionados, logo, quando os *cookies* foram adicionados com 15% das microcápsulas, foi perceptível a tonalidade de vermelho mais intenso, o que pode ser observado pelos valores obtidos de saturação de cor (C*) e ângulo de tonalidade cromática (h°) na Tabela 2.

A diferença global de cor (ΔE) é um parâmetro colorimétrico que é utilizado para quantificar a variação de cor resultante dos processos de secagem ou que avaliam a mudança de cor que algum produto pode apresentar ao longo do tempo devido a degradações por oxidação, comparado a um padrão. Dessa forma, o seu menor valor, representa maior estabilidade da cor dos produtos (Dawson & Acton, 2017). No presente estudo, para o cálculo da ΔE considerou-se como padrão os *cookies* do tempo de zero dias.

Para a diferença global de cor (ΔE) dos *cookies* (Tabela 2), pôde-se verificar que houve diferença significativa ($p < 0,05$) para os valores de ΔE entre os tratamentos, logo, as diferentes concentrações de pós microencapsulados adicionados influenciaram significativamente na diferença global de cor dos *cookies* entre o tempo inicial (0 dias) e final (90 dias) de armazenamento.

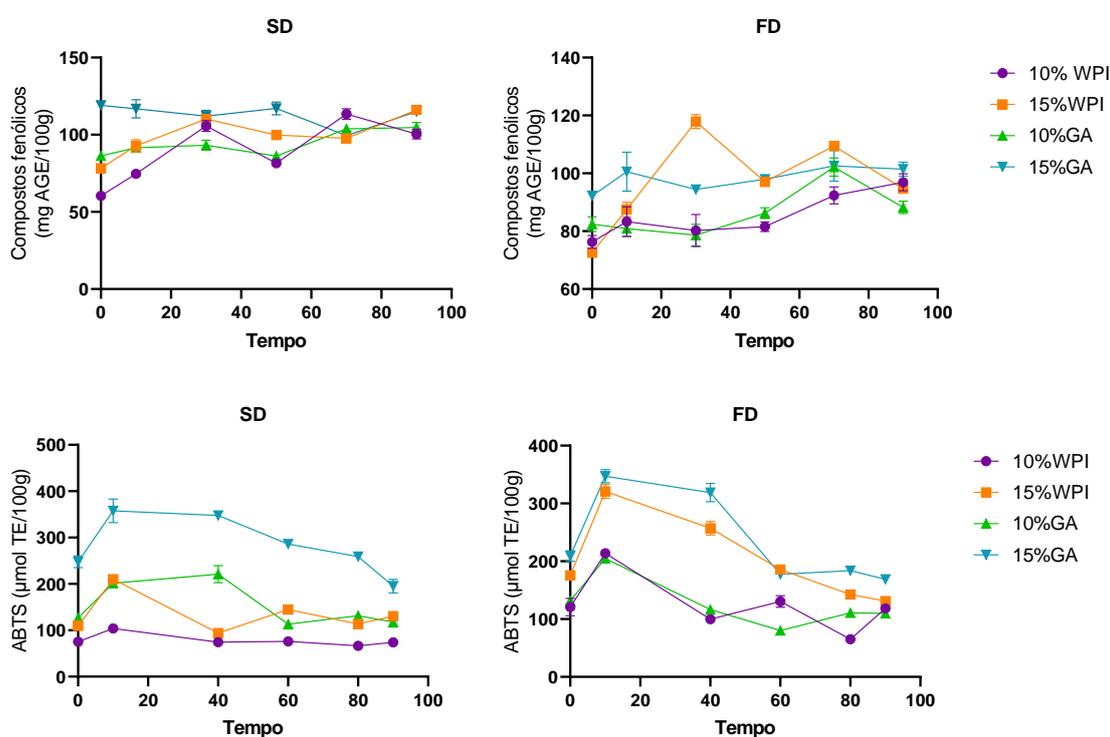
Segundo Obón et al. (2009), com valores de ΔE em uma faixa abaixo de 5, o produto apresenta diferença na cor que pode ser distinguida pelo olho humano, já acima deste valor, a variação de cor se torna evidente. Pode-se observar, na Tabela 2, que os *cookies* com as microcápsulas da casca de jabuticaba obtiveram valores baixos de ΔE , conseqüentemente, são desejáveis pois quanto menor o seu valor, maior é a estabilidade de cor dos *cookies* após os 90 dias de armazenamento. É perceptível que os valores de ΔE foram menores para os *cookies* adicionados de pós microencapsulados com WPI produzidos pela secagem por SD. Assim, pode-se dizer que, devido ao seu menor valor de ΔE , os *cookies* produzidos por SD utilizando WPI apresentaram maior efetividade na manutenção de cor do produto, quando comparado com os outros *cookies* adicionados com os outros pós microencapsulados.

A microencapsulação é uma técnica utilizada para proteger compostos bioativos de condições adversas, melhorando a estabilidade e aumenta a vida útil, permitindo a liberação controlada desses compostos em determinadas condições (SOUZA et al., 2018). Dessa forma, o estudo da estabilidade se torna importante para avaliar o comportamento dos compostos microencapsulados incorporados no sistema modelo alimentício para observar as alterações durante o tempo de armazenamento.

