

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS**

TESE DE DOUTORADO

**Avaliação da estabilidade do suco e do bagaço de yacon
(*Smallanthus sonchifolius*) e seu encapsulamento por atomização**

CAMILA CARVALHO LAGO

Porto Alegre

2015

CAMILA CARVALHO LAGO

Avaliação da estabilidade do suco e do bagaço de yacon (*Smallanthus sonchifolius*) e seu encapsulamento por atomização

Orientador: Prof. Dr. Caciano Pelayo Zapata Noreña

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos do Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como um dos requisitos para a obtenção do grau de Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Área de Concentração: Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Especialidade: Processos em Alimentos.

Porto Alegre

2015

CIP - Catalogação na Publicação

Lago, Camila Carvalho

Avaliação da estabilidade do suco e do bagaço de yacon (*Smallanthus sonchifolius*) e seu encapsulamento por atomização / Camila Carvalho Lago. -- 2015.
176 f.

Orientador: Caciano Pelayo Zapata Noreña.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Porto Alegre, BR-RS, 2015.

1. yacon. 2. encapsulamento. 3. cinética de degradação. 4. propriedades termodinâmicas. 5. isothermas de sorção. I. Noreña, Caciano Pelayo Zapata, orient. II. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Camila Carvalho Lago

TESE DE DOUTORADO

Avaliação da estabilidade do suco e do bagaço de yacon (*Smallanthus sonchifolius*) e seu encapsulamento por atomização

Submetida como parte dos requisitos para obtenção do grau de

DOUTORA EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos
(PPGCTA)

Universidade Federal do Rio Grande do Sul- Porto Alegre, RS, Brasil.

Aprovada em: /..... /.....

Pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. Caciano Pelayo Zapata Noreña

Orientador- PPGCTA/UFRGS

Prof. Dr. Carlos Prentice-Hernández

Banca-PPG-ECA/FURG

Prof^a. Dra. Carolina Pereira Kechinski

Banca- UFCSPA

Prof. Dr. Adriano Brandelli

Banca- PPGCTA/UFRGS

Aprovada em: /...../.....

Por:

Prof^a. Dra. Rosane Rech
Coordenadora do Programa
de Pós-Graduação em
Ciência e Tecnologia de
Alimentos (PPGCTA)

AGRADECIMENTOS

A Deus, a quem tantas vezes recorri, em inúmeros momentos onde a saudade da minha família e a distância de casa tornavam-se o obstáculo mais difícil. Por estar sempre comigo e me dar sabedoria para enfrentar as adversidades.

À minha família, em especial pai e mãe, não existem palavras capazes de expressar a minha gratidão e de definir a ligação que tenho com vocês. Meu pai, meu maior exemplo de honestidade, de respeito, meu parceiro para procurar apartamento, pra me buscar de madrugada na rodoviária, pra vir me visitar, de me transmitir segurança todas as vezes que precisei. Minha mãe, minha amiga, minha confidente, um minuto no telefone sempre foi suficiente para ela descobrir se estava tudo bem ou se tinha algo me incomodando, apenas pelo tom da minha voz. O apoio, a atenção, os princípios que me ensinaram são meu maior trunfo.

À minha vó, ao meu irmão gêmeo, e aos meus dois sobrinhos que tanto amo, Pedro e Helen. Vocês foram motivos de saudade, de alegria e diversão a cada ida pra casa.

À tia Elena, Assis, Eduardo, Eliane, Magno, Júlia, tia Mada, tio Júlio e Juliano. Obrigado pelo carinho, pela acolhida, pela diversão, pelos almoços de domingo, pelos chamas e conversas em tantos momentos tantas e tantas vezes. Vocês foram mais que importantes, foram essenciais ao longo dessa trajetória.

À Ana, Luiza, Rê e Marcela, sem dúvida alguma, a amizade de vocês é um presente que o doutorado me trouxe. Obrigada pela cumplicidade, pelos conselhos, pelos bons momentos, pela alegria compartilhada e por me darem apoio todas as vezes que precisei. Poder contar com vocês tornou tudo mais fácil, leve e divertido.

Aos amigos de outros laboratórios, colegas do programa, em especial a Chaline, Flávio, Nina, Tainara, e Tenisa. Obrigado pelos inúmeros momentos agradáveis e pela parceria.

Ao Prof. Caciano pela orientação, ensinamentos, incentivo, disponibilidade. Agradeço-lhe sinceramente a confiança e auxílio ao longo desse trabalho, aprendi muito contigo.

Às bolsistas de iniciação científica, Carolina Machado e Júlia Wesolowski, pela ajuda nas análises de laboratório.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, em especial ao Isaias, pelo bom humor, pela disponibilidade constante e ajuda em todas (e não foram poucas) vezes que precisei.

À Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) e ao Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos (ICTA), pela oportunidade e pela estrutura disponibilizada para a realização desse trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo auxílio financeiro.

Aos demais amigos e pessoas especiais, que souberam entender minha ausência muitas vezes, aceitaram minhas escolhas, me incentivaram, torceram e contribuíram de alguma forma para a realização desse sonho ao longo desses quatro anos.

*Dedico esse trabalho a meus pais,
Tomaz e Nice Lago.
Pelo amor incondicional, por sonharem os meus sonhos
e por sempre apoiarem minhas escolhas.
Amo vocês infinitamente.*

RESUMO

O yacon (*Smallanthus sonchifolius*) é uma raiz de origem andina, considerada como um alimento funcional por apresentar em sua composição frutoligossacarídeos (FOS) e compostos fenólicos. Os FOS são polímeros de frutose com grau de polimerização de 3-10 e têm sido designados como prebióticos e fibras alimentares por sua não digestibilidade pelas enzimas do trato digestivo humano e por estimulando seletivamente o crescimento e a atividade de bactérias intestinais promotoras de saúde. Além da ação prebiótica, as raízes de yacon são ricas em compostos fenólicos com propriedades antioxidantes, que protegem o corpo humano dos processos oxidativos. Entretanto, a presença desses compostos torna as raízes suscetíveis à reação de escurecimento enzimático causado pela peroxidase e polifenoloxidase. Diante disso, inicialmente, foi estudada a cinética da inativação térmica e parâmetros termodinâmicos durante o branqueamento dessas enzimas e da enzima inulinase no suco de yacon. O suco de yacon, previamente acidificado com 1% de ácido cítrico foi branqueado com diferentes combinações de tempo-temperatura na faixa de 0-10 minutos e 80-100 °C. O comportamento cinético das três enzimas indicou a presença de duas isoenzimas com diferentes estabilidades térmicas, seguindo o modelo bifásico. A análise cinética demonstrou ainda, a alta resistência térmica das enzimas avaliadas, sendo que a inulinase foi a mais resistente ao calor. A análise termodinâmica indicou que a adição do ácido cítrico ao suco de yacon, provavelmente, causou a desnaturação da maior parte das enzimas que posteriormente foram agregadas durante o branqueamento. Posteriormente, o suco de yacon foi microencapsulado por atomização a fim de avaliar o uso da povidexose como material de parede através da comparação com a goma arábica que é um dos encapsulantes mais utilizados em alimentos. Os efeitos da concentração dos agentes encapsulantes e da temperatura de secagem no teor de compostos fenólicos totais, atividade antioxidante, frutoligossacarídeos, umidade, atividade de água, solubilidade, higroscopicidade, cor e morfologia foram investigados. Os resultados indicaram que a povidexose apresentou bom desempenho no microencapsulamento de componentes bioativos do suco de yacon, apresentando alta retenção dos compostos fenólicos e da atividade antioxidante. Em todos os tratamentos avaliados teve comportamento muito similar à goma arábica apresentando boas características, tais como baixa umidade, atividade de água e higroscopicidade e elevada solubilidade. Posteriormente, a cinética e termodinâmica de degradação dos compostos fenólicos e a cinética da degradação da diferença total de cor dessas microcápsulas foram avaliadas sob condições de cinética acelerada de armazenamento, com umidade relativa de 75 e 90% e temperaturas de 35 e 45 °C. As microcápsulas foram atomizadas na temperatura de 140 °C com goma arábica e povidexose na proporção de 10% e armazenadas nessas condições por 35 dias. A degradação dos compostos fenólicos e da diferença total de cor das microcápsulas exibiram cinética de primeira ordem. Em relação à degradação dos compostos fenólicos, para todas as condições de umidade e temperatura, as microcápsulas com goma arábica foram mais estáveis do que as encapsuladas com povidexose, apresentando maiores tempos de meia vida. Entretanto, os valores dos parâmetros termodinâmicos tiveram valores

similares, indicando que a degradação dos fenóis ocorreu de forma similar nas microcápsulas independente do material de parede utilizado. As constantes de velocidades da degradação da diferença total de cor das microcápsulas não apresentaram diferença significativa com o aumento da temperatura e/ou da umidade relativa. Paralelamente, foi avaliada a estabilidade do bagaço de yacon desidratado através das isotermas de sorção e análise termodinâmica. O bagaço é o subproduto do processo de extração do suco, tem baixa atividade de água e potencial para uso em formulações alimentícias devido ao teor de FOS que permanece mesmo após a secagem. Os dados de umidade de equilíbrio de bagaço de yacon desidratado em pó foram determinados nas temperaturas de 20, 30, 40 e 50 °C e o modelo de Halsey ajustou adequadamente os dados de sorção. As isotermas obtidas foram do tipo III, características de produtos contendo açúcares.

Palavras-chaves: yacon, encapsulamento, cinética de degradação, propriedades termodinâmicas, isotermas de sorção, vida útil.

ABSTRACT

Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) is a root of Andean origin, considered to be a functional food as it presents fructooligosaccharides (FOS) and phenolic compounds in its composition. FOS are fructose polymers with a polymerization degree of 3–10 units and have been referred to as prebiotics and dietary fibers because they are not digestible by the enzymes of the human digestive tract and they selectively stimulate the growth and activity of health promoting bacteria. Other than their prebiotic action, yacon roots are rich on phenolic compounds with antioxidant properties, which protect the human body from oxidative processes. However, the presence of such compounds makes the roots susceptible to enzymatic browning reaction caused by peroxidase and polyphenoloxidase. Thereby, initially, a study was conducted on the kinetics of thermal inactivation and thermodynamic parameters during blanching of these enzymes as well as inulinase enzyme on yacon juice. The yacon juice, previously acidified with 1% citric acid was blanched with different time-temperature combinations in the ranges of 0-10 minutes and 80-100 °C. The kinetic behavior of the three enzymes indicated the presence of two isoenzymes with different thermal stabilities, following the biphasic model. Furthermore, the kinetic analysis showed high thermal resistance for the evaluated enzymes, where inulinase was the most heat resistant. Thermodynamic analysis indicated that the adding of citric acid to the yacon juice, probably, caused the denaturation of the most of the enzymes that were subsequently aggregated during blanching. Afterwards, yacon juice was microencapsulated by spray drying with the aim of evaluating the use of polydextrose as wall material through in comparison to gum arabic, which is one of the more often used encapsulants in food. The effects of the concentration of the encapsulating agents and drying temperature in the content of total phenolic compounds, antioxidant activity, fructooligosaccharides, moisture, water activity, solubility, hygroscopicity, color, and morphology were investigated. The results indicated that polydextrose presented a good performance in the encapsulation of yacon juice, presenting high retention of phenolic compounds and antioxidant activity. On all the evaluated treatments, a behavior similar to arabic gum was observed, presenting good characteristics, such as low moisture content, water activity and hygroscopicity and high solubility. Hereafter, the kinetics and thermodynamics of the degradation of phenolic compounds and the kinetics of the degradation of the total color difference of these microcapsules were evaluated under accelerated storage kinetics conditions, with relative humidity of 75 and 90% and temperatures between 35 and 45 °C. The spray drying process was performed under a temperature of 140°C with arabic gum and polydextrose in a 10% concentration and stored under such conditions for 35 days. Degradation of phenolic compounds and total color of microcapsules showed first order kinetics. As of phenolic compound degradation, for all the conditions of relative humidity and temperature the microcapsules with arabic gum were more stable than the ones encapsulated with polydextrose, presenting longer half-lives. Nevertheless, values for the thermodynamic parameters were similar, indicating that the degradation of the phenols occurred in a similar way in the microcapsules, regardless of the wall material used. The kinetic analysis for total color difference of the microcapsules showed that the increase in temperature and/or relative humidity caused no significant difference

on the the rate constants. Meantime, the stability of dehydrated yacon bagasse was evaluated by use of sorption isotherms and thermodynamic analysis. The bagasse is a byproduct of the juice extraction process, with low water activity and potential for usage in food formulations due to residual FOS content, even after drying. Equilibrium moisture data for powdered dehydrated yacon bagasse was determined under temperatures of 20, 30, 40, and 50°C and the Halsey model suitably adjusted to the sorption data. The isotherms thus obtained were class III isotherms, typical of sugar rich products.

Keywords: yacon, encapsulation, degradation kinetics, thermodynamic properties, sorption isotherms, shelf-life.

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| INTRODUÇÃO | 14 |
| OBJETIVOS | 16 |
| OBJETIVO GERAL | 16 |
| OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 16 |
| FUNDAMENTOS TEÓRICOS E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 17 |
| 1.1. YACON | 18 |
| 1.1.1. Composição Química | 19 |
| 1.2. FRUTANOS..... | 21 |
| 1.2.1. Inulina e Frutoligossacarídeos..... | 22 |
| 1.3 PROPRIEDADES FUNCIONAIS DO YACON | 24 |
| 1.4. PREBIÓTICOS | 26 |
| 1.5. ESCURECIMENTO ENZIMÁTICO..... | 27 |
| 1.5.1. Inativação Enzimática: Desnaturação e Agregação | 29 |
| 1.5.2. Análise Cinética | 30 |
| 1.6. ESTABILIDADE DOS ALIMENTOS | 31 |
| 1.7. ISOTERMAS DE SORÇÃO..... | 32 |
| 1.7.1. Propriedades Termodinâmicas de Sorção..... | 36 |
| 1.8. MICROENCAPSULAMENTO..... | 37 |
| 1.8.1. Secagem por Atomização..... | 40 |
| 1.8.2. Material Encapsulante | 41 |
| 1.8.2.1. Goma Arábica | 41 |
| 1.8.2.2. Polidextrose | 42 |
| CAPÍTULO 2. Artigo 1: Kinetic and Thermodynamic of Thermal Inactivation of the Peroxidase, Polyphenoloxidase and Inulinase Activities during Bleaching of Yacon (<i>Smallanthus sonchifolius</i>) Juice..... | 43 |
| CAPÍTULO 3. Artigo 2: Thermodynamic analysis of sorption isotherms of dehydrated yacon (<i>Smallanthus sonchifolius</i>) bagasse..... | 67 |

| | |
|--|-----|
| CAPÍTULO 4. Artigo 3: Utilização da Polidextrose como material de parede para o Microencapsulamento do Suco de Yacon (<i>Smallanthus sonchifolius</i>) por atomização | 97 |
| CAPÍTULO 5. Artigo 4: Análise Cinética e Termodinâmica da Degradação de Compostos Fenólicos e Cor de Microcápsulas de Yacon (<i>Smallanthus sonchifolius</i>) sob condições aceleradas de armazenamento | 125 |
| CONSIDERAÇÕES FINAIS | 152 |
| REFERÊNCIAS | 158 |

INTRODUÇÃO

A grande preocupação em todo o mundo com a qualidade de vida e com a saúde tem gerado aumento na atenção da população para com os alimentos que consome. O estilo de vida atribulado tem influenciado negativamente o estado nutricional das populações e, assim, cresce a demanda por produtos que ofereçam benefícios nutricionais e que possuam funções biológicas positivas (produtos funcionais).

Em resposta a essa grande demanda por alimentos mais saudáveis e de calorias controladas, o cultivo e consumo do yacon (*Smallanthus sonchifolius*) vêm ganhando espaço no Brasil, desde o início dos anos 90, sendo atualmente cultivado comercialmente em Capão Bonito-SP. No Rio Grande do Sul, desde 2003, a Emater desenvolve um trabalho de multiplicação e produção de yacon na região de Erechim, com resultados positivos, indicando a viabilidade da produção no estado. O yacon é uma raiz que tem sido usada durante séculos como um alimento básico entre a população dos países andinos com potencial de promoção da saúde, incluindo propriedades antidiabéticas, prebióticas e efeitos antioxidantes (Ojansivu et al., 2011). Cazetta et al. (2005) mencionam que o yacon armazena inulina ou frutoligossacarídeos (3-10%), com valor energético relativamente baixo (Moscatto et al., 2006). Os frutoligossacarídeos têm sido designados como prebióticos e fibras alimentares solúveis por sua não digestibilidade pelas enzimas do trato digestivo humano, estímulo seletivo do crescimento e atividade de bactérias intestinais promotoras de saúde, especialmente as bifidobactérias, baixo valor calórico e influência sobre a função intestinal e sobre os parâmetros lipídicos (Gibson e Roberfroid, 1995).

Entretanto, a raiz de yacon caracteriza-se por se deteriorar facilmente e pelo rápido escurecimento. A presença de compostos fenólicos, como o ácido clorogênico torna as raízes tuberosas suscetíveis à reação de escurecimento causada pelas enzimas peroxidase e polifenoloxidase (Padilha et al., 2009). Dessa forma torna-se importante a utilização de tratamentos tecnológicos específicos, como o branqueamento e a secagem a fim de preservá-lo e aumentar a vida útil desse alimento. O branqueamento do suco de yacon visa o controle do escurecimento enzimático e inativação da inulinase a fim de manter a integridade das moléculas de inulina preservando sua atividade prebiótica.

Além da ação prebiótica, as raízes de yacon são ricas em compostos fenólicos com propriedades antioxidantes, que protegem o corpo humano dos processos oxidativos que são um dos fatores responsáveis para o aparecimento de doenças cardiovasculares, doenças do sistema imunológico, distúrbios cerebrais e câncer (Ho et al., 2010). A ingestão de compostos bioativos naturais, especialmente os polifenóis através dos alimentos é de grande interesse, mas as dificuldades associadas com a susceptibilidade desses compostos para efeitos adversos externos, ou condições de processamento e sua instabilidade química, têm conduzido a estudos de microencapsulação com o intuito de melhorar a sua biodisponibilidade.

A secagem por atomização (*spray drying*) é uma operação unitária que resulta em produtos de boa qualidade, baixa atividade de água e de fácil transporte e estocagem (Cano-Chauca et al., 2005). No entanto, os pós obtidos podem apresentar alguns problemas como alta higroscopicidade, devido a presença de açúcares de baixa massa molecular (Bhandari et al., 2003). Uma alternativa que vem sendo utilizada é a adição de agentes encapsulantes de alta massa molecular, antes de o produto ser atomizado. O material de parede atua como um estabilizante das propriedades físicas do produto, evitando a aglomeração dos pós, muito comum no caso de produtos que contenham açúcares (Bhandari et al., 1993) como o suco de yacon.

Atualmente, a preocupação da indústria alimentar com o desenvolvimento de novos produtos que promovam a saúde e a pouca investigação realizada sobre processos tecnológicos com yacon justificam a importância desta pesquisa. Dentro desse contexto, o objetivo deste trabalho foi produzir o suco de yacon estabilizado do ponto de vista enzimático; encapsular o suco de yacon utilizando gomas com propriedades prebióticas como material de parede e avaliar a estabilidade das cápsulas obtidas.

OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL

- Produção do suco de yacon encapsulado por atomização, caracterização físico-química, estrutural e avaliação da estabilidade das cápsulas produzidas e determinação das isotermas de sorção e propriedades termodinâmicas de sorção do bagaço de yacon;

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a cinética da inativação das enzimas peroxidase, polifenoloxidase e inulinase no branqueamento do suco de yacon;
- Determinar as propriedades termodinâmicas da inativação das enzimas peroxidase, polifenoloxidase e inulinase no branqueamento do suco de yacon;
- Determinar as isotermas de sorção do bagaço de yacon desidratado;
- Determinar as propriedades termodinâmicas de sorção do bagaço de yacon desidratado;
- Otimizar o processo de atomização mediante variação das condições de secagem e material de parede;
- Caracterizar os produtos atomizados mediante análises físico-químicas;
- Caracterizar a microestrutura dos produtos atomizados;
- Determinar a cinética e termodinâmica da degradação dos compostos fenólicos das microcápsulas de yacon sob testes acelerados de armazenamento;
- Determinar a cinética da degradação da diferença total de cor das microcápsulas de yacon sob testes acelerados de armazenamento.

CAPÍTULO 1.

FUNDAMENTOS TEÓRICOS E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1. YACON

O Yacon é uma raiz de origem andina, tem baixo valor energético, apesar de sua suculência e sabor doce. Seu nome científico é *Smallanthus sonchifolius*, anteriormente conhecido como *Polymnia sonchifolia* ou *Polymnia edulis*. Outros nomes usados em diferentes partes dos Andes incluem llaqon, llacum, llacuma, yacumpi, aricama, Chicama, jiquima e jiquimilla. É uma palavra original da língua indígena Quechua, que significa yakku (insípido) e unu (água) (Manrique et al., 2005).



Figura 1. Raízes de yacon recém-colhidas e na forma como são comercializadas.

Segundo Robinson (1997), essa planta pode ser cultivada em altitudes variadas, como ocorre na Bolívia, Equador e Peru, entre 900 m e 3500 m acima do nível do mar; na Argentina é cultivada entre 600 m e 2500 m; no Brasil, entre 600 m e 800 m; ou ao nível do mar, como no Japão e na Nova Zelândia.

As raízes de yacon tem sabor adocicado e refrescante, podendo ser consumida crua, cozida ou desidratada na forma de *chips*. Quando o suco do yacon é colocado para ferver e concentrado, transforma-se em blocos de açúcar e é chamado de “*chancaca*” pelos nativos dos Andes (Seminario et al., 2003). Outras formas de consumo compreendem a cocção a vapor, em água, ou em fritura (Santana e Cardoso, 2008). Segundo Ohyama et al. (1990) o

sabor do yacon é semelhante ao da pêra. Costuma-se consumir yacon descascada in natura ou como parte de saladas de frutas, com banana, laranja e mamão (Robinson, 1997).

O cultivo econômico do yacon no Brasil começou em 1991 (Itaya et al., 2002), quando um agricultor brasileiro de origem japonesa introduziu a espécie no interior do estado de São Paulo, iniciando uma pequena indústria familiar, que abastecia comunidades japonesas, fornecendo raízes frescas, desidratadas e folhas secas para o preparo de chás medicinais para diabéticos. No Rio Grande do Sul, o yacon já vem sendo cultivado em várias cidades. Desde 2003, a Emater/RS desenvolve um trabalho de multiplicação e produção de yacon na região de Erechim, observando a adaptação ao clima e a produção desta planta. Os resultados obtidos foram positivos, indicando a viabilidade da produção no Estado (Yacon..., 2003).

1.1.1. Composição Química

O percentual de água das raízes situa-se em torno de 83 a 90% do peso fresco, e devido a isso, o valor energético da raiz é baixo. Este fator também reduz sua vida útil em condições ambientais, aproximadamente sete dias, visto que os tecidos internos das raízes se apresentam muito delicados, característica que os predispõem a sofrer rachaduras ou a romperem-se facilmente durante a colheita, a embalagem e o transporte (Santana e Cardoso, 2008).

Ao contrário da maioria das raízes que armazenam carboidratos na forma de amido, o yacon armazena carboidratos na forma de frutoligossacarídeos (FOS), os quais são polímeros curtos de frutose (Goto et al., 1995). Estes compostos são conhecidos por serem não tóxicos, não digeríveis, doces e também são considerados benéficos para a saúde (Narai-Kanayama et al., 2007).

Normalmente a porcentagem dos açúcares das raízes varia de forma significativa em função de fatores como cultivar, época de cultivo e colheita, clima e temperatura na pós-colheita (Santana e Cardoso, 2008). Quando armazenadas tendem a apresentar sabor amiláceo, motivo pelo qual são expostas à luz solar por muitos dias após a colheita a fim de incrementar seu

gosto doce, técnica conhecida como *soleado* (Graefe et al., 2004). A composição da raiz de Yacon é mostrada na Tabela 1.

Tabela 1. Composição das raízes frescas de yacon baseada em estudos publicados.

| Componente | Grau e Rea (1997) | Manrique et al. (2004) | Hermann et al.(1999) | Lachman et al.(2003) |
|----------------------------|----------------------|---------------------------|-------------------------|-------------------------|
| Carboidratos (g/100g) | * | * | 9-13 | 13,8 |
| Proteínas (g/100g) | 0,4-2,0 | 0,1-0,5 | 2,7-4,9 | 1,0 |
| Água (g/100g) | 70-93 | 85-90 | * | 81,3 |
| Valor calórico (kcal/100g) | * | 14-22 | 15-22 | * |
| Fibras (g/100g) | 0,3-1,7 | * | 3,1-4,1 | 0,9 |
| Cinzas (g/100g) | 0,3-2,0 | * | 4,3-6,0 | 1,1 |
| Potássio (mg/100g) | * | 185-295 | 180-290 | 334 |
| Cálcio (mg/100g) | 23 | 6-13 | 56-131 | 12 |
| Fósforo (mg/100g) | 21 | * | 182-309 | 34 |
| Ferro (mg/100g) | 0,3 | * | * | 0,2 |
| Retinol (mg/100g) | 10 | * | * | * |
| Caroteno (mg/100g) | 0,08 | * | * | 0,13 |
| Tiamina (mg/100g) | 0,01 | * | * | 0,07 |
| Riboflavina (mg/100g) | 0,1 | * | * | 0,31 |
| Niacina (mg/100g) | 0,33 | * | * | * |
| Ácido Ascórbico (mg/100g) | 13 | * | * | 5 |

* não determinado (Ojansivu et al., 2011).

De acordo com Takenaka et al. (2003), as raízes de reserva do yacon possuem quantidades importantes de potássio, elevado conteúdo de cálcio, compostos fenólicos derivados de ácido caféico, substâncias antioxidantes como ácido clorogênico e triptofano, e várias fitoalexinas com atividade fungicida. Os ácidos fenólicos são derivados do ácido benzóico e podem contribuir com alterações indesejáveis na coloração destes, pois servem de

substrato a enzimas capazes de causar tais alterações (Richard-Forget e Gauillard, 1997; Vamos-Vigyazo e Nádudvari-Márrus, 1982).

Quinteros (2000) avaliou o perfil de carotenóides da yacon por cromatografia líquida de alta eficiência e detectou 12 carotenóides, dos quais apenas cinco puderam ser avaliados quantitativamente. Foram avaliados três lotes de raízes do yacon sendo que o β -caroteno foi o principal carotenóide, representando mais de 94% do total.

A degradação enzimática, que ocorre durante o período de armazenamento da raiz da yacon foi verificada por Asami et al. (1991) e Ohyama et al. (1990), que observaram a redução do conteúdo dos frutoligossacarídeos. Graefe et al. (2004) também observaram que, após seis dias de exposição do yacon ao sol, ocorreu uma diminuição dos oligofrutosos de 50-62 % para 29-44 %, enquanto que os açúcares livres (sacarose, glicose e frutose) aumentaram de 29-34% para 45-51%. Esses resultados indicaram que a hidrólise parcial dos oligofrutosos começa logo após a colheita.

1.2. FRUTANOS

Os frutanos são oligo e polissacarídeos, constituídos por uma molécula de sacarose a qual se unem resíduos de frutose por ligações glicosídicas $\beta(2\rightarrow1)$ e $\beta(2\rightarrow6)$, podendo ser lineares ou ramificados (Quinteros, 2000). Segundo Lewis (1993), diferem na sua estrutura molecular e massa molar e podem ser classificados em três tipos principais: inulina, levanos e graminanos. O grupo da inulina consiste em moléculas que têm em sua maioria ou exclusivamente ligações $\beta(2\rightarrow1)$ frutossil-frutose. Levanos contêm principalmente ou exclusivamente ligações $\beta(2\rightarrow6)$ frutossil-frutose. O grupo ramificado (graminanos) tem tanto as ligações $\beta(2\rightarrow1)$ e $\beta(2\rightarrow6)$ frutossil-frutose em quantidades significativas (Lewis, 1993).

Os levanos são os frutanos produzidos pela excreção de bactérias como as *Pseudomonaceae*, *Enterobacteraceae*, *Streptococcaceae*, *Actinomycetes* e *Bacillaceae* durante seu crescimento (Franck e Leenheer, 2005). De acordo com Pollock (1986), a estrutura dos levanos tem como base a 6-kestose, onde os resíduos de frutose se unem a de sacarose por ligações $\beta(2\rightarrow6)$.

Nos graminanos, o resíduo de glicose se une diretamente aos resíduos de frutose, nas posições 1 e 6. Portanto, o grupo ramificado possui moléculas com ligações $\beta(2\rightarrow1)$ e $\beta(2\rightarrow6)$ (Marx et al., 1997). Na Figura 2 são mostradas as estruturas dos três tipos de frutanos.

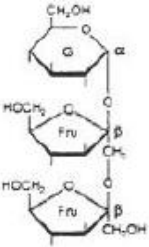
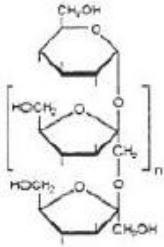
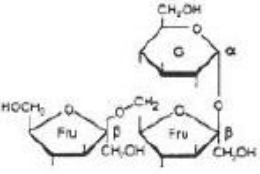
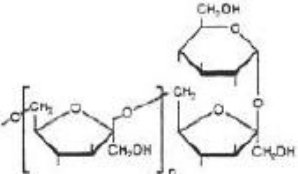
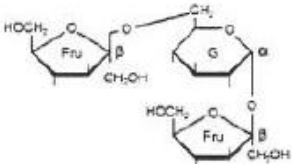
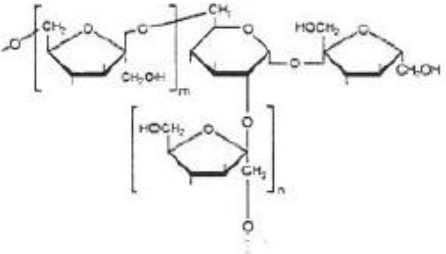
| Tipo | Substância base da elongação | Estrutura |
|-----------|---|--|
| Inulina |  |  |
| Levano |  |  |
| Graminano |  |  |

Figura 2. Fórmulas estruturais dos frutanos (Quinteros 2000).

1.2.1. Inulina e Frutoligossacarídeos

A inulina é composta por uma cadeia principal de unidades de frutose, unidas por ligações $\beta(2\rightarrow1)$, e por uma molécula de glicose na porção inicial da cadeia linear de frutose unida por uma ligação do tipo $(\alpha1 - \beta2)$ (Roberfroid, 1993).

Por hidrólise parcial enzimática da inulina nativa são obtidas oligofrutoses ou frutoligossacarídeos com diferente grau de polimerização (Franck, 2002). Estes são estruturalmente designados GF_n (onde G representa

a molécula de glicose, F a molécula de frutose e n o número de unidades de frutose), e F_m , quando é constituída apenas por frutose (onde m representa o número de unidades de frutose) (Ronkarta et al., 2007). Estes autores indicam que os valores de n e m variam entre 2 e 9 e, apesar de GF_n e F_m terem propriedades físico-químicas muito semelhantes, os produtos tipo F_m são redutores, enquanto os GF_n são não redutores tais como: 1-Kestose (GF_2), Nistose (GF_3) e Frutofuranosilnistose (GF_4) visualizados na Figura 3.

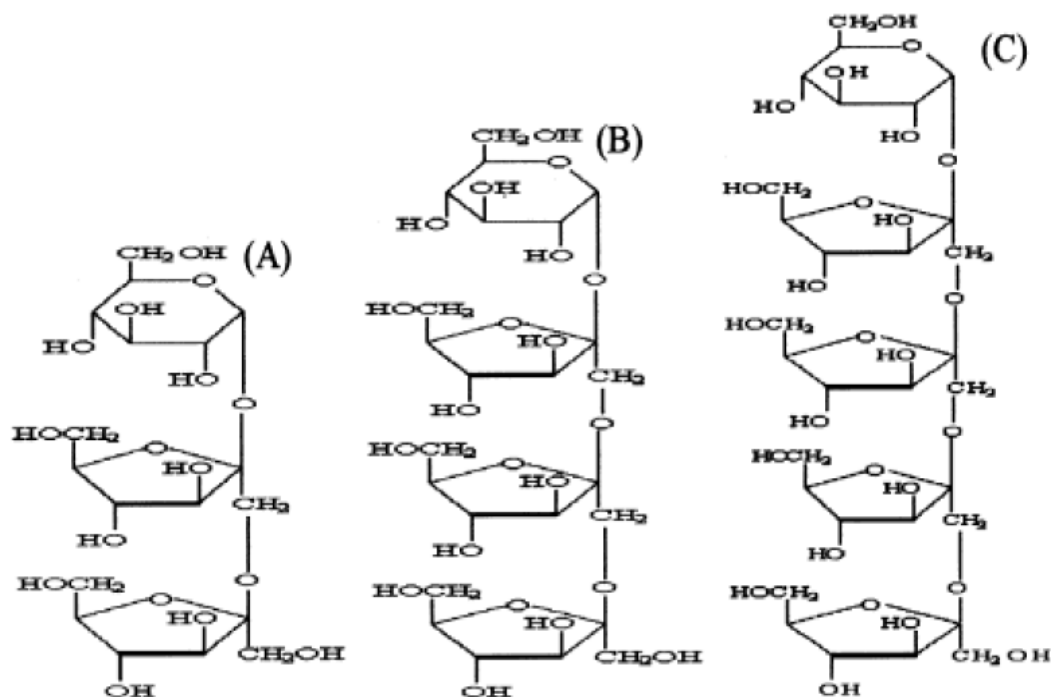


Figura 3. Fórmulas estruturais da 1-kestose (A), nistose (B), frutofuranosilnistose(C) (Ronkarta et al., 2007).

A inulina e os FOS não têm uma composição química definida, são uma mistura de polímeros e oligômeros caracterizados pelo seu grau de polimerização. Moléculas com GP entre 3 e 10 são consideradas FOS, enquanto que as com GP entre 10 e 65 são conhecidas como inulina (Kolida e Gibson, 2007). Oligofrutose e FOS são termos sinônimos utilizados para denominar a inulina com DP inferior a 10. Seus nomes derivam de oligossacarídeos (carboidratos com menos de 10 subunidades de monossacarídeos) compostos predominantemente de frutose (Carabin e Flam, 1999).

1.2.1.1. Aplicações Tecnológicas

Os FOS são considerados fibras alimentares e classificados como ingredientes, e não aditivos alimentares, na maioria dos países, possuindo a classificação GRAS (*Generally Recognized as Safe*) nos Estados Unidos (Passos e Park, 2003). Compostos como os FOS podem ser utilizados como substituintes de açúcares, pois são muito mais solúveis e doces do que a inulina nativa e de cadeia longa (Meyer et al., 2011), são mais solúveis que a sacarose e fornecem entre 30–50% da doçura desta, seu uso muitas vezes é combinado com edulcorantes para obter o nível de doçura desejado. Devido a essas características, os FOS podem ser usados em produtos funcionais que promovam efeito nutricional adicional como prebióticos, fibras dietéticas, em iogurtes, promovendo efeito simbiótico (além do próprio efeito probiótico do iogurte), em biscoitos e produtos de panificação, substituindo carboidratos e gerando produtos de teor reduzido de açúcar, produtos para diabéticos, barras de cereais, sucos e néctares frescos, produtos de confeitaria e molhos (Passos e Park, 2003).

A inulina com DP maior que 10 é menos solúvel e mais viscosa podendo assim atuar como substituinte de gordura, produzindo sensação similar na boca (Meyer et al., 2011). A inulina pode ser usada para modificar a textura em produtos lácteos, reforçar a cremosidade de iogurtes com baixo teor de gordura, assim como em queijos e mousse de chocolate (Kaur e Gupta, 2002).

1.3 PROPRIEDADES FUNCIONAIS DO YACON

Vários compostos foram isolados e identificados nas folhas e raízes de yacon, por exemplo, frutoligosacarídeos, ácidos clorogênicos, L-triptofano, ésteres de ácido caféico e outros; a maior parte dos efeitos benéficos reportados resultam da presença de tais compostos (Ojansivu et al., 2011).

Aybar et al. (2001) estudaram o efeito hipoglicêmico de extrato aquoso de folhas de yacon em ratos normais e com diabetes induzida por estreptozotocina. A administração intraperitoneal ou gástrica de decocto de yacon a 10% reduziu significativamente o nível de glicose no plasma de ratos

normais. A substituição do consumo de água pela infusão do yacon a 2% produziu uma significativa melhoria nos parâmetros corporais e renais dos ratos diabéticos quando comparados com o grupo controle, resultados sugerem que o extrato de yacon produz um aumento na concentração de insulina no plasma.

No estudo conduzido por Pedreschi et al. (2003), foram cultivadas sob condições anaeróbias (a fim de simular o ambiente intestinal) culturas de *L. plantarum*, *L. acidophilus* e *B. bifidum* em FOS comercial (*Neosugar*, da Nutraflora) e em extrato de yacon. Os resultados sugerem que os FOS do yacon têm potencial prebiótico e podem ser utilizados pelas espécies de *Bifidobacterias* e *Lactobacillus* probióticos.

Segundo Yan et al. (1999), a raiz de yacon contém também considerável quantidade de compostos fenólicos, cerca de 3,8% do peso em base seca, como o ácido clorogênico e seus derivados, além do L-triptofano, que é um aminoácido essencial para animais e seres humanos, também conhecido como precursor da melatonina e serotonina. Takenaka et al. (2003) encontraram cinco derivados de ácido caféico nas raízes de yacon, compostos com propriedades antioxidantes. Os compostos fenólicos, os quais demonstram atividade antioxidante podem proteger as membranas celulares contra danos provocados pelos radicais livres (Chuda et al., 1998).

Grande interesse também tem sido focado no efeito antidiabético deste fruto, uma vez que o yacon pode eventualmente modular a concentração de insulina no plasma e inibir a gluconeogênese hepática, estudo recentemente relatado por Genta et al. (2009).

Genta et al. (2005) realizaram um estudo de toxicidade oral de raízes secas de yacon como um suplemento alimentar em ratos na forma de uma pílula em concentrações de frutoligosacarídeos de: 340 e 6800mg FOS / kg de peso corporal. Em ambos os casos não foram observados efeitos tóxicos, sendo que a menor concentração usada foi equivalente a uma ingestão diária de 20 g de FOS em seres humanos e à maior concentração representa uma dose 20 vezes.

1.4. PREBIÓTICOS

O termo prebiótico é definido como um ingrediente alimentar não digerível pela maioria dos microrganismos do intestino, e que afeta benéficamente o hospedeiro, pelo estímulo seletivo do crescimento e/ou atividade de apenas um ou de um número limitado de bactérias benéficas no cólon (Gibson e Roberfroid, 1995). Para um ingrediente alimentar ser classificado como um prebiótico é necessário: não sofrer hidrólise e nem ser absorvido na parte superior do trato gastrointestinal; ser capaz de promover uma biota intestinal saudável e, como consequência, induzir efeitos no lúmen que beneficiem o hospedeiro (Fooks et al., 1999).

Os frutoligosacarídeos estão presentes em produtos vegetais tais como chicória, cebola e alho sendo classificados como prebiótico e como fibra alimentar solúvel, por ser resistente à digestão na parte superior do trato intestinal, alcançando o intestino grosso praticamente intacto, onde é fermentado pelas bifidobactérias (Roberfroid, 1993). Estes componentes atuam mais frequentemente no intestino grosso, embora eles possam ter algum impacto nos microrganismos do intestino delgado (Saad, 2006).

Após a ingestão, os FOS, por não serem hidrolisados, não resultam em contribuição calórica neste processo, apenas em nível de cólon ocorre sua degradação por fermentação de bactérias (Haully e Moscatto, 2002). O equilíbrio produzido na flora gastrintestinal pelo consumo de frutoligosacarídeos estimula outros benefícios no metabolismo humano, como a redução da pressão sanguínea em pessoas hipertensas, alteração do metabolismo de ácidos gástricos, redução da absorção de carboidratos e lipídeos e melhoria do metabolismo de diabéticos. Ainda pode-se observar um aumento da digestão e metabolismo da lactose, aumento da síntese de vitaminas (principalmente do grupo B), diminuição do crescimento de bactérias nocivas, diminuição da produção de toxinas e compostos carcinogênicos e auxílio da restauração da flora intestinal normal durante terapia com antibióticos (Yun, 1996; Passos e Park, 2003).

Os FOS se distinguem da maioria dos carboidratos porque não podem ser metabolizados pelo trato digestivo humano, de modo que seu consumo não eleva o nível de glicose no sangue e sua contribuição calórica no organismo é

bastante reduzida. Por essa razão, o yacon é considerado um alimento ideal para indivíduos com diabetes e peso excessivo (Manrique et al., 2004).

1.5. ESCURECIMENTO ENZIMÁTICO

O escurecimento é atualmente responsável por sérias perdas na indústria de alimentos. Normalmente ocorre em frutas e vegetais durante o manuseio, processamento e estocagem após a colheita (Jang et al., 2002) e resulta da oxidação enzimática ou não enzimática de compostos fenólicos (Martinez e Whataker, 1995).

O yacon tem sido reportado como uma boa fonte da enzima polifenoloxidase, a qual catalisa a oxigenação de compostos fenólicos a quinonas que, após polimerização, apresentam os típicos pigmentos marrons ou pretos, conhecidos da oxidação enzimática de frutas e vegetais. Durante o descascamento e o processamento do yacon, quando as membranas das células são rompidas, os polifenóis e os taninos estão disponíveis para se misturar aos outros componentes, especialmente as enzimas citoplasmáticas, o que pode ocasionar um processo conhecido como oxidação enzimática e, a epiderme fica rapidamente escura quando exposta ao ar (Valentová e Ulrichová, 2003). Do ponto de vista prático, o controle do escurecimento enzimático é geralmente limitado à inativação pelo calor das enzimas polifenoloxidase (PPO) e peroxidase (PER) (Cabello, 2005).

A presença de compostos fenólicos, como o ácido clorogênico, e do aminoácido L-triptofano torna as raízes tuberosas do yacon suscetíveis à reação de escurecimento causada pelas enzimas peroxidase e polifenoloxidase (Padilha et al., 2009). O escurecimento enzimático é causado principalmente pela ação da polifenoloxidase, que catalisa a oxidação de mono e difenóis para o-quinonas, que formam melaninas (pigmentos marrons) e pode causar off-flavor e perdas da qualidade nutricional das frutas, além de diminuir sua aceitabilidade pelo consumidor (Whataker e Lee, 1995).

A polifenoloxidase é uma proteína multifuncional, com cobre (Cu^{++}) no seu centro ativo que funciona como oxidase de função mista catalisando duas reações diferentes envolvendo o oxigênio molecular (Valero et al., 1992). A PPO promove a oxidação enzimática de compostos fenólicos, produzindo,

inicialmente, quinona, que rapidamente se condensa, formando pigmentos insolúveis e escuros, denominados melanina, ou reagem não enzimaticamente com aminoácidos, proteínas ou outros compostos (Menolli et al., 2008).

A peroxidase catalisa as reações de oxidação utilizando peróxidos ou oxigênio comoceptor de hidrogênio, sendo seu mecanismo baseado na formação de complexos enzima-doadores de hidrogênio (Hemeda e Klein, 1990). Os doadores de hidrogênio podem ser fenóis, aminas ou outros compostos orgânicos e produtos formados durante a oxidação (Soysal e Söylemez, 2005). A enzima peroxidase é considerada indicadora da inativação pelo branqueamento por ser a mais resistente ao calor, e para sua completa inativação requer longos tempos, o que pode resultar em grande perda de nutrientes durante o branqueamento (Reed, 1975). Singh e Chen (1980) sugeriram que 90% de inativação da peroxidase seria suficiente para evitar qualquer deterioração no produto.

O escurecimento pode ser evitado por inativação pelo calor, inibição da enzima, exclusão, remoção ou a transformação dos substratos (O_2 e fenóis), diminuição do pH abaixo da faixa de atividade com ácido cítrico (também atuando como um agente quelante), adição de antioxidantes (ácido ascórbico, bissulfato de sódio ou de potássio), que inibem a PPO ou evitam a formação de melanina, e tratamentos enzimáticos com proteases que hidrolisam a PPO (Martinez e Whitaker, 1995).

A elevada suscetibilidade ao escurecimento das raízes do yacon pode ser atribuída ao elevado nível de fenóis encontrados à termoresistência da enzima PPO. Fante et al. (2013) estudaram a inativação das enzimas PPO e PER mediante branqueamento nas raízes de yacon, encontrando que a melhor condição ocorreu a 4 minutos em vapor a 100 °C, onde foi possível reduzir a atividade enzimática da peroxidase em 84,6% e da polifenoloxidase em 83,7%.

No caso de produtos que contenham FOS, a enzima inulinase deve sofrer inativação quando se deseja manter a integridade da molécula prebiótica. Esta não é hidrolisada pelas enzimas digestivas na primeira porção do intestino e como consequência, não aumenta a glicemia e nem os níveis de insulina no sangue, sendo ideal para diabéticos (Leonel et al., 2006). Segundo Quinteros (2000), a inulinase, é capaz de hidrolisar as ligações $\beta(2\rightarrow1)$ dos oligofrutanos, gerando frutose e glicose através de um processo de endo ou

exo-degradação. A exo-inulinase separa os resíduos de frutose a partir da frutose terminal, em um mecanismo em cadeia, sob condições adequadas de pH e temperatura, enquanto que a endo-inulinase age nas ligações $\beta(2\rightarrow1)$ não terminais e podem produzir compostos do tipo GF_n (sacarose) e F_m (frutose) além de frutose e glicose livres.

1.5.1. Inativação Enzimática: Desnaturação e Agregação

Steventon et al. (1991) sugeriram duas etapas no processo de desnaturação/agregação de proteínas globulares: na primeira a proteína nativa se desnatura e a seguir, inicia-se o processo de agregação e posterior formação de agregados das moléculas inativas. Segundo Apenten (1998), o mesmo modelo em duas fases é aplicável a processos de desativação enzimática, no qual durante a desativação, o estado irreversível é formado através da agregação da enzima, hidrólise da ligação peptídica ou desaminação.

A estrutura nativa de uma proteína é o resultado de várias interações atrativas e repulsivas que emanam de forças intramoleculares variadas, bem como da interação de vários grupos proteicos com a água como solvente circundante. O estado nativo é termodinamicamente o mais estável, e qualquer mudança no seu entorno como pH, temperatura, força iônica composição do solvente forçará a molécula a adquirir uma nova estrutura de equilíbrio (Damodaran et al., 2010). A exposição destas proteínas a valores extremos de temperatura ou pH resulta em desnaturação, definida como uma mudança considerável na conformação nativa, em que a estrutura tridimensional (terciária) da cadeia polipeptídica é convertida para um estado de baixa ordem (Anema e McKenna, 1996).

As alterações conformacionais da proteína nativa em que os grupos funcionais ficam expostos reforçam a interação entre proteínas, conduzindo à formação de agregados e a interação entre esses agregados proteicos resulta em precipitação em determinadas concentrações de proteína (Wang e Damodaran, 1991). Tem sido demonstrado experimentalmente e por meio de simulações que a agregação começa a partir de uma conformação parcialmente desdobrada com regiões hidrofóbicas mais expostas em

comparação com a sua estrutura nativa (Zhang et al., 2008). A agregação ocorre quando estas superfícies hidrofóbicas interagem de forma intermolecular. Agregados de proteínas são formados como um resultado da interação de moléculas de proteína desdobrada levando à geração de aglomerados com várias organizações supramoleculares (Golub et al., 2007).

1.5.2. Análise Cinética

A cinética enzimática estuda a velocidade de uma reação para atingir seu equilíbrio, bem como sua alteração frente a mudanças em parâmetros experimentais. Diversos são os fatores que influenciam a velocidade de uma reação como pH, temperatura, tempo, concentração de reagentes e catalisadores e presença ou não de cofatores (Fennema, 1993).

Para o estudo cinético de inativação térmica das enzimas, geralmente são usados os modelos cinéticos aplicados na literatura baseados em diferentes mecanismos: de primeira ordem, reações consecutivas e reações paralelas, mostrados na Tabela 2.

Tabela 2. Modelos matemáticos aplicados à cinética de inativação enzimática.

| Modelo | Equação | Referência |
|----------------------|---|--------------------------|
| Primeira ordem | $y = y_0 \exp -k_1 t$ (1) | Stamp e Labuza (1983) |
| Bifásico | $y = a_L \exp -k_L t + b_R \exp -k_R t$ (2) | Ling e Lund (1978) |
| Duas Frações | $y = a \cdot \exp(-k_L t) + (1 - a) \cdot \exp(-k_R t)$ (3) | Chen and Wu (1998) |
| Multi-componentes | $y = \{\exp(-k_1 t) + r \exp(-k_2 t)\} / (1 + r)$ (4) | Fujikawa and Itoh (1996) |
| n Ordem | $y = \{A_0^{1-n} + (n - 1) \cdot kt\}^{1/(1-n)}$ (5) | Ludikhuyze et al. (1999) |
| Conversão Fracionada | $y = A_r + (A_0 - A_r) \exp(-kt)$ (6) | Rizvi and Tong (1997) |
| Weibull | $y = s_0 \exp(-bt^n)$ (7) | Weibull (1951) |

y : atividade residual da enzima, y_0 atividade residual enzimática no tempo zero, k_0 , k_1 , k_L e k_R : constantes de velocidade da reação e t : tempo.

Fante e Noreña (2012) estudaram a cinética da inativação enzimática de alho em diferentes tempos e temperaturas onde foi empregado o modelo bifásico de primeira ordem, o qual consiste na separação das enzimas em dois grupos diferentes, quanto à sua estabilidade térmica, sendo um componente lábil e a outro resistente ao calor. Eles encontraram que as enzimas

peroxidase, polifenoloxidase e inulinase apresentaram aumento da inativação enzimática e das constantes de velocidade, tanto para o componente lábil quanto para o componente resistente, com o aumento da temperatura.

O objetivo dos estudos cinéticos experimentais é o desenvolvimento de modelos matemáticos para descrever a velocidade de reações e, conseqüentemente, obter uma compreensão dos parâmetros termodinâmicos importantes no processo da reação (Anema e McKenna, 1996).

1.6. ESTABILIDADE DOS ALIMENTOS

De acordo com Al-Muthaseb (2002), a água é o constituinte mais abundante nos alimentos in natura, apresentando muitas funções no processamento de alimentos e, embora a molécula de água seja uma substância química simples, o impacto sobre as reações e sobre a qualidade dos alimentos é maior do que qualquer outro componente químico.

A água é um dos mais importantes componentes dos alimentos, afetando todas as suas propriedades físicas devido à sua interação com o meio, o que envolve a estrutura física, bem como a composição química do alimento (Park et al., 2001). O termo água ligada é considerado como a parte da água contida no material que apresenta propriedades físicas muito diferentes da água livre, dentre elas citam a baixa pressão de vapor, alta energia de ligação medida durante a desidratação, mobilidade reduzida determinada pela ressonância magnética nuclear, não congelabilidade a baixas temperaturas e indisponibilidade como solvente (Al-Muthaseb, 2002). Na Figura 4, pode-se verificar o efeito geral da atividade de água no crescimento microbiano.

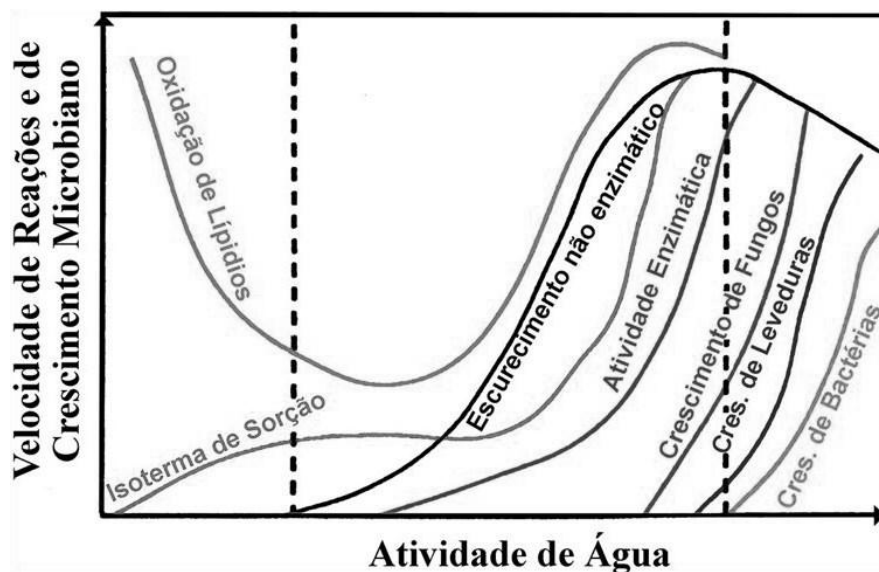


Figura 4. Relação entre atividade de água, crescimento microbiano e a velocidade de diversas reações (Ordenez, 2005).

O processo de desidratação melhora a estabilidade dos alimentos, uma vez que reduz consideravelmente a atividade de água e minimiza as alterações físicas, químicas e microbiológicas durante o armazenamento (Hatamipour et al., 2007). A remoção da água é a principal tarefa para a preservação do alimento, reduzindo os índices de umidade a um nível que permite o armazenamento seguro sobre um período de tempo prolongado (Lenart, 1996).

1.7. ISOTERMAS DE SORÇÃO

A isoterma de sorção representa o equilíbrio do teor de umidade do material com a umidade relativa do ambiente a temperatura constante, sendo que este equilíbrio dita a estabilidade física, química e microbiológica dos alimentos (Sogi et al., 2003; Kockel et al., 2002). A importância da construção dessas isotermas está na previsão de alterações que o material possa sofrer se acondicionado em determinada umidade relativa. Entre as aplicações mais conhecidas, podemos encontrar o projeto de secadores, a previsão das condições finais de misturas de diversos ingredientes em alimentos formulados, o projeto de embalagens e simulação de alterações de umidade que ocorrem durante a estocagem, além da previsão da estabilidade e vida de prateleira do produto (Iguedjtal et al., 2008).

Segundo Al-Muhtaseb et al. (2002), os teores umidade e a atividade de água no equilíbrio podem ser obtidas de duas formas: mediante sorção, pela colocação do alimento seco em atmosfera com variação de umidade relativa crescente e conseqüente ganho de peso, e de dessorção, quando dispõe-se um alimento inicialmente úmido em umidades relativas inferiores e acompanhamento da redução de peso.

O processo de adsorção e dessorção não são totalmente reversíveis, portanto, há uma distinção entre as isotermas de adsorção e de dessorção, que determinam uma adsorção se o teor de umidade dentro do alimento está aumentando e, uma dessorção se o teor de umidade está gradativamente reduzindo para chegar a um equilíbrio com o ambiente, implicando na secagem do produto (Al-Muhtaseb et al., 2002). A diferença existente entre as curvas é conhecida como histerese, ela é importante na determinação da proteção necessária contra o ganho de umidade (Fennema, 1993). Wolf et al. (1972) relataram grandes diferenças na forma, amplitude e extensão da histerese de alimentos desidratados; as características são dependentes do tipo de alimento e da temperatura.

De acordo com Mathlouthi e Rogé (2003), dependendo da natureza do alimento, cinco tipos de isotermas podem ocorrer, conforme Figura 5 e descritas a seguir:

Tipo I: é conhecida como isotermas de Langmuir e é obtida pela adsorção de gás na camada monomolecular em sólidos porosos;

Tipo II: é a isoterma sigmóide, obtida por produtos solúveis e é representada por uma curva assintótica;

Tipo III: isoterma de Flory-Huggins, ocorre pela adsorção de um solvente ou substâncias como glicerol, abaixo da temperatura de transição vítrea;

Tipo IV: descreve a adsorção gerada por um sólido hidrofílico até máxima hidratação dos sítios de adsorção;

Tipo V: isoterma de adsorção multicamada de BET, observada pela adsorção de vapor de água, relacionada aos tipos II e III.

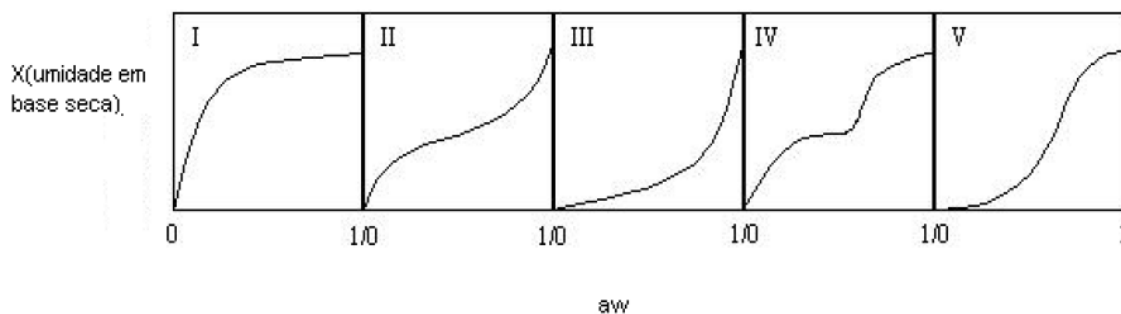


Figura 5. Representação dos cinco tipos de isothermas de sorção (Mathlouthi e Rogé, 2003).

As isothermas de sorção de umidade da maioria dos alimentos, geralmente apresentam forma sigmoideal e são classificadas como isothermas do tipo II (Al-Muhtaseb et al., 2002). Esse tipo de isoterma de sorção foi verificada em diversos trabalhos, tais como de Simal et al. (2007) em estudo com abacaxi; Ascheri et al. (2007) para farinhas mistas de bagaço de jaboticaba e arroz; Noshad et al. (2011) para marmelo; Mosquera et al. (2012) para morango liofilizado com adição de maltodextrina e goma arábica e Goula et al. (2008) para polpa de tomate desidratada por atomização. Isothermas de sorção do tipo III são típicas de produtos ricos em açúcares (Brandalero et al., 2005; Gabas et al., 2007).

As propriedades de sorção dos alimentos têm demonstrado ser influenciadas pela sua composição, processamento, temperatura e umidade relativa (Iglesias e Chirife, 1976; Lasekan e Lasekan, 2000). O efeito da temperatura na isoterma de sorção é de grande importância dado que os alimentos são expostos a diversas temperaturas durante o processamento e armazenamento; a temperatura afeta a mobilidade das moléculas de água e o equilíbrio dinâmico entre o vapor e fase adsorvida (Al-Muhtaseb et al., 2002). Em geral, o teor de umidade diminui com o aumento da temperatura em atividade de água constante (Hill e Rivzi, 1982; Al-Muhtaseb et al., 2002; Kaymak-Ertekin e Gedik, 2004), o que resulta no deslocamento das isothermas para o eixo de atividade de água a medida que a temperatura aumenta. Entretanto, um desvio desse comportamento pode ser encontrado por certos açúcares e por alguns constituintes de baixa massa molecular, os quais se tornam mais higroscópicos a temperaturas mais elevadas, devido a sua capacidade de se dissolver em água (Al-Muhtaseb et al., 2002). Tsami et al.

(1991) ao estudarem as isotermas de sorção para diferentes frutas com altos teores de açúcares observaram a inversão de comportamento (cruzamento) das isotermas a um dado valor de atividade de água. De acordo com esses autores o ponto de intersecção das curvas depende da composição do alimento e da solubilidade dos açúcares presentes: quanto maior for o teor de açúcar presente na amostra, a inversão das isotermas ocorre a menores valores de atividade de água.

Vários modelos foram propostos na literatura para descrever as isotermas de sorção. Esses modelos são classificados em categorias: modelos cinéticos baseados na teoria da monocamada (por exemplo, o modelo de BET), modelos cinéticos baseados na teoria de multicamadas (por exemplo, modelo de GAB) e modelos empíricos ou semi-empíricos (Iguedjtal et al., 2008). As equações de alguns desses modelos se encontram na Tabela 3.

Tabela 3. Modelos para ajuste das isotermas de sorção.

| Equação | Equação |
|-------------|--|
| BET | $\frac{Aw}{(1-Aw)X} = \frac{1}{X_m C} + \frac{(C-1)Aw}{X_m C} \quad (8)$ |
| GAB | $X = \frac{X_m C \cdot k \cdot Aw}{(1-k \cdot Aw) \times (1-k \cdot Aw + C \cdot k \cdot Aw)} \quad (9)$ |
| Halsey | $Aw = \exp\left(\frac{-A}{X^B}\right) \quad (10)$ |
| Henderson | $(1-Aw) = \exp(A \cdot X^B) \quad (11)$ |
| Chung-Pfost | $\ln(Aw) = -A \cdot \exp(-B \cdot X) \quad (12)$ |
| Smith | $X = A + (B \cdot \log(1-Aw)) \quad (13)$ |

X é teor de umidade no equilíbrio em base seca; Aw é atividade de água; X_m é umidade na monocamada (kg água/kg b.s); A , B , C , k são parâmetros de cada modelo.

Os critérios usados para selecionar o modelo de sorção mais apropriado são o grau de ajuste dos dados experimentais e o significado físico do modelo (Gabas et al., 2007). Lomauro et al. (1985) verificaram que a equação de GAB pode representar com grande precisão mais de 50% das isotermas de frutas, vegetais e carnes, quando comparada com equações de dois parâmetros.

1.7.1. Propriedades Termodinâmicas de Sorção

As propriedades termodinâmicas dos alimentos relacionam a concentração de água no alimento com sua pressão parcial na fase gasosa em equilíbrio, que é fundamental na análise dos fenômenos de transporte de calor e massa durante a desidratação. Elas determinam o ponto final até o qual o alimento pode ser desidratado de forma a obter um produto estável, com umidade ótima e quantidade mínima de energia requerida para remover uma determinada quantidade de água (Al-Muhtaseb et al., 2004).

O conhecimento da entalpia diferencial (Δh) fornece uma indicação do estado da água adsorvida e, portanto, uma medida da estabilidade física, química e microbiológica em determinadas condições de estocagem (McMinn e Magee, 2003). Na fase inicial de adsorção existem sítios de adsorção altamente polares onde as moléculas de água estão fortemente ligadas em forma de monocamada (Al-Muhtaseb et al., 2004). De acordo com Kaya e Kahyaoglu (2005), o maior calor de sorção verificado em baixas umidades, indica maior energia de ligação necessária para remover a água. Alterações na entalpia podem ser associado com forças de ligação ($-\Delta h$) ou repulsão ($+\Delta h$) entre a água e o material avaliado (Pérez- Alonso et al., 2006).

A entropia diferencial (Δs) relaciona-se com o número de sítios de sorção para um determinado nível de energia inerente ao material biológico (Madamba et al., 1996). De acordo com Al-Muhtaseb et al. (2004), a entropia diferencial de um alimento é proporcional ao número de sítios de sorção disponíveis em um determinado nível energético e conforme ocorre a adsorção por parte do produto, os sítios específicos vão sendo ocupados pelas moléculas de água, sendo que as entropias associadas aos sítios que ainda estão livres tornam-se cada vez menores.

Os parâmetros termodinâmicos estabelecem condições ótimas de estocagem e estabilidade. Por exemplo, uma mudança da energia livre (ΔG) pode ser um indicativo da afinidade do adsorvente pela água, e ainda fornecer um critério para saber se a adsorção de água é um processo espontâneo ($\Delta G < 0$) ou não espontâneo ($\Delta G > 0$) (Apostolopoulos e Gilbert, 1990).

A teoria da compensação (ou teoria isocinética) tem sido amplamente usada em várias áreas como física, química, biologia e análise térmica (Pérez-Alonso et al., 2006). A teoria afirma que é necessário minimizar mudanças na energia livre devido a estes fenômenos, sendo que a compensação resulta da natureza da interação entre o soluto e o solvente causando a reação e a relação entre a entalpia e entropia para uma específica reação é linear (Fasina, 2006).

Entalpia integral e entropia integral são usadas para explicar o modo do comportamento de sorção por materiais biológicos (Fasina et al., 1999). A entalpia fornece uma indicação da força de ligação das moléculas de água com o sólido e é determinada de maneira similar ao calor isostérico, mas considerando constante o *spreading pressure* (Fasina et al., 1999). O “*spreading pressure*” (φ), representa o excesso de energia livre da superfície e fornece uma indicação do aumento na tensão superficial de sítios de sorção devido a moléculas sorvidas (McMinn e Magee, 2003; Fasina et al., 1999).

Quanto à entropia integral, o seu valor mínimo foi considerado como o ponto de máxima estabilidade em estudo realizado em carboidratos puros e mistos (Pérez-Alonso et al., 2006), resultado das fortes ligações entre o adsorvente e a água, a qual se encontra menos disponível para participar de reações de deterioração. A diminuição da entropia mostra a perda de liberdade de rotação ou grau de aleatoriedade das moléculas de água devido à forte ligação dos sítios do sólido com as moléculas de água (McMinn e Magee, 2003). De forma oposta, a entropia integral pode aumentar com o aumento do teor de umidade devido à transformação estrutural decorrente da solubilização e intumescimento do produto (Rivzi e Benado 1983).

1.8. MICROENCAPSULAMENTO

Define-se o microencapsulamento como o empacotamento de materiais sólidos, líquidos ou gasosos em minúsculas cápsulas, as quais podem liberar seu conteúdo a taxas controladas em condições específicas (Krishnan et al., 2005). O objetivo é facilitar sua manipulação, transporte e adição em formulações, solucionando limitações no emprego de ingredientes alimentícios, visto que pode suprimir ou atenuar aromas indesejáveis, reduzir a volatilidade e

a reatividade além de aumentar a estabilidade destes em condições ambientais adversas, como na presença de luz, oxigênio e pH extremos (Trindade et al., 2008). Os principais encapsulantes geralmente empregados na indústria de alimentos encontram-se na Tabela 4.

Tabela 4. Principais agentes encapsulantes usados para alimentos.

| Classe | Encapsulante |
|---------------|--|
| Gomas | Goma arábica, alginato de sódio e carragena |
| Carboidratos | Amido, dextrina, xarope de milho |
| Lipídeos | Cera, parafina, triestearina, ácido esteárico, mono e diglicerídios, óleos, gorduras |
| Celulose | Carboximetilcelulose, metil e etil celulose, acetil celulose, nitrocelulose |
| Proteínas | Glúten, caseína, gelatina e albumina |

Fonte: Jackson e Lee (1991).

O encapsulamento é a técnica pela qual um material ou uma mistura de materiais é revestida ou encapsulada dentro de outro material ou sistema. O material revestido é chamado material ativo ou do núcleo, e o material de revestimento é chamado invólucro, material de parede, transportador ou encapsulante (Madene et al., 2006). A matriz encapsulante, além de proteger o núcleo contra degradações químicas, atua como um estabilizante das propriedades físicas do produto, já que evita a aglomeração dos pós, muito comum no caso de produtos ricos em açúcares (Bhandari et al., 1993).

A escolha do método de microencapsulação é orientada pelas propriedades (físicas e químicas) do material encapsulado, do encapsulante e pelo propósito da aplicação do ingrediente (Desai e Park, 2005; Madene et al., 2006). Na Tabela 5 são apresentadas as principais tecnologias utilizadas para encapsulação que podem ser divididas em processos físicos e mecânicos.

Tabela 5. Principais métodos de encapsulação.

| Processo de Encapsulação | Principais etapas na Encapsulação |
|---|---|
| <i>Spray Cooling</i> <i>Spray Chilling</i> Atomização | Preparação da emulsão; Homogeneização da emulsão; Atomização da emulsão. |
| Leito Fluidilizado | Preparação da solução de recobrimento; Fluidização das partículas do ativo; Recobrimento das partículas do núcleo. |
| Extrusão | Preparação da solução fundida de recobrimento; Dispersão do material ativo na solução fundida; Resfriamento da mistura. |
| Liofilização <i>Freeze-drying</i> | Mistura do material ativo em uma solução de recobrimento; Congelamento da solução; Secagem por sublimação da mistura congelada. |
| Coacervação | Formação de três fases químicas imiscíveis; Deposição do coacervado; Solidificação do coacervado. |
| Inclusão molecular | Formação de um complexo de inclusão utilizando ciclodextrina como encapsulante. |

Fonte: Desai e Park (2005); Madene et al., (2006).

O *Spray cooling/chilling* é uma tecnologia utilizada rotineiramente para o encapsulamento de uma série de sais orgânicos e inorgânicos, bem como ingredientes de textura, enzimas, sabores e outros ingredientes funcionais para melhorar a estabilidade ao calor, retardar a liberação em ambientes úmidos, e / ou converter ingredientes líquidos hidrofílicos em pó (Goin, 2004). A microencapsulação por *spray chilling* é fundamentada na atomização de misturas lipídicas na forma líquida (abaixo do ponto de fusão dos lipídeos) contendo a substância de interesse numa câmara refrigerada. As gotículas formadas por atomização contendo o material central se tornam rígidas,

quando em contacto com o ar frio na câmara de atomização e formam micropartículas lipídicas sólidas (Chambi et al., 2008).

A coacervação pode ser simples ou complexa. A coacervação simples envolve apenas um tipo de polímero, com a adição de agentes fortemente hidrofílicos à solução coloidal e para a coacervação complexa, são usados dois ou mais tipos de polímeros. Em ambos os casos, a mistura de coacervação deve ser continuamente agitada (Madene et al., 2006).

Os mecanismos de liberação dos materiais ativos microencapsulados variam de acordo com a natureza do agente encapsulante, sendo que normalmente ocorrem devido a mecanismos como: variação de temperatura e de pH, solubilidade do meio, biodegradação, difusão, ruptura mecânica, permeabilidade seletiva e gradiente de concentração existente em relação ao meio de liberação (Bakan, 1973).

1.8.1. Secagem por Atomização

Dentre as técnicas existentes de encapsulamento, a de secagem por atomização (*spray drying*) é a mais utilizada (Dziezak, 1988; Shahidi e Han, 1993). A secagem por atomização é um dos métodos mais empregados para a microencapsulação, devido a grande disponibilidade de equipamentos, baixo custo do processo, possibilidade de emprego de uma ampla variedade de agentes encapsulantes, boa retenção de compostos voláteis e estabilidade do produto final (Ersus e Yurdagel, 2007).

A qualidade dos produtos obtidos por atomização depende das características do atomizador e da transferência de calor e massa entre o ar aquecido e as gotículas da câmara de secagem. O líquido é disperso utilizando-se alta pressão ou força centrífuga, para aumentar a área superficial e expor as gotículas de pequeno diâmetro ao ar de secagem a altas temperaturas (Furuta et al., 1994).

A preparação da dispersão ou emulsão a ser processada por *spray dryer* envolve os seguintes passos básicos: preparo de uma solução contendo o material ativo; seleção da matriz (material de parede) de acordo com a aplicação final, onde o material ativo é geralmente insolúvel ou imiscível; adição do material a ser encapsulado à solução com material de parede, com

agitação para homogeneizar e resultar em uma dispersão ou emulsão, que será a alimentação do atomizador do *spray dryer*; nebulização dessa suspensão em uma câmara de secagem com ar quente circulando (*spray drying*) e evaporação da umidade das gotas quando em contato com o ar quente, recuperando-se o produto em pó, que constitui o material microencapsulado (Dziezak, 1988; Shahidi e Han, 1993).