A concentração dos compostos fenólicos e atividade antioxidante (ABTS, DPPH e FRAP) dos *cookies* ao longo de 90 dias de armazenamento, pode ser observada na Figura 4. Não foi possível ajustar modelos matemáticos que

explicassem as variações dos valores obtidos. Então, para entender melhor o comportamento do conteúdo fenólico total e atividade antioxidante durante o armazenamento, foi realizada a análise de variância (ANOVA) e a comparação entre as médias pelo teste Tukey, dos valores obtidos para essas variáveis analisadas em cada concentração de pó, com seus devidos métodos de secagem e agente carreadores, adicionados nos *cookies* (Figura 5). Pela ANOVA, foi observada diferença significativa ($p < 0,05$) entre as diferentes concentrações dos pós microencapsulados por métodos de secagem e agentes carreadores distintos adicionados nos *cookies* ao longo do tempo. Pode-se observar que ocorreram pequenas variações ao decorrer do armazenamento.

A partir de uma análise visual dos gráficos da Figura 4, percebe-se que, ao longo do tempo, houve oscilações dos fenólicos e da capacidade antioxidante, porém, tendendo a um comportamento constante (Figura 4). Esse comportamento se deve, provavelmente, a liberação gradual dos ativos das microcápsulas ao longo do tempo, de forma que permite a manutenção dos compostos na matriz alimentar (do Carmo et al., 2022).



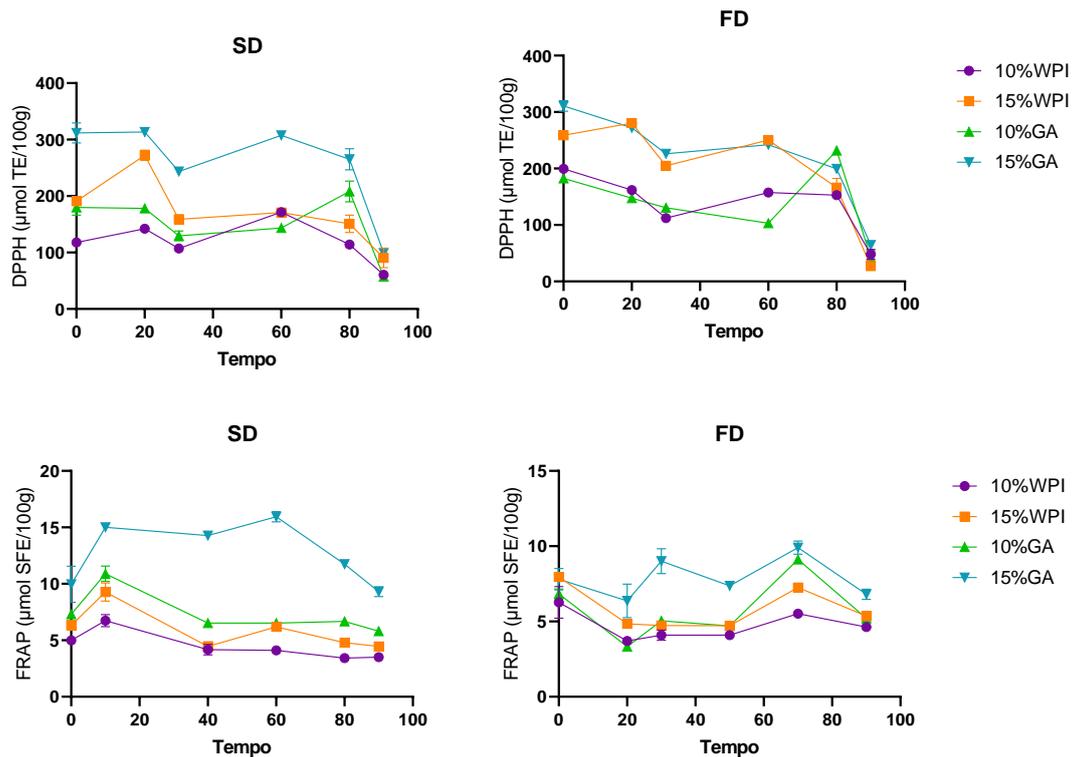


Figura 4: Estabilidade dos compostos fenólicos e atividade antioxidante pelos métodos ABTS, DPPH e FRAP dos cookies com pós microencapsulados da casca de jabuticaba por diferentes métodos de secagem e agentes encapsulantes durante o armazenamento de 90 dias.

AGE: Ácido gálico equivalente; TE: Trolox equivalente; SF: Sulfato ferroso equivalente. ABTS: capacidade de eliminação do cátion ABTS, DPPH: capacidade de eliminação do radical DPPH, FRAP: poder antioxidante de redução do ferro. WPI: proteína isolada do soro do leite; GA: goma arábica; SD: *spray drying* e FD: liofilização.

Como não houve ajuste de modelos pela análise de regressão, optou-se por comparar as variáveis analisadas individualmente em relação às diferentes concentrações de pós microencapsulados por métodos de secagem e agentes carreadores distintos adicionados nos *cookies*. O conteúdo fenólico total (Figura 5) dos *cookies* apresentou diferença significativa, a 5% de probabilidade. Os maiores teores de compostos fenólicos foram observados nos *cookies* adicionados com maior porcentagem (15%) de pó microencapsulado, sendo que os *cookies* adicionados com 15% do pó obtido a partir de SD e GA se destacaram dos demais, apresentando o maior valor.