1.8.2. Material Encapsulante

Um dos principais fatores que influenciam a estabilidade de compostos encapsulados é a natureza do material encapsulante (Rosenberg et al., 1990). Segundo Brazel (1999), a escolha do agente encapsulante depende de uma série de fatores como técnica utilizada para microencapsulação, tipo de aplicação do produto, propriedades físicas e químicas do núcleo (porosidade, solubilidade) e da parede (viscosidade, propriedades mecânicas, transição vítrea, capacidade de formação de filme), compatibilidade do núcleo com a parede e fatores econômicos.

De acordo com Shahidi e Han (1993), os materiais de parede, que são basicamente formadores de filmes protetores, podem ser selecionados a partir de uma larga variedade de polímeros sintéticos ou naturais, dependendo do material a ser encapsulado e das características finais desejadas para as microcápsulas.

1.8.2.1. Goma Arábica

A goma acácia, também conhecida como goma arábica, é um exsudado natural obtido do tronco da *Acacia Senegal*. É um polímero formado por moléculas de ácido D-glucurônico, L-raminose, D-galactose e L-arabinose (Shahidi e Han, 1993). As propriedades químicas e físico-químicas da goma arábica sofrem modificações, dependendo da idade da planta, origem, condições climáticas e tipo de armazenamento (Mothé e Rao 1999). A goma arábica dissolve-se facilmente quando agitada em água e é a única entre as gomas alimentícias que apresenta alta solubilidade e baixa viscosidade em solução, facilitando o processo de atomização (Rosemberg et al., 1990).

A goma arábica é considerada um prebiótico porque, além de não ser digerida, como no caso das fibras, ela promove o desenvolvimento de bactérias

benéficas no intestino e através de sua fermentação, há produção de ácidos graxos de cadeia curta como o ácido propiônico. Outros benefícios atribuídos ao consumo regular de goma arábica são a redução da absorção da glicose, aumento da massa fecal devido à incorporação de água nas fezes e redução do colesterol sérico (Cherbut et al., 2003; Phillips et al., 2008).

1.8.2.2. Polidextrose

É um polissacarídeo com um grau médio de polimerização de cerca de 10 resíduos de glicose obtido pela polimerização térmica de D-glicose na presença de sorbitol e de ácido fosfórico (Ribeiro et al., 2003). Todas as possíveis ligações glicosídicas com o carbono anomérico da glicose estão presentes: α e β 1-2, 1-3, 1-4 e 1-6, sendo que as ligações 1-6 predominam (Flood et al., 2004).

É um polímero de alta massa molecular resistente ao metabolismo humano e à degradação microbiana. Estas características conferem propriedades tecnológicas favoráveis, como um agente de volume funcionalmente semelhante ao da sacarose e apelo ao consumidor como um produto não-cariogénico e de baixo valor calórico. Foi aprovado como um aditivo alimentar pelo Food and Drug Administration, para uso como suplemento nutricional, texturizante, estabilizador ou espessante e umectante (Burdock e Flamm, 1999). A polidextrose é um polissacarídeo não-digerível, com 1 kcal/g, usado principalmente como um substituinte de açúcar e fibra dietética em alimentos; em típicos níveis de utilização, proporciona efeitos fisiológicos semelhantes às de outras fibras dietéticas (Flood et al., 2004). Estes efeitos incluem a melhoria da função intestinal (por exemplo, prevenção da constipação), estímulo do crescimento de bactérias benéficas tais como a espécie de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* e, uma consequente diminuição na formação de metabolitos de bactérias prejudiciais, e regeneração da mucosa do cólon (Kripke et al., 1989).

CAPÍTULO 2.

Artigo 1:

**Kinetic and Thermodynamic of Thermal Inactivation of the Peroxidase,
Polyphenoloxidase and Inulinase Activities during Bleaching of Yacon
(*Smallanthus sonchifolius*) Juice.**

Camila Carvalho Lago^{1*}, Caciano Pelayo Zapata Noreña¹

¹ Institute of Food Science and Technology, Federal University of Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves, 9500, 91501-970 Porto Alegre, RS, Brazil.

* Corresponding author:

Av. Bento Gonçalves 9500, Campus do Vale 91501-970

Tel: +55 51 33086673 Fax: +55 51 3308.7048

E-mail address: camilaclago@yahoo.com.br (C. C. Lago).

**Artigo publicado no Food Bioprocess and Technology
(v. 7, p.3560–3568, 2014)**

ABSTRACT

The present study evaluated the kinetics and thermodynamic parameters for the thermal inactivation of peroxidase (POD), polyphenoloxidase (PPO) and inulinase (INU) of yacon juice. The yacon juice was acidified with 1% citric acid prior to blanching at different time-temperature combinations in the range of 0-10 minutes, and 80-100 °C. The kinetic behavior of the three enzymes following the biphasic model. The velocity constants increased with increasing temperature for both the labile and the heat resistant components, while D values decreased. The activation energy of the heat-labile fractions (E_{aL}) were 38.19, 16.05, 30.08 kJ/mol, while the heat-resistant fractions (E_{aR}) presented activation energy of 30.65, 71.94, 41.86 kJ/mol for POD, PPO and INU, respectively. The thermodynamic analysis showed that the process is non-spontaneous ($\Delta G > 0$), endothermic (positive enthalpy values) and the enzyme aggregation step is the rate determining of the reaction (negative entropy values).

Keywords: yacon, blanching, enzyme kinetics, denaturation, thermodynamic, aggregation.

1. Introduction

The yacon is a root that has been used for centuries as a staple food among the population from the Andean countries, with potential health-promoting properties, including antidiabetic, prebiotic and antioxidant effects. Cazetta et al. (2005) reported that the yacon stores inulin or frutoligosacarides (3-10%) with relatively low energy value. Frutoligosacarides have been found to be prebiotics and soluble dietary fiber, once they are not digestible by enzymes in the human digestive tract, selectively stimulate the growth and activity of health promoting bacteria (Gibson and Roberfroid 1995). However, the yacon root is characterized by its quick deterioration and rapid browning. The presence of phenolic compounds such as chlorogenic acid, and the amino acid L-tryptophan makes the tuberous roots of yacon susceptible to browning reaction caused by the enzymes peroxidase and polyphenoloxidase (Padilha et al. 2009). Blanching yacon juice aims to control enzymatic browning and inactivation of inulinase in order to maintain the integrity of the inulin and frutoligosacarides molecules, thus preserving its prebiotic activity.

Peroxidase catalyzes the oxidation reactions using peroxides or oxygen as hydrogen acceptor, whose mechanism is based on the formation of a complex enzyme/hydrogen donor (Hemeda and Klein 1990). The hydrogen donor may be phenols, amines and other organic compounds or products formed during the oxidation (Soysal and Söylemez 2005). Thermal inactivation of peroxidase usually occurs in a biphasic cycle due to the presence of isoenzymes with different thermal stability (Günes and Bayindirli 1993; Ling and Lund 1978). Polyphenoloxidase is a copper containing enzyme that in the presence of oxygen catalyzes the oxidation of phenolic substrates in quinones, which in turn are polymerized in brown, red or black pigments (McEvily and Iyengar 1992).

Inulinases are β -fructans fructanohidrolases that hydrolyze inulin to produce fructose and frutoligosacarides (Vandamme and Derycke 1983). The reaction primarily involves the action of two enzymes: the exo-inulinase catalyzes removal of the terminal fructose residues from the non-reducing end of the inulin molecule while the endo-inulinase hydrolyzes the internal linkages in inulin to yield inulotriose, inulotetraose, and inulopentaose as the main products (Chi et al. 2011). The total or partial hydrolysis of inulin, leading to syrups with high fructose content, usually designated ultra-high fructose syrups or to functional sweeteners, respectively, is achieved by the action of exoinulinase or the synergistic action of exoinulinase and endoinulinase (Nakamura et al. 1995).

Blanching is a heat treatment used to inactivate enzymes that catalyze deterioration reactions in vegetables during storage. However, blanching may also cause undesirable changes in product as nutrient loss through thermal degradation, diffusion and leaching (Günes and Bayindirli 1993). The efficiency of this process depends on knowledge about enzyme inactivation kinetics and the proportions of heat-labile and heat-resistant fractions (Agüero et al. 2008). According to Ling and Lund (1978), the inactivation biphasic model was proposed to describe the inactivation kinetics of an enzyme system formed by a heat labile and a heat resistant fraction, both showing first-order inactivation kinetics. The inactivation kinetics can also be evaluated by thermodynamic parameters such as free energy (ΔG), enthalpy (ΔH) and entropy (ΔS), which

can be estimated for reactions in foods and can provide important information on thermal kinetics.

The aim of this study was to evaluate the inactivation kinetic and thermodynamic parameters of the peroxidase, polyphenoloxidase and inulinase activities during blanching of yacon juice.

2. Materials and methods

2.1. Material

Yacon roots (*Smallanthus sonchifolius*) grown in the State of São Paulo were purchased in the Central Supply of Rio Grande do Sul (Ceasa) in Porto Alegre - RS, Brazil. The roots were cleaned and selected considering the absence of visual damage and infections, and stored under refrigeration (8 ± 1 °C) until use. The yacon roots were washed in water, peeled and sliced with a mean diameter of 2 ± 0.3 mm and subjected to a Centrifugal Juice Extractor (Kenwood, model JE600) to extract the juice, to which 1% (w/v) citric acid was added to avoid browning. Then, the juice was filtered on Whatman filter paper No. 01 with the aid of a vacuum pump prior to blanching.

2.2. Heat Treatment

The samples were subjected to the blanching process, which consisted of placing 5 ml of yacon juice in test tubes of 10×100 mm preheated in a water bath at 80, 90 and 100 °C for 1, 2, 4, 6, 8 and 10 minutes. After blanching, the tubes were immediately immersed in a recipient containing ice for 3 minutes (Agüero et al. 2008).

2.3. Preparation of the Enzyme extract

Yacon juice was mixed with 0.05 M phosphate buffer solution (pH 7.0) in a ratio of 1:1 at a maximum temperature of 4 °C for the three enzymes studied. Subsequently, the suspension was vacuum filtered using Whatman filter paper No. 01 and centrifuged at 1680g for 10 min at 4 °C, thus obtaining the enzyme extract (Serradell et al. 2000).

2.4. Peroxidase activity

POD activity was determined using the method described by Hultin et al. (1966), which consisted of mixing 3 mL enzyme extract with 5 mL (0.1 M, pH 5.0) phosphate buffer, 0.5 mL (3%, v/v) hydrogen peroxide and 0.5 mL guaiacol. The mixture was incubated at 30°C for 5 min and 1 mL (30%, w/v) sodium bisulfate then added to interrupt the enzymatic reaction and the reading carried out in a UV–visible spectrophotometer (Shimadzu-1800) at 470 nm.

2.5. Polyphenoloxidase activity

PPO activity was determined by the method described by Teisson (1979) using a UV–visible spectrophotometer (Shimadzu-1800). An aliquot of 0.5 mL of enzyme extract was mixed with 1.8 mL (0.05 M, pH 7.0) phosphate buffer and 0.05 mL 10 mM catechol and incubated in a water bath at 30°C for 30 min. An aliquot of 0.8 mL 2 N perchloric acid was then added to interrupt the enzymatic reaction and the absorbance read at 395 nm.

2.6. Inulinase activity

Inulinase activity was determined using the methodology of Sharma and Gill (2007) with some modifications. The trial consisted of using 0.4 mL enzyme extract, 0.45 mL (2%, w/v) inulin dissolved in 0.1 M citrate–phosphate buffer (pH 6.0) and 0.15 mL (0.1 M, pH 6.0) citrate–phosphate buffer. The mixture was incubated at 30°C for 1 h and the reaction then interrupted by placing in a boiling water bath (100°C) for 10 min. One milliliter dinitrosalicylic acid was then added and the absorbance read in a UV–visible spectrophotometer (Shimadzu-1800) at 570 nm.

One unit of enzyme activity was defined as an increase of 0.001 absorbance units per min of reaction.

2.7. Enzyme kinetics

The experimental data of the enzymatic activity of peroxidase, polyphenoloxidase and inulinase were assessed using the biphasic inactivation model formed by a heat-labile and a heat-resistant fraction, both with first-order inactivation kinetics (Ling and Lund 1978), according to Equation (1):

$$y = a_L \exp^{-k_L t} + b_R \exp^{-k_R t} \quad (1)$$

where y is the residual activity of the enzymes, k_L and k_R are the velocity constants, a_L and b_R are the initial concentrations of the heat-labile and heat-resistant component, respectively, and t is the blanching time. The time where the residual activity reaches 50% is known as the half-life ($t_{1/2}$):

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

The decimal reduction time (D) was calculated according to Equation (3):

$$D = \frac{\ln(10)}{k} \quad (3)$$

The velocity constants of first order (k) of thermal inactivation and decimal reduction time for the isoenzyme fractions is related to temperature using the Arrhenius equation and the thermal destruction coefficient (z), respectively, using the Equations (4) and (5):

$$k = A \exp\left(\frac{-E_a}{RT}\right) \quad (4)$$

$$\log(D) = \frac{1}{z} \cdot T \quad (5)$$

where E_a is the activation energy (kJ mol^{-1}), k is the velocity constant (s^{-1}), A is the Arrhenius constant, R is the universal gas constant ($8.314 \text{ J mol K}^{-1}$) and T (K) is the absolute temperature.

2.8. Thermodynamic parameters

The activation energy and the inactivation velocity constant were used to determine the following thermodynamic parameters: Gibbs free energy change (ΔG), the enthalpy change (ΔH) and entropy change (ΔS), according to the Equations (6), (7), and (8) (Labuza 1980):

$$\Delta G = -R \cdot T \cdot \ln\left(\frac{k \cdot h_p}{K_B \cdot T}\right) \quad (6)$$

$$\Delta H = E_a - R \cdot T \quad (7)$$

$$\Delta S = \left(\frac{\Delta H - \Delta G}{T}\right) \quad (8)$$

where K_B is the Boltzmann's constant ($1.3806 \times 10^{-23} \text{ J K}^{-1}$) and h_p is Planck's constant ($6.6262 \times 10^{-34} \text{ Js}$).

2.9. Statistical Analysis

The results were analyzed by ANOVA and Tukey's multiple test for comparison between treatments, using the software SAS 9.3 (SAS Institute Inc.). The estimation of kinetic parameters of the models was performed by nonlinear regression analysis using the software Sigma Plot 8.0.

3. Results and discussion

3.1. Pretreatment with citric acid

The initial enzymatic activity of yacon juice was 165.17 ± 2.78 ; 89.17 ± 2.60 ; and $15.00 \pm 0.89 \text{ U mL}^{-1}$ for peroxidase, polyphenoloxidase and inulinase, respectively. After the citric acid addition, these values decreased to 9.67 ± 0.28 ; 2.90 ± 0.047 ; and $2.17 \pm 0.05 \text{ U mL}^{-1}$, indicating 94% loss of activity for peroxidase, 97% for PPO and 86% for inulinase.

The pH of the yacon juice was 6.14, which decreased to 2.93 after acid addition. Citric acid is the most commonly used acidulant in the food industry to prevent browning, having a dual inhibitory effect on PPO, since it decreases pH and chelates copper from the active site of the enzyme (McEvily and Iyengar 1992). Lattanzio and Linsalata (1989) evaluated the addition of 1% citric acid or ascorbic acid in artichoke roots, and reported that both acids decreased markedly caffeic acid content in the roots, as well as decreased PPO activity. According to these authors, this reduction is attributed to the copper-chelating activity of both compounds and not to pH changes, since both the product treated as the untreated had pH values between 6.0 and 6.2. Montero et al. (2001) reported that when the pH is reduced to 2.8 with citric acid addition, the inhibition of shrimp PPO was complete. Liu et al. (2013) evaluated the effect of different concentrations of citric acid on polyphenol oxidase, and concluded that increasing acid concentration (from 5 to 30 mM) the enzyme activity reduced from 92.3 to 24.2%. Similarly, although the purified PPO from vanilla was very stable in the pH range of 7-10, at temperatures of 15 and 30 °C, its activity

reduced rapidly at pH values below 5, to achieve minimal residual activity at pH 3.0 (Waliszewski et al. 2009).

3.2. Thermal inactivation of peroxidase and polyphenoloxidase of yacon juice

The yacon root darkens rapidly on storage, cutting, or during processing, and this tendency could be related to its phenolic content, especially to the levels of chlorogenic, caffeic acids and ferulic acid (Simonovska et al. 2003) and the endogenous PPO activity. Therefore, it is very important to avoid oxidation of phenols in yacon during the processing to maintain the dietary value these products, controlling the enzymatic browning by thermal treatment, addition of antioxidant, or both (Neves and Silva, 2004).

After the citric acid addition, the yacon juice was subjected to blanching at 80, 90 and 100 °C. The enzymatic activities of peroxidase and polyphenoloxidase of yacon juice as a function of blanching time are shown in Figures 1 and 2. The activity of both enzymes decreased with increasing blanching time and temperature, with a fast drop in the first minute. Then, the activity continued decreasing, but slowly up to 10 minutes of blanching. This behavior was also observed in a study of thermal inactivation in steam blanched yacon slices (Fante et al. 2013). This suggests the presence of at least two isoenzymes with different thermal stability (Anese and Sofrano 2006), one of which is a heat-labile fraction thus is rapidly inactivated, and the other is a heat-resistant fraction that cannot be totally inactivated in short periods.

The enzymatic activity of peroxidase showed no significant difference ($p > 0.05$) both after 4 minutes of blanching at 80 °C, and after six minutes at 90 °C and 100 °C. After 10 minutes, the residual activity decreased to 5.03 ± 0.33 ; 4.07 ± 0.09 ; and $3.37 \pm 0.28 \text{ U mL}^{-1}$ at 80, 90 and 100 °C, respectively, resulting in inactivation of 47.93, 57.93 and 65.17%. The peroxidase activity showed no significant difference in the times of 1-8 minutes between temperatures of 90 and 100 °C.

For PPO, the losses of activity after blanching were 50.57; 65.52; and 80.46% at 80, 90 and 100 °C, respectively, with no significant difference after 6 minutes at 80 °C, and after 8 minutes at the other two temperatures. For the temperatures between 80 and 90 °C, the PPO activity showed no statistical difference in 1, 2, 4 and 6 minutes of blanching.

Fante et al. (2013) reported that for steam blanched yacon slices at 100 °C, the initial enzymatic activity of 25.34 and 22.01 U g⁻¹ decreased to 3.20 and 2.34 U g⁻¹, resulting in inactivation of 87.37% and 89.37% for polyphenoloxidase and peroxidase, respectively.

3.3. Thermal inactivation of inulinase of yacon juice

During blanching, there was a loss of enzymatic activity of inulinase with time (Figure 3) at all temperatures, with a fast drop in the first minute. After that, the activity continued decreasing, but slowly up to 10 minutes of blanching.

According to ANOVA, after one minute of blanching, the temperature had no significant effect on the inulinase activity. After 10 minutes of blanching, the enzyme activity was 1.73 ± 0.09 ; 1.53 ± 0.09 ; and 1.40 ± 0.09 U mL⁻¹, which corresponded to inactivation of 20.12; 29.34; and 35.48 % at 80, 90 and 100 °C, respectively. Trivedi et al. (2012) studied the optimization of inulinase production, and found maximum activity at 60 °C, pH 5.0, retaining more than 90% of its activity for about 4.5 hours and about 50% after 9 hours. Cazetta et al. (2005) studied the inulinase from yacon obtained by *Kluyveromyces marxianus* and reported that the highest activity was reached at 60 °C and pH 4.0.

The inulinase enzyme should be inactivated when you want to maintain the integrity of the inulin molecule because according to Castro et al. (2013), the fructose content in yacon can increase as a result of the enzymatic hydrolysis of fructooligosaccharides and inulin. Bohm et al. (2005) illustrated that heat treatment of inulin causes the long fructose chains to be decomposed into other products, such as fructose. In this study, dry heating of inulin from chicory at between 135°C to 195°C for 60 min caused significant decomposition of the fructan ranging from 20% to 100%. In study of FOS of the apple pulp, the amount of monomers increases monotonously as the result of FOS degradation (Matusek et al. 2011).

3.4. Enzyme Inactivation Kinetics

The estimated kinetic parameters and correlation coefficients, as well as the activation energy, are presented in Table 1.

The regression analysis showed that the data were adjusted for the biphasic model ($R^2 = 0.99$) for all temperatures. This model used to describe the enzyme thermal inactivation kinetics consists of the separation into two groups with respect to their thermal stability, one component being heat labile and other resistant and both following first order kinetics (Ling and Lund 1978).

Morales-Blancas et al. (2002) studied the POD inactivation kinetics at temperatures varying from 70 to 95 °C using the first-order biphasic model for enzymatic inactivation in broccoli, asparagus and carrots. According to some authors, POD inactivation kinetics between 70 and 100 °C usually occur in biphasic cycles due to the presence of isoenzymes with different thermal stability (Günes and Bayindirli 1993; Ling and Lund 1978). Several studies have shown the enzyme kinetics by the biphasic model: radish PPO inactivated at temperatures of 60, 70, 80 and 90 °C (Goyeneche et al. 2013); vanilla PPO in the temperature range of 60-80 °C (Waliszewski et al. 2009), POD, PPO and inulinase of sliced garlic subjected to blanching at 80 to 90 °C and steam blanching at 100 °C (Fante and Noreña 2012).

The velocity constants increased with increasing temperature for both the labile and the heat resistant fractions for all enzymes, as shown in several studies (Liu et al. 2013; Soyal and Soylemez 2005; Anese and Sovrano 2006), indicating that the enzymes were more stable at lower temperatures and enzyme inactivation was more rapid when the juice was subjected to blanching at higher temperature. In general, k values increase with temperature, with higher values for the labile fractions than for the heat-resistant fractions (Morales-Blancas et al. 2002). Fante and Noreña (2012) evaluated blanched garlic slices and found k_L and K_R values of 2.90-5.40 min^{-1} and 0.04-0.07 min^{-1} for peroxidase, 2.04-2.20 and 0.03-0.04 min^{-1} for polyphenoloxidase, and 2.24-4.11 and 0.03-0.07 min^{-1} for inulinase, respectively. The half-life values estimated using these constants showed that inulinase was the most resistant of the evaluated enzymes ($t_{1/2100^\circ\text{C}}$ de 41min), followed by peroxidase ($t_{1/2100^\circ\text{C}}$ 17min) and polyphenoloxidase ($t_{1/2100^\circ\text{C}}$ 7min). It is well known that as the temperature increases, k value also increases while a decrease occurs in $t_{1/2}$ value (Sagdic et al. 2013; Wang and Xu 2007; Harbourne et al.2008).

The dependence of the inactivation velocity constant with temperature were adjusted by using the Arrhenius equation with high correlation values,

indicating that the enzyme inactivation of yacon juice occurred by a single mechanism dependent on the temperature (Waliszewski et al. 2009; Gouzi et al. 2012). For peroxidase, the activation energy of the labile fraction was higher than heat-resistant fraction, as previously reported in studies on the inactivation kinetics of purified peroxidase (Ling and Lund 1978), peroxidase and lipoxygenase in broccoli, asparagus and potatoes (Morales-Blancas et al. 2002).

Other studies showed that the activation energy of the labile fraction was lower than that of the heat-resistant fraction for peroxidase. This behavior has been reported by Soyal and Soylemez (2005) in studies on carrot peroxidase inactivation at 35 to 75 °C, where E_{aL} and E_{aR} values were $8.96 \times 10^4 \text{ J mol}^{-1}$ and $14.8 \times 10^4 \text{ J mol}^{-1}$, respectively. Günes and Bayindirli (1993) reported that the E_a values for POD and lipoxygenase of the labile fraction were lower than the values of the heat-resistant fraction in the temperature range of 70 to 96.8 °C. The enzymes polyphenoloxidase and inulinase of the present study showed this behavior, indicating that the labile fraction is more stable at high temperatures.

In thermal processing, it is common to characterize the first-order reactions in terms of D and z values. The values of these parameters for the peroxidase, polyphenoloxidase and inulinase at all blanching temperatures are shown in Table 2.

The D values for the three enzymes decreased with increasing temperature, indicating more rapid inactivation at higher temperatures. It can be seen that the D values for POD were higher than those for PPO, which is in agreement with previous studies, since POD is more thermally stable than the PPO and requires high temperatures for its complete inactivation (Günes and Bayindirli 1993). The highest D_R values, i.e. the time it takes for a 90% inactivation of isoenzymes, show the high thermal resistance of the enzymes evaluated, with the highest values for inulinase. This suggests that usual blanching treatments (a few minutes in boiling water or steam) are not sufficient for its complete inactivation (Anese and Sovrano 2006). In our study, the lowest value of the reaction velocity constant was obtained for the heat-resistant fraction of inulinase at 80 °C (0.008 min^{-1}) with the highest D_R value (287.8 min). At the highest temperature evaluated in this study, it was found that the enzyme

polyphenoloxidase was the most sensitive ($D_R = 23.74$ min) and inulinase was the most stable ($D_R=135.47$ min).

The high z values found in our experiments: 66.23 and 82.64 °C for peroxidase, 156.25 and 35.09 °C for PPO and 83.33 and 60.98 °C for inulinase suggest that the three enzymes are quite stable, since high z values indicate a low sensitivity to temperature changes. From the velocity constants obtained by Fante and Noreña (2012) in blanched garlic slices, it was possible to estimate the z values for peroxidase, PPO, and inulinase, being 74.07 and 79.37 °C; 625.00 and 181.82 °C, and 75.76 °C and 57.47 °C, respectively.

3.5. Thermodynamics Analysis

The thermodynamic functions (Gibbs free energy, enthalpy and entropy) are shown in Table 3, which provide information on the thermal stability of the enzyme for each stage of the heat-induced denaturation (Gouzi et al. 2012).

The ΔG results of this study are in the range of 96.98 to 117.38 kJ mol⁻¹, in the same order of magnitude expected for protein and enzyme denaturation, and close to the values found in the thermodynamic study on mushroom PPO that were 96.4 to 103.3 kJ mol⁻¹ at 50-65 °C (Liu et al. 2013); 95.2 to 103 kJ mol⁻¹ at 50-73 °C (Gouzi et al. 2012), and on milk proteins with ΔG values of 105-113 kJ mol⁻¹ at 60-100 °C (Euston et al. 2009). According to Labuza (1980), ΔG values are relatively constant for proteins, around 100 kJ mol⁻¹, indicating that similar factors affect the degradation rate (similar degradation mechanism). The positive ΔG values indicate that the inactivation process was not spontaneous ($\Delta G > 0$).

The enthalpy results show that the effect of temperature was not significant for all enzymes, which was also observed by Gouzi et al. (2012), assuming that in this case the enthalpy is independent of temperature. The thermal denaturation of enzymes results in the breakdown of non-covalent bonds, including hydrophobic interactions concomitant with increase in the enthalpy of activation (ΔH) (Hussain et al. 2009). In general, ΔH is defined as a measure of the number of non-covalent bonds broken during a transition state prior to enzyme inactivation, and the higher the ΔH value, the greater the number of non-covalent bonds present in the enzyme molecule (Gouzi et al. 2012).

According to Euston et al. (2009), the E_a , ΔH and ΔS values can explain the protein denaturation and aggregation mechanism, which consists of two phases. First, the protein denaturation occurs, followed by aggregation and formation of a precipitate or a gel if the concentration is high enough; one of these phases will determine the overall reaction rate. If the denaturation step is rate limiting, it is expected that E_a and ΔH values are high and positive. The high values of E_a and ΔH are a consequence of the energy that must be put into the system to overcome the interaction forces holding the protein tertiary structure together. In this case, positive entropy indicates that the denaturation of protein structure becomes more disordered (Euston et al. 2009).

On the other hand, if the aggregation step in the reaction is rate limiting, the activation energy and enthalpy will be lower, since fewer intermolecular bonds are formed in the aggregation process and the state of order of the system is increased (Anema and McKenna 1996) resulting in negative entropy values (Euston et al. 2009). As can be seen in Table 3, the ΔS values are negative due to possible aggregation of partially unfolded molecules, which predominate after exposure of protein to high temperatures.

3.6. Effect of citric acid and heat treatment

Steventon et al. (1991) suggested two steps for denaturation/aggregation of globular proteins: first, the native protein is denatured, followed by the aggregation process and subsequent formation of aggregates of inactive molecules. According to Apenten (1998), the two-phase model is applicable to enzyme deactivation processes, in which during deactivation the irreversible state is formed by enzyme aggregation, peptide bond hydrolysis, or deamination.

The addition of citric acid to yacon juice resulted in a decrease of pH to 2.93, causing denaturation and subsequent aggregation of inactive enzymes when subjected to blanching. Proteins are more stable against denaturation at their isoelectric point than any other pH, so that the strong intramolecular electrostatic repulsion caused by high net charge at extreme pH values results in expansion and unfolding of the protein molecule (Damodaran et al. 2010). Liu et al. (2013) analyzed the PPO conformation by circular dichroism and fluorescence spectroscopy at different citric acid concentrations and found that

the secondary and tertiary structure of PPO have changed greatly, once its conformation has been deployed by the acid due to the decrease in the number of non-covalent bonds in the molecule. Conformational changes in the native protein where the functional groups become exposed improve the protein interaction and rearrangement, which favor the formation of aggregates (Wang and Damodaran 1991). It has been demonstrated experimentally and by simulation that the aggregation starts from a partially unfolded conformation in more exposed hydrophobic regions compared to its native structure (Zhang et al. 2008), and the aggregation occurs when these hydrophobic surfaces interact in an intermolecular form. The pH-induced denaturation is mostly reversible, however in some cases, partial hydrolysis of peptide bonds and destruction of sulfhydryl groups at alkaline pH or aggregation may result in irreversible protein denaturation (Damodaran et al. 2010).

In our study, a small fraction of each enzyme: 6% peroxidase, 3% polyphenoloxidase and 14% inulinase were not inactivated by the acid citric addition. Subsequently, the acidified yacon juice was subjected to heat treatment and after 10 minutes of blanching at the highest temperature, the enzyme inactivation was 65.17, 80.46 and 35.48% for peroxidase, polyphenoloxidase and inulinase, respectively. According to Anema and McKenna (1996), only the denatured protein may form aggregates. Therefore, the aggregation process shown by thermodynamic analysis (low E_a and enthalpy values and negative entropy) probably occurred for both the molecules denatured by acid when exposed to high temperatures and those denatured by heat during heat treatment.

The same behavior was observed by Euston et al. (2009) who studied thermal stability of soy and milk proteins at temperatures from 70 °C. Anema and McKenna (1996) reported that the milk proteins β -lactoglobulins and α -lactalbumin showed negative ΔS values from 85 to 100 °C, suggesting that at higher temperatures, irreversible chemical processes, probably aggregation reactions become rate-determining. Ortega et al. (2004) also found negative entropy values for the enzyme polygalacturonase, which can be explained by the possible aggregation of the partially unfolded enzyme molecule during exposure to high temperatures.

In addition, the kinetic analysis showed that a small fraction of the enzymes peroxidase, polyphenoloxidase and inulinase of yacon juice was not inactivated by the acid-heat combination, indicating high stability of these enzymes.

4. Conclusion

The blanching was appropriately adjusted to the inactivation biphasic model for the three enzymes. The enzyme peroxidase, polyphenoloxidase and inulinase presented a heat-labile and heat resistant fractions and the velocity constants increased with temperature for both fractions.

Kinetic analysis showed high DR values, evidencing the high thermal resistance of the enzymes evaluated, with the highest values for inulinase. The thermodynamic analysis showed that the process was not spontaneous ($\Delta G > 0$) and the aggregation step of the denatured molecules was the rate determining of the reaction, confirmed by the low values of enthalpy and activation energy and negative entropy values. The addition of citric acid to yacon juice caused enzymes denaturation, which aggregated during heat treatment.

References

- Agüero, M.V., Ansorena, M.R., Roura, S.I., & Valle, C.E. (2008). Thermal inactivation of peroxidase during blanching of butternut squash. *LWT - Food Science and Technology*, 41, 401–407.
- Anema, S.G., & McKenna, A.B. (1996). Reaction kinetics of thermal denaturation of whey proteins in heated reconstituted whole milk. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44, 422–428.
- Anese, M., & Sovrano, S. (2006) Kinetics of thermal inactivation of tomato lipoxygenase. *Food Chemistry*, 95, 131-137.
- Apenten, R.K.O. (1998). The effect of protein unfolding stability on their rates of irreversible denaturation. *Food Hydrocolloids*, 12, 1-8.
- Böhm, A., Kaiser I., Trebstein A., Henle T. (2005). Heat-induced degradation of inulin. *European Food Research and Technology*, 220,466-471.
- Castro, A., Céspedes, G., Carballo, S., Bergenstahl, B., & Tornberg, E. (2013). Dietary fiber, fructooligosaccharides, and physicochemical properties of

- homogenized aqueous suspensions of yacon (*Smallanthus sonchifolius*), *Food Research International*, 50, 392–400.
- Cazetta, M.L., Martins, M.M.M., Monti, R., & Contiero, J. (2005). Yacon (*Polymnia sanchifolia*) extract as a substrate to produce inulinase by *Kluyveromyces marxianus* var. *bulgaricus*. *Journal of Food Engineering*, 66, 301–305.
- Chi, Z., Zhang, T., Cao, T., Liu, X., Cui, W. & Zhao, C. (2011). Biotechnological potential of inulin for bioprocesses, *Bioresource Technology*, 102, 4295–4303.
- Damodaran, S., Parkin, K.L., Fennema, O.R. (2010). *Química de Alimentos de Fennema*. 4ª ed. Porto Alegre: Artmed, 900p.
- Euston, S.R., Al-Bakkush, A.A., Campbell, L. (2009). Comparing the heat stability of soya protein and milk whey protein emulsions. *Food Hydrocolloids*, 23, 2485–2492.
- Fante, L., & Noreña, C.P.Z. (2012). Enzyme inactivation kinetics and colour changes in Garlic (*Allium sativum* L.) blanched under different conditions. *Journal of Food Engineering*, 108, 436-443.
- Fante, L., Scher, C.F., Noreña, C.P.Z., & Rios, A.O. (2013). Study of enzyme inactivation using steam in yacon (*Smallanthus sonchifolius*) roots. *Journal of Food Processing and Preservation*, 37, 16-24.
- Gibson, G.R., & Roberfroid, M.B. (1995). Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *Journal of Nutrition*, 125, 1401-1412.
- Gouzi, H., Depagne, C., & Coradin, T. (2012). Kinetics and Thermodynamics of the Thermal Inactivation of Polyphenol Oxidase in an Aqueous Extract from *Agaricus bisporus*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60, 500–506.
- Goyeneche, R., Di Scala, K., & Roura, S. (2013). Biochemical characterization and thermal inactivation of polyphenol oxidase from radish (*Raphanus sativus* var. *sativus*). *LWT - Food Science and Technology*, 54, 57-62.
- Günes, B., & Bayindirli, A. (1993). Peroxidase and lipoxygenase inactivation during blanching of green beans, green peas and carrots. *LWT - Food Science and Technology*, 26, 406–410.