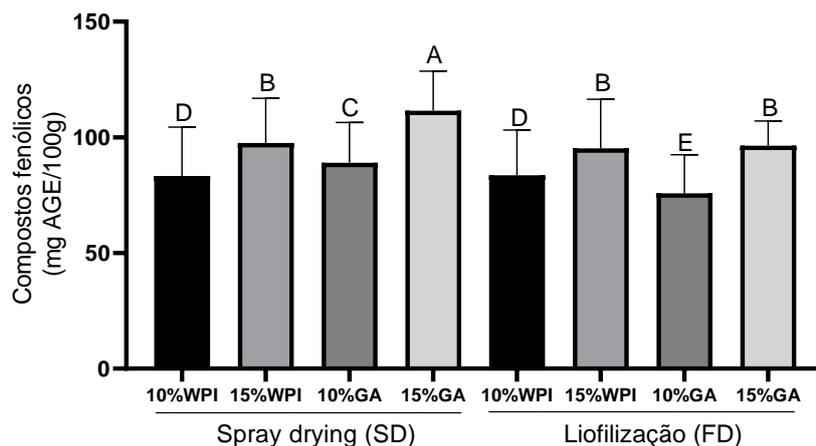


Figura 5: Compostos fenólicos dos *cookies* incorporados dos pós microencapsulados da casca de jabuticaba por diferentes métodos de secagem e agentes encapsulantes

Dados expressos em média \pm desvio padrão. Médias seguidas por uma mesma letra maiúscula, não diferem entre si ($p > 0,05$) pelo teste Tukey. WPI: proteína isolada do soro do leite; GA: goma arábica; SD: spray drying e FD: liofilização. AGE: ácido gálico equivalente.

Segundo da Rocha e Noreña (2021) a capacidade antioxidante em alimentos se encontra diretamente relacionada com o comportamento e a proporção dos compostos fenólicos que neutralizam os radicais livres, concedendo os benefícios potenciais para a saúde.

A Figura 6 apresenta a atividade antioxidante dos *cookies* adicionados dos pós microencapsulados, pelos ensaios ABTS, DPPH e FRAP. Pode-se observar, que a incorporação de diferentes concentrações de pós microencapsulados (10 e 15%) nos *cookies* com métodos de secagem e agentes carreadores distintos, exerceram diferença significativa ($p < 0,05$) em relação a capacidade antioxidante analisada. Para todos os métodos de atividade antioxidante analisados, o *cookie* com 15% de pó microencapsulado obtido por SD e GA apresentou maiores valores, se destacando como potencial fonte de antioxidantes em alimentos submetidos ao calor.

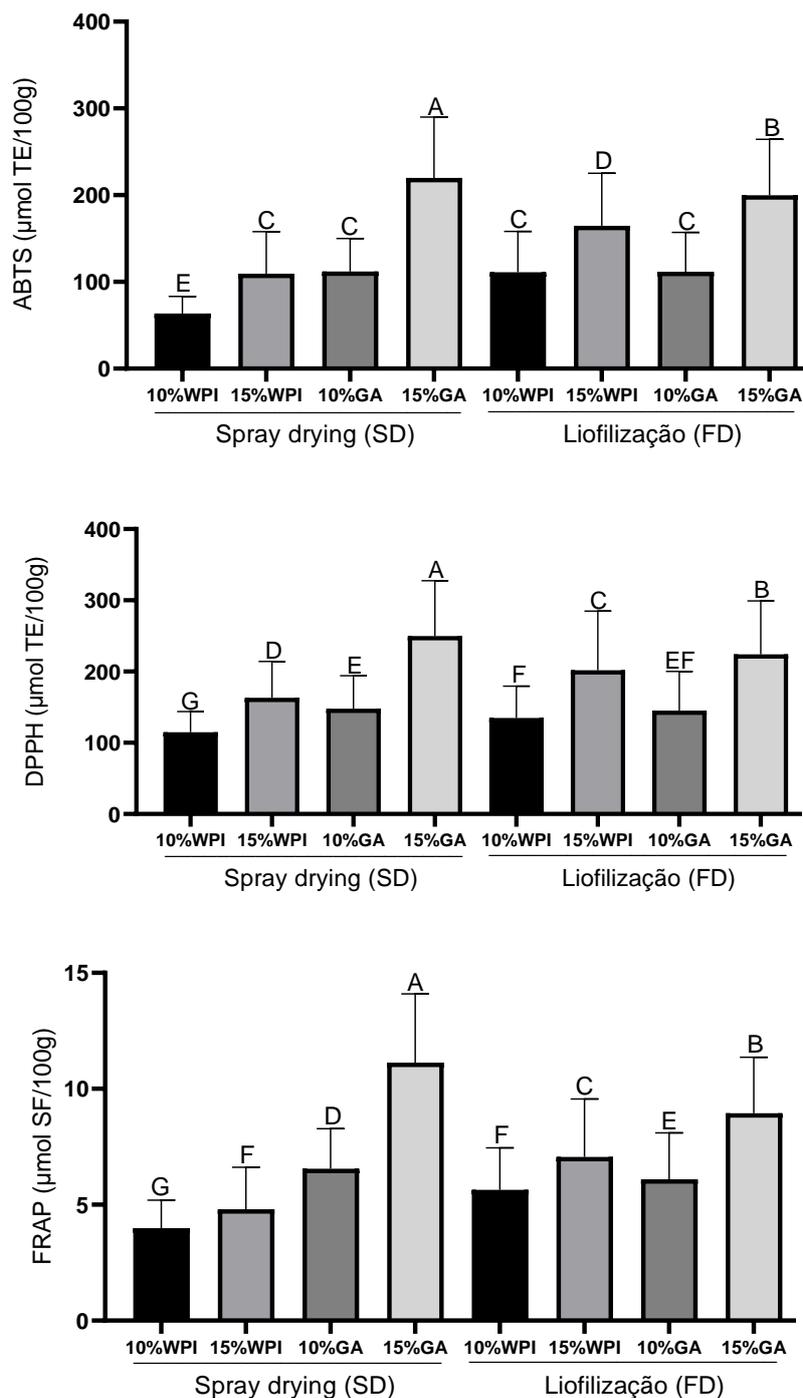


Figura 6: Atividade antioxidante ABTS, DPPH e FRAP dos cookies incorporados dos pós microencapsulados da casca de jaboticaba por diferentes métodos de secagem e agentes encapsulantes.