- Harbourne, N., Jacquier, J.C., Morgan, D.J., & Lyng, J.G. (2008). Determination of the degradation kinetics of anthocyanins in a model juice system using isothermal and non-isothermal methods. *Food Chemistry*, 111, 204–208.
- Hemeda, H. M., & Klein, B.P. (1990). Effects of naturally occurring antioxidants on peroxidase activity of vegetable extracts. *Journal of Food Science*, 55, 184–187.
- Hultin, H.O., Sun, B., & Bulger, J. (1966). Pectin methyl esterases of the banana: purification and properties. *Journal of Food Science*, 31 (3), 320–327.
- Hussain, A., Rashid, M. H., Perveen, R., & Ashraf, M. (2009). Purification, kinetic and thermodynamic characterization of soluble acid invertase from sugarcane (*Saccharum officinarum* L.). *Plant Physiology and Biochemistry*, 47, 188–194.
- Labuza T. (1980). Enthalpy–entropy compensation in food reactions. *Food Technology*, 34(2), 67–77.
- Lattanzio, V., & Linsalata, V. (1989). The Beneficial Effect of Citric and Ascorbic Acid on the Phenolic Browning Reaction in Stored Artichoke (*Cynara scolymus* L.) Heads. *Food Chemistry*, 33, 93-106.
- Ling, A.C., & Lund, D.B. (1978). Determining kinetic parameters for thermal inactivation of heat-resistant and heat-labile isozymes from thermal destruction curves. *Journal of Food Science*, 43, 1307–1310.
- Liu, W., Zou, L., Liu, J., Zhang, Z., Liu, C., & Liang, R. (2013). The effect of citric acid on the activity, thermodynamics and conformation of mushroom polyphenoloxidase. *Food Chemistry*, 140, 289–295.
- Matusek, A., Merész, P., Le, T.K.D., & Orsi, F. (2011). Fructo -oligosaccharide degradation in apple pulp matrix. *Acta Alimentaria*, 40 (2), 182–193.
- McEvily, A.J., & Iyengar, R., (1992). Inhibition of enzymatic browning in foods and beverages. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 32, 253–273.
- Montero, P., Ávalos, A., Pérez-Mateos, M. (2001). Characterization of polyphenoloxidase of prawns (*Penaeus japonicus*). Alternatives to inhibition: additives and high-pressure treatment. *Food Chemistry*, 75, 317–324.

- Morales-Blancas, E.F., Chandia, V.E., Cisneros-Zevallos, L. (2002). Thermal Inactivation Kinetics of Peroxidase and Lipoxygenase from Broccoli, Green Asparagus and Carrots. *Journal of Food Science*, 67 (1), 146-154.
- Nakamura, T., Ogata, Y., Shitara, A., Nakamura, A., & Ohta, K. (1995). Continuous production of fructose syrups from inulin by immobilized inulinase from *Aspergillus niger mutant 817*. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 80, 164–169.
- Neves, V.A., & Silva, M.A. (2007). Polyphenol Oxidase from Yacon Roots (*Smallanthus sonchifolius*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 55, 2424–2430.
- Ortega, N., Diego, S., Perez-Mateos, M., & Busto, M.D. (2004). Kinetic properties and thermal behaviour of polygalacturonase used in fruit juice clarification. *Food Chemistry*, 88, 209–217.
- Padilha, V.M., Rolim, P.M., Salgado, S.M., Lireva, A.V.S., & Oliveira, M.G. (2009). Tempo de secagem e da atividade de óxido-redutases de yacon (*Smallanthus sonchifolius*) sob tratamento químico. *Ciência Rural*, 39(7), 2178-2184.
- Sagdic, O., Ekici, L., Ozturk, I., Tekinay, T., Polat, B., Tastemur, B., Bayram, O. & Senturk, B. (2013) Cytotoxic and bioactive properties of different color tulip flowers and degradation kinetic of tulip flower anthocyanins, *Food and Chemical Toxicology*, 58, 432–439.
- Serradell, M.A., Rozenfeld, P.A., Martinez, G.A., Civello, P.M., Chaves, A.R., Añón, M.C. (2000). Polyphenoloxidase activity from strawberry fruit (*Fragaria ananassa*, Duch., cv *Selva*): characterization and partial purification. *Journal of Science of the Food and Agriculture*, 80, 1421–1427.
- Sharma, A.D., & Gill, P.K. (2007). Purification and characterization of heat-stable exoinulinase from *Streptomyces sp.* *Journal of Food Engineering*, 79, 1172–1178.
- Simonovska, B., Vovk, I., Andrensek, S., Valentová, K. & Ulrichová, J. (2003). Investigation of phenolic acids in yacon (*Smallanthus sonchifolius*) leaves and tubers. *Journal of Chromatography A*, 1016, 89–98.
- Soyal, C., & Soylemez, Z. (2005). Kinetics and inactivation of carrot peroxidase by heat treatment. *Journal of Food Engineering*, 68, 349-356.

- Steventon, A. J., Gladden, L.F., & Fryer, P.J. (1991). A percolation analysis of the concentration dependence of the gelation of whey protein concentrates. *Journal of Texture Studies*, 22(2), 201-218.
- Teisson, C., (1979). Le brunissement interne de l' ananás. I-Historique. II-Material et méthodes. *Fruit* 34 (4), 245–281.
- Trivedi, S., Divecha, J., & Shah, A. (2012). Optimization of inulinase production by a newly isolated *Aspergillus tubingensis* CR16 using low cost substrates. *Carbohydrate Polymers*, 90, 483–490.
- Vandamme, E.J., & Derycke, D.G. (1983). Microbial inulinases: fermentation process, properties and applications. *Advances in Applied Microbiology*, 29, 139–176.
- Waliszewski, K.N., Márquez, O., & Pardo, V.T. (2009). Quantification and characterisation of polyphenol oxidase from vanilla bean. *Food Chemistry*, 117, 196–203.
- Wang, C.H., & Damodaran, S. (1991). Thermal gelation of globular proteins: influence of protein conformation on gel strength. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 39, 433–438.
- Wang, W.D., & Xu, S.Y. (2007). Degradation kinetics of anthocyanins in blackberry juice and concentrate. *Journal of Food Engineering*, 82, 271–275.
- Yan, X., Suzuki, M., Ohnishi-Kameyama, M., Sada, Y., Nakanishi, T., & Nagata, T. (1999). Extraction and identification of antioxidants in the roots of yacon (*Smallanthus sonchifolius*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 4711-4713.
- Zhang, L., Lu, D., Liu, Z. (2008). How native proteins aggregate in solution: A dynamic Monte Carlo simulation. *Biophysical Chemistry*, 133, 71–80.

Figure Captions

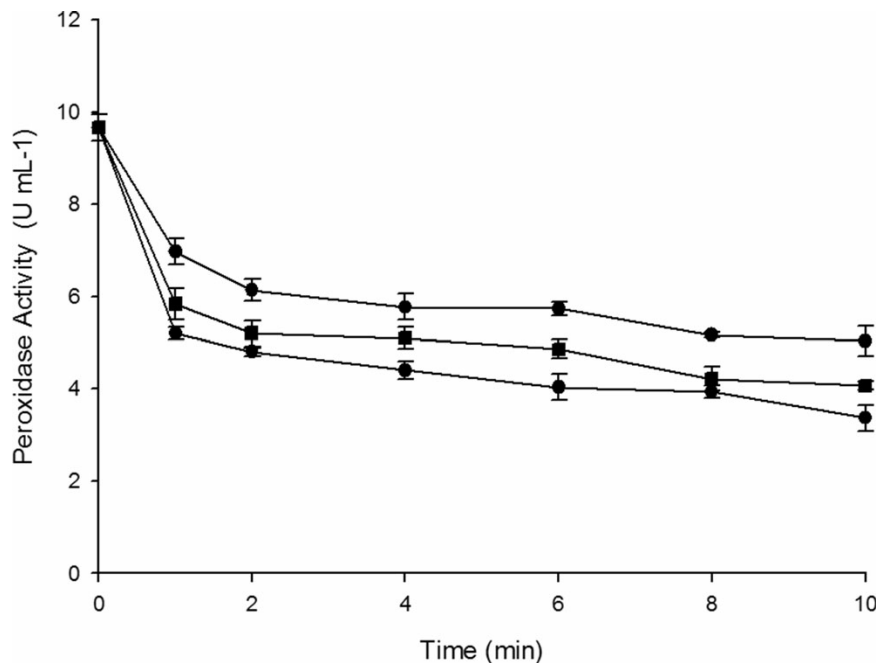


Figure 1. Peroxidase activity in yacon juice at different blanching times. Values are mean \pm s.d., $n=3$. (●) 80°C; (■) 90°C e (▲) 100°C.

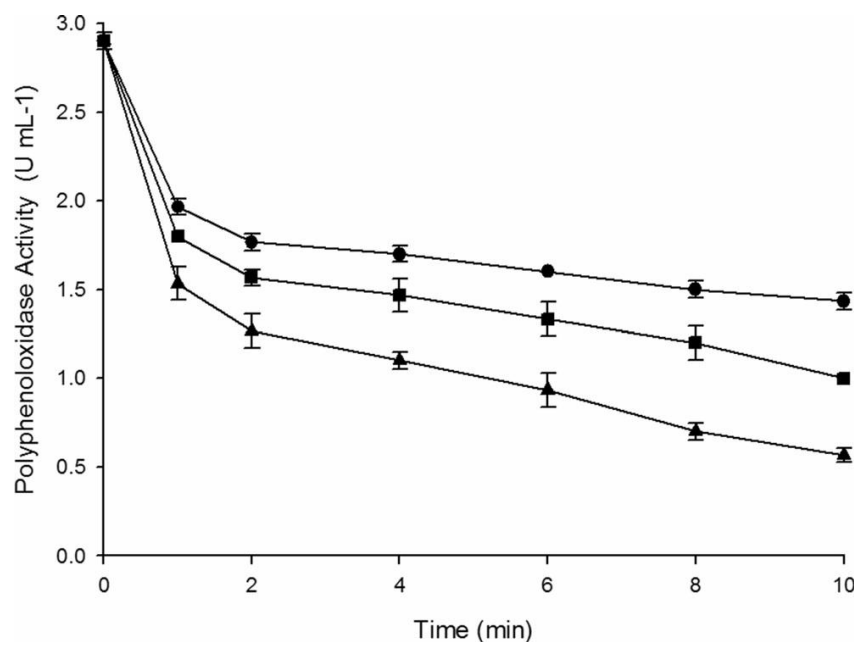


Figure 2. Polyphenoloxidase activity in yacon juice at different blanching times. Values are mean \pm s.d., $n=3$. (●) 80°C; (■) 90°C e (▲) 100°C.

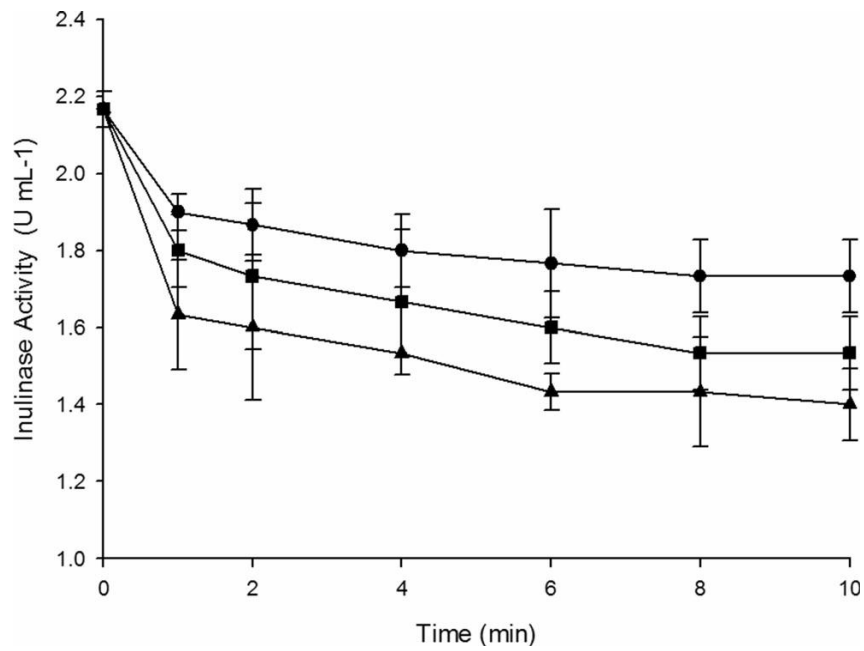


Figure 3. Inulinase activity in yacon juice at different blanching times. Values are mean±s.d., $n=3$. (●) 80°C; (■) 90°C e (▲) 100°C.

Table 1. Kinetic parameters and activation energy of peroxidase, polyphenoloxidase and inulinase in yacon juice in different blanching conditions.

| | T (°C) | k_L (min ⁻¹) | k_R (min ⁻¹) | R^2 | $t_{1/2L} \times 10^{-4}$ (min) | $t_{1/2R}$ (min) | E_{aL} (kJ mol ⁻¹) | E_{aR} (kJ mol ⁻¹) |
|------------|-------------|-------------------------------|-------------------------------|-------|------------------------------------|---------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|
| POD | 80 | 1.520±0.320 | 0.023±0.005 | 0.996 | 4.56 | 30.14 | | |
| | 90 | 2.597±0.195 | 0.033±0.007 | 0.995 | 2.67 | 21.00 | 38.19±3.71 | 30.65±5.19 |
| | 100 | 3.045±0.448 | 0.040±0.005 | 0.998 | 2.28 | 17.33 | | |
| PPO | 80 | 1.968±0.178 | 0.026±0.002 | 0.999 | 3.52 | 26.65 | | |
| | 90 | 2.382±0.475 | 0.052±0.007 | 0.997 | 2.91 | 13.33 | 16.05±0.24 | 72.08±0.93 |
| | 100 | 2.637±0.245 | 0.097±0.009 | 0.998 | 2.63 | 7.15 | | |
| INU | 80 | 1.694±0.509 | 0.008±0.002 | 0.993 | 4.09 | 86.64 | | |
| | 90 | 1.873±0.542 | 0.016±0.002 | 0.995 | 3.70 | 43.32 | 30.08±1.67 | 41.56±4.34 |
| | 100 | 2.945±1.540 | 0.017±0.003 | 0.994 | 2.35 | 40.77 | | |

k_L and k_R ; $t_{1/2L}$ and $t_{1/2R}$; E_{aR} and E_{aL} : constants for thermal inactivation, half-life and activation energy of heat-labile and heat-resistant fractions, respectively.

Table 2. Parameters of thermal inactivation of peroxidase, polyphenoloxidase and inulinase of yacon juice.

| | T (°C) | D_L (min) | D_R (min) | z_L (°C) | z_R (°C) |
|------------|----------|-------------|--------------|-------------|-------------|
| POD | 80 | 1.51±0.33 | 100.13±23.02 | | |
| | 90 | 0.89±0.06 | 69.77±15.61 | 66.23±7.49 | 83.33±18.17 |
| | 100 | 0.76±0.11 | 57.56±7.32 | | |
| PPO | 80 | 1.17±0.10 | 88.56±6.86 | | |
| | 90 | 0.97±0.20 | 44.28±6.08 | 156.25±1.44 | 34.96±0.43 |
| | 100 | 0.87±0.08 | 23.74±2.22 | | |
| INU | 80 | 1.36±0.45 | 287.82±77.54 | | |
| | 90 | 1.23±0.35 | 143.94±18.32 | 62.11±4.10 | 60.98±8.21 |
| | 100 | 0.64±0.18 | 135.47±24.79 | | |

D_L and D_R ; z_L and z_R : decimal reduction time and temperature coefficient of heat-labile and heat-resistant fraction, respectively.

Table 3. Thermodynamic parameters of the thermal inactivation of peroxidase, polyphenoloxidase and inulinase of yacon juice.

| | <i>T</i> (°C) | ΔG_L (kJ mol ⁻¹) | ΔG_R (kJ mol ⁻¹) | ΔH_L (kJ mol ⁻¹) | ΔH_R (kJ mol ⁻¹) | ΔS_L (J mol ⁻¹ K ⁻¹) | ΔS_R (J mol ⁻¹ K ⁻¹) |
|------------|-------------------------|---|---|---|---|--|--|
| POD | 80 | 97.74±0.63 | 110.04±0.64 | 35.26±3.71 | 27.43±5.19 | -176.99±1.78 | -233.22±1.84 |
| | 90 | 98.97±0.22 | 112.15±0.65 | 35.18±3.71 | 27.34±5.19 | -175.75±0.62 | -232.84±1.80 |
| | 100 | 101.29±0.46 | 114.73±0.39 | 35.09±3.71 | 27.26±5.19 | -177.47±1.23 | -233.73±1.04 |
| PPO | 80 | 96.98±0.27 | 109.68±0.23 | 13.12±0.25 | 69.14±0.92 | -237.58±0.75 | -115.21±0.64 |
| | 90 | 99.23±0.61 | 110.78±0.41 | 13.03±0.25 | 69.06±0.92 | -237.48±1.68 | -115.30±1.13 |
| | 100 | 101.74±0.29 | 111.98±0.29 | 12.95±0.25 | 68.98±0.92 | -238.05±0.77 | -115.65±0.77 |
| INU | 80 | 97.42±0.91 | 113.14±0.75 | 27.15±1.67 | 38.63±4.34 | -199.07±2.59 | -211.07±2.13 |
| | 90 | 99.96±0.83 | 114.33±0.38 | 27.06±1.67 | 38.54±4.34 | -200.82±2.29 | -208.79±1.04 |
| | 100 | 101.39±1.82 | 117.38±0.55 | 26.98±1.67 | 38.46±4.34 | -199.50±4.88 | -211.58±1.48 |

ΔG_L and ΔG_R ; ΔH_L and ΔH_R ; ΔS_L and ΔS_R : Gibbs free energy, enthalpy and entropy variation of the heat-labile and heat-resistant fraction, respectively.

CAPÍTULO 3.

Artigo 2:

**Thermodynamic analysis of sorption isotherms of dehydrated yacon
(*Smallanthus sonchifolius*) bagasse**

Running title: Thermodynamic analysis of sorption of dehydrated yacon
bagasse

Camila Carvalho Lago, Caciano Pelayo Zapata Noreña*

Institute of Food Science and Technology, Federal University of Rio Grande do
Sul, RS, Brazil, Av. Bento Gonçalves, nº 9500, CEP 91501-970.

* Corresponding author: Tel.: +55-51-33086673; fax: +55-51-33087048; e-mail:
czapatan@ufrgs.br

Artigo em processo de publicação no Food Bioscience.

ABSTRACT

Equilibrium moisture content of dehydrated yacon bagasse powder were determined gravimetrically using the static method at 20, 30, 40 and 50°C for water activities ranging from 0.11-0.97. The sorption characteristic of yacon bagasse followed type III isotherm. Among the various models tested to interpret sorption isotherms, the Halsey model was selected as the most appropriate model. The Halsey equation was further used to estimate the thermodynamic functions that provide an understanding of the properties of water and energy requirements associated with the sorption behavior. The differential enthalpy and entropy decreased with increasing moisture content. Through the compensatory theory, it was found that the isokinetic temperature was greater than the harmonic mean temperature, indicating that the adsorption process was controlled by the enthalpy and was not spontaneous ($\Delta G > 0$). With respect to the integral properties, the integral enthalpy values decreased with increasing moisture content, while the integral entropy had opposite behavior. The integral entropy values were negative due to the existence of a chemical adsorption and / or changes in the structure of the adsorbent.

Keywords: yacon; bagasse; isotherms; thermodynamic; enthalpy; entropy.

1. INTRODUCTION

Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) has tuberous roots, usually with a sweet taste for presenting abundance of carbohydrates, mainly fructo-oligosaccharides (FOS) that are short polymers of fructose (Grau and Rea, 1997). FOS have low calorific value, and have been designated as prebiotics and soluble fiber, since they are not digested by enzymes in the human digestive tract, besides stimulating selective growth and activity of health-promoting bacteria (Gibson and Roberfroid, 1995). Yacon bagasse is a byproduct of juice extraction, and its main characteristic is presenting high levels of FOS and fiber even after dehydration. Pereira et al. (2013) found 13.99% (d.b.) fiber in yacon pulp flour, and Lago et al. (2011) found 2.70% FOS in dehydrated yacon bagasse. This residue stands out for being a stable powder due to its low water activity, as products in the form of flour have higher viability of storage and conservation, and are easily added to different formulations.

Knowledge of the water adsorption characteristics is necessary for predictions of shelf life and determinations of the moisture content and critical activity for acceptability of products that deteriorate, mainly due to moisture gain, and also for drying, packaging and storage (Katz and Labuza, 1981). The relationship between the total moisture content and water activity of the food, over a range of values, at a constant temperature and under equilibrium conditions yields a moisture sorption isotherm when expressed graphically (Arslan and Togrul, 2006). The thermodynamic functions are readily calculated from sorption isotherms, which enables interpretation of experimental results in accordance with the statement of the theory (Iglesias et al. 1976).

The thermodynamic functions such as differential (Δh and Δs) and integral (Δh_{in} and ΔS_{in}) enthalpy and entropy, are one of the approaches used to understand the properties of water and calculate energy requirements associated with the transfer of heat and mass in biological systems (Fasina, 2006). In addition, changes in sorption energy can be related by the compensation or isokinetic theory, which yields a linear relationship between enthalpy and entropy (Martinez-Monteagudo and Salais-Fierro, 2014).

According to Liébanes et al. (2006) the differential thermodynamic parameters reveal qualitative information about the different energy levels in water adsorption. If the adsorbed water is considered to be organized in several layers of adsorption, each of which presents different interaction intensities between adsorbate and adsorbent, both the differential enthalpy and entropy quantifies the energetical states of the adsorbed water molecules at different layers, and this way the enthalpy quantify these energy levels and the entropy measure the grade of randomness or disorder of the water molecules in the system (Liébanes et al., 2006).

On the other hand, the integral enthalpy and entropy provides all the information on the degree of association between water, the different energetical binding levels of the water and the quantity of energy required to remove this water during drying (Liébanes et al., 2006). The integral values are determined in a similar manner to differential thermodynamic parameters, but considering the spreading pressure constant that by definition represents the surface excess free energy, and provides an indication of the increase in

surface tension of bare sorption sites due to sorbed molecules (McMinn and Magee, 2003).

Based on that, the aim of this study was to investigate the differential and integral thermodynamic properties of the enthalpy and entropy of sorption of dehydrated yacon bagasse at 20, 30, 40 and 50 °C.

2. MATERIAL AND METHODS

2.1. Material

Yacon roots grown in the State of São Paulo were purchased in the Central Supply of Rio Grande do Sul (Ceasa) in Porto Alegre - RS, Brazil. The roots were cleaned and selected considering the absence of visual damage, and stored under refrigeration ($8\pm 1^{\circ}\text{C}$) until use. The roots were washed, peeled and sliced with a mean diameter of 2 ± 0.3 mm, and subjected to Centrifugal Juice Extractor (Kenwood, model JE600) to extract the juice. Then, the juice was filtered on Whatman filter paper No. 1 with the aid of vacuum to separate the juice from the bagasse. The bagasse was dried in tray dryer with forced air circulation at 70°C according to the methodology described by Lago et al. (2011), thereby obtaining a powder.

2.2. Chemical composition

The total protein content was determined by the Kjeldahl method according to AOAC 979.09 (1990) using a nitrogen distiller (Marconi MA 036, plus). The ash content was determined by incineration in a muffle furnace (Fornos Magnus Ltda.) at 550°C , as described by AOAC method 923.03 (1990). The crude fiber was determined according to AOAC method 962.09 (1990). Lipids were extracted in a Soxhlet extractor according to AOAC method 920.39C (1997). Total carbohydrate was determined by subtracting the sum of moisture, crude fat, total protein, crude fiber and ash content (%) from one hundred (100). Analyses were performed in duplicate, and the results were expressed as mean \pm standard deviation in percentage and dry mass.

2.3. Determination of sorption isotherms

The sorption isotherms were determined using the gravimetric method recommended by COST 90 project (Speiss and Wolf, 1987). Nine saturated salt solutions (lithium chloride, potassium acetate, magnesium chloride, potassium carbonate, sodium nitrite, sodium chloride, potassium chloride, barium chloride, and copper sulphate) were used to produce relative humidity values in the range of 11 to 98% (Young, 1967). The chemicals used were from Vetec (Duque de Caxias, RJ, Brazil) and Dinâmica (Diadema, SP, Brazil); all were P.A. grade. Approximately one-gram samples were placed in aluminum capsules, and stored in sealed bottles containing saturated salt solution. The vials were placed in an incubator with air circulation (BOD 411/FPD, Ethik, São Paulo, Brazil) maintained at constant temperature (20, 30, 40 and 50°C) until equilibrium was reached. In order to prevent microbial spoilage, a beaker containing toluene was placed in glass jars with high water activity ($A_w > 0.6$) (Wolf et al., 1985). Equilibrium sorption was achieved as evidenced by a constant weight based on the change in samples weight expressed on a dry basis, which did not exceed 0.1% (0.001 kg/kg dry solids) (Benedetti et al. 2011).

2.4. Data analysis of sorption isotherms

The models were used to fit the experimental data, and are shown in Table 1. The parameters of these equations were determined by linear and non-linear regression analysis using the Sigma Plot software version 8.0.

The data consisting of equilibrium water contents at different temperatures and humidity levels were statistically analyzed. In order to assess how accurate each model was in representing experimental data, the criteria were used: the coefficient of determination (R^2), the mean relative percentage deviation modulus ($E\%$), the average residuals (e_{ave}) and the root mean square error ($RMSE$) (Lomauro et al., 1985):

$$E\% = \frac{100}{N} \sum_{i=1}^N \frac{|X_{ei} - X_{ci}|}{X_{ei}} \quad (7)$$

$$e_{ave} = \sum (X_{ei} - X_{ci}) / N \quad (8)$$

$$\text{RMSE} = \left[\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (X_{ei} - X_{ci})^2 \right]^{1/2} \quad (9)$$

where X_{ei} is the experimental value, X_{ci} is the predicted value and N is the number of observations. E values below 10% are indicative of a reasonably good fit for most practical purposes (Lomauro et al., 1985).

2.5. Thermodynamic properties

2.5.1. Differential enthalpy of adsorption and entropy

The differential enthalpy was determined using the Clapeyron-Clausius equation (Tsami, 1991):

$$\Delta h = -R \left[\frac{d(\ln aw)}{d(1/T)} \right]_x \quad (10)$$

After integration, this equation was given by Fasina et al. (1997) and relates the differential enthalpy and entropy of sorption to the equilibrium moisture content constant.

$$(\ln Aw)_x = -\frac{\Delta h}{RT} + \frac{\Delta s}{R} \quad (11)$$

where: Δh is the differential enthalpy of sorption (Jmol^{-1}), the differential entropy ($\text{Jmol}^{-1} \text{K}^{-1}$), R the universal gas constant ($\text{Jmol}^{-1} \text{K}^{-1}$) and T the absolute temperature (K). The differential enthalpy and entropy of sorption were calculated using a linear regression analysis (Mc Minn and Magee, 2003).

2.5.2. Enthalpy- entropy compensation theory

The compensation theory proposed a linear relationship between Δh and Δs (Mc Minn et al., 2005):

$$\Delta h = T_\beta \Delta s + \Delta G \quad (12)$$

where T_β was the isokinetic temperature (K), representing the temperature at which all the reactions proceeded at the same rate, and ΔG the Gibbs free energy (Jmol^{-1}). Both functions were calculated from a linear regression analysis.

Krug et al. (1976) recommended a test to validate the compensatory theory which consisted of comparing the mean harmonic temperature (T_{hm}) defined by:

$$T_{hm} = \frac{n}{\sum_1^n (1/T)} \quad (13)$$

where n is the number of sorption isotherms employed..

The value for T_β can be calculated from equation (Beristain et al., 1996):

$$T_\beta = \hat{T}_\beta \pm t_{m-2\alpha/2} \sqrt{\text{Var}(T_\beta)} \quad (14)$$

where

$$\hat{T}_\beta = \frac{\sum (\Delta h - \overline{\Delta h})(\Delta s - \overline{\Delta s})}{\sum (\Delta s - \overline{\Delta s})^2} \quad (15)$$

and

$$\text{Var}(T_\beta) = \frac{\sum (\Delta h - \Delta G - T_\beta \cdot \Delta s)^2}{(m-2) \cdot \sum (\Delta s - \overline{\Delta s})^2} \quad (16)$$

where m is the number of data pairs, $\overline{\Delta h}$ the average differential enthalpy, $\overline{\Delta s}$ the average differential entropy, α the interval of confidence and ΔG the free energy. The compensation theory is considered to be valid if T_β is different from T_{hm} .

2.5.3. Spreading pressure

The *Spreading pressure* (φ in Jm^{-2}) was determined from the equation described by Iglesias et al. (1976):

$$\varphi = \frac{K_B T}{A_m} \cdot \int_0^{A_w} \frac{X}{X_m A_w} \cdot dA_w \quad (17)$$

where K_B is the Boltzmann constant ($1.380 \times 10^{-23} \text{J K}^{-1}$), A_m the surface area of a water molecule equal to $1.06 \times 10^{-19} \text{m}^2$, X_m the monolayer moisture content and X the equilibrium moisture content (Mazza, 1980).

The value of $A_w=0$ will make the integral of Eq. (18) to be indeterminate. Therefore, the lower limit was taken as $a_w=0.05$. The computed values of the spreading pressure at any temperature using this lower limit is adjusted by

adding the values corresponding to the interval $A_w=0-0.05$, which was calculated assuming a linear relationship holds between a_w and X for the a_w interval of $0-0.05$ (Iglesias et al., 1976). After substitution of the Halsey equation (Eq. 3) in Eq. (18) and integration, the spreading pressure was calculated from:

$$\varphi = \frac{K_B T}{A_m} \cdot \ln \left[\frac{1 + C \cdot k \cdot A_w - k \cdot A_w}{1 - k \cdot A_w} \right]_{0,05}^{A_w} \quad (18)$$

2.5.4. Net integral enthalpy and entropy

The net integral enthalpy (Δh_{in}) and net integral entropy (ΔS_{in}) were calculated in a similar way to the differential properties, but maintaining the spreading pressure constant (Fasina et al., 1999):

$$(\ln A_w)_\varphi = -\frac{\Delta h_{in}}{RT} + \frac{\Delta S}{R} \quad (19)$$

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1. Proximate Composition

The proximate composition on dry basis for the dehydrated yacon bagasse was: 3.80 ± 0.25 % moisture, 2.32 ± 0.28 % protein, 0.35 ± 0.07 % lipids, 4.02 ± 0.08 % ash, 22.24 ± 0.18 % fiber, and 67.39 ± 0.97 % carbohydrate content.

3.2. Sorption isotherms

The parameter values obtained by regression analysis for the sorption models are shown in Table 2, coefficient of determination (R^2), E (%), average residual and RMSE. The BET model fitted well to experimental data with $A_w < 0.50$, since the hypothesis of the correct fit cannot be verified above this value, thus the equation is not capable to predict the sorption behavior accurately. The BET model best described the equilibrium moisture content of yacon bagasse in the range of $0.11-0.43 A_w$, while the Halsey model best described the experimental data over the whole range of water activity and temperature (having the highest R^2 , P , e_{ave} and $RMSE$ values), followed by the GAB model.

According to BET and GAB equations (theoretical models), the fit of the sorption data allowed estimation of the monolayer moisture values (X_m). The theoretical basis for the GAB sorption isotherm is the assumption of localized physical adsorption in multilayers with no lateral interactions: the first shell of water evenly covers the sorbent surface and is very tightly bound in a monolayer and the subsequent layers of water have less interaction with the sorbent surface (Quirijns et al., 2005). Nikitas (1996) presented a new statistical mechanical approach for studying multilayer adsorption phenomena and shown that a multilayer adsorbed film can be treated as a multicomponent monolayer. In addition, the analysis allows that many effects coming from lateral interactions, multisite occupancy, and surface heterogeneity to be taken into account and this effects have a more or less significant impact on the behavior of the adsorption isotherms (Nikitas, 1996). The X_m values obtained for yacon bagasse ranged from 1.20 to 0.6% for the GAB model, and 1.16 to 0.6 % for the BET model, which are close to those found for cupuassu powder at 15-35 °C, with X_m values of 0.28 to 0.67% (Medeiros et al., 2006) and potato starch powder at 30-60 °C with X_m values of 2 to 3% (Al-Muhtaseb, 2004a). The monolayer moisture values were lower than the values estimated by the BET model, whose behavior was reported for saffron (Kaya and Kahyaoglu, 2007) and quince (Noshad et al., 2012). The X_m values decreased with increasing temperature, which was also observed for potato (McMin and Magee 2003) and quince and loquat (Moreira et al., 2008). The temperature dependence of the monolayer moisture content has been linked to a reduction in active sorption sites because of physical and chemical changes induced by temperature (Iglesias and Chirife, 1976). The study of X_m is important because it represents the water molecules that are adsorbed to form a monolayer on the sorption sites. After formation of the monolayer, adsorption sites are occupied by relatively weak bonds of water molecules forming successive layers, the multilayer, in which the product deterioration occurs either by chemical or biological reactions (Kaya and Kahyaoglu, 2005).

The theoretical interpretation of the GAB parameters makes it possible to derive the sorption behaviour of moisture in materials from the combination of the values of C and K . In thermodynamics terms, C represents the difference in chemical potential between water molecules that have been adsorbed in the

first layer and water molecules adsorbed in the subsequent layers (Martinez-Monteagudo and Salais-Fierro, 2014). The high values of C (9.01 to 18.14) indicating that the sorption of water by yacon is apparently characterised by a monolayer of molecules, which are strongly bound to the primary sorption sites of the material (Quirijns et al., 2005). The parameter K represents the difference in chemical potential between bulk liquid water molecules and molecules adsorbed in the multilayer (Martinez-Monteagudo and Salais-Fierro, 2014). The values of K ranged between 0.93 and 1.0, and when K approaches one, there is almost no distinction between multilayer molecules and liquid molecules and the water molecules beyond the monolayer are not structured in a multilayer, but have the same characteristics as the molecules in the bulk liquid (Quirijns et al., 2005; Martinez-Monteagudo and Salais-Fierro, 2014). In accordance with Liébanes et al. (2006), the theory described by the GAB model the water monolayer situated on the solid surface is tightly bounded, whereas the water molecules in the multilayer are less firmly attracted by the solid at further positions. Those water molecules that are not affected by the presence of the solid show the physical properties of pure water and are described as free water molecules (Liébanes et al., 2006).

Figure 1 shows the representation of the experimental moisture content vs. the water activity for the different temperatures and the lines show the representation Halsey model fitted to the experimental data. The Halsey equation allows the calculation of the parameters A and B , assuming that the potential energy of a molecule varies with the inverse of the power of the distance from the surface, and the magnitude of the B parameter characterizes the type of interaction between the vapour and solid (Al-Muhtaseb et al., 2002). This model was used for grapes, apricots, apples and potatoes (Kaymak-Ertekin & Gedik, 2004) and dehydrated banana (Yan, Sousa-Gallagher, & Oliveira, 2008).

Figure 2 shows the distribution of residuals ($X_{er} - X_{ci}$) for the Halsey model. A model is considered acceptable if the residuals are uniformly scattered around the horizontal value of zero showing no systematic tendency towards a clear pattern (Togrul and Arslan, 2006). The residuals for the Halsey model did not indicate a visual pattern and rather they randomly scattered around zero. Average residuals for the Halsey model were very close to zero (Table 2). As

shown in Figure 3, the Halsey equation provided a good fit to the experimental data for water adsorption of yacon bagasse at all temperatures ($R^2 = 0.983$).

The sorption isotherm represents the variation of water content as a function of water activity. The experimental data indicate that the equilibrium moisture content decreased with increasing temperature to a constant water activity. This trend can be attributed to a reduction in the total number of active sites for water binding, as a result of physical and or chemical changes induced by temperature, which affects the mobility of water molecules and the dynamic equilibrium between the vapor phase and adsorbed phase (Goula et al., 2008).

With increasing temperature, the water molecules begin to activate increasing their energy level, becoming unstable, and breaking the intermolecular bonds between the water molecules and adsorption sites (McMinn and Magee, 2003). The effect of temperature on the isotherm is of great importance because food is exposed to a range of temperatures during storage and processing, and water activity changes with temperature. According to Brunauer's classification, the sorption isotherms of the dehydrated yacon bagasse were type III. Dry food products generally exhibit isotherms of type II or III (Yan et al., 2008), and type III are typical of sugar rich products. The dehydrated yacon bagasse presented 67% carbohydrate on dry basis, including fructose, glucose, sucrose, and FOS. FOS are defined as a combination of three sugars: kestose (GF₂), nystose (GF₃), and fructofuranosyl nystose (GF₄), which are non-reducing compounds and prebiotics (Ronkarta et al., 2007). Pedreschi et al. (2003) studied yacon sugar consumption by probiotic strains, and reported that yacon has 27% FOS GF₂ type, 54% GF₃ type, and 19% molecules GF_{n≥4} type.

Although sugar rich foods are characterized by adsorption of small amounts of water at low water activities, when the relative humidity increases, they retain large amounts of water (Samaniego-Esguerra et al., 1991). This type of isotherm occurs when the binding energy of the monolayer is lower than the binding energy between water molecules probably due to the high amount of carbohydrates and sugars (Moreira et al., 2009), which are water soluble (Al-Muhtaseb et al., 2002). Bernstein and Noreña (2013) found isotherms type III for yacon dehydrated, which was also observed in other studies, such as the

sorption of saffron petals (Kaya and Kahyaoglu, 2007) at 15-35 °C and encapsulated pineapple pulp at 20-50 °C (Gabas et al., 2007).

3.3. Differential Entropy and enthalpy

The differential enthalpy of bagasse was calculated from the isotherm obtained by the Halsey model. Figure 4 shows that the differential enthalpy had a strong dependence on the moisture content, with higher values in lower equilibrium moisture. At moisture near the corresponding value of the monolayer, the differential enthalpy had higher values and to the extent that the values approach the multilayer water, the enthalpy decreased to values near 2000 Jmol⁻¹. The maximum enthalpy value indicates the covering of the strongest binding sites and the greatest water–solid interaction and the covering of less favorable locations and the formation of multilayers then follows, as shown by the decrease in enthalpy with increasing moisture content (Liébanes et al., 2006). As the moisture content increases, the majority of sorption sites becomes occupied and sorption occurs in fewer available binding sites with lower energy, providing lower values of differential enthalpy (Xiao and Tong, 2013). Similar behavior was found for sorption isotherms of sweet potatoes (Fasina, 2006) and hydrolyzated starch (Spada et al., 2013).

The differential enthalpy is the energy required for water molecules bind to a specific moisture level, and provides information about energy changes occurring in food at a specific moisture level, produced by differential changes in equilibrium moisture content (Viganó et al., 2012). According to Kaya and Kahyaoglu (2007), the knowledge of the magnitude of this property provides an indication of the state of adsorbed water and therefore a measure of physical, chemical, and microbiological stability of food under certain storage conditions.

The moisture content corresponding to the heat of sorption near the enthalpy of vaporization of pure water is often considered as an indicator of the bound water in foods (Tunç and Duman, 2007). Moreover, changes in the heat of sorption with moisture provides important data for determining the energy consumption and the drying equipment design, as well as understanding the water-solid and water-water interactions (McMinn and Magee, 2003).

The differential entropy values as a function of moisture content are shown in Figure 5, indicating that the entropy also exhibits a strong dependence

on humidity, with an exponential trend similar to that exhibited by the differential enthalpy. The differential entropy of dehydrated yacon bagasse decreased from 128.32 Jmol^{-1} (6% moisture) to 7.82 Jmol^{-1} at moisture contents above 32% on dry basis, while at moisture contents above 20 % the entropy reached minimum values that remained practically constant.

The differential entropy is the change of the system after new water molecules were sorbed on a specific moisture level (Bonilla et al. 2010). It is proportional to the number of sites available for adsorption to a specific energy level. As the product adsorption occurs, the specific sites are occupied by water molecules, and the entropy associated to the sites that are still free becomes increasingly smaller (Al-Muhtaseb et al., 2004).

3.4. Enthalpy-entropy compensation theory

The compensatory theory proposes the existence of a linear relationship between the enthalpy and entropy of products subjected to water adsorption process. Beristain et al. (1996) demonstrated that the compensation allows understanding the mechanisms of controlling the water vapor adsorption in foods, and sugar rich foods exhibit only a straight compensation line and thus the adsorption process is controlled by enthalpy. Figure 6 shows the linear relationship between differential enthalpy and entropy of the yacon bagasse ($R^2 = 0.99$), indicating that the theory can be applied.

The isokinetic theory is evidenced by the fact that the harmonic mean temperature (T_{hm}) calculated by the Krug test was 307.59 K, whose value was significantly different from T_{β} (323.68 ± 0.44) for the yacon bagasse. In our study, the adsorption process is controlled by the enthalpy because $T_{\beta} > T_{hm}$. Similar behavior was observed for mashed potatoes and sweet potatoes (Lago et al., 2013) and pullulan film (Xiao and Tang 2013). However, when $T_{\beta} < T_{hm}$, the process is governed by entropy (Leffler, 1955). Our T_{β} value was close to 372.8K reported by other authors for potato (McMinn and Magee, 2003) and 334 and 354.91 K for potato and sweet potato, respectively (Lago et al., 2013). This theory allows us to check if there will be a greater molecular interaction due to the decrease in the number of links or molecules of the system, generating larger organization or order (related to the enthalpy) about the

disorganization and, consequently, a greater freedom of molecules in the system (related to the entropy) (Spada et al., 2013).

Complying the compensation theory implies that only one reaction mechanism is followed by all members of the reactive series, and the existence of a single mechanism suggests that the food microstructure is stable and does not undergo any change during the moisture sorption (McMinn et al., 2005).

The ΔG value for the dehydrated bagasse was 81.029 Jmol^{-1} , which is close to that found by McMinn et al. (2005) who studied corn starch with high amylopectin (69 Jmol^{-1}) and high amylose (107 Jmol^{-1}). The free energy change can be indicative of the affinity of the adsorbent with water, and can provide a criterion for whether the water adsorption process is spontaneous ($\Delta G < 0$) or not spontaneous ($\Delta G > 0$) (Apostolopoulos and Gilbert, 1990). In our study, the values indicated that the process is not spontaneous, suggesting that the product does not absorb moisture from the environment spontaneously, which is desirable so that the product is stable (Cladera-Olivera et al., 2011). The free energy required to displace a water molecule from the gaseous to the adsorbed state is a quantitative measure of the affinity between the dry food and water, indicating the degree of spontaneity of the adsorption process (Bhattacharya et al., 2008).

3.5. Spreading Pressure

The spreading pressure isotherms of the yacon bagasse are shown in Figure 7, and represent the excess of surface free energy, indicating the increase in surface tension of sorption sites due to absorbed molecules (Fasina et al., 1999). The results show that the ϕ increased with increasing water activity, and decreased with increasing temperature to a certain water activity. Similar behavior was found by Xiao and Tong (2013) for edible films, by Lago et al. (2013) for potatoes and dehydrated sweet potatoes, and by Ajibola et al. (2003) for beans. According to Torres et al. (2012), high spreading pressure values indicate a high affinity of water molecules for active sites, and the more hygroscopic the product is, the higher the value ϕ will be.

3.6. Integral enthalpy and entropy

The integral enthalpy is the average energy of all molecules already bound to a specific moisture level (Bonilla et al., 2010), and can be interpreted as enthalpy of transition or phase change enthalpy, providing information about the energy changes necessary for the sorption (Viganó et al., 2012). Figure 8 shows the net integral enthalpy decreased with increasing moisture content, similar to that found for potato starch (Al-Muhtaseb et al., 2004) and soybeans (Aviara et al., 2004). The increase in energy needs at low moisture contents is indicative of polar sites on the surface of the material and hence lower mobility of water molecules (McMinn and Magee, 2003), which may explain why the differential and integral enthalpies increased at low moisture contents. For the maximum enthalpy value (53.62 kJmol^{-1}), there is a cover of the strongest binding sites and the largest water-solid interaction (Fasina, 2006). Another important fact is that the moisture in which the maximum integral enthalpy is achieved is close to the monolayer moisture value obtained from the GAB model (Moreira et al., 2008).

At lower moisture contents, water is sorbed on the most accessible positions on the outer surface of the solid, thus, increasing the moisture possibly the material swells, opening up new high energy sites for water to bind (Muhtaseb et al., 2004). The coverage of less favorable sites and the formation of multiple layers of adsorbed water were the main reasons for the decrease in integral enthalpy with increasing moisture content (Kaya and Kahyaoglu, 2007). According to Aviara et al. (2004), as the moisture content of the product increased, the adsorbent sites were saturated and the water molecules were retained to the particles due to the surface tension other than chemical adsorption, since if the surface tension forces are weaker and easily broken, they lead to a smaller integral enthalpy. The net integral enthalpies represent the additional energy that will be required for drying the yacon bagasse respect the evaporation of pure water. This quantity of evaporating energy depends on which is the dryness degree to be reached during the drying treatment: the lower the final moisture content, the more energy is required, affecting substantially to the energetical balance of the system and drying effectiveness (Liébanes et al., 2006).

The net integral entropy values can be seen in Figure 9. At low moisture contents (2.44 g water 100g⁻¹), the integral entropy presented the lowest value (-0.17 kJmol⁻¹K⁻¹), and as the moisture content increased, the entropy values increased, whose behavior was also observed for maltodextrin in studies on polymers (Pérez-Alonso et al., 2006) and potato starch (Al-Muhtaseb et al., 2004).

The net integral entropy can be qualitative or quantitatively interpreted in terms of order-disorder of the adsorbed molecules (Rizvi and Benado, 1983). In our study, the entropy presented lower values at low moisture contents, and increased rapidly as the water covered the surface forming layers, and as the moisture content reached saturation, the integral entropy tended to reach the entropy of free water (0 Jmol⁻¹K⁻¹) (Al-Muhtaseb et al., 2004). Rizvi and Benado (1983) reported that in foods there are two opposite entropic contributions after moisture adsorption: a loss of entropy from localization of water and an increase in entropy due to structural transformation arising from swelling and solubilization. Negative values are due to the existence of chemical adsorption and/ or changes in the structure of the adsorbent (Iglesias et al., 1976). Negative integral entropy values have been reported in the literature for the sorption isotherms of different products such as loquat and quince (Moreira et al., 2008.), beans (Ajibola et al., 2006.) and sweet potato (Fasina, 2006).

4. CONCLUSION

The Halsey model best described the experimental sorption data in the temperature range from 20 to 50 °C providing isotherms type III. The differential enthalpy showed high values at low moisture contents, evidencing strong surface-water interaction in the samples. The differential entropy as well as the enthalpy exhibited a strong dependence on moisture, reaching minimum values at moisture contents above 20%, which remained practically constant. The maximum integral enthalpy was 53.62 kJmol⁻¹ indicating a cover of the strongest binding sites and the largest water-solid interaction. In contrast, the integral entropy had an opposite behavior, increasing with the increase in moisture content due to swelling and solubilization of the product, presenting negative values. Furthermore, the enthalpy-entropy compensation theory

indicated that the sorption mechanism of yacon bagasse is controlled by enthalpy and it is not a spontaneous process.

5. Acknowledgment

This work was supported by FAPERGS, CAPES and CNPq, Brazil.

REFERENCES

- Ajibola, O.O., Aviara, N.A., & Ajetumobi, O.E. (2003). Sorption equilibrium and thermodynamic properties of cowpea (*Vigna unguiculata*). *Journal of Food Engineering*, 58, 317–324.
- Al-Muhtaseb, A.H., McMinn, W.A.M., & Magee, T.R.A. (2002). Moisture Sorption Isotherm Characteristics of Food Products: A Review. *Food and Bioproducts Processing*, 80(2), 118-128.
- Al-Muhtaseb, A.H., McMinn, W.A.M., & Magee, M.G.A. (2004). Water sorption isotherms of starch powders. Part 2: Thermodynamic characteristics. *Journal of Food Engineering*, 62, 135–142.
- Al-Muhtaseb, A.H., McMinn, W.A.M., & Magee, M.G.A. (2004a). Water sorption isotherms of starch powders Part 1: mathematical description of experimental data. *Journal of Food Engineering*, 61, 297–307.
- AOAC. (1990). Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. Washington, DC.
- AOAC. (1997). Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. Washington, DC.
- Apostolopoulos, D., & Gilbert, S. (1990). Water sorption of coffee solubles by frontal inverse gas chromatography: Thermodynamic considerations. *Journal of Food Science*, 55, 475–477.
- Arslan, N., & Togrul, H. (2006). The fitting of various models to water sorption isotherms of tea stored in a chamber under controlled temperature and humidity. *Journal of Stored Products Research*, 42, 112–135.
- Aviara, N.A., Ajibola, O.O., & Oni, S.A. (2004). Sorption Equilibrium and Thermodynamic Characteristics of Soya Bean. *Biosystems Engineering*, 87(2), 179–190.
- Benedetti, P.C.D., Pedro, M.A.M.P., Telis-Romero, J., & Telis, V.R.N. (2011). Influence of encapsulating materials on water sorption isotherms of

- vacuum-dried persimmon pulp powder. *Journal of Food Processing and Preservation*, 423-431.
- Beristain, C.I., García, H.S., & Azuara, E. (1996). Enthalpy e entropy compensation in food vapour sorption. *Journal of Food Engineering*, 63, 405-415.
- Bernstein, A., & Noreña, C.P.Z. (2014). Study of Thermodynamic, Structural, and Quality Properties of Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) During Drying. *Food and Bioprocess Technology*, 7, 148–160.
- Bhattacharya, A.K., Naiya, T.K., Mandal, S.N., & Das, S.K., (2008). Adsorption, kinetics and equilibrium studies on removal of Cr(VI) from aqueous solutions using different low-cost adsorbents. *Chemical Engineering Journal* 137, 529-541.
- Bonilla, A., Azuara, E., Beristain, C.I., & Vernon-Carter, E.J. (2010). Predicting suitable storage conditions for spray-dried microcapsules formed with different biopolymer matrices. *Food Hydrocolloids*, 24, 633-640.
- Cladera-Olivera, F., Marczak, L.D.F., Noreña, C.P.Z., & Pettermann, A.C. (2011) Modeling water adsorption isotherms of pinhão (*Araucaria angustifolia* seeds) flour and thermodynamic analysis of the adsorption process. *Journal of Food Process Engineering*, 34, 826-843.
- Fasina, O., Ajibola, O., & Tyler, R. (1999). Thermodynamics of moisture sorption in winged bean seed and gari. *Journal of Food Process Engineering*, 22 (6), 405–418.
- Fasina, O.O., Sokhansanj, S., & Tyler, R.T. (1997). Thermodynamics of moisture sorption in alfalfa pellets. *Drying Technology*, 15, 1553–1570.
- Fasina, O.O. (2006). Thermodynamic properties of sweetpotato. *Journal of Food Engineering*, 75(2), 149–155.
- Gabas, A.L., Telis, V.R.N., Sobral, P.J.A., Telis-Romero, J. (2007). Effect of maltodextrin and arabic gum in water vapor sorption thermodynamic properties of vacuum dried pineapple pulp powder. *Journal of Food Engineering*, 82, 246–252.
- Gibson, G.R., & Roberfroid, M.B. (1995). Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *Journal of Nutrition*, 125, 1401-1412.

- Goula, A.M., Karapantsios, T.D., Achilias, D.S., & Adamopoulos, K.G. (2008). Water sorption isotherms and glass transition temperature of spray dried tomato pulp. *Journal of Food Engineering*, 85, 73–83.
- Grau, A., & Rea, J. (1997). Yacon. *Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.) H. Robinson. In: Hermann, M., Heller, J. (Eds.), *Andean Roots and Tubers: Ahipa, Arracacha, Maca and Yacon*. (1997). *Promoting the Conservation and Use of Underutilized Crops* 199–242.
- Iglesias, H.A., Chirife, J., & Viollaz, P. (1976). Thermodynamics of water vapour sorption by sugar beet root. *Journal of Food Technology*, 11(1), 91–101.
- Iglesias, H.A., & Chirife, J. (1976). Prediction of the effect of temperature on water sorption isotherms of food material. International. *Journal of Food Science and Technology*, 11(2), 109–116.
- Katz, E.E., & Labuza, T.P., (1981). Effect of water activity on sensory crispness and mechanical deformation of snack food products. *Journal of Food Science*, 50, 385–391.
- Kaya, S., & Kahyaoglu, T. (2005). Thermodynamic properties and sorption equilibrium of pestil (*grape leather*). *Journal of Food Engineering*, 71, 200–207.
- Kaya, S., & Kahyaoglu, T. (2007). Moisture sorption and thermodynamic properties of safflower petals and tarragon. *Journal of Food Engineering*, 78, 413–421.
- Kaymak-Ertekin, F., & Gedik, A. (2004). Sorption isotherms and isosteric heat of sorption for grapes, apricots, apples and potatoes. *LWT - Food Science and Technology*, 37, 429–438.
- Koua, B.K., Koffi, P.M.E., Gbaha, P., & Toure, S. (2014). Thermodynamic analysis of sorption isotherms of cassava (*Manihot esculenta*). *Journal of Food Science and Technology*, 51(9), 1711–1723.
- Krug, R.R., Hunter, W.G., & Grieger, R.A. (1976). Enthalpy–entropy compensation. 1. Some fundamental statistical problems associated with the analysis of Van't Hoff and Arrhenius data. *The Journal of Physical Chemistry*, 80(21), 2335–2341.
- Lago, C.C., Liendo-Cárdenas, M., & Noreña, C.P.Z. (2013). Thermodynamic sorption properties of potato and sweet potato flakes. *Food and Bioproducts Processing*, 91(4), 389–395.

- Lago, C.C., Bernstein, A., Brandelli, A., & Noreña, C.P.Z. (2011). Characterization of Powdered Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) Juice and Pulp. *Food and Bioprocess Technology*, 4, 1-9.
- Leffler, J.E. (1955). The enthalpy–entropy relationship and its implications for organic chemistry. *Journal of Organic Chemistry*, 20, 1202–1231.
- Liébanes, M.D., Aragón, J.M., Palancar, M.C., Areválo, G., & Jiménez, D. (2006). Equilibrium moisture isotherms of two-phase solid olive oil by-products: Adsorption process thermodynamics. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, 282–283, 298–306.
- Lomauro, C.J., Bakshi, A.S., & Labuza, T.P., (1985). Evaluation of food moisture sorption isotherm equations. Part II: milk, coffee, tea, nuts, oilseeds, spices and starchy foods. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 18, 118–124.
- Majd, K.M., Karparvarfard, S.H., Farahnaky, A., & Jafarpour, K. (2013). Thermodynamic of Water Sorption of Grape Seed: Temperature Effect of Sorption Isotherms and Thermodynamic Characteristics. *Food Biophysics*, 8, 1–11.
- Martinez-Monteagudo, S.I., & Salais-Fierro, F. (2014). Moisture sorption isotherms and thermodynamic properties of mexican mennonite-style cheese. *Journal of Food Science and Technology*, 51(10), 2393–2403.
- Mazza, G. (1980). Thermodynamic considerations of water vapour sorption by horseradish roots. *LWT - Food Science and Technology*, 13, 13–17.
- McMinn, W.A.M., & Magee, T.R.A. (2003). Thermodynamic properties of moisture sorption of potato. *Journal of Food Engineering*, 60, 157-165.
- McMinn, W.A.M., Al-Muhtaseb, A.H., & Magee, T.R.A. (2005). Enthalpy–entropy compensation in sorption phenomena of starch materials. *Food Research International*, 38, 505–510.
- Medeiros, M.L., Ayrosa, A.M.I.B., Pitombo, R.N.M., & Lannes, S.C.S. (2006). Sorption isotherms of cocoa and cupuassu products. *Journal of Food Engineering*, 73, 402–406.
- Moreira, R., Chenlo, F., & Torres M.D. (2009). Simplified algorithm for the prediction of water sorption isotherms of fruits, vegetables and legume based upon chemical composition. *Journal of Food Engineering*, 94, 334-343.

- Moreira, R., Chenlo, F., Torres, & M.D., Vallejo, N. (2008). Thermodynamic analysis of experimental sorption isotherms of loquat and quince fruits. *Journal of Food Engineering*, 88, 514–521.
- Nikitas, P. (1996). A Simple Statistical Mechanical Approach for Studying Multilayer Adsorption: Extensions of the BET Adsorption Isotherm. *Journal of Physical Chemistry*, 100, 15247-15254
- Noshad, M., Mohebbi, M., Shahidi, F., & Mortazavi, S.A. (2012). Effect of osmosis and ultrasound pretreatment on the moisture adsorption isotherms of quince. *Food and Bioproducts Processing*, 90, 266–274.
- Pedreschi, R., Campos, D., Noratto, G., Chirinos, R., & Cisneros-Zevallos, L. (2003). Andean yacon root (*Smallanthus sonchifolius* Poepp. Endl) fructooligosaccharides as a potential novel source of prebiotics, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51, 5278-5284.
- Pereira, J.A.R., Barcelos, M.F.P., Pereira, M.C.A., & Ferreira, E.B. (2013). Studies of chemical and enzymatic characteristics of Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) and its flours. *Food Science and Technology*, 33 (1), 75-83.
- Pérez-Alonso, C., Beristain, C.I., Lobato-Calleros, C., Rodríguez-Huezo, M.E., & Vernon-Carter, E.J. (2006). Thermodynamic analysis of the sorption isotherms of pure and blended carbohydrate polymers. *Journal of Food Engineering*, 77, 753–760.
- Quirijns, E.J., Boxtel, A.JB., Loon, W.KP., & Straten, G. (2005). Sorption isotherms, GAB parameters and isosteric heat of sorption. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85, 1805–1814.
- Rizvi, S.S.H., & Benado, A.L. (1983). Thermodynamic analysis of drying foods. *Food Technology*, 2, 471–502.
- Ronkarta, S. N., Bleckera, C. S., Fourmanoira, H., Fougnes, C., & Deroannea, C. (2007). Isolation and identification of Inulooligosaccharides resulting from inulin hydrolysis. *Analytica Chimica Acta*, 604, 81-87.
- Samaniego-Esguerra, C.M., Boag, I. F., & Robertson, G.L. (1991). Comparison of regression methods fitting the GAB model to the moisture isotherms of some dried fruits and vegetables. *Journal of Food Engineering*, 13, 115–133.
- Spada, J.C., Noreña, C.P.Z., Marczak, L.D.F., & Tessaro, I.C. (2013). Water adsorption isotherms of microcapsules with hydrolyzed pinhão (*Araucaria*

- angustifolia* seeds) starch as wall material. *Journal of Food Engineering*, 114, 64–69.
- Speiss, W.E.L., & Wolf, W.F. (1987). The results of the cost 90 project on water activity. *Physical Properties of Foods*, 65-91.
- Telis, V.R.N., Gabas, A.L., Menegalli, F.C., & Telis-Romero, J. (2000). Water sorption thermodynamic properties applied to persimmon skin and pulp. *Thermochimica Acta*, 343, 49–56.
- Togrul, H., & Arslan, N. (2006). Moisture Sorption Behaviour and Thermodynamic Characteristics of Rice stored in a Chamber under Controlled Humidity. *Biosystems Engineering*, 95 (2), 181–195.
- Tsami, E. (1991). Differential enthalpy of sorption in dried fruits. *Journal of Food Engineering*, 14, 327-335.
- Torres, M.D., Moreira, R., Chenlo, F., & Vázquez, M.J. (2012). Water adsorption isotherms of carboxymethyl cellulose, guar, locust bean, tragacanth and xanthan gums. *Carbohydrate Polymers*, 89, 592– 598.
- Tunç, S., & Duman, O. (2007). Thermodynamic properties and moisture adsorption isotherms of cottonseed protein isolate and different forms of cottonseed samples. *Journal of Food Engineering*, 81, 133–143.
- Viganó, J., Azuara, E., Telis, V.R.N., Berinstain, C.I., Jiménez, M. (2012). Role of enthalpy and entropy in moisture sorption behavior of pineapple pulp powder produced by different drying methods. *Thermochimica Acta*, 528, 63– 71.
- Wolf, W., Spiess, W.E.L., Jung, G. (1985). Standardization of isotherms measurements (COST-PROJECCT 90 and 90 bis). In: Stimatos, D., Multon, J.L. (Eds.), *Properties of Water in Foods in Relation to Quality and Stability*. Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht, 661–679.
- Xiao, Q., Tong, Q. (2013). Thermodynamic properties of moisture sorption in pullulan-sodium alginate based edible films. *Food Research International*, 54, 1605–1612.
- Yan, I., Sousa-Gallagher, M.J., Oliveira, F.A.R. (2008). Sorption isotherms and moisture sorption hysteresis of intermediate moisture content banana. *Journal of Food Engineering*, 86, 342–348.
- Young, J.F. (1967). Humidity control in the laboratory using salt solutions – a review. *Journal of Applied Chemistry*, 17, 241–245.

Figure Captions

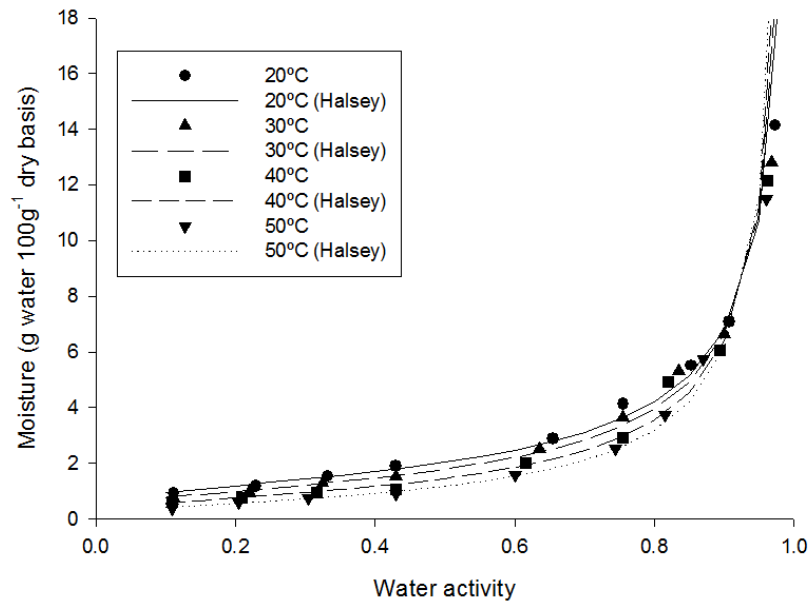


Fig. 1 - Sorption isotherms of yacon bagasse at different temperatures adjusted to the Halsey model.

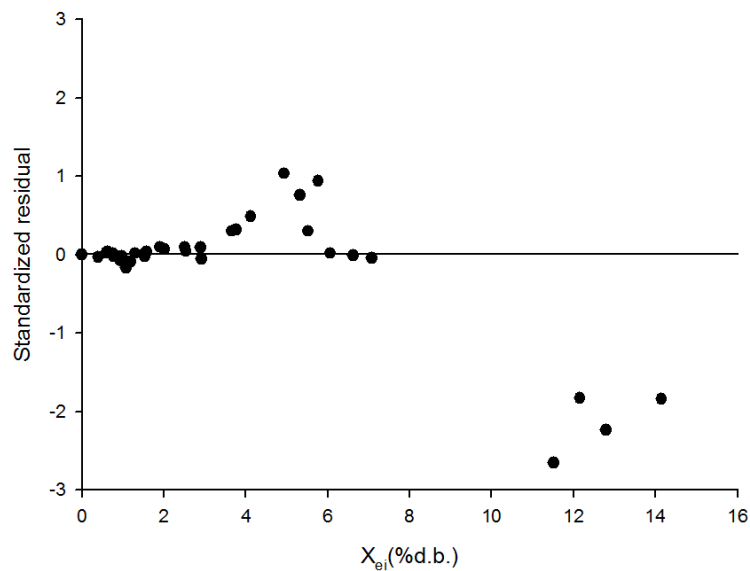


Fig. 2 - Residual plot for the Halsey equation for sorption data of yacon

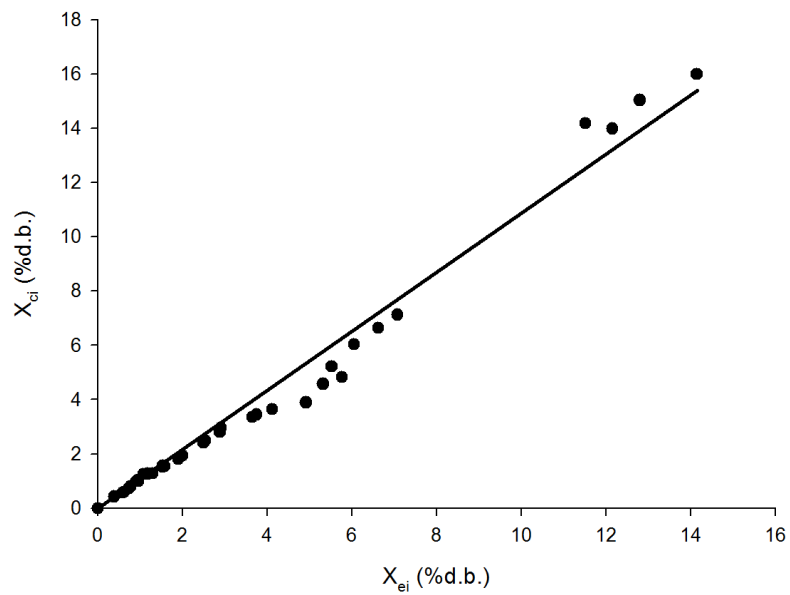


Fig. 3 - Correlation between the values predicted by the Halsey model and the experimental values of the equilibrium moisture content at all temperatures.

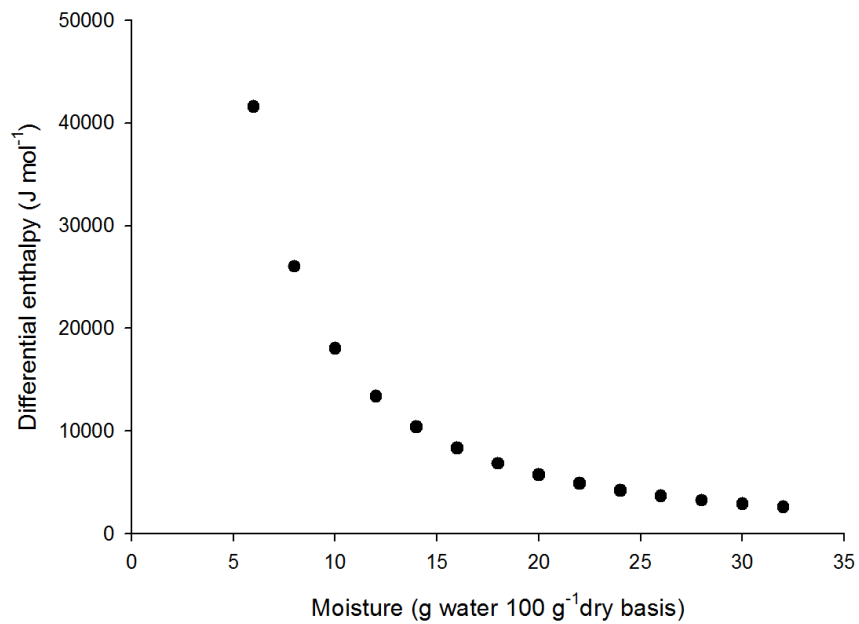


Fig. 4 - Differential enthalpy as a function of the equilibrium moisture content of yacon

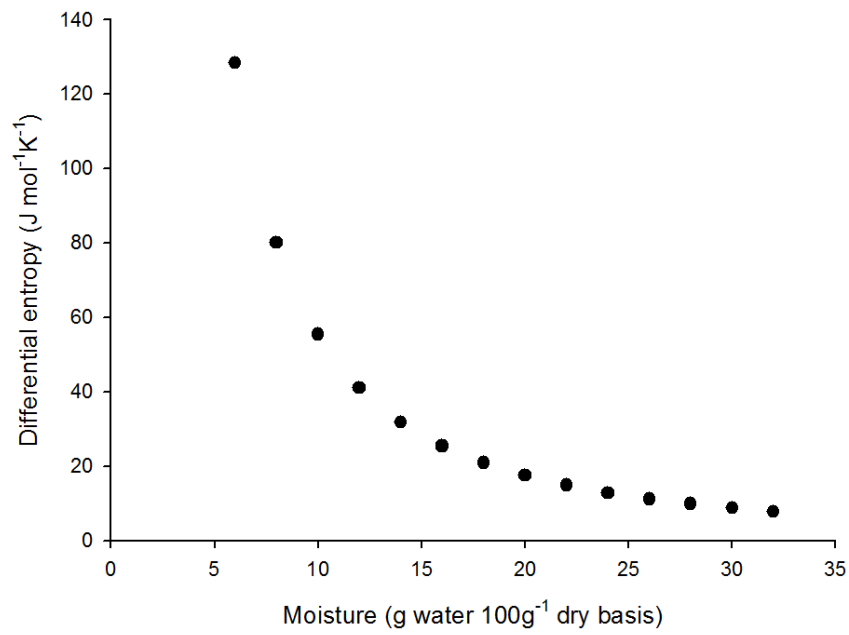


Fig. 5 - Differential entropy as a function of the equilibrium moisture content of yacon

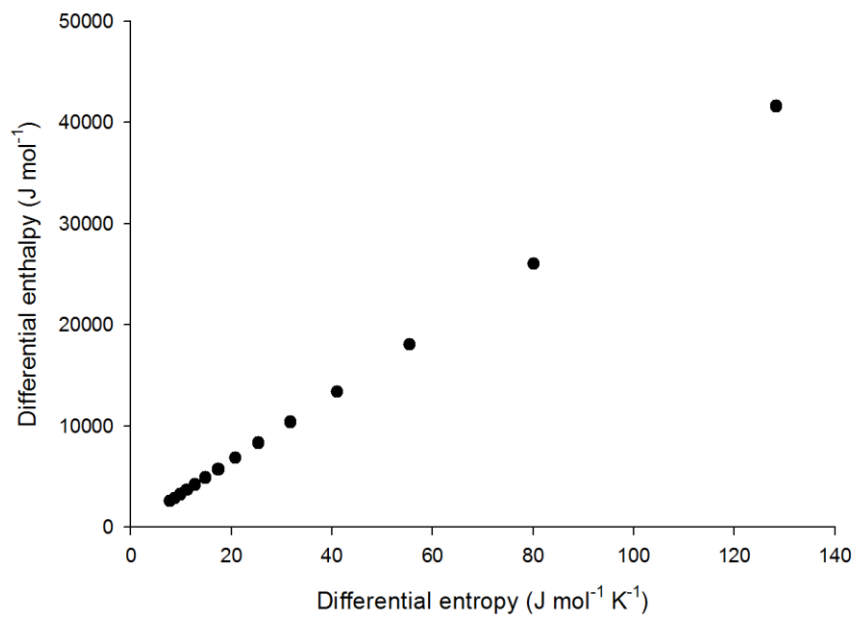


Fig. 6 - Correlation between differential enthalpy and differential entropy of adsorption of yacon