Dados expressos em média \pm desvio padrão. Médias seguidas por uma mesma letra maiúscula, não diferem entre si ($p > 0,05$) pelo teste Tukey. WPI: proteína isolada do soro do leite; GA: goma arábica; SD: spray drying e FD: liofilização. ABTS: capacidade de eliminação do cátion ABTS, DPPH: capacidade de eliminação do radical DPPH, FRAP: poder antioxidante de redução do ferro; TE: Trolox equivalente; SF: Sulfato ferroso equivalente.

Tumbas Šaponjac et al. (2016) e Wu et al. (2021a), em estudos com microencapsulados proteicos de extrato de bagaço de ginja e concentrados de groselhas incorporados em *cookies*, verificaram que o aumento dos compostos bioativos foram proporcionais ao aumento da substituição dos pós ricos em polifenóis. Maiores valores do conteúdo fenólico total e da capacidade antioxidante encontrados no estudo de estabilidade dos *cookies* são desejáveis, visto que são compostos benéficos a saúde e que agregam valor nutricional ao produto.

Proteínas e polissacarídeos podem interagir com compostos bioativos presentes nas matrizes alimentares, e o complexo formado pode ocorrer por interações hidrofóbicas não covalentes que podem ser posteriormente estabilizadas por ligações de hidrogênio (Song et al., 2022). Porém essa interação pode influenciar e mascarar a bioatividade e a atividade de eliminação dos radicais formados, levando a uma subestimação dos resultados obtidos (do Carmo et al., 2022).

3.3 Bioacessibilidade de polifenóis do sistema-modelo de *cookies*

A porcentagem de recuperação do conteúdo fenólico total na fração bioacessível (%) dos *cookies* está apresentada na Figura 7. Inicialmente, foi aplicada ANOVA, e verificou-se que as variáveis agentes carreadores (WPI e GA), concentração dos pós (10 e 15%) e a interação entre os métodos de secagem e as concentrações dos pós exerceram influência significativa ($p < 0,05$) no teor de compostos fenólicos totais dos *cookies*. Posteriormente um teste de Dunnett foi aplicado e verificou-se que os *cookies* 10%WPI por SD, 15%WPI por FD e 15%GA por SD diferiram do controle.

Pela ANOVA, também foi verificada diferença significativa ($p < 0,05$) para os agentes encapsulantes utilizados nos *cookies*. Pode-se observar na Figura 7, que os *cookies* adicionados de pós microencapsulados com WPI secos por FD ($375,12 \pm 35,62$ %) obtiveram maiores percentuais de recuperação de compostos fenólicos, comparado a GA ($236,58 \pm 33,67$ %).

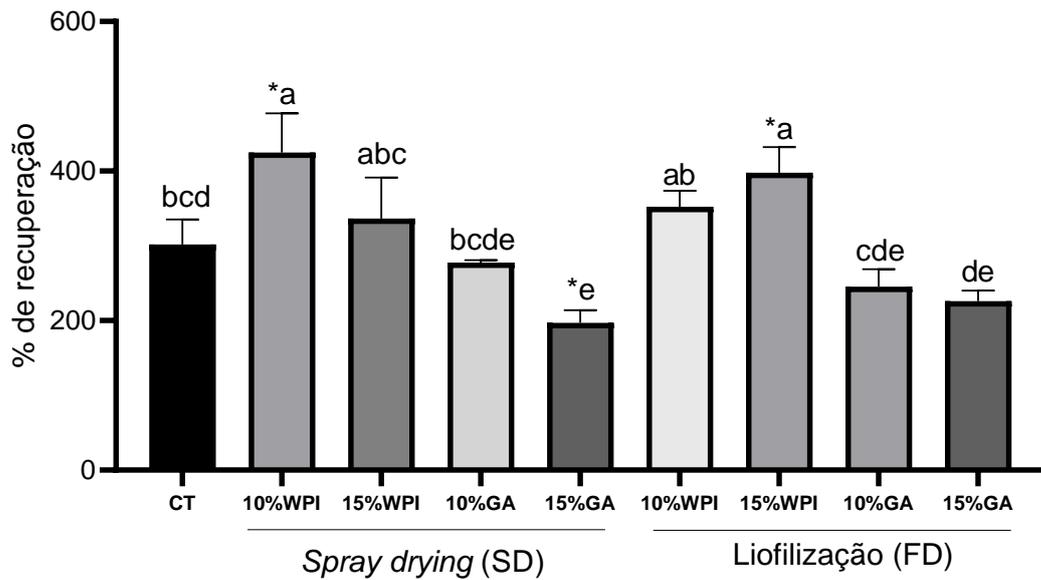


Figura 7: Recuperação percentual dos compostos fenólicos totais dos *cookies* controle e adicionados de pós microencapsulados da casca de jabuticaba por diferentes métodos de secagem e agentes encapsulantes

Dados expressos em média \pm desvio padrão. *Indica diferença significativa ($p < 0,05$) pelo teste de Dunnett. Médias seguidas por uma mesma letra minúscula, não diferem entre si ($p > 0,05$) pelo teste Tukey. CT: controle; WPI: proteína isolada do soro do leite; GA: goma arábica; SD: spray drying e FD: liofilização.