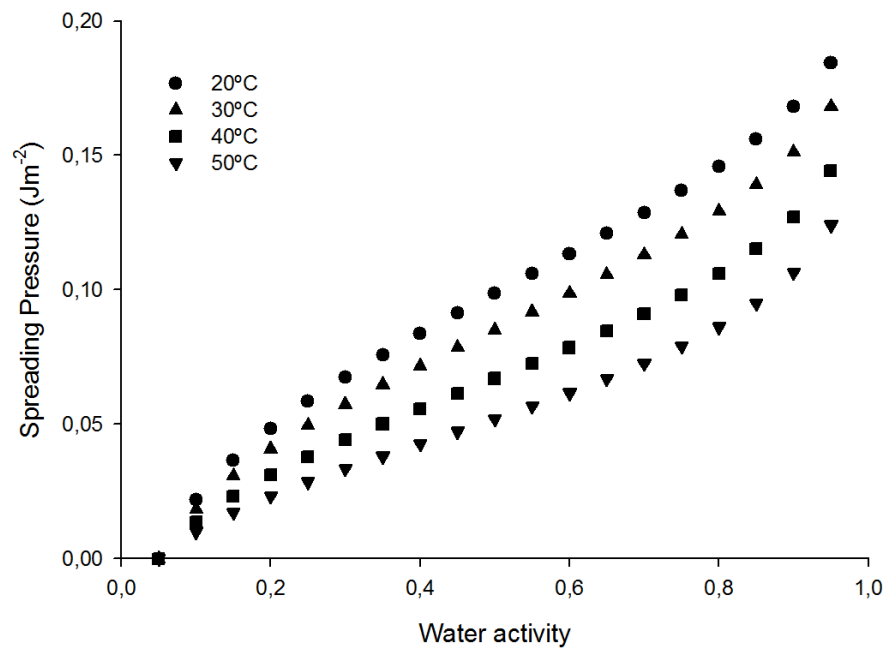


Fig. 7 - Spreading pressure variation as a function of water activity of yacon

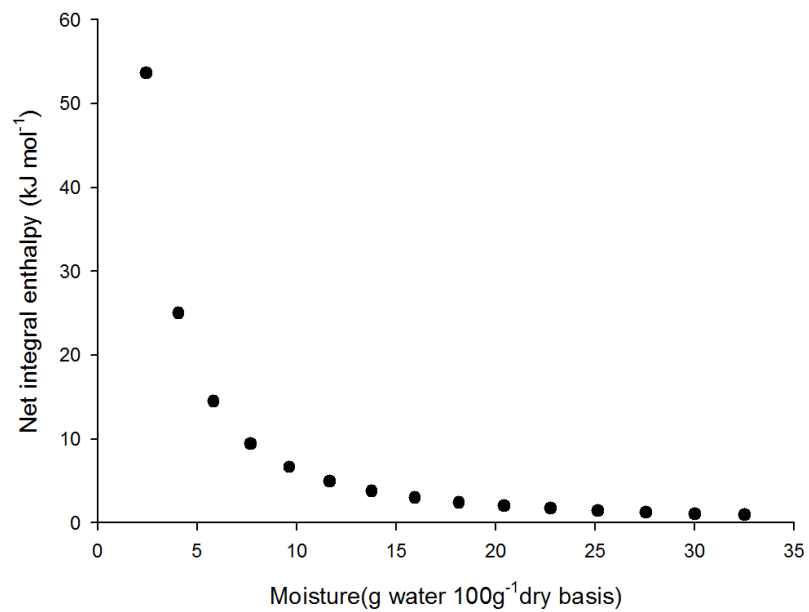


Fig. 8 - Integral enthalpy as a function of equilibrium moisture content of yacon

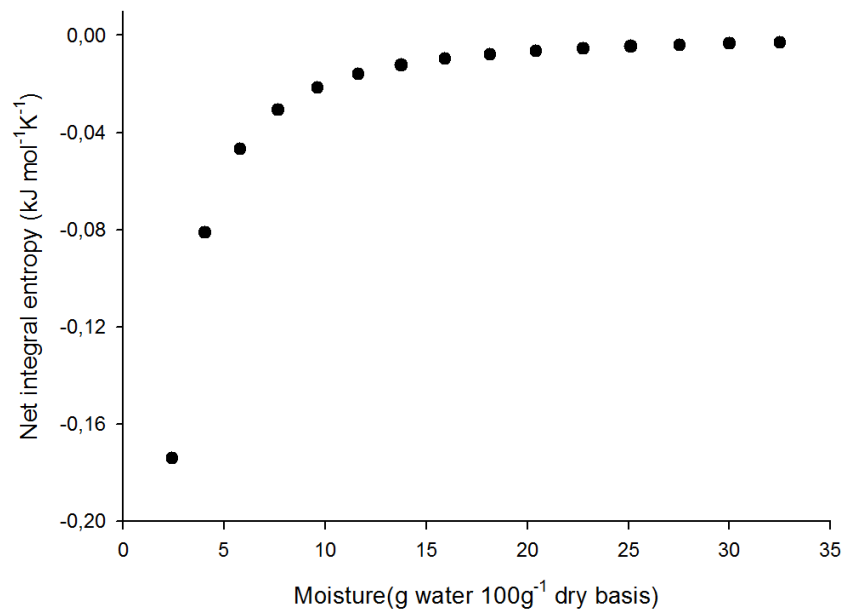


Fig. 9 - Integral entropy as a function of equilibrium moisture content of yacon

Table 1 - Models applied to the experimental sorption data of dehydrated yacon bagasse.

| Name of the equation | Equation |
|----------------------|--|
| BET | $\frac{Aw}{(1-Aw)X} = \frac{1}{X_m C} + \frac{(C-1)Aw}{X_m C} \quad (1)$ |
| GAB | $X = \frac{X_m C \cdot K \cdot Aw}{(1-K \cdot Aw) \times (1-K \cdot Aw + C \cdot K \cdot Aw)} \quad (2)$ |
| Halsey | $Aw = \exp\left(\frac{-A}{X^B}\right) \quad (3)$ |
| Henderson | $(1-Aw) = \exp(A \cdot X^B) \quad (4)$ |
| Chung-Pfost | $\ln(Aw) = -A \cdot \exp(-B \cdot X) \quad (5)$ |
| Smith | $X = A + (B \cdot \log(1-Aw)) \quad (6)$ |

X is the equilibrium moisture content on dry matter; Aw is water activity; X_m is the monolayer moisture (g water g⁻¹), A , B , C , and K are parameters of each model.

Table 2 - Estimated parameters and comparison for different isotherm models: R^2 , coefficient of determination, E , mean relative percentage deviation modulus; e_{ave} , average residual; $RMSE$, root mean-square error.

| Model | Constant | 20 °C | 30 °C | 40 °C | 50 °C | Mean |
|------------------|-----------|--------|--------|--------|--------|--------|
| BET | X_m | 0.016 | 0.009 | 0.006 | 0.006 | |
| | C | 15.576 | 18.525 | 77.848 | 14.022 | |
| | R^2 | 0.993 | 0.992 | 0.993 | 0.992 | 0.993 |
| | E | 3.085 | 3.309 | 2.955 | 3.282 | 3.184 |
| | e_{ave} | 0.035 | 0.033 | 0.025 | 0.020 | 0.029 |
| | $RMSE$ | 0.070 | 0.066 | 0.051 | 0.040 | 0.059 |
| GAB | X_m | 0.0120 | 0.010 | 0.007 | 0.006 | |
| | C | 16.829 | 14.414 | 18.139 | 9.075 | |
| | K | 0.931 | 0.955 | 0.993 | 1.004 | |
| | R^2 | 0.979 | 0.982 | 0.940 | 0.973 | 0.969 |
| | E | 4.736 | 4.478 | 10.477 | 10.377 | 7.557 |
| | e_{ave} | 0.298 | 0.195 | 0.699 | 0.842 | 0.498 |
| Halsey | A | 0.02 | 0.016 | 0.011 | 0.008 | |
| | B | 1.573 | 1.438 | 1.277 | 1.139 | |
| | R^2 | 0.993 | 0.991 | 0.989 | 0.991 | 0.991 |
| | E | 6.072 | 6.452 | 7.369 | 8.088 | 6.911 |
| | e_{ave} | 0.336 | 0.393 | 0.359 | 0.459 | 0.376 |
| | $RMSE$ | 1.007 | 1.179 | 1.078 | 1.377 | 1.129 |
| Henderson | A | 56.126 | 49.343 | 39.213 | 33.472 | |
| | B | 1.206 | 1.134 | 1.025 | 0.940 | |
| | R^2 | 0.943 | 0.942 | 0.918 | 0.936 | 0.935 |
| | E | 23.722 | 20.530 | 24.125 | 24.960 | 23.923 |
| | e_{ave} | 0.830 | 0.639 | 0.671 | 0.779 | 0.725 |
| Chung | A | 1.529 | 1.499 | 1.328 | 1.230 | |
| | B | 32.118 | 33.656 | 32.978 | 33.288 | |
| | R^2 | 0.903 | 0.901 | 0.879 | 0.867 | 0.887 |

| | | | | | | |
|--------------|-------------|--------|--------|--------|---------|--------|
| | <i>E</i> | 52.680 | 57.629 | 84.171 | 120.726 | 70.905 |
| | e_{ave} | 1.174 | 1.058 | 1.197 | 1.207 | 1.186 |
| | <i>RMSE</i> | 3.522 | 3.173 | 3.592 | 3.622 | 3.557 |
| Smith | <i>A</i> | 0.003 | 0.004 | 0.007 | 0.009 | |
| | <i>B</i> | 0.082 | 0.076 | 0.080 | 0.008 | |
| | R^2 | 0.954 | 0.961 | 0.940 | 0.936 | 0.948 |
| | <i>E</i> | 26.811 | 28.195 | 43.583 | 61.570 | 35.889 |
| | e_{ave} | 0.751 | 0.638 | 0.756 | 0.760 | 0.754 |
| | <i>RMSE</i> | 2.254 | 1.915 | 2.268 | 2.281 | 2.261 |

CAPÍTULO 4.

Artigo 3:

**Utilização da polidextrose como material de parede para o
microencapsulamento do suco de yacon (*Smallanthus sonchifolius*)
por atomização**

Artigo a ser traduzido e formatado para publicação no
Journal of Food Engineering

RESUMO

O suco das raízes de yacon foi microencapsulado com goma arábica (GA) e polidextrose (PD) por atomização. Os efeitos da concentração dos agentes encapsulantes (10 e 15%) e da temperatura de secagem (140 e 160 °C) sobre teor de compostos fenólicos totais, atividade antioxidante, frutoligossacarídeos, umidade, atividade de água, solubilidade, higroscopicidade, cor e morfologia foram investigados a fim de avaliar o potencial uso da polidextrose como material de parede. As microcápsulas produzidas com PD apresentaram características de retenção dos compostos bioativos e características físico-químicas similares às produzidas com GA. A retenção dos compostos fenólicos foi de 73,67 a 85,49% e da atividade antioxidante por DPPH de 80,78 a 90,58%. Os frutoligossacarídeos sofreram pouca despolimerização em açúcares simples mesmo com o uso de temperaturas elevadas. Características físico-químicas mostraram alta estabilidade (valores baixos de umidade e atividade de água), baixa higroscopicidade e alta solubilidade das microcápsulas. Em relação à cor, as amostras atomizadas apresentaram ângulo Hue próximo a 100°, indicando coloração amarela. A microscopia eletrônica de varredura mostrou que as partículas produzidas com polidextrose apresentaram superfícies mais lisas que as atomizadas com goma arábica, propriedade fundamental para uso em formulações industriais.

1. INTRODUÇÃO

As raízes de yacon possuem diversas propriedades, tais como prebiótica, antidiabética, antioxidante e efeitos antimicrobianos (Ojansivu et al., 2011). Em contraste com a maioria das raízes comestíveis, o yacon armazena os carboidratos na forma de frutoligossacarídeos (FOS), que são oligossacarídeos de frutose unidos por ligações β - (2/1) ou β - (2/6) com uma molécula de glicose terminal ligada à frutose por uma ligação α -(1/2) (Fernández et al., 2013). Os frutoligossacarídeos não são hidrolisados pelas enzimas do intestino delgado (Castro et al., 2013), em vez disso, eles são metabolizados pela microflora intestinal para formar ácidos graxos de cadeia curta, L-lactato, CO₂, hidrogênio e outros metabólitos, apresentando efeitos prebióticos (Sabater-Molina e Zamora, 2009; Nair e Thompkinson, 2010). Além disso, os FOS exercem benefícios para a saúde durante a digestão ajudando a

controlar a constipação, bem como reduzindo os níveis de lipídios e de glicose no sangue (Ojansivu et al., 2011; Valentová e Ulrichová, 2003), aumentando a absorção de cálcio e de magnésio, e reduzindo o risco de câncer de cólon e do crescimento tumoral (Roberfroid, 2007; Castro et al., 2013).

Além da ação prebiótica, as raízes de yacon são ricas em compostos fenólicos com propriedades antioxidantes, que protegem o corpo humano dos processos oxidativos que são um dos fatores responsáveis para o aparecimento de doenças cardiovasculares, doenças do sistema imunológico, distúrbios cerebrais e câncer (Ho et al., 2010). A literatura apresenta alguns estudos sobre a presença de fenóis e outros compostos antioxidantes em yacon. Uma alta concentração de polifenóis totais (42,20 mgGAE/g) e flavonóides totais (39,71mgRE/g) em base seca foi reportado por Andrade et al. (2014) no cozimento das folhas e flores de yacon, sendo que ácido gálico e rutina foram os compostos fenólicos e flavonóides, respectivamente, mais abundantes no extrato das folhas, e de ácido gálico e miricetina no extrato das flores. Campos et al. (2012) avaliaram raízes de yacon de 35 locais diferentes e reportaram teores de compostos fenólicos totais na faixa de 7,9–30,8mg de ácido clorogênico/g em base seca. Takenaka et al. (2003) encontraram cinco derivados do ácido caféico nas raízes de yacon como os principais compostos fenólicos e Yan et al. (1999) identificaram ácido clorogênico e triptofano como os principais antioxidantes extraídos e identificados nesse tubérculo.

Uma atenção considerável têm sido dirigida para a identificação de antioxidantes naturais e não tóxicos a fim de proteger o corpo humano dos radicais livres e retardar o desenvolvimento de doenças crônicas (Zhang et al., 2011). Entretanto, os polifenóis apresentam baixa estabilidade a condições ambientais devido a presença de ligações insaturadas na sua estrutura molecular, o que os torna vulneráveis a agentes oxidantes, tais como luz, calor, umidade e oxigênio (Halliwell, 2008). Devido à susceptibilidade desses compostos aos efeitos adversos externos, condições de processamento prejudiciais e sua instabilidade química, têm sido realizado diversos estudos a fim de melhorar a sua biodisponibilidade oral, entre eles, o emprego da microencapsulação (Belščak-Cvitanović et al., 2011). Nessa técnica, o mecanismo de proteção é a formação de uma membrana pelo material de parede em torno de gotículas ou partículas do material encapsulado (Goula e

Adamopoulos, 2012). Esse método é usado para proteger os componentes ativos e liberá-los sob condições controladas (Deladino, 2008).

Entretanto, de acordo com Rosenberg et al. (1990), um dos principais fatores que influenciam a estabilidade de compostos encapsulados é a natureza do material de parede. A goma arábica dissolve-se facilmente quando agitada em água, apresenta alta solubilidade e baixa viscosidade em solução, facilitando o processo de atomização (Rosemberg et al., 1990), sendo por isso um dos materiais de parede mais utilizados no processo de encapsulação. A polidextrose é um polissacarídeo com grau médio de polimerização de cerca de 10 resíduos de glicose, obtido pela polimerização térmica de D-glucose na presença de sorbitol e de ácido fosfórico (Ribeiro et al., 2003). É usada principalmente como um substituinte de açúcar e fibra dietética em alimentos; sendo que em típicos níveis de utilização, proporciona efeitos fisiológicos semelhantes às de outras fibras dietéticas (Flood et al., 2004). Porém, esse polissacarídeo ainda é pouco estudado como material de parede tendo poucos trabalhos publicados, sendo eles referentes á encapsulação de probióticos (Okuro et al., 2013; Pinto et al., 2015), e devido às propriedades antes citadas, constitui-se como um potencial encapsulante a ser usado.

Por apresentar quantidades elevadas de FOS e de compostos fenólicos, o yacon merece destaque e necessita de estudos de formas de preservação dos componentes bioativos, como a microencapsulação. O uso de materiais de parede como a goma arábica e a polidextrose que tem ação semelhante a fibras e características prebióticas (Flood et al., 2004; Cherbut et al., 2003) conferem às microcápsulas propriedades funcionais além da proteção dos compostos bioativos.

O objetivo do trabalho foi encapsular o suco de yacon por atomização e avaliar a eficiência da polidextrose como material de parede através da comparação com a goma arábica.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Matéria Prima

As raízes de yacon foram provenientes do estado de São Paulo e adquiridas na Central de Abastecimento do Rio Grande do Sul – CEASA na

cidade de Porto Alegre – RS, Brasil. As raízes foram limpas e selecionadas considerando a ausência de injúrias visuais e infecções, ficando armazenadas sob refrigeração ($8\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$) até o momento do uso.

2.2. Preparo do Suco de Yacon

As raízes de yacon foram descascadas, cortadas em pequenas rodela de aproximadamente $0,5\pm 0,1\text{ cm}$ de espessura. A seguir, foram branqueadas, colocando as rodela dentro de uma autoclave gerando vapor a 100°C à pressão atmosférica durante 4 minutos, seguido pelo resfriamento em banho de gelo durante 3 minutos, de acordo com a metodologia proposta por Lago et al. (2011). A partir das fatias branqueadas foi extraído o suco de yacon empregando um processador de frutas (Kenwood, modelo JE600) e filtrado a vácuo empregando papel filtro Whatman n. 01.

2.3. Processo de Encapsulação

Ao suco de yacon foi adicionado o agente encapsulante, e misturado sob agitação usando Ultra Turrax (IKA/T25) por 4 minutos a 6000 rpm, até a completa dissolução. A Goma Arábica Instantgum BA (Nexira Brasil Comercial Ltda., São Paulo, Brasil) e Polidextrose (MasterSense Ing. Alim. Ltda. São Paulo, Brasil), foram empregadas em concentrações de 10 e 15% (m/v). A secagem por atomização foi realizada em um atomizador de duplo fluido, do tipo pneumático Mini-Spray-Dryer LM MSDi 1.0 (LABMAQ, Brasil), com bico de alimentação de 1,0mm de diâmetro. A alimentação do secador foi realizada através de uma bomba peristáltica com vazão de 0,60 L/h; temperatura do ar de secagem 140 e 160°C ; pressão de ar comprimido $3,5\text{ Kg/cm}^2$ e vazão de ar de atomização 40,5 L/h.

2.4. Caracterização do Suco de Yacon e das Microcápsulas

2.4.1. Determinação dos Compostos Fenólicos Totais

Os fenois totais foram determinados utilizando o reagente Folin-Ciocalteu (Singleton e Rossi, 1965), sendo o suco diluído numa proporção de 1:10 e as microcápsulas diluídas na proporção de 1:50, ambos em água destilada. As leituras foram feitas em espectrofotômetro (Genesys S10, Thermo

Scientific), a 765 nm. Os resultados foram expressos em mg de ácido gálico (GAE) por g de amostra em base seca.

2.4.2. Determinação da Atividade Antioxidante por DPPH (Captura do Radical 2,2-difenil-1-picrilidrazila)

Para o método DPPH (Brand-Williams et al., 1995) o extrato e os pós microencapsulados foram diluídos em água destilada na proporção de 1:30. 100 µL de amostra foi misturado a 3,9 mL de solução de DPPH 0,06 mM. A absorbância foi medida em espectrofotômetro a 515 nm, após 3 horas de reação. Os resultados foram expressos como a taxa de radicais sequestrados (Eq.1):

$$\% = \left(1 - \frac{A_{amostra}}{A_{controle}} \right) \times 100 \quad (1)$$

onde: $A_{amostra}$ é absorbância da amostra e $A_{controle}$ é absorbância do DPPH.

2.4.3. Determinação de Açúcares por HPLC

As amostras foram preparadas adaptando-se o método descrito por Toneli et al. (2007). Duas gramas de amostra foram misturadas com 60 mL de água destilada a 80°C e a mistura colocada em banho de água a 80°C com agitação, durante 1 h. Após, a suspensão foi resfriada à temperatura ambiente, filtrada em membrana de 0.22 µm e congelada a -18 °C. As análises dos conteúdos de inulina, glicose e frutose nas amostras foram realizadas adaptando-se o método descrito por Zuleta e Sambucetti (2001) por determinação direta pelo método de cromatografia líquida de alta eficiência com detecção de índice de refração (HPLC-RI), utilizando cromatógrafo marca Perkin Elmer série 200, com detector de índice de refração, água (Mili-Q) como fase móvel a 0,6 mL/min, temperatura 80 °C e coluna da Rezex RHM Monosaccharide da marca Phenomenex, 300 x 7,8 mm, com um tempo total de corrida de 13 minutos. As análises foram realizadas em duplicata para cada amostra estudada.

2.4.4. Umidade

A determinação de umidade foi realizada de acordo com o método n° 984.25 da AOAC (1990).

2.4.5. Atividade de Água

A atividade de água (A_w) da amostra foi medida em um analisador marca Aqualab 3TE (Pullman, USA), através do método nº 978.18 da AOAC (1990).

2.4.6. Solubilidade

A solubilidade das amostras foi determinada de acordo com Cano-Chauca et al. (2005), com algumas modificações. 1 g de amostra foi misturado a 100 mL de água destilada e submetido à agitação em agitador magnético por 5 minutos. A seguir, a solução foi centrifugada a $3000\times g$ (Thermo 16R, Thermo Scientific) durante 15 minutos e uma alíquota de 25 mL do sobrenadante foi transferido para um béquer de 50 mL e seco em estufa a $105\text{ }^\circ\text{C}$ até peso constante. A solubilidade foi calculada pela diferença de peso.

2.4.7. Higroscopicidade

Para determinação da higroscopicidade, 1 g de amostra do pó foi pesado em béquer de vidro, colocado em um recipiente hermético contendo solução saturada de cloreto de sódio (75% de umidade relativa), e os recipientes armazenados em incubadora (411/FDP, Ethik Technology, Brasil), a $25\text{ }^\circ\text{C}$ (Tonon et al., 2008). As amostras foram pesadas após uma semana de armazenamento, e depois a cada 24 horas, até que o equilíbrio fosse atingido, evidenciado por um peso constante, a partir de pesagens sucessivas da amostra. A higroscopicidade foi expressa em %, utilizando a Eq. (2):

$$HG(\%) = \frac{\Delta m / (M + M_i)}{1 + \Delta m / M} \quad (2)$$

onde: Δm (g) é o aumento de peso do pó depois de atingir o equilíbrio, M é a massa inicial do pó e M_i é (% b.s.) é o conteúdo de água livre no pó antes da medição (Jaya e Das, 2004).

2.4.8. Determinação de Cor

A cor das amostras em pó foi determinada utilizando placas de Petri de 5 cm de diâmetro e 1 cm de altura cheias até o topo com o material em pó (Ancos et al., 1999), por meio de leitura direta em colorímetro Minolta (CR400/410) calibrado com uma placa de cerâmica branca ($L^* = 97.47$; $a^* =$

0.08 e $b^* = 1.76$). A cor foi registrada através do sistema tridimensional CIEL*a*b*, onde L^* indica a luminosidade (variando de 0 - preto a 100 - branco), a^* é uma medida que varia do verde (-60) ao vermelho (+60) e b^* varia do azul (-60) ao amarelo (+60). Os parâmetros L^* , a^* e b^* foram utilizados para calcular os valores de *Chroma* (saturação de cor) (Eq. 3), *Hue* (ângulo de tonalidade) (Eq. 4) descritas por Palou et al. (1999).

$$Chroma = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2} \quad (3)$$

$$Hue = \tan^{-1}\left(\frac{b^*}{a^*}\right) \quad (4)$$

2.4.9. Análise da Microestrutura

As estruturas das partículas dos pós microencapsulados foram analisadas por microscópio eletrônico de varredura (JSM 6060, JEOL Ltda, Japão). As amostras foram fixadas em *stubs* utilizando fita adesiva dupla face de carbono, metalizadas utilizando carbono, e após, examinadas no microscópio, operando a uma tensão de 8kV e ampliação de $\times 2000$ para os pós atomizados.

2.4.10. Análise Estatística

Os dados obtidos foram submetidos às análises estatísticas de análise de variância (ANOVA) e os tratamentos às provas de comparações múltiplas de médias de Tukey, utilizando o programa SAS 9.3.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Compostos Fenólicos e Atividade Antioxidante

O teor de compostos fenólicos e da atividade antioxidante do suco de yacon foram significativamente maiores que nas microcápsulas produzidas com diferentes tratamentos como pode ser visualizado na Tabela 1.

Tabela 1. Compostos Fenólicos e Atividade Antioxidante do Suco de Yacon e das Microcápsulas com diferentes materiais de parede

| Tratamento | Fenóis Totais* | Atividade Antioxidante (%) |
|-------------------|--------------------------|-----------------------------------|
| Suco de Yacon | 27,08±0,56 ^a | 47,35±1,49 ^a |
| GA 10% 140 °C | 21,56±0,27 ^{bd} | 40,09±1,12 ^b |
| GA 15% 140 °C | 22,84±0,18 ^{cd} | 41,58±2,23 ^b |
| GA 10% 160 °C | 20,76±0,09 ^{be} | 40,44±1,61 ^b |
| GA 15% 160 °C | 22,98±0,24 ^c | 38,60±1,74 ^b |
| PD 10% 140 °C | 23,15±0,52 ^c | 40,61±0,87 ^b |
| PD 15% 140 °C | 22,94±0,47 ^c | 42,89±1,12 ^b |
| PD 10% 160 °C | 20,97±0,10 ^{be} | 38,25±1,24 ^b |
| PD 15% 160 °C | 19,95±0,24 ^e | 38,77±0,50 ^b |

Resultados expressos em *mg de GAE/g de amostra em base seca

Valores expressos da média ± desvio padrão.

Letras minúsculas iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa ($p < 0,05$).

Os fenóis em vegetais podem existir na forma livre e na forma conjugada, assim como podem estar na forma solúvel e em combinação com componentes da parede celular (Girgin e El, 2015). A raiz de yacon foi branqueada em vapor o que pode provocar a ruptura de complexos entre polifenóis, resultando em melhor disponibilidade destes compostos para a extração (Podsdek 2007). Segundo Roy et al. (2009), o branqueamento a vapor também desativa as enzimas oxidativas e hidrolíticas protegendo os compostos fenólicos da degradação enzimática.

O teor de compostos fenólicos do suco de yacon foi de 27,08 mg de GAE/g e diminuiu para teores na faixa de 19,95-23,15 mg de GAE/g de amostra em base seca nas microcápsulas, indicando percentuais de retenção que variaram de 74 a 85%. Esses valores foram próximos aos encontrados em estudo de microencapsulação de uma espécie de cacto que foi de 68-86% de retenção de fenóis variando com os diferentes materiais de parede avaliados (Robert et al., 2015).

A retenção dos compostos fenólicos na secagem por atomização depende da estrutura química dos fenóis (que afeta a suscetibilidade à

oxidação) e atributos físico-químicos do pó como a área de superfície (que afeta diretamente as interações via ligação química ou efeito físico como calor e oxigênio) (Sun-Waterhouse e Waterhouse, 2015). Os fenóis possuem ao menos um anel aromático, com um ou mais grupamentos hidroxila, e são normalmente encontrados como ésteres ou glicosídeos, em vez de compostos livres (Vermerris e Nicholson, 2009). Devido à presença de ligações insaturadas na sua estrutura molecular, são vulneráveis a oxidação, luz e calor e podem ser facilmente degradados quando expostos a estas condições (Zheng et al., 2011), como ocorre por exemplo, durante o microencapsulamento por atomização. O uso de elevadas temperaturas utilizadas na atomização podem causar degradação já que alguns compostos fenólicos são termo lábeis (Georgetti et al., 2008; Moure et al., 2001).

Na Tabela 1 pode ser observado que a maior retenção do teor de compostos fenólicos que foi de 23,15 mg de GAE/g de amostra em base seca ocorreu no tratamento com 10% de povidexrose na temperatura de 140 °C, entretanto esse tratamento não foi diferente significativamente ($p < 0,05$) dos tratamentos utilizando 15% de goma arábica nas temperaturas de 140 e 160 °C e do tratamento com 15% de povidexrose a 140 °C. Campos et al. (2012) avaliaram o teor de compostos fenólicos de 35 acessos de raízes de yacon e obtiveram valores de 7,9 a 30,8 mg CAE/g em base seca, sendo que o principal foi o ácido clorogênico.

Ao avaliarmos individualmente cada material de parede, observa-se que para a povidexrose a temperatura teve efeito significativo, sendo que com o aumento da temperatura usando 10% desse encapsulante os fenóis diminuíram de $23,15 \pm 0,52$ para $20,97 \pm 0,10$, enquanto que na concentração de 15% o teor diminuiu de 22,94 para 19,95 mg de GAE/g de amostra em base seca. Para a goma arábica o aumento da temperatura não mostrou efeito significativo, o que demonstra uma maior proteção ao calor desse encapsulante. Entretanto, como pode ser observado na Tabela 1, ao compararmos os dois agentes encapsulantes, os tratamentos utilizando a povidexrose não diferiram significativamente da goma arábica quanto à retenção de polifenóis, sendo, portanto um material de parede também eficiente na encapsulação de compostos sensíveis. Um estudo de microencapsulamento de probióticos usando povidexrose como material de parede demonstrou a eficiência desse

encapsulante mantendo os microrganismos viáveis em armazenamento por 120 dias (Okuro et al., 2013). Segundo Jafari et al. (2008), a bem sucedida encapsulação de extratos nutracêuticos deve resultar num pó encapsulado com retenção máxima do composto de interesse no interior das partículas, os materiais de parede são obstáculos físicos que podem diminuir os efeitos do oxigênio, luz, calor e umidade sobre os componentes encapsulados.

Quanto à atividade antioxidante por DPPH, no suco de yacon foi de 47,35% e esta foi significativamente maior que nas microcápsulas. Ao compararmos os tratamentos de encapsulação entre si, verifica-se que as microcápsulas não apresentaram diferença significativa em nenhum dos tratamentos, mesmo comportamento relatado por Silva et al. (2013) na microencapsulação de extrato de jaboticaba onde o tipo de agente encapsulante (maltodextrina e goma arábica) e temperatura (140, 160 e 180 °C) não resultaram em diferenças significativas na atividade antioxidante das microcápsulas. Em estudo com extratos de flores e folhas de yacon, Andrade et al. (2014) encontraram uma relação positiva entre atividade antioxidante determinada por DPPH e o total de compostos fenólicos e flavonoides, indicando que o aumento dos componentes fenólicos favoreceu a atividade antioxidante dos extratos. Segundo Podsedek (2007), os fenólicos tem capacidade de sequestrar espécies reativas de oxigênio devido à propriedade de doação de elétrons e à eficiência antioxidante depende da estabilidade em diferentes sistemas, assim como do número e localização do grupo hidroxil. Em geral, os fenóis desempenham papel como antioxidantes através de diferentes mecanismos de ação, tais como extinção de radicais livres (Antolovich et al., 2002), quelando espécies reativas de oxigênio, inibição de enzimas oxidativas ou quelando metais de transição (Maqsood e Benjakul, 2010).

3.2. Frutoligossacarídeos

O teor de FOS do suco de yacon foi de 23,17 g/100g em base seca e esse valor foi significativamente maior que nas microcápsulas produzidas por atomização. Os teores de frutose e de glicose tiveram uma variação menor como pode ser visualizado na Tabela 2.

Tabela 2. Teor de Frutoligossacarídeos, Glicose e Frutose do Suco de Yacon das microcápsulas com diferentes materiais de parede.

| Tratamento | FOS* | Glicose* | Frutose* |
|-------------------|-------------------------|--------------------------|------------------------|
| Suco de Yacon | 23,17±0,57 ^a | 2,46±0,06 ^a | 3,62±0,37 ^a |
| GA 10% 140 °C | 15,92±0,23 ^b | 4,35±0,27 ^b | 5,87±0,12 ^b |
| GA 15% 140 °C | 16,61±0,42 ^b | 3,24±0,12 ^{ce} | 5,77±0,35 ^b |
| GA 10% 160 °C | 15,61±0,41 ^b | 4,33±0,13 ^b | 5,59±0,17 ^b |
| GA 15% 160 °C | 17,26±0,50 ^b | 3,37±0,10 ^c | 5,56±0,42 ^b |
| PD 10% 140 °C | 17,80±1,92 ^b | 3,07±0,36 ^{cde} | 5,53±0,22 ^b |
| PD 15% 140 °C | 16,86±1,30 ^b | 2,85±0,12 ^{ade} | 5,43±0,51 ^b |
| PD 10% 160 °C | 16,69±0,43 ^b | 2,64±0,54 ^{ad} | 5,33±0,14 ^b |
| PD 15% 160 °C | 16,33±0,30 ^b | 2,42±0,19 ^a | 4,28±0,30 ^a |

*Resultados expressos em g /100 g de amostra em base seca

Valores expressos da média ± desvio padrão.

Letras minúsculas iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa (p<0,05).

A literatura apresenta variação em relação aos teores de açúcares na raiz de yacon. Castro et al. (2013) encontraram valores de 24 a 35 g/100g de FOS e de 16 a 23 g/100g de frutose em base seca em quatro variedades de yacon avaliadas. Graefe et al. (2004) obtiveram teores de 50 a 62% de FOS, 1,1 a 3,3% de glicose e de 1,5 a 15,2% de frutose em base seca em três diferentes variedades de yacon. De acordo com Campos et al. (2012), a variabilidade no teor de FOS tem sido relacionado com a atividade das enzimas envolvidas na síntese e hidrólise de FOS como a sacarose-transferase 1-frutosil (1-SST), frutano 1-frutosil-transferase (1-FFT) e frutano 1-exo-hidrolase (1-FEH). O conteúdo de frutoligossacarídeos nas raízes de yacon pode também ser influenciado pela origem, local, condições climáticas e material vegetal (Lachman et al., 2004).

Como pode ser verificado na Tabela 2, o conteúdo de FOS diminuiu significativamente após a secagem para todos os tratamentos, enquanto o teor dos açúcares simples glicose e frutose aumentou como já relatado em outros estudos com esse tubérculo (Lago et al., 2011a). De acordo com Kim et al. (2001) em estudo sobre a formação de gel, o uso de altas temperaturas (superiores a 80 °C) mostrou a hidrólise das moléculas do polissacarídeo em açúcares simples e esta conversão foi maior à medida que a temperatura

aumentou. Böhm et al. (2005) no estudo do aquecimento de FOS de cadeia longa obtidos das raízes da chicória submetidas a temperaturas entre 135 e 195 °C durante 60 minutos, encontraram que entre 20 e 100% desses compostos foram despolimerizados por termólise em compostos de cadeia curta, glicose, frutose e sacarose, indicando que essa degradação deve ser levada em consideração quando é utilizada como ingrediente em alimentos prebióticos termicamente tratados.

Considerando trabalhos já publicados, as microcápsulas de yacon são uma boa fonte de FOS e o consumo diário pode sugerir efeitos benéficos ao organismo, uma vez que o teor de frutoligosacarídeos nas microcápsulas de yacon foi superior a 15 g/100g em base seca para todos os tratamentos avaliados. Bouhnik et al. (2007) relataram mudanças significativas no metabolismo do colesterol de idosos saudáveis por ingestão diária de 8 g de FOS por 12 dias, podendo estar relacionado a ação protetora contra o câncer de cólon. Em estudo de Scheid et al. (2014), a ingestão diária de yacon liofilizado contendo 7,4 g de FOS durante 9 semanas, foi associada com uma diminuição de glicose.

De acordo com o seu grau de polimerização (DP), os frutanos são divididos em inulina, com um DP de 10 a 60 unidades de monossacarídeos e FOS, com um DP inferior a 10 (Scheid et al., 2014), sendo que muitas propriedades físico-químicas são influenciadas pelo grau de polimerização como fusão, temperatura de transição vítrea e capacidade de formação de gel (Bot et al., 2004). De acordo com Rajam e Anandharamakrishnan (2015), poucos estudos usando FOS como agente encapsulante são encontrados principalmente pela limitação devido ao comportamento pegajoso relacionado à sua baixa temperatura de transição vítrea. Pedreschi et al. (2003) em trabalho de consumo de açúcares do yacon por cepas probióticas, relataram que o yacon é composto por 27% de FOS do tipo GF2, 54% de GF3 e 19% de moléculas do tipo GF_n≥4. Os FOS das microcápsulas de yacon podem agir como material de parede em adição a goma arábica e a povidexose, que são polímeros de elevada massa molecular e vão diminuir a higroscopicidade dos FOS durante a secagem por atomização através da alteração da temperatura de transição vítrea.