Ao analisar os valores brutos de compostos fenólicos totais antes e depois da digestão *in vitro* (Figura 8), foi observado que após a digestão *in vitro* os valores obtidos para os *cookies* analisados apresentaram um aumento de, aproximadamente, 5 vezes para todas as amostras.

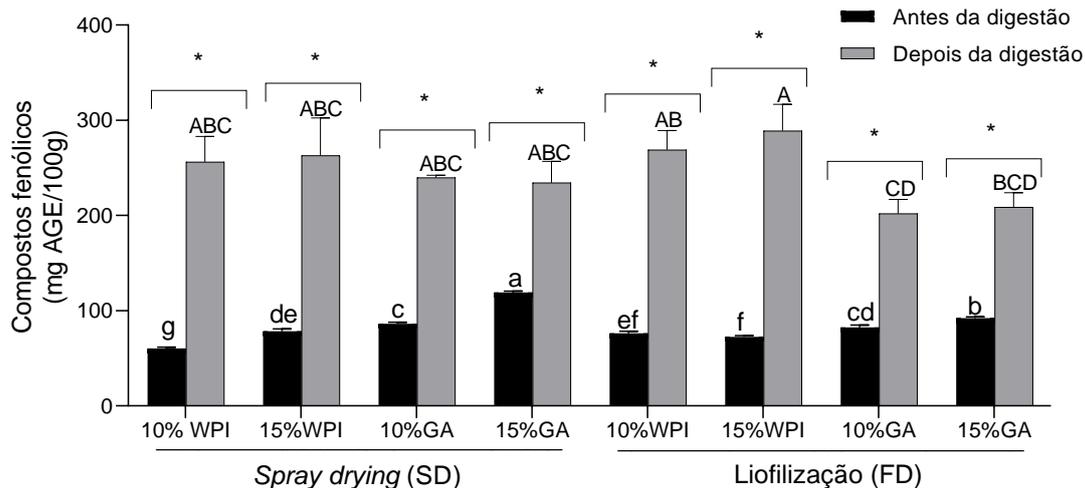


Figura 8: Bioacessibilidade de compostos fenólicos dos *cookies* adicionados de pós microencapsulados da casca de jaboticaba por diferentes métodos de secagem e agentes encapsulantes

Dados expressos em média \pm desvio padrão. Médias seguidas por uma mesma letra minúscula para a análise antes da digestão, não diferem entre si ($p > 0,05$) pelo teste Tukey. Médias seguidas por uma mesma letra maiúscula para a análises após a digestão, não diferem entre si ($p > 0,05$) pelo teste Tukey. Médias seguidas por (*) antes e após a digestão no mesmo tratamento, difere entre si ($p < 0,05$) pelo teste Tukey. WPI: proteína isolada do soro do leite; GA: goma arábica; SD: spray drying; FD: liofilizado. AGE: Ácido gálico equivalente.

Diversos fatores influenciam nas concentrações de compostos bioativos após o processo de digestão, tais como o pH, íons e atividade enzimática proveniente da digestão, e algumas possíveis interações ou despolimerizações que ocorrem entre os componentes da estrutura da matriz alimentar, durante a produção e a digestão dos *cookies* (Valenzuela-González et al., 2022).

Segundo Liao et al. (2021), a proteína isolada do soro do leite (WPI) é frequentemente utilizada como material de parede para proteger compostos com comportamentos hidrofóbicos ou hidrofílicos de emulsões líquidas. Em condições ácidas da fase gástrica, os polifenóis têm uma alta estabilidade contra a degradação, mantendo as estruturas químicas mais estáveis, enquanto a WPI, em comparação com outras proteínas, como a caseína, apresenta resistência maior às pepsinas proporcionando uma liberação mais lenta, e conseqüentemente, pode haver menor degradação dos compostos devido a liberação controlada das microcápsulas (WU et al., 2021a; LIAO et al., 2021).

Como uma forma de comprovar esse comportamento observado, foi realizada a digestão *in vitro* dos *cookies* controle (0%) e contendo 15% de pó

microencapsulados por SD e WPI, sem a utilização da enzima pepsina na fase gástrica (Figura 9). Logo, pôde-se perceber que de fato houve uma redução do valor da fração bioacessível dessas amostras investigadas, quando comparadas com os resultados obtidos na Figura 7, o que pode estar relacionado com a atividade enzimática das pepsinas, com as interações que ocorrem entre os polifenóis presentes na casca da jabuticaba e o agente encapsulante utilizado. Além disso, devido a especificidade da matriz alimentar pode ter havido uma limitação da extração etanólica utilizada para extrair os polifenóis dos *cookies*.

A microencapsulação permite a liberação controlada do material do núcleo dependendo das condições submetidas e o material de parede utilizado, o que podem retardar a liberação de polifenóis do núcleo durante a digestão *in vitro* (Pan et al., 2022). A interação proteína-polifenol já é comprovada em outros estudos, o que facilita a entrega dos polifenóis no trato gastrointestinal, aumentando a sua biacessibilidade. Estudos descrevem o complexo formado, em que a ligação ocorre, principalmente, por interações hidrofóbicas não covalentes que podem ser posteriormente estabilizadas por ligações de hidrogênio, confirmando as proteínas como transportadoras de polifenóis eficientes (TUMBAS ŠAPONJAC et al., 2016; WU et al., 2021a; WU et al., 2021b).

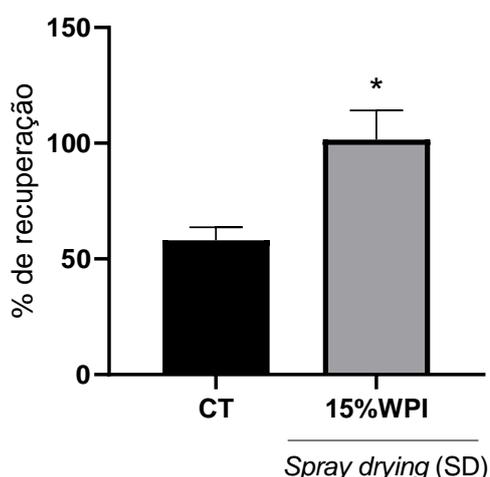


Figura 9: Bioacessibilidade de compostos fenólicos dos *cookies* controle e incorporados de pós microencapsulados com 15%WPI e SD sem a utilização de protease (pepsinas)

Dados expressos em média \pm desvio padrão. *Indica diferença estatística ($p < 0,05$) pelo teste de Dunnett. CT: controle; WPI: proteína isolada do soro do leite; SD: *spray drying*.

Vale lembrar que a digestão *in vitro* é uma técnica adequada, barata e simples que permite simular a entrega de compostos de matrizes alimentares complexas nas partes inferiores do trato gastrointestinal. Porém, pode apresentar falhas devido a divergência de condições de metodologias utilizadas, o que pode afetar os resultados obtidos. Entretanto, os resultados obtidos apresentaram resultados compatíveis ao estudo com microcápsulas de groselhas (Wu, Hui, Stipkovits, et al., 2021) e superior ao estudo com microcápsulas de mirtilo (Liao et al., 2021).

Além disso, é importante destacar que o método de quantificação de compostos fenólicos utilizando o reagente Folin-Ciocalteu não é específico e pode reagir com grupos fenólicos e outras moléculas redutoras não fenólicas presentes na amostra analisada, tais como aminas aromáticas, ácido ascórbico, proteínas e açúcares (Nacz & Shahidi, 2004; Rover & Brown, 2013). Portanto, ao analisar a composição fenólica dos *cookies*, podem ter ocorrido interferências, principalmente, porque se trata de um sistema-modelo complexo cuja formulação e processo de digestão *in vitro* podem ter superestimado os resultados obtidos.

4. CONCLUSÃO

Os resultados mostraram que existe um grande potencial para as microcápsulas ricas em polifenóis da casca de jabuticaba como corante natural e fonte de compostos bioativos para o desenvolvimento de alimentos funcionais e/ou nutricionalmente mais atrativos. Visto que, características como maior conteúdo fenólico total, presença de proteínas e capacidade antioxidante podem agregar valor ao produto alimentício cujas microcápsulas são incorporadas.

Na avaliação da estabilidade dos *cookies*, os compostos bioativos apresentaram variações ao longo do tempo, mas com tendências constantes em seus comportamentos durante 90 dias de armazenamento, obtendo uma vida útil desejável para a comercialização desses produtos. Os resultados obtidos para a capacidade antioxidante foram consistentes com o observado para compostos fenólicos, em que houve o aumento das atividades antioxidantes com o aumento da concentração de microencapsulados adicionados aos *cookies*, o que se torna

desejável, visto que, as microcápsulas ricas em polifenóis apresentam benefícios a saúde.

Na avaliação da bioacessibilidade dos *cookies*, foi observado um melhor comportamento dos *cookies* com WPI secos por FD como material de parede para proteção dos compostos bioativos, permitindo uma liberação eficiente e controlada na fase intestinal, além de poder visualizar uma possível atuação das enzimas provenientes da digestão, no complexo que pode ter formado entre as proteínas-polifenol e polissacarídeo-polifenol.

AGRADECIMENTO

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, Edital Universal, proc. 409221/2018-0), à Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (FAPES, Edital 16/2019, T.O 139/2020 e Edital 11/2020), pelo financiamento do projeto e pela bolsa de estudos. Agradecemos a cooperação CAPES/FAPES – PDPG (proc. 2021-5S41N).

5. REFERÊNCIAS

- Albuquerque, B. R., Oliveira, M. B. P. P., Barros, L., & Ferreira, I. C. F. R. (2021). Could fruits be a reliable source of food colorants? Pros and cons of these natural additives. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61(5), 805–835. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1746904>
- Albuquerque, B. R., Pinela, J., Barros, L., Oliveira, M. B. P. P., & Ferreira, I. C. F. R. (2020). Anthocyanin-rich extract of jabuticaba epicarp as a natural colorant: Optimization of heat- and ultrasound-assisted extractions and application in a bakery product. *Food Chemistry*, 316(December 2019), 126364. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126364>
- Benzie, I. F. F., & Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: The FRAP assay. In *Analytical Biochemistry* (Vol. 239, Issue 1, pp. 70–76). <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>
- Bernardes, A. L., Moreira, J. A., Tostes, M. das G. V., Costa, N. M. B., Silva, P. I., & Costa, A. G. V. (2019). In vitro bioaccessibility of microencapsulated