3.3. Análises Físico-químicas e Cor das Microcápsulas de Yacon

O efeito da temperatura, concentração e tipo de material de parede nas propriedades físico-químicas das microcápsulas de suco de yacon são mostrados na Tabela 3.

Tabela 3. Umidade, Atividade de Água, Solubilidade e Higroscopicidade das microcápsulas de suco de yacon com diferentes materiais de parede.

| Tratamento | Umidade* | Aw | Solubilidade(%) | Higroscopicidade(%) |
|---------------|-------------------------|--------------------------|---------------------------|--------------------------|
| GA 10% 140 °C | 2,30±0,02 ^{ab} | 0,126±0,005 ^a | 99,00±0,85 ^{ab} | 19,95±0,57 ^{bc} |
| GA 15% 140 °C | 2,19±0,20 ^{ab} | 0,105±0,004 ^b | 98,00±2,26 ^{ab} | 21,01±0,21 ^{ab} |
| GA 10% 160 °C | 2,22±0,19 ^{ab} | 0,098±0,001 ^b | 99,40±0,28 ^a | 19,49±0,26 ^c |
| GA 15% 160 °C | 2,05±0,05 ^b | 0,079±0,003 ^c | 98,40±0,23 ^{ab} | 19,74±0,14 ^c |
| PD 10% 140 °C | 3,00±0,049 ^a | 0,192±0,001 ^d | 90,80±1,70 ^c | 19,12±0,38 ^c |
| PD 15% 140 °C | 2,63±0,18 ^{ab} | 0,166±0,003 ^e | 94,80±1,13 ^{abc} | 21,49±0,04 ^a |
| PD 10% 160 °C | 2,68±0,06 ^{ab} | 0,152±0,001 ^f | 92,80±1,12 ^{bc} | 19,84±0,16 ^c |
| PD 15% 160 °C | 2,62±0,54 ^{ab} | 0,134±0,003 ^a | 92,80±1,76 ^{bc} | 20,38±0,27 ^{bc} |

*Expressa em g H₂O/100 g de sólidos secos.

Valores expressos da média ± desvio padrão.

Letras minúsculas iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa (p<0,05).

O teor de umidade das microcápsulas de suco de yacon variou de 2,05 a 3,00 g/100g (Tabela 3) em base seca, sendo que apenas os tratamentos utilizando 15% de goma arábica a 160 °C e o tratamento com 10% de povidexrose a 140 °C foram diferentes estatisticamente entre si (p<0,05). Valores próximos ao encontrado por Fernandes et al. (2014) que foi de 1,64% de umidade em microcápsulas produzidas com goma arábica. Para secagem por atomização, em geral, o aumento da temperatura resulta em maior perda de água do pó, devido ao aumento da taxa de transferência de calor à partícula, causando a remoção de água mais rápida, (Kha, 2010; Wu et al., 2014). Entretanto, em nosso estudo a variação de 20 °C na temperatura de secagem não resultou em diferença significativa no teor de umidade para nenhum dos materiais de parede avaliados.

Os valores de atividade de água de todas as amostras de suco de yacon encapsulado foram inferiores a 0,2, sendo que, de acordo com Sun-

Waterhouse e Waterhouse (2015) a atividade de água prediz as interações entre os componentes em pó e, a água e é usada para medir a estabilidade de armazenamento do produto. Pua et al. (2007) obtiveram pós de suco de fruta com A_w de 0,23 e 0,25 utilizando diferentes concentrações de goma arábica e Pinto et al. (2015) em trabalho de encapsulação por atomização de microrganismos utilizando povidexose como agente encapsulante obtiveram valores de atividade de água na faixa de 0,13 a 0,19. Pós secos com atividade de água inferior a 0,6 são considerados seguros para armazenamento geral (Chiou e Langrish, 2007; Kha et al., 2010).

Pode-se observar também que o aumento da concentração do material de parede de 10 para 15% causou um decréscimo significativo na A_w tanto para a goma arábica quanto para a povidexose. Esse comportamento também foi encontrado em outros estudos de secagem por atomização (Queck et al., 2007; Kha et al., 2010; Tonon et al., 2009). O decréscimo na A_w que ocorre durante o encapsulamento, faz com que as reações de degradação diminuam devido à redução da mobilidade molecular e ao aumento da viscosidade da matriz no estado vítreo (Tonon et al., 2009). A alta massa molecular dos materiais de parede e baixa umidade fazem também com que a difusividade molecular dos constituintes diminua e a temperatura de transição vítrea aumente (Fang e Bhandari, 2011).

Os valores de solubilidade (Tabela 3) foram elevados variando de 98 a 99% para os tratamentos encapsulados com goma arábica e de 90,80 a 94,80 quando a povidexose foi utilizada. Nadeem et al. (2001) na microencapsulação de chá utilizando goma arábica obtiveram valor superior a 97% de solubilidade e Cano-chauca et al. (2005) reportaram valores de 90% para os pós de suco de manga com goma arábica. A solubilidade de pós pode ser afetada por diversos fatores, tais como composições iniciais da matéria-prima, os agentes encapsulantes, a vazão do ar comprimido e da alimentação (Bhandari et al., 1993). As diferenças na composição química e porosidade do encapsulado podem também influenciar a permeabilidade, difusão, capacidade de retenção de água e, conseqüentemente, a solubilidade dos pós, secos por atomização (Lim et al., 2011). A alta solubilidade dos pós em nosso estudo pode ser atribuída a alta solubilidade em água dos encapsulantes (Castro-Muñoz et al., 2015), como já demonstrado em estudos com pós desidratados por atomização

que indicaram que a medida que a concentração do encapsulante foi aumentada, ocorreu o aumento da solubilidade (Caparino et al., 2012; Cai e Corke, 2000).

A higroscopicidade dos tratamentos de microencapsulação do suco de yacon avaliados estiveram na faixa de 19 a 22%, próximos aos encontrados por Tonon et al. (2009) no estudo de encapsulamento de suco com goma arábica que foi de 19.74% no pó final. Os valores relativamente baixos de higroscopicidade provavelmente ocorrem devido à adição do material de parede que atua como um estabilizante das propriedades físicas do produto, evitando a aglomeração dos pós, muito comum no caso de produtos que contenham açúcares (Bhandari et al., 1993) como o suco de yacon. Os valores de higroscopicidade encontrados nesse estudo sugerem baixo risco de problemas de manipulação, ao contrário da maioria dos sucos de frutas em pó que têm alta higroscopicidade intrínseca (Sun-Waterhouse e Waterhouse, 2015).

Sucos em pó obtidos por secagem por atomização apresentam alguns problemas nas suas propriedades funcionais, como higroscopicidade e solubilidade, tornando a sua embalagem e utilização substancialmente difícil (Cano-Chauca et al., 2005). Os açúcares frutose e glicose, açúcares redutores presentes no suco de yacon são conhecidos pela sua alta higroscopicidade (Davis, 1995), pois estes materiais têm baixa temperatura de transição vítrea (frutose: -5 °C e glicose 32 °C) em seu estado amorfo (Bhandari et al., 1997). Estes açúcares apresentam tendência para se tornar pegajoso (aderência) e formar aglomerados que podem tornar-se acentuado quando o estado amorfo do açúcar transforma em açúcar cristalino por meio de adsorção de pequenas quantidades de água (Cano-Chauca et al., 2005). A adição de agentes encapsulantes antes de o produto ser atomizado minimizam esse problemas como pode ser comprovada pelos altos valores de solubilidade e baixa higroscopicidade das microcápsulas de suco de yacon.

O efeito dos diferentes tratamentos nos parâmetros de cor das microcápsulas de suco de yacon é mostrado na Tabela 4.

Tabela 4. Parâmetros de cor das microcápsulas de suco de yacon com diferentes materiais de parede.

| Tratamento | <i>L*</i> | <i>a*</i> | <i>b*</i> | <i>Hue</i> | <i>Chroma</i> |
|---------------|--------------------------|--------------------------|-------------------------|---------------------------|-------------------------|
| GA 10% 140 °C | 92,09±0,22 ^{ac} | -2,06±0,09 ^a | 10,91±0,05 ^a | 100,65±0,06 ^{ab} | 11,10±0,02 ^a |
| GA 15% 140 °C | 90,39±0,38 ^b | -2,20±0,08 ^b | 12,13±0,20 ^b | 100,65±0,05 ^b | 12,34±0,13 ^b |
| GA 10% 160 °C | 92,30±0,13 ^{ac} | -1,55±0,02 ^c | 8,5±0,69 ^c | 100,33±0,10 ^b | 8,64±0,08 ^c |
| GA 15% 160 °C | 91,80±0,14 ^c | -1,71±0,03 ^d | 9,28±0,06 ^d | 100,53±0,16 ^b | 9,44±0,37 ^d |
| PD 10% 140 °C | 93,61±0,09 ^d | -1,45±0,04 ^e | 7,99±0,05 ^e | 100,29±0,08 ^b | 8,12±0,08 ^e |
| PD 15% 140 °C | 90,52±0,32 ^b | -1,70±0,05 ^{fd} | 8,70±0,40 ^{ce} | 101,06±0,54 ^a | 8,86±0,01 ^c |
| PD 10% 160 °C | 92,39±0,05 ^a | -1,50±0,05 ^{ec} | 8,24±0,06 ^{ce} | 100,32±0,36 ^b | 8,38±0,37 ^e |
| PD 15% 160 °C | 90,05±0,08 ^b | -1,62±0,05 ^f | 8,51±0,24 ^c | 100,78±0,10 ^{ab} | 8,66±0,08 ^c |

Valores expressos da média ± desvio padrão.

Letras minúsculas iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa ($p < 0,05$).

Os valores de luminosidade foram altos com tendência ao branco, devido, provavelmente a cor esbranquiçada dos encapsulantes utilizados (goma arábica: L^* 91,28 e polidextrose: L^* 93,71). Em relação aos parâmetros a^* e b^* , as microcápsulas apresentaram valores negativos para a^* e valores positivos para b^* , indicando uma tendência para a cor verde e para cor amarela, respectivamente. Os valores de b^* aumentaram com o aumento da concentração do material de parede, porém esse aumento só foi significativo ($p < 0,05$) para os tratamentos utilizando goma arábica como encapsulante.

O valor de *Chroma* está relacionado com a intensidade da cor e representa a saturação, enquanto o valor de ângulo *Hue* indica o quanto a cor é percebida (Jiménez-Aguilar et al., 2011). Os valores de *Chroma* variaram de 8,12 a 12,34 indicando baixa intensidade de cor nas microcápsulas e esse parâmetro aumentou significativamente com o aumento da concentração do material de parede. O ângulo *Hue* comprovou a coloração amarela das amostras, com valores próximos a 100°, devido, provavelmente, ao β -caroteno presente nessa raiz (Yan et al., 1999).

3.4. Microestrutura

Nas micrografias da Figura 1 se observa que as partículas atomizadas apresentaram formato esférico heterogêneo com rugosidades, com maior número de concavidades quando a goma arábica foi utilizada como material de parede (Fig.1-A, B, C e D) e com superfície mais lisa (Fig.1-E, F, G e H) quando o suco de yacon foi encapsulado com povidona.

Nos pós atomizados com a goma arábica (Fig.1 A-D), as partículas foram de diferentes tamanhos, com superfícies rugosas e com concavidades, que são características típicas de produtos secos por atomização com o uso desse encapsulante como já demonstrado por Krishnan et al. (2005) e Fernandes et al. (2011). Teixeira et al. (2004) relataram que as concavidades são provavelmente formados por encolhimento das partículas durante as fases iniciais do processo de secagem, que pode ocorrer a baixas ou altas temperaturas de entradas do ar quente. Segundo esses autores, em baixas temperaturas de entrada do ar há menos difusão de água e as partículas têm mais tempo para encolher, enquanto em altas temperaturas de entrada, a evaporação rápida e a elevada pressão no interior das partículas também pode produzir encolhimento (Alamilla-Beltrán et al., 2005; Gandía-Herrero et al., 2010; Robert et al., 2015). A expansão térmica do ar ou de vapor no interior das partículas de secagem pode reduzir o encolhimento, dependendo da velocidade de secagem e das propriedades viscoelásticas do material de parede (Fernandes et al., 2014).

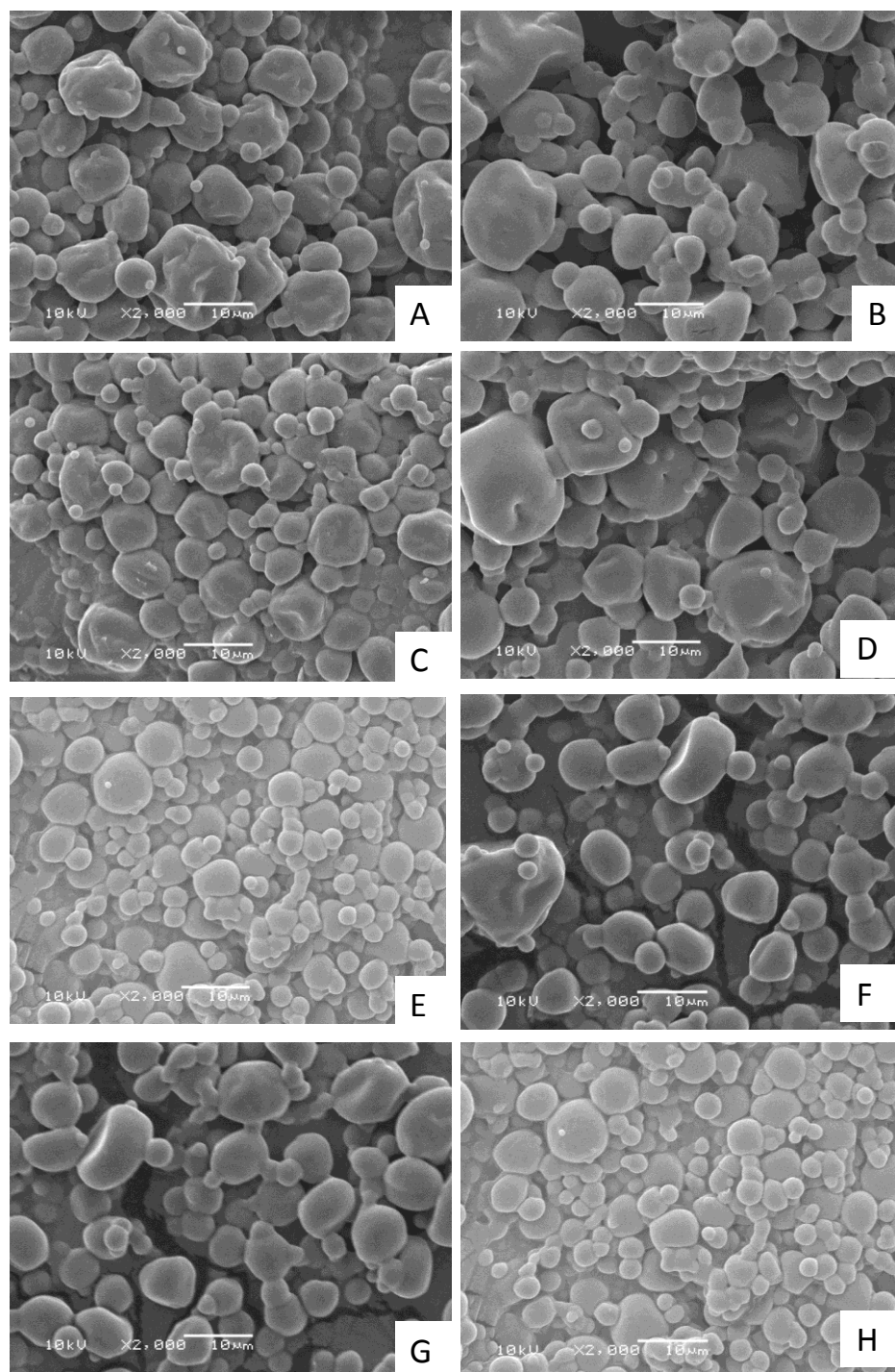


Fig. 1. Micrografias do suco de yacón microencapsulado com diferentes materiais de parede: A (10% GA/140 °C); B (15% GA/140 °C); C (10% GA/160 °C); D (15% GA/160 °C); E (10% PD/140 °C); F (15% PD/140 °C); G (10% PD/160 °C), e H (15% PD/160 °C)

As microcápsulas com povidona apresentaram formato esférico irregular, superfície lisa com poucas imperfeições como rugas ou rachaduras. De acordo com Ré (1998), essas imperfeições da superfície, ocorrem quando

há a formação do filme lento durante a secagem das gotículas atomizadas. De acordo com as micrografias do suco de yacon encapsulado, os tratamentos com povidexose (Fig. 1-E, F, G e H) apresentaram as microesferas mais lisas, sendo que microcápsulas com superfícies lisas são consideradas ótimas para usos em indústrias alimentícias devido às suas excelentes propriedades de fluxo (Teixeira et al., 2004) e garantem melhor proteção (Wu et al., 2014).

Em todas as amostras atomizadas com goma arábica e com povidexose, a aglomeração das micropartículas foi observada, o que pode estar ligada a característica higroscópica dos pós atomizados, comportamento já observado em estudo de Lago et al. (2011a) em avaliação da estrutura microscópica de suco de yacon encapsulado com amido e desidratado em secador de bandejas na temperatura de 70 °C. De acordo com Cano-Chauca et al. (2005), a forte aderência das partículas menores em torno das maiores demonstra ausência de superfícies cristalinas e é característica de produtos amorfos.

Os encapsulantes utilizados exibem diferentes características físico-químicas, devido às diferenças na sua estrutura química, carga e força intermolecular (Banerjee e Bhattacharya, 2012). A povidexose é um polissacarídeo com um grau médio de polimerização de cerca de 10 resíduos de glicose obtido pela polimerização térmica de D-glucose na presença de sorbitol e de ácido fosfórico (Ribeiro et al., 2003), e a goma arábica é um polímero constituído por ácido glucônico, L-ramnose, D-galactose-d e L-arabinose, incluindo cerca de 2% de proteína (Dickinson, 2003). Estas diferenças na estrutura, bem como hidrofobicidade ou hidrofiliabilidade e solubilidade dos compostos que foram encapsulados influenciam o tamanho das gotas de pulverização, a sua coesão ou adesão, aglomeração e endurecimento, área de superfície, rugosidade e da porosidade das partículas do pó (Chew et al., 2000; Sun-Waterhouse et al., 2013). Portanto, todas as diferenças observadas nas análises morfológicas são uma consequência da variação da tensão superficial dos materiais de parede e as suas interações complexas com o extrato líquido encapsulado através de secagem por atomização (Vilacrez et al., 2004).

4. CONCLUSÃO

O agente encapsulante povidexrose mostrou bom desempenho para uso no microencapsulamento de componentes bioativos do suco de yacon por atomização. Em todos os tratamentos avaliados a povidexrose teve comportamento muito similar à goma arábica, apresentando bons resultados nas propriedades físico-químicas como baixa umidade, atividade de água e higroscopicidade e elevada solubilidade, características desejáveis para esse tipo de produto. A povidexrose, mesmo sendo ainda um material de parede muito pouco utilizado pode ser recomendada para encapsulação de componentes com baixa estabilidade como os componentes fenólicos pois mostrou-se efetiva frente a proteção dos compostos bioativos do suco de yacon apresentando uma retenção mínima de 74% de fenóis e 81% de atividade antioxidante. Além disso, o teor de FOS encontrado no suco de yacon aliado ao uso de materiais de parede com ação semelhante a fibras e com características prebióticas como a povidexrose conferem as microcápsulas propriedades funcionais com potencial uso em formulações alimentícias.

REFERÊNCIAS

- Alamilla-Beltrán, L., Chanona-Perez, J. J., Jiménez-Aparicio, A. R., Gutiérrez López, G. F. (2005). Description of morphological changes of particles along spray drying. *Journal of Food Engineering*, 67, 179-184.
- Andrade, E.F., Leone, R.S., Ellendersen, L.N., Masson, M.L. (2014). Phenolic profile and antioxidant activity of extracts of leaves and flowers of yacon (*Smallanthus sonchifolius*). *Industrial Crops and Products*, 62, 499–506.
- Antolovich, M., Prenzler, P. D., Patsalides, E., McDonald, S., Robards, K. (2002). Methods for testing antioxidant activity. *The Analyst*, 127, 183–198.
- AOAC (1990). *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists*. Washington, DC.
- Banerjee, S., Bhattacharya, S. (2012). Food gels: Gelling process and new applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 52(4), 334–346.
- Belščak-Cvitanović, A., Stojanović, R., Manojlović, V., Komes, D., Cindrić, I.J., Nedović, V., Bugarski, B. (2011). Encapsulation of polyphenolic antioxidants from medicinal plant extracts in alginate–chitosan system enhanced with ascorbic acid by electrostatic extrusion. *Food Research International*, 44, 1094–1101.

- Bhandari, B.R., Senoussi, A., Dumoulin, E.D., Lebert, A. (1993). Spray drying of concentrated fruit juices. *Drying Technology*, 11 (5), 1081–1092.
- Bhandari, S. R., Data, N., Howes, T. (1997). Problems associate with spray drying of sugar-rich foods. *Drying Technology*, 15(2), 671– 684.
- Böhm, A., Kaiser, I., Trebstein, A., Henle, T., (2005). Heat-induced degradation of inulin. *European Food Research and Technology*. 220, 466–471.
- Bot, A., Erle, U., Vreeker, R., Agterof, W. G. M. (2004). Influence of crystallisationconditions on the large deformation rheology of inulin gels. *Food Hydrocolloids*, 18, 547–556.
- Bouhnik, Y., Achour, L., Paineau, D., Riottot M., Attar, A., Bornet F. (2007) Four-week short chain fructo-oligosaccharides ingestion leads to increasing fecal bifidobacteria and cholesterol excretion in healthy elderly volunteers. *Journal of Nutrition*, 6:42
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., Berset, C. (1995). Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT – Food Science and Technology*, 28, 25-30.
- Cai, Y.Z., Corke, H., (2000). Production and properties of spray-dried amaranthus betacyanin pigments. *Journal of Food Science*, 65 (6), 1248–1252.
- Campos, D., Betalleluz-Pallardel, I., Chirinos, R., Aguilar-Galvez, A., Noratto, G., Pedreschi, R. (2012). Prebiotic effects of yacon (*Smallanthus sonchifolius Poepp. & Endl*), a source of fructooligosaccharides and phenolic compounds with antioxidant activity, *Food Chemistry*, 135, 1592–1599.
- Cano-Chauca, M., Stringheta, P. C., Ramos, A. M. Cal-Vidal, J. (2005). Effect of the carriers on the microstructure of mango powder obtained by spray drying and its functional characterization. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 6, 420-428.
- Caparino, O.A., Tang, J., Nindo, C.I., Sablani, S.S., Powers, J.R., Fellman, J.K. (2012). Effect of drying methods on the physical properties and microstructures of mango (*Philippine ‘Carabao’ var.*) powder. *Journal of Food Engineering*, 111, 135–148.
- Castro, A., Céspedes, G., Carballo, S., Bergenstahl, B., Tornberg, E. (2013). Dietary fiber, fructooligosaccharides, and physicochemical properties of homogenized aqueous suspensions of yacon (*Smallanthus sonchifolius*). *Food Research International*, 50, 392–400.

- Castro-Muñoz, R., Barragán-Huerta, B.E., Yáñez-Fernández, J. (2015). Use of gelatin-maltodextrin composite as an encapsulation support for clarified juice from purple cactus pear (*Opuntia stricta*). *LWT - Food Science and Technology*, 62, 242-248.
- Chew, N. Y., Bagster, D. F., Chan, H. K. (2000). Effect of particle size, air flow and inhaler device on the aerosolisation of disodium cromoglycate powders. *International Journal of Pharmaceutics*, 206, 75–83.
- Cherbut, C., Michel, C., Raison, V., Kravtchenko, T., Severine, M. (2003) Acacia gum is a bifidogênico dietary fibre with high digestive tolerance in healthy humans. *Microbial ecology in healthy and disease*, 15, 43-50.
- Chiou, D., Langrish, T. A. G. (2007). Development and characterisation of novel nutraceuticals with spray drying technology. *Journal of Food Engineering*, 82, 84-91.
- Davis, E. (1995). Functionality of sugars: physicochemical interactions in foods. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 62(1), 170S-177S.
- Deladino, L., Anbinder, P.S., Navarro, A.S., Martino, M.N. (2008). Encapsulation of natural antioxidants extracted from *Ilex paraguariensis*. *Carbohydrate Polymers*, 71,126–134.
- Dickinson, E. (2003). Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. *Food Hydrocolloids*, 17, 25–39.
- Fang, Z., Bhandari, B. (2011). Effect of spray drying and storage on the stability of bayberry polyphenols. *Food Chemistry*, 129(3), 1139–1147.
- Fernandes, L.P., Candido, R.C., Oliveira, W.P. (2011). Spray drying microencapsulation of *Lippia sidoides* extracts in carbohydrate blends. *Food and Bioproducts Processing*, 90, 425–432.
- Fernandes, V.B.F., Borges, S.V., Botrel, D.A. (2014). Gum arabic/starch/maltodextrin/inulin as wall materials on the microencapsulation of rosemary essential oil. *Carbohydrate Polymers*, 101, 524– 532.
- Fernández, E.C., Rajchl, A., Lachman, J., Cizková, H., Kvasnicka, F., Kotíková, Z., Milella, L., Voldrich, M. (2013). Impact of yacon landraces cultivated in the Czech Republic and their ploidy on the short- and long-chain fructooligosaccharides content in tuberous roots. *LWT - Food Science and Technology*, 54, 80-86.
- Flood, M.T., Auerbach, M.H., Craig, S. A. S. (2004). A review of the clinical toleration studies of polydextrose in food. *Food and Chemical Toxicology*, 42, 1531–1542.

- Gandía-Herrero, F., Jiménez-Atienzar, M., Cabanes, J., García-Carmona, F., Escribano, J. (2010). Stabilization of the bioactive pigment of *Opuntia* fruits through maltodextrin encapsulation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 10646-10652.
- Georgetti, S. R., Casagrande, R., Souza, C. R. F., Oliveira, W. P., Fonseca, M. J. V. (2008). Spray drying of the soybean extract: Effects on chemical properties and antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 41, 1521–1527.
- Girgin, N., El, S.N. (2015). Effects of cooking on in vitro sinigrin bioaccessibility, total phenols, antioxidant and antimutagenic activity of cauliflower (*Brassica oleraceae L. var. Botrytis*). *Journal of Food Composition and Analysis*, 37, 119–127
- Goula, A.M., Adamopoulos, K.G. (2012). A method for pomegranate seed application in food industries: Seed oil encapsulation. *Food and Bioproducts Processing*, 90, 639–652.
- Graefe, S., Hermann, M., Manrique, I., Golombek, S., Buerkert, A. (2004). Effects of post-harvest treatments on the carbohydrate composition of yacon roots in the Peruvian Andes. *Field Crops Research*, 86, 157-165.
- Halliwell, B. (2008). Are polyphenols antioxidants or pro-oxidants? What do we learn from cell culture and in vivo studies? *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 476, 107-112.
- Ho, S.,Tung,Y.,Cheng,K., Wu,J. (2010).Screening,determination and quantification of major antioxidants from *Balanophora laxiflora* flowers. *Food Chemistry*,122, 584–588.
- Jafari, S. M., Assadpoor, E., He, Y., Bhandari, B. (2008). Encapsulation efficiency of food flavours and oils during spray drying. *Drying Technology*, 26(7), 816–835.
- Jaya, S., Das, H. (2004). Effect of maltodextrin, glycerol monostearate and tricalcium phosphate on vacuum dried mango powder properties. *Journal of Food Engineering*, 63, 125-134.
- Kha, T. C., Nguyen, M. H., Roach, P. D. (2010). Effects of spray drying conditions on the physicochemical and antioxidant properties of the gac (*Momordica cochinchinensis*) fruit aril powder. *Journal of Food Engineering*, 98, 385-392.
- Kim, Y., Faguh, M. N., Wang, S. S. (2001). Factors affecting gel formation of inulin. *Carbohydrate Polymers*, 46 (2),135-145.

- Krishnan, S., Brosale, R., Singhal, R.S. (2005). Microencapsulation of cardamom oleoresin: Evaluation of blends of gum arabic, maltodextrin and a modified starch as wall materials. *Carbohydrate Polymers*, 61, 95–102.
- Lachman, J., Havrland, B., Fernández, E. C., Dudjak, J. (2004). Saccharides of yacon [*Smallanthus sonchifolius* (Poepp. et Endl.) H. Robinson] tubers and rhizomes and factors affecting their content. *Plant, Soil and Environment*, 50, 383-390.
- Lago, C.C., Bernstein, A., Brandelli, A. Noreña, C.P.Z. (2011). Study of the rheological behavior, water activity and initial freezing point of Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) juice at different concentrations. *Brazilian Journal Food Technology*, 14(1), 1-9.
- Lago, C. C., Bernstein, A., Brandelli, A., Noreña, C.P.Z. (2011a). Characterization of Powdered Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) Juice and Pulp. *Food and Bioprocess Technology*, 4, 1935-5130.
- Lim, L. H., Tan, A., Simovic, S., Prestidge, C. A. (2011). Silica-lipid hybrid microcapsules: Influence of lipid and emulsifier type on in vitro performance. *International Journal of Pharmaceutics*, 409, 297–306.
- Maqsood, S., Benjakul, S. (2010). Comparative studies of four different phenolic compounds on in vitro antioxidative activity and the preventive effect on lipid oxidation of fish oil emulsion and fish mince. *Food Chemistry*, 119, 123–132.
- Moure, A., Cruz, J. M., Franco, D., Dominguez, J. M., Sineiro, J., Dominguez, H., Núñez, M.J., Parajó, J.C. (2001). Natural antioxidants from residual sources. *Food Chemistry*, 72, 145-171.
- Nadeem, H. S., Torun, M. Özdemir, F. (2011). Spray drying of the mountain tea (*Sideritis stricta*) water extract by using different hydrocolloid carriers. *Food Science and Technology*, 44, 1626-1635.
- Nair, K. K., Kharb, S., Thompkinson, D. K. (2010). Inulin dietary fiber with functional and health attributes. A review. *Food Reviews International*, 26(2), 189–203.
- Ojansivu, I., Ferreira, L.C., Salminen, S. (2011). Yacon, a new source of prebiotic oligosaccharides with a history of safe use. *Trends in Food Science & Technology*, 22, 40-46.
- Okuro, P. K., Thomazini, M., Balieiro, J. C. C., Liberal, R. D. C. O., Favaro-Trindade, C.S. (2013). Co-encapsulation of *Lactobacillus acidophilus* with inulin or polydextrose in solid lipid microparticles provides protection and improves stability. *Food Research International*, 53(1), 96–103.

- Palou, E., Lopez-Malo, A., Barbosa-Canovas, G.V., Welti-Chanes, J., Swanson, G.B. (1999). Polyphenoloxidase activity and colour of blanched and high hydrostatic pressure treated banana puree. *Journal of Food Science*, 64(1), 42–45.
- Pinto, S.S., Fritzen-Freire, C.B. Benedetti, S., Murakami, F.S., Petrus, J.S.; Prudêncio, E.S., Amboni, R.D.M.C. (2015) Potential use of whey concentrate and prebiotics as carrier agents to protect Bifidobacterium-BB-12 microencapsulated by spray drying. *Food Research International*, 67, 400–408.
- Podsdek, A., (2007). Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: a review. *LWT Food Science and Technology*, 40, 1–11.
- Pua, C.K., Hamid, S.A. Rusul, G., Rahman, R.A. (2007). Production of drum-dried jackfruit (*Artocarpus heterophyllus*) powder with different concentration of soy lecithin and gum Arabic. *Journal of Food Engineering*, 78, 630–636.
- Rajam, R., Anandharamakrishnan, C. (2015). Microencapsulation of *Lactobacillus plantarum* (MTCC 5422) with fructooligosaccharide as wall material by spray drying. *LWT - Food Science and Technology*, 60, 773-780.
- Ré, M.I. (1998). Microencapsulation by spray drying. *Dry. Technol.* 16, 1195–1236.
- Ribeiro, C., Zimeri, J.E., Yildiz, E., Kokini, J.L. (2003). Estimation of effective diffusivities and glass transition temperature of polydextrose as a function of moisture content. *Carbohydrate Polymers*, 51, 273–280.
- Roberfroid, M. B. (2007). Inulin-type fructans: Functional food ingredients. *Journal of Nutrition*, 137(11), 2493S–2502S.
- Robert, P., Torres, V., García, P., Vergara, C., Sáenz, C. (2015). The encapsulation of purple cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) pulp by using polysaccharide-proteins as encapsulating agents. *LWT - Food Science and Technology*, 60, 1039-1045.
- Rosenberg, M., Kopelman, I.J., Talmon, Y. (1990). Factors affecting retention in spray-drying microencapsulation of volatile materials. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38, 1288-1294.
- Roy, M.K., Juneja, L.R., Isobe, S., Tsushida, T., 2009. Steam processed broccoli (*Brassica oleracea*) has higher antioxidant activity in chemical and cellular assay systems. *Food Chemistry*, 114, 263–269.
- Sabater-Molina, M., Larque, E., Torrella, F., Zamora, S. (2009). Dietary fructooligosaccharides and potential benefits on health. (Review). *Journal of Physiology and Biochemistry*, 65(3), 315–328.

- Scheid, M.M.A., Genaro, P.S., Moreno, Y. M.F., Pastore, G.M. (2014). Freeze-dried powdered yacon: effects of FOS on serum glucose, lipids and intestinal transit in the elderly. *European Journal of Nutrition*, 53, 1457–1464.
- Silva, P.I., Stringheta, P.C., Teófilo, R.F., 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, 538–544.
- Singleton, V. L., Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic–phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144–158.
- Sun-Waterhouse, D., Wadhwa, S.S., Waterhouse, G.I.N. (2013). Spray-Drying Microencapsulation of Polyphenol Bioactives: A Comparative Study Using Different Natural Fibre Polymers as Encapsulants. *Food Bioprocess Technology*, 6, 2376–2388.
- Sun-Waterhouse, D., Waterhouse, G.I.N. (2015). Spray-Drying of Green or Gold Kiwifruit Juice–Milk Mixtures; Novel Formulations and Processes to Retain Natural Fruit Colour and Antioxidants. *Food Bioprocess Technology*, 8, 191–207.
- Takenaka, M., Yan, X. J., Ono, H., Yoshida, M., Nagata, T., Nakanishi, T. (2003). Caffeic acid derivatives in the roots of yacon (*Smallanthus sonchifolius*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 793–796.
- Teixeira, M. I., Andrade, L. R., Farina, M., Rocha-Leão, M. H. M. (2004). Characterization of short chain fatty acid microcapsules produced by spray drying. *Materials Science and Engineering*, 24, 653–658.
- Toneli J.T.C.L., Murr F.EL.X., Martinelli P., Dal Fabbro I.M., Park K.J. (2007). Optimization of a physical concentration process for inulin. *Journal of Food Engineering*, 80, 832-838.
- Tonon, R. V., Brabet, C., Hubinger, M. D. (2008). Influence of process conditions on the physicochemical properties of acai (*Euterpe oleraceae Mart.*) powder produced by spray drying. *Journal of Food Engineering*, 88, 411-418.
- Tonon, R. V., Brabet, C., Pallet, D., Brat, P. Hubinger, M. D. (2009). Physicochemical and morphological characterization of açai (*Euterpe oleraceae Mart.*) powder produced with different carrier agents. *International Journal of Food Science and Technology*, 44, 1950-1958.