- phenolic compounds of jussara (*Euterpe edulis* Martius) fruit and application in gelatine model-system. *Lwt*, 102(2019), 173–180. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.12.009>
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25–30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Brodkorb, A., Egger, L., Alminger, M., Alvito, P., Assunção, R., Ballance, S., Bohn, T., Bourlieu-Lacanal, C., Boutrou, R., Carrière, F., Clemente, A., Corredig, M., Dupont, D., Dufour, C., Edwards, C., Golding, M., Karakaya, S., Kirkhus, B., Le Feunteun, S., ... Recio, I. (2019). INFOGEST static in vitro simulation of gastrointestinal food digestion. *Nature Protocols*, 14(4), 991–1014. <https://doi.org/10.1038/s41596-018-0119-1>
- da Rocha, C. B., & Noreña, C. P. Z. (2021). Microencapsulation and controlled release of bioactive compounds from grape pomace. *Drying Technology*, 39(8), 1018–1032. <https://doi.org/10.1080/07373937.2020.1741004>
- Dawson, P. L., & Acton, J. C. (2017). Impact of proteins on food color. In *Proteins in Food Processing, Second Edition* (Second Edi). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100722-8.00023-1>
- do Carmo, L. B., Benincá, D. B., Grancieri, M., Pereira, L. V., Lima Filho, T., Saraiva, S. H., Silva, P. I., Oliveira, D. da S., & Costa, A. G. V. (2022). Green Coffee Extract Microencapsulated: Physicochemical Characteristics, Stability, Bioaccessibility, and Sensory Acceptability through Dairy Beverage Consumption. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19(20). <https://doi.org/10.3390/ijerph192013221>
- Ibrahim Silva, P., Stringheta, P. C., Teófilo, R. F., & De Oliveira, I. R. N. (2013). Parameter optimization for spray-drying microencapsulation of jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) peel extracts using simultaneous analysis of responses. *Journal of Food Engineering*, 117(4), 538–544. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.08.039>
- Kosińska-Cagnazzo, A., Diering, S., Prim, D., & Andlauer, W. (2015). Identification of bioaccessible and uptaken phenolic compounds from strawberry fruits in in vitro digestion/Caco-2 absorption model. *Food Chemistry*, 170, 288–294. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.08.070>
- Liao, M., Ma, L., Miao, S., Hu, X., Liao, X., Chen, F., & Ji, J. (2021). The in-vitro

- digestion behaviors of milk proteins acting as wall materials in spray-dried microparticles: Effects on the release of loaded blueberry anthocyanins. *Food Hydrocolloids*, 115(January).
<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106620>
- Lima, E. M. F., Madalão, M. C. M., dos Santos, W. C., Bernardes, P. C., Saraiva, S. H., & Silva, P. I. (2019). Spray-dried microcapsules of anthocyanin-rich extracts from *Euterpe edulis* M. as an alternative for maintaining color and bioactive compounds in dairy beverages. *Journal of Food Science and Technology*, 56(9), 4147–4157. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-03885-5>
- Minekus, M., Alminger, M., Alvito, P., Ballance, S., Bohn, T., Bourlieu, C., Carrière, F., Boutrou, R., Corredig, M., Dupont, D., Dufour, C., Egger, L., Golding, M., Karakaya, S., Kirkhus, B., Le Feunteun, S., Lesmes, U., Maclerzanka, A., MacKie, A., ... Brodkorb, A. (2014). A standardised static in vitro digestion method suitable for food-an international consensus. *Food and Function*, 5(6), 1113–1124. <https://doi.org/10.1039/c3fo60702j>
- Nacz, M., & Shahidi, F. (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*, 1054(1–2), 95–111. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2004.08.059>
- Obón, J. M., Castellar, M. R., Alacid, M., & Fernández-López, J. A. (2009). 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*, 90(4), 471–479. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2008.07.013>
- Pan, L. H., Chen, L. P., Wu, C. L., Wang, J. F., Luo, S. Z., Luo, J. P., & Zheng, Z. (2022). Microencapsulation of blueberry anthocyanins by spray drying with soy protein isolates/high methyl pectin combination: Physicochemical properties, release behavior in vitro and storage stability. *Food Chemistry*, 395(May), 133626. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.133626>
- Quatrin, A., Rampelotto, C., Pauletto, R., Maurer, L. H., Nichelle, S. M., Klein, B., Rodrigues, R. F., Maróstica Junior, M. R., Fonseca, B. de S., de Menezes, C. R., Mello, R. de O., Rodrigues, E., Bochi, V. C., & Emanuelli, T. (2020). Bioaccessibility and catabolism of phenolic compounds from jaboticaba (*Myrciaria trunciflora*) fruit peel during in vitro gastrointestinal digestion and colonic fermentation. *Journal of Functional Foods*, 65(July 2019).

<https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.103714>

- Re, R.; Pellegrini, N.; Proteggente, A.; Pannala, A.; Yang, M. and Rice-Evans, C. "Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay," *Free Radic. Biol. Med.*, vol. 26, no. 9–10, pp. 1231–1237, 1999.
- Righi da Rosa, J., Cezimbra Weis, G. C., Bolson Moro, K. I., Sasso Robalo, S., Elias Assmann, C., Picolli da Silva, L., Irineu Muller, E., de Bona da Silva, C., Ragagnin de Menezes, C., & Severo da Rosa, C. (2021). Effect of wall materials and storage temperature on anthocyanin stability of microencapsulated blueberry extract. *Lwt*, 142(September 2020). <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111027>
- Rocha, J. de C. G., de Barros, F. A. R., Perrone, Í. T., Viana, K. W. C., Tavares, G. M., Stephani, R., & Stringheta, P. C. (2019). Microencapsulation by atomization of the mixture of phenolic extracts. *Powder Technology*, 343, 317–325. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2018.11.040>
- Rover, M. R., & Brown, R. C. (2013). Quantification of total phenols in bio-oil using the Folin-Ciocalteu method. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 104, 366–371. <https://doi.org/10.1016/j.jaap.2013.06.011>
- Saito, T., Martins-Madalão, M. C., Bernardes, P. C., Bosi, M. G., Della Lucia, S. M., Saraiva, S. H., & Ibrahim Silva, P. (2019). Jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) peel extract increases bioactive compounds in petit-suisse cheese. *International Food Research Journal*, 26(1), 277–285.
- Senes, C. E. R., Rodrigues, C. A., Nicácio, A. E., Boeing, J. S., Maldaner, L., & Visentainer, J. V. (2021). Determination of phenolic acids and flavonoids from *Myrciaria cauliflora* edible part employing vortex-assisted matrix solid-phase dispersion (VA-MSPD) and UHPLC-MS/MS. *Journal of Food Composition and Analysis*, 95(September 2020), 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2020.103667>
- Singleton, V. L.; Rossi, J. A.; and Jr, J. . "Colorimetry of total phenolics with acid reagents," *PHENOLICS Determ.*, pp. 144–158, 1965.
- Song, J., Yu, Y., Chen, M., Ren, Z., Chen, L., Fu, C., Ma, Z. feei, & Li, Z. (2022). Advancement of Protein- and Polysaccharide-Based Biopolymers for Anthocyanin Encapsulation. *Frontiers in Nutrition*, 9(June), 1–11. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.938829>

- Tagliazucchi, D., Verzelloni, E., Bertolini, D., & Conte, A. (2010). In vitro bio-accessibility and antioxidant activity of grape polyphenols. *Food Chemistry*, *120*(2), 599–606. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.10.030>
- Tumbas Šaponjac, V., Četković, G., Čanadanović-Brunet, J., Pajin, B., Djilas, S., Petrović, J., Lončarević, I., Stajčić, S., & Vulić, J. (2016). Sour cherry pomace extract encapsulated in whey and soy proteins: Incorporation in cookies. *Food Chemistry*, *207*, 27–33. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.03.082>
- Valenzuela-González, M., Rouzaud-Sández, O., Ledesma-Osuna, A. I., Astiazarán-García, H., Salazar-López, N. J., Vidal-Quintanar, R. L., & Robles-Sánchez, M. (2022). Bioaccessibility of phenolic compounds, antioxidant activity, and consumer acceptability of heat-treated quinoa cookies. *Food Science and Technology (Brazil)*, *42*, 1–8. <https://doi.org/10.1590/fst.43421>
- Wu, G., Hui, X., Mu, J., Brennan, M. A., & Brennan, C. S. (2021). Functionalization of whey protein isolate fortified with blackcurrant concentrate by spray-drying and freeze-drying strategies. *Food Research International*, *141*(January), 110025. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.110025>
- Wu, G., Hui, X., Mu, J., Gong, X., Stipkovits, L., Brennan, M. A., & Brennan, C. S. (2021). Functionalization of sodium caseinate fortified with blackcurrant concentrate via spray-drying and freeze-drying techniques: The nutritional properties of the fortified particles. *Lwt*, *142*(February), 111051. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111051>
- Wu, G., Hui, X., Stipkovits, L., Rachman, A., Tu, J., Brennan, M. A., & Brennan, C. S. (2021). Whey protein-blackcurrant concentrate particles obtained by spray-drying and freeze-drying for delivering structural and health benefits of cookies. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, *68*(January), 102606. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2021.102606>

5. CONCLUSÃO GERAL

No presente estudo, em que investigou-se a microencapsulação do extrato da casca de jabuticaba por *spray drying* e liofilização, utilizando proteína isolada do soro do leite e goma arábica como agentes encapsulantes, avaliando a estabilidade, características bioativas e tecnológicas dos pós obtidos, verificou-se que o extrato concentrado da casca de jabuticaba apresentou ser uma boa fonte de recuperação de fitoquímicos, em termos de elevada presença de compostos bioativos e atividade antioxidante, podendo ser um ótimo aditivo a ser incorporado em produtos processados, podendo aumentar o valor nutricional do alimento industrializado.

A microencapsulação do extrato da casca de jabuticaba mostrou ser uma alternativa promissora para aplicações tecnológicas, agregando manutenção de cor e compostos antioxidantes para produtos alimentícios a serem adicionados parcialmente das microcápsulas. Dessa forma, é possível sua utilização como corante e ingrediente funcional. Porém, cada método de secagem e agente carreador apresenta particularidades, que devem ser levadas em consideração na aplicação. Por exemplo, para a utilização como corante natural, pelo presente estudo é recomendado o microencapsulado de GA. Já para a utilização como enriquecimento de produtos alimentícios com compostos fenólicos e capacidade antioxidante, recomenda-se WPISD e WPIFD.

Na investigação da estabilidade de compostos bioativos e da bioacessibilidade de compostos fenólicos de *cookies* incorporados de pós microencapsulados do extrato da casca de jabuticaba, em *cookies* foi possível observar o aumento da capacidade antioxidante e bioativa, além de agregar cor característica nas microcápsulas. Para o estudo da estabilidade, *cookies* com pós microencapsulados de 15%GASD mostraram-se mais estáveis durante o tempo de armazenamento. Já para a bioacessibilidade, *cookies* adicionados com WPI permitiram uma liberação eficiente e controlada na fase intestinal, proporcionando maior proteção dos compostos bioativos.

Para estudos futuros da incorporação de pós microencapsulados em *cookies*, sugere-se a adição de uma proporção maior dos pós, visto que no

presente estudo, visualizou-se que o aumento da adição dos pós nos *cookies* foi proporcional ao aumento do conteúdo fenólico total e na capacidade antioxidante. O aumento dos pós nos *cookies* pode ter como consequência maior conteúdo fenólico total, capacidade antioxidante, presença de proteínas, e consequentemente, atividade biológica, o que agregam valor nutricional e poder corante e funcional ao produto alimentício.