- Valentová, K., Ulrichová, J. (2003). *Smallanthus sonchifolius* and *Lepidium meyenii*—prospective Andean crops for the prevention of chronic diseases. *Biomedical Papers*, 147 (2), 119-130.
- Vermerris, W., Nicholson, R. (2009). *Phenolic Compound Biochemistry*. Springer.
- Villacrez, J.L., Carriazo, J.G., Osorio, C. (2014). Microencapsulation of Andes Berry (*Rubus glaucus Benth.*) Aqueous Extract by Spray Drying. *Food Bioprocess Technology*, 7, 1445–1456.
- Wu, Y., Zou, L., Mao, J., Huang, J., Liu, S. (2014). Stability and encapsulation efficiency of sulforaphan microencapsulated by spray drying. *Carbohydrate Polymers*, 102, 497– 503.
- Yan, X. J., Suzuki, M., Ohnishi-Kameyama, M., Sada, Y., Nakanishi, T., Nagata, T. (1999). Extraction and identification of antioxidants in the roots of yacon (*Smallanthus sonchifolius*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 4711–4713.
- Zhang, L., Yang, X., Zhang, Y., Wang, L., Zhang, R. (2011). In vitro antioxidant properties of different parts of pomegranate flowers. *Food Bioprod. Process*, 89, 234–240.
- Zheng, L., Ding, Z., Zhang, M., Sun, J. (2011). Microencapsulation of bayberry polyphenols by ethyl cellulose: Preparation and characterization. *Journal of Food Engineering*, 104, 89–95.
- Zuleta, A., Sambucetti, M.E. (2001) Inulin Determination for Food Labeling. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 4570-45

CAPÍTULO 5.

Artigo 4:

Análise cinética e termodinâmica da degradação de compostos fenólicos e cor de microcápsulas de yacon (*Smallanthus sonchifolius*) sob condições aceleradas de armazenamento.

Artigo a ser traduzido e formatado para publicação no
Journal of Food Science and Technology.

RESUMO

O presente estudo investigou a cinética e termodinâmica de degradação dos compostos fenólicos e a cinética da degradação da diferença total de cor das microcápsulas de suco de yacon produzidas por atomização usando dois tipos de materiais de parede: goma arábica (GA) e polidextrose (PD). A degradação das microcápsulas foi avaliada através de testes acelerados sob condições controladas nas temperaturas de 35 e 45 °C e umidade relativa de 75 e 90% durante 35 dias. A degradação dos fenóis seguiu o modelo de primeira ordem e as constantes de degradação (k) ficaram na faixa de 0,0124 a 0,0209 dias⁻¹. Os valores de k aumentaram significativamente com o aumento da temperatura, apenas para as microcápsulas atomizadas com o uso da polidextrose. Em todas as condições de umidade e temperatura, as microcápsulas com goma arábica foram mais estáveis do que as encapsuladas com polidextrose, apresentando maiores tempos de meia vida ($t_{1/2}$). O maior valor de $t_{1/2}$ foi de 55,9 dias para as microcápsulas com goma arábica na temperatura de 35 °C e em umidade relativa de 75%. As microcápsulas com polidextrose apresentaram maiores valores de energia de ativação e do fator de aceleração da temperatura (Q_{10}), o que indica que essas foram mais sensíveis às variações de temperatura. Os parâmetros termodinâmicos (energia livre de Gibbs, entalpia e entropia) apresentaram valores próximos para os dois materiais de parede avaliados, indicando que os fenóis tiveram similar degradação tanto com a GA quanto com o uso da PD. Quanto à cor, o modelo de primeira ordem também ajustou corretamente os dados da diferença total de cor em função do tempo. A constante de velocidade da degradação da diferença total de cor não apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) para nenhuma das condições de temperatura, umidade e tipo de material de parede avaliado.

1. INTRODUÇÃO

Os processos oxidativos que ocorrem no metabolismo humano são um dos fatores mais importantes para o surgimento de doenças cardiovasculares, doenças do sistema imunológico, distúrbios cerebrais e câncer (Ho et al., 2010). Quando o sistema imunológico é suprimido por uma superprodução de agentes oxidantes, o resultado é que os ácidos nucleicos, lipídios e proteínas podem ser danificados, o que resulta em lesões de tecidos (Andrade et al., 2014). Por esta razão, a busca de antioxidantes naturais não tóxicos torna-se necessário, a fim de proteger o corpo

humano dos radicais livres e retardar o desenvolvimento de doenças crônicas (Sum et al., 2011).

O yacon (*Smallanthus sonchifolius*), uma raiz andina, é considerado alimento funcional por conter frutoligossacarídeos, que possuem atividade prebiótica, e compostos fenólicos (Ojansivu et al., 2011). Além de prebióticos, o yacon contém flavonóides, compostos fenólicos e triptofano, que exibem atividade antioxidante, anti-inflamatória, e anticâncer (Delgado et al., 2013). Uma alta concentração de polifenóis totais (42,20 mgGAE/g) foi reportado por Andrade et al. (2014) no cozimento das folhas e flores de yacon. Campos et al. (2012) avaliaram raízes de yacon de 35 localidades diferentes e reportaram teores de compostos fenólicos totais na faixa de 7,9–30,8 mg de ácido clorogênico/g em base seca. Takenaka et al. (2003) encontraram cinco derivados do ácido caféico nas raízes de yacon como os principais compostos fenólicos e Yan et al. (1999) identificaram ácido clorogênico e triptofano como os principais antioxidantes extraídos e identificados nesse tubérculo.

A ingestão de compostos bioativos naturais, especialmente polifenóis, através dos alimentos é de grande interesse, mas as dificuldades associadas com a susceptibilidade desses compostos para efeitos adversos externos, ou condições de processamento e sua instabilidade química, têm conduzido a estudos de microencapsulação com o intuito de melhorar a sua biodisponibilidade (Belščak-Cvitanović et al., 2011). A microencapsulação é uma opção adequada para estabilizar compostos, sendo definida como um processo onde pequenas partículas ou gotículas são cobertas por um revestimento, a fim de produzir pequenas cápsulas com propriedades úteis (Gharsallaoui et al., 2007), como facilidade de transporte, manipulação e adição em formulações alimentícios.

A secagem por atomização é uma das técnicas mais utilizadas de encapsulação, principalmente por ser um processo contínuo, de baixo custo e que produz partículas secas de boa qualidade (Fang e Bhandari, 2011). Os polifenóis apresentam baixa estabilidade a condições ambientais devido a presença de ligações insaturadas na sua estrutura molecular, o que os torna vulneráveis a agentes oxidantes, tais como luz, calor e oxigênio (Halliwell, 2008). Usando o material de parede apropriado, o componente bioativo pode ser protegido contra a deterioração causada por condições ambientais adversas e, por conseguinte, a vida de prateleira pode ser prolongada (Ahn et al., 2008).

Devido à instabilidade dos compostos bioativos, fatores como temperatura e umidade podem promover reações químicas indesejáveis e reduzir os benefícios de determinado alimento durante o armazenamento. Considerando as expectativas do consumidor, a qualidade de um alimento deve ser mantida a um nível desejado, durante o período entre o processamento e a compra, bem como entre a compra e consumo, havendo uma necessidade de estudos que não só levem em conta as mudanças de qualidade durante o processamento, mas também em função do prazo de validade (Kebebe et al., 2015). A realização de um teste de vida de útil completo para produtos estáveis pode ser muito demorado e custoso, e por isso, os testes acelerados são frequentemente utilizados (Corrigan et al., 2012). Durante os testes acelerados, o produto é submetido a condições severas de armazenamento, onde um ou mais fatores de aceleração (por exemplo, temperatura, umidade e atividade de água) são mantidos a um nível mais elevado do que o normal, de forma que a velocidade da degradação seja aumentada, resultando num tempo de vida mais curto para a análise (Richards et al., 2014). Dessa forma, o conhecimento dos parâmetros cinéticos é essencial para prever as mudanças de qualidade que podem ocorrer durante o armazenamento (Kechinski et al., 2010). Diante disso, o objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito da temperatura, umidade relativa e tipo de material de parede na estabilidade dos compostos fenólicos e na diferença total de cor das microcápsulas de suco de yacon empregando testes acelerados.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Matéria Prima

As raízes de yacon (*Smallanthus sonchifolius*) foram provenientes do estado de São Paulo e adquiridas na Central de Abastecimento do Rio Grande do Sul – CEASA na cidade de Porto Alegre – RS, Brasil. As raízes foram limpas e selecionadas considerando a ausência de injúrias visuais e infecções, ficando armazenadas sob refrigeração ($8\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$) até o momento do uso.

2.2. Processo de Encapsulação

As raízes de yacon foram descascadas, cortadas em pequenas rodela de aproximadamente $0,5\pm 0,1$ cm de espessura. A seguir, foram branqueadas, colocando as rodela dentro de uma autoclave gerando vapor a 100°C à pressão

atmosférica durante 4 minutos, seguido pelo resfriamento em banho de gelo durante 3 minutos, de acordo com a metodologia proposta por Lago et al. (2011). A partir das fatias branqueadas foi extraído o suco de yacon usando um processador de frutas e filtrado a vácuo empregando papel filtro Whatman n. 01. Ao suco de yacon foi adicionado o agente encapsulante na proporção de 10% e misturado sob agitação usando homogenizador Ultra Turrax (IKA/T25) por 4 minutos a 6000 rpm, até a completa dissolução.

Os agentes encapsulantes utilizados foram: Goma Arábica Instantgum BA (Nexira Brasil Comercial Ltda., São Paulo, Brasil) e Polidextrose (MasterSense Ing. Alim. Ltda. São Paulo, Brasil).

A secagem por atomização foi realizada em um atomizador de duplo fluido, do tipo pneumático Mini-Spray-Dryer LM MSDi 1.0 (LABMAQ, Brasil), com bico de alimentação de 1,0 mm de diâmetro. A alimentação do secador foi realizada através de uma bomba peristáltica com vazão de 0,60 L/h; temperatura do ar de secagem de 140 °C; pressão de ar comprimido 3,5 Kgf/cm² e vazão de ar de atomização 40,5 L/h.

2.3. Testes acelerados de estabilidade de armazenamento

Para os testes acelerados de armazenamento, as amostras foram armazenadas a altas temperaturas para acelerar as reações de interesse de modo que as mudanças possam ser medidas em um curto período de tempo (Ruiz et al., 2012)

Para o estudo da estabilidade, 0,5 g de amostra do pó atomizado de yacon foram colocadas em eppendorfs de plásticos de 1,5 mL. O estudo foi conduzido sob duas condições aceleradas: umidade relativa de 75% e umidade relativa de 90% em temperaturas de 35 °C e 45° C. As condições de umidade controladas (umidade relativa) foram reproduzidas em mini dessecadores contendo soluções saturadas dos sais de cloreto de sódio ($A_w = 0,75$) e cloreto de bário ($A_w = 0,90$). A temperatura foi mantida constante colocando os dessecadores em incubadora (411/FDP, Ethik Technology, Brasil), nas temperaturas de 35 e 45° C. O tempo de estocagem foi de 35 dias e durante esse período, amostras foram removidas a cada sete dias para análise de conteúdo de fenois totais e análise colorimétrica.

2.4. Determinação dos Compostos Fenólicos Totais

Os fenois totais foram determinados utilizando o método Folin-Ciocalteu (Singleton e Rossi, 1965), sendo que o pó foi diluído numa proporção de 1:50, em água destilada. As leituras foram feitas em espectrofotômetro (Genesys S10, Thermo Scientific), a 765 nm. Os resultados foram expressos em mg de ácido gálico (GAE) por g de amostra em base seca.

2.5. Medição de Cor

A cor das amostras em pó foi medida utilizando placas de Petri de 5 cm de diâmetro e 1 cm de altura cheias até o topo com o material em pó, por meio de leitura direta em colorímetro Minolta (CR400/410) calibrado com uma placa de cerâmica branca ($L^* = 97.47$; $a^* = 0.08$ e $b^* = 1.76$). A cor foi registrada através do sistema tridimensional CIEL*a*b*, onde L^* indica a luminosidade (variando de 0 - preto a 100 - branco), a^* é uma medida que varia do verde (-60) ao vermelho (+60) e b^* varia do azul (-60) ao amarelo (+60). Os parâmetros L^* , a^* e b^* foram utilizados para calcular os valores da diferença total de cor (ΔE) através da Eq. (1):

$$\Delta E = \sqrt{(L_o^* - L^*)^2 + (a_o^* - a^*)^2 + (b_o^* - b^*)^2} \quad (1)$$

2.6. Determinação dos Parâmetros Cinéticos

O modelo cinético de primeira ordem (Stamp e Labuza, 1983) foi usado para ajustar os dados experimentais do teor de compostos fenólicos e da diferença total de cor, de acordo com a Equação (2):

$$C = C_0 \exp(-kt) \quad (2)$$

onde: t é o tempo (dias), C representa o valor da concentração iniciais dos compostos fenólicos e da diferença total de cor, C_0 é a concentração inicial dos compostos fenólicos e da diferença total de cor no tempo zero, respectivamente, e k é a constante de velocidade (dias^{-1}).

O tempo de redução decimal (D) e o tempo de meia vida ($t_{1/2}$) foram calculados de acordo com as equações (3) e (4):

$$D = \frac{\ln(10)}{k} \quad (3)$$

$$t_{1/2} = \frac{\ln(2)}{k} \quad (4)$$

O fator de aceleração de temperatura (Q_{10}) foi determinado a partir do quociente entre as constantes de velocidade da degradação que ocorrem a uma determinada temperatura (T) e 10°C acima desse valor ($T+10^\circ\text{C}$) Eq.(5):

$$Q_{10} = \left(\frac{k_{T+10}}{k_T} \right) \quad (5)$$

A energia de ativação (E_a) foi estimada a partir do valor do Q_{10} Eq. (6) (Labuza e Schmidl, 1985):

$$E_a = \frac{2,303 \log_{10}(Q_{10})RT(T+10)}{10} \quad (6)$$

onde: R é a constante universal dos gases ($8,314\text{J/mol K}$) e T é a temperatura em Kelvin.

2.7. Determinação dos Parâmetros Termodinâmicos

Os valores da energia de ativação e da constante de velocidade da degradação dos compostos fenólicos foram usados para a determinação dos parâmetros termodinâmicos: energia livre de Gibbs (ΔG), entalpia (ΔH) e entropia (ΔS), de acordo com as equações (Labuza, 1980):

$$\Delta G = -R.T.\ln\left(\frac{k \cdot h_p}{K_B \cdot T}\right) \quad (7)$$

$$\Delta H = E_a - R.T \quad (8)$$

$$\Delta S = \left(\frac{\Delta H - \Delta G}{T} \right) \quad (9)$$

onde: K_B é a constante de Boltzmann's ($1,3806 \times 10^{-23}\text{J/K}$) e h_p é a constante de Planck's ($6,6262 \times 10^{-34}\text{J.s}$).

2.8. Análise estatística

Para a análise estatística foi calculada análise de variância (ANOVA) e a comparação entre os tratamentos foi feita através das provas de comparações múltiplas de médias de Tukey. Para os testes estatísticos foi usado o programa SAS 9.3 (SAS Institute Inc.). A estimativa dos parâmetros dos modelos cinéticos foi realizada mediante análise de regressão através do programa Sigma Plot 8.0.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Degradação dos Compostos Fenólicos das Microcápsulas de Yacon sob testes acelerados

O teor inicial de compostos fenólicos nas microcápsulas de suco de yacon produzidas por atomização usando goma arábica foi de $22,38 \pm 0,21$ mg de GAE/g e de $21,30 \pm 0,06$ mg de GAE/g em base seca com polidextrose. A degradação dos fenóis nas microcápsulas foi avaliada nas temperaturas de 35 e 45° C e em ambientes com 75 e 90% de umidade relativa, como pode ser visualizado nas Figuras 1 e 2.

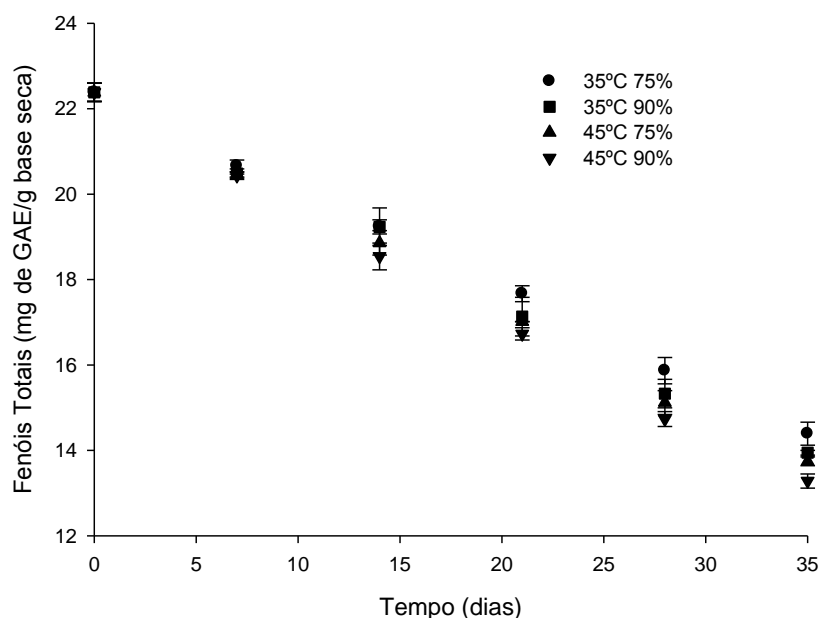


Figura 1. Efeito da temperatura de armazenamento (35 e 45° C) e umidade relativa (75 e 90%) na estabilidade dos compostos fenólicos de microcápsulas de yacon usando goma arábica como material de parede.

Como pode ser visualizado na Figura 1, o teor de fenois totais em todos os tratamentos diminuiu durante a estocagem. Ao final do armazenamento de 35 dias, a degradação das microcápsulas com o material de parede goma arábica foi de 46,25% e de 46,95% na temperatura de 35° em umidade de 75 e 90%, respectivamente. Quando a temperatura de armazenamento foi de 45 °C a degradação das microcápsulas foram de 47,71 e 49,47% em umidades de 75 e 90%, respectivamente. A goma arábica é uma fibra solúvel muito utilizada na encapsulação de sucos e extratos de frutas, principalmente devido a sua alta solubilidade em água, baixa viscosidade e propriedades emulsificantes (Cano-Chauca et al., 2005), sendo um dos agentes encapsulantes mais usados na área de alimentos. Em estudo de estabilidade de microcápsulas de suco de beterraba com goma arábica, Pitalua et al. (2010) relataram que a concentração de betalaínas em ambientes com atividade de água acima de 0,7 teve degradação superior a 65% em relação à concentração inicial, o que segundo os autores ocorreu porque a água adsorvida provavelmente danificou a estrutura da cápsula, causando dissolução da parede e difusão de oxigênio no núcleo da microcápsula.

A Figura 2 mostra a degradação do teor de compostos fenólicos nas microcápsulas atomizadas com polidextrose ao longo do tempo de armazenamento. A degradação foi de 46,47 em ambiente com 75% de umidade e de 48,39% em 90% de umidade na temperatura de 35 °C após 35 dias de armazenamento. Quando a temperatura avaliada foi de 45 °C a degradação foi de 52,89 e 54,09% em ambientes de 75 e 90% de umidade, respectivamente. A polidextrose é um polissacarídeo não-digerível usado principalmente como um substituinte de açúcar e fibra dietética em alimentos e proporciona efeitos fisiológicos semelhantes às de outras fibras (Flood et al., 2004), porém a literatura ainda apresenta poucos estudos utilizando esse polissacarídeo como material de parede. Um estudo de microencapsulamento de probióticos usando polidextrose como material de parede demonstrou a eficiência desse encapsulante mantendo os microrganismos viáveis em armazenamento por 120 dias (Okuro et al., 2013).

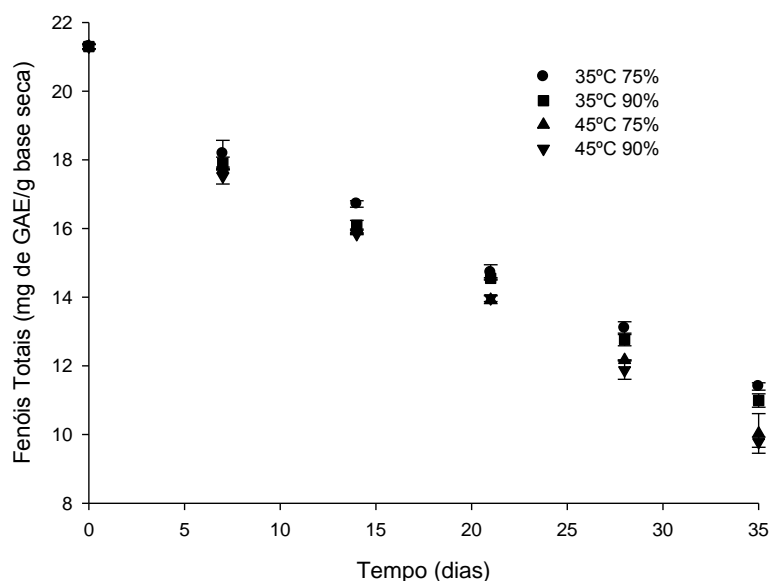


Figura 2. Efeito da temperatura de armazenamento (35 e 45 °C) e umidade relativa (75 e 90%) na estabilidade dos compostos fenólicos de microcápsulas de yacon usando polidextrose como material de parede.

A retenção dos compostos fenólicos depende da estrutura química dos fenóis (que afeta a suscetibilidade à oxidação) e atributos físico-químicos do pó como a área de superfície (que afeta diretamente as interações via ligação química ou efeito físico como calor, umidade e oxigênio) (Sun-Waterhouse e Waterhouse, 2015). O decréscimo nos fenóis totais durante o armazenamento das microcápsulas pode ser principalmente resultado da degradação por oxidação de compostos fenólicos, da polimerização de compostos fenólicos com outros componentes (Cao et al., 2012) além da degradação pela temperatura já que esses compostos são altamente termossensíveis (Tonon et al., 2010). Chang et al. (2006) relataram que diferentes compostos fenólicos presentes em frutas foram instáveis à temperatura de 40 °C, sendo que o ácido clorogênico apresentou uma degradação de 40% depois de 6 meses de armazenamento. Segundo esses autores, as possíveis vias de degradação desses compostos fenólicos podem estar relacionadas com a sua oxidação, hidrólise ou isomerização. Campos et al. (2012) e Yan et al. (1999) identificaram o ácido clorogênico como um dos principais compostos fenólicos no yacon.

Paiani et al. (2015) relatou degradação de 21 e 34% de polifenóis em microcápsulas com maltodextrina armazenadas a 25 e 45 °C, respectivamente

durante 70 dias. Henríquez et al (2013) relataram degradação de 52 e 64,6% de polifenóis da casca de maçã em pó armazenados em temperatura de 38 °C com 90% de umidade em dois tipos de embalagens avaliadas. Microcápsulas de extrato de mirtilo usando goma mesquita como agente encapsulante estocadas a 25 °C apresentaram perdas de 33% dos compostos fenólicos enquanto que a amostra controle (sem o material de parede) apresentou degradação de 65%, evidenciando o efeito protetor do material de parede em relação à temperatura (Jiménez-Aguilar et al., 2011). Çam et al. (2014) também demonstraram o efeito protetor do material de parede na encapsulação de polifenóis, indicando maior estabilidade das microcápsulas em relação aos fenóis em pó sem adição do encapsulante. Esses autores sugerem que os fenóis na superfície das partículas sem adição do material de parede ficaram mais susceptíveis a oxidação do que nas microcápsulas, uma vez que o agente encapsulante atua como uma barreira de proteção ao composto bioativo. O objetivo principal do processo da encapsulação consiste em construir uma barreira entre o componente encapsulado e o meio ambiente, onde essa barreira é feita de compostos com cadeias ramificadas, que criam uma rede (Fuchs et al., 2006), sendo que nesse estudo essa rede é formada pela goma arábica e pela polidextrose.

Outro fator responsável pela degradação dos compostos fenólicos é o teor de umidade do ambiente em que o alimento é armazenado. Tanto para as microcápsulas com goma arábica quanto às com polidextrose, ambientes com maior umidade relativa causaram uma maior degradação dos compostos fenólicos, pois com o aumento da quantidade de água, maior é a mobilidade molecular dentro do alimento, o que facilita reações físico-químicas de degradação (Tonon et al., 2010). Segundo Drush et al. (2007), o teor de umidade influencia também a rede de poros do material de parede e afeta a difusão de oxigênio e a retenção do composto encapsulado nas microcápsulas secas (Drush et al., 2007). Dessa forma, a degradação dos fenóis pode ser resultado de uma reação hidrolítica, devido ao aumento da umidade nas microcápsulas e isso pode favorecer a difusão do oxigênio para o material encapsulado, causando assim, a oxidação (Cai e Corke, 2000).

Zheng et al. (2011) demonstraram que o teor de fenóis diminuiu com o aumento da umidade no armazenamento de microcápsulas de *bayberry*, pois com o aumento do teor de água, aumenta a solubilidade dos componentes fenólicos e o grau de oxidação, aumentando a degradação do composto bioativo. De acordo com

Esse e Saari (2004), o equilíbrio entre a pressão de vapor de água dos alimentos e o ambiente que o envolve não é um sistema estático, mas um sistema dinâmico e quando um produto alimentício é exposto a um ambiente acima ou abaixo de seu ponto de equilíbrio, as embalagens de proteção e seu nível barreira (em nosso estudo o material de parede) determinará o quanto o alimento será impactado (Esse e Saari, 2004)

3.2. Análise cinética da degradação dos compostos fenólicos das microcápsulas de yacon sob testes acelerados

Para uma comparação adequada entre os dois tipos de materiais de parede utilizados e as diferentes condições de armazenamento, os resultados foram ajustados à equação cinética de primeira ordem. Os coeficientes de determinação (R^2) e as constantes de velocidade da reação (k) para cada material de parede em cada condição avaliada são mostradas na Tabela 1.

Tabela 1. Constantes de velocidade da reação de primeira ordem do teor de compostos fenólicos das microcápsulas de yacon armazenadas sob diferentes condições.

| | k (dias ⁻¹) | R^2 |
|--------------|-----------------------------|-------|
| 75% 35 °C GA | 0,0124±0,0005 ^a | 0,995 |
| 75% 45 °C GA | 0,0139±0,0004 ^{ab} | 0,996 |
| 90% 35 °C GA | 0,0134±0,0006 ^{ab} | 0,992 |
| 90% 45 °C GA | 0,0149±0,0004 ^b | 0,997 |
| 75% 35 °C PD | 0,0173±0,0007 ^c | 0,994 |
| 75% 45 °C PD | 0,0204±0,0009 ^d | 0,993 |
| 90% 35 °C PD | 0,0182±0,0008 ^c | 0,992 |
| 90% 45 °C PD | 0,0209±0,0011 ^d | 0,990 |

Valores expressos da média ± desvio padrão.

Letras minúsculas iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa ($p < 0,05$).

Os resultados da análise de regressão demonstraram que os dados foram bem ajustados ao modelo de primeira ordem, apresentando valores do coeficiente de determinação superiores a 0,99 para todas as condições de armazenamento avaliadas e para os dois materiais de parede. Diversos trabalhos de reações de

degradação em alimentos seguem o modelo de primeira ordem como para antocianinas (Kechinski et al., 2010; Mercali et al., 2015; Sagdic et al., 2013; Wang e Xu, 2007; Tonon et al., 2010), ácido ascórbico (Al-Zubaidy e Khalil, 2007), fenóis totais, atividade antioxidante (Liu et al., 2014).

As constantes de velocidade da reação aumentaram com o aumento da temperatura, porém esse aumento só foi estatisticamente significativo para as microcápsulas atomizadas com o uso da polidextrose. Esse notável aumento na constante de degradação causada pelo aumento da temperatura é meramente consistente com os fundamentos de cinética química e decorre principalmente do aumento do número de colisões causado pela temperatura (Al-Zubaidy e Khalil, 2007). Esse comportamento é também relatado em estudo de estabilidade de fenóis em néctar de manga (Liu et al., 2014).

As microcápsulas com goma arábica foram as mais estáveis, sendo que a reação de degradação ocorreu de forma mais lenta quando o armazenamento ocorreu em ambiente com 75% de umidade e temperatura de 35 °C ($k=0,0124 \text{ dias}^{-1}$) e não foi diferente estatisticamente das condições de armazenamento a 35 °C e 90% de umidade ($k=0,0134 \text{ dias}^{-1}$) e em 45 °C a 75% ($k=0,0139 \text{ dias}^{-1}$). Por outro lado, a degradação ocorreu de forma mais rápida na temperatura de 45 °C com 90% de umidade ($k=0,0209 \text{ dias}^{-1}$) com a polidextrose e não foi diferente estatisticamente ($p<0,05$) das microcápsulas armazenadas em umidade de 75% na mesma temperatura. Observa-se também que o aumento de umidade relativa não causou aumento significativo ($p<0,05$) na constante de degradação em ambos os materiais de parede.

A partir da constante de velocidade obtida após ajuste do modelo de primeira ordem, foram obtidos os parâmetros cinéticos para a degradação dos compostos fenólicos das microcápsulas de yacon, como pode ser visualizado na Tabela 2. Observa-se que os maiores valores de D , ou seja, o tempo necessário para que 90% dos compostos fenólicos sejam degradados foi de 186 dias no armazenamento realizado na temperatura de 35 °C com 75% de umidade e de 172 dias com 90% de umidade para as microcápsulas de goma arábica, sendo que essas duas condições de armazenamento não apresentaram diferença significativa quanto a esse parâmetro. Consequentemente, essas microcápsulas apresentaram também o maior valor do tempo de meia vida que foi de 56 e 52 dias, respectivamente. Henriquez et al. (2013) avaliaram a degradação do teor dos compostos fenólicos em pó de casca

de maçã sob condições aceleradas (temperatura de 38 °C e umidade de 90%) e relataram tempos de meia vida de 96 e 120 dias, porém com o uso de embalagens de polietileno e de filme metalizado. Tonon et al. (2010) avaliou a degradação de antocianinas em microcápsulas de suco de açaí com goma arábica relatando valores de $t_{1/2}$ de 239 e 169 dias para temperaturas de 25 e 35 °C, respectivamente, porém armazenadas em ambiente com baixa atividade de água (0,328), o que pode explicar valores superiores de $t_{1/2}$ aos encontrados no presente estudo.

Tabela 2. Parâmetros cinéticos da degradação do teor de compostos fenólicos das microcápsulas de yacon armazenadas sob diferentes condições.

| | $t_{1/2}$ (dias) | D (dias) | Q_{10} | E_a (J mol ⁻¹) |
|--------------|------------------------|-------------------------|-------------------------|------------------------------|
| 75% 35 °C GA | 55,9±2,3 ^a | 185,7±7,5 ^a | | |
| 75% 45 °C GA | 49,9±1,4 ^{bc} | 165,7±4,8 ^{bc} | 1,12±0,01 ^{ac} | 9322,1±642,7 ^{ac} |
| 90% 35 °C GA | 51,7±2,3 ^{ab} | 171,8±7,7 ^{ab} | | |
| 90% 45 °C GA | 46,5±1,2 ^c | 154,5±4,2 ^c | 1,11±0,02 ^a | 8676,8±997,0 ^a |
| 75% 35 °C PD | 40,1±1,6 ^d | 133,1±5,4 ^d | | |
| 75% 45 °C PD | 34,0±1,5 ^e | 112,9±5,0 ^e | 1,18±0,00 ^b | 13416,1±298,3 ^b |
| 90% 35 °C PD | 38,1±1,7 ^{de} | 126,5±5,6 ^{de} | | |
| 90% 45 °C PD | 33,2±1,8 ^e | 110,2±5,8 ^e | 1,15±0,01 ^{bc} | 11243,3±708,5 ^{bc} |

Valores expressos da média ± desvio padrão.

Letras minúsculas iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa ($p < 0,05$).

Ao compararmos os dois materiais de parede, verificou-se que as microcápsulas com goma arábica foram mais estáveis do que com polidextrose em todas as condições de umidade e temperatura, apresentando maiores tempos de meia vida e menores valores da constante de velocidade. É bem reconhecido que à medida que a temperatura aumenta o valor k também aumenta, enquanto ocorre um decréscimo no valor de $t_{1/2}$ (Lago e Noreña, 2014; Sagdic et al., 2013; Jimenez-Aguilar et al., 2011).

De acordo com Ruiz et al. (2012), testes acelerados permitem avaliar o efeito da temperatura usando como referência um valor T e um maior valor $T+10$ °C. Segundo esses autores, ao assumir que o efeito é semelhante entre T e $T+10$ °C e entre T e $T-10$ °C, uma extrapolação pode ser realizada para estimar a degradação que pode ocorrer durante um longo período em baixa temperatura, o que, seria mais

difícil de determinar experimentalmente. Diversos estudos com testes acelerados em alimentos foram realizados com armazenamento em duas temperaturas como na estabilidade de gabioba em pó (Breda et al., 2012); microcápsulas de amora preta com maltodextrina e goma arábica (Ferrari et al., 2013); microcápsulas de açaí com maltodextrina, goma arábica e amido de mandioca (Tonon et al., 2010).

A energia de ativação é um excelente indicador da sensibilidade da reação à temperatura: os valores mais altos indicam uma forte dependência da temperatura, sendo que a reação ocorre lentamente em baixas temperaturas, mas relativamente rápida em temperaturas elevadas (Mercali et al., 2015). Os maiores valores de energia de ativação foram obtidos para as microcápsulas com polidextrose que foram de 13416 para 75% de umidade e de 11243 Jmol^{-1} para umidade relativa de 90%, enquanto que com goma arábica foram de 9322 e 8677 Jmol^{-1} , para umidade relativa de 75 e 90%, respectivamente. Isso indica a degradação dos compostos fenólicos com a polidextrose é mais susceptível a elevação da temperatura do que as microcápsulas com goma arábica (Wang e Xu, 2007). Os valores obtidos de Q_{10} para a goma arábica foram menores que os da polidextrose, confirmando que as microcápsulas com polidextrose foram mais sensíveis a variações de temperatura (Labuza, 1985). Esse parâmetro é uma forma de caracterizar o efeito da temperatura sobre a constante de uma reação e representa a variação da degradação, quando a temperatura aumenta em 10 °C (Kechinski et al., 2010). De acordo com Al-Zubaidy e Khalil (2007), valores relativamente baixos de Q_{10} sugerem a importância das associações moleculares que poderiam diminuir a velocidade da degradação.

No que diz respeito aos diferentes agentes veiculares utilizados, as partículas produzidas com goma arábica apresentaram os maiores tempos de meia vida em todas as condições estudadas e menores valores de Q_{10} , indicando uma maior estabilidade desse material de parede frente às variações de umidade e temperatura. De acordo com Montenegro et al. (2012), a goma arábica é um material heterogêneo que tem ambas as afinidades hidrofílicas e hidrofóbicas e suas respostas físico-químicas podem ser tratadas de acordo com o equilíbrio de interações hidrofílicas e hidrofóbicas. Segundo esses autores, as propriedades funcionais desse material de parede estão intimamente relacionadas com a sua estrutura, o que determina, por exemplo, solubilidade, viscosidade, grau de interação com a água e óleo numa emulsão e a excelente capacidade de microencapsulação.

3.3. Análise termodinâmica da degradação dos compostos fenólicos das microcápsulas de yacon sob testes acelerados

Os parâmetros termodinâmicos (energia livre de Gibbs, entalpia e entropia) são mostrados na Tabela 3, os quais podem fornecer informações importantes sobre o fenômeno de degradação (Al-Zubaidy e Khalil, 2007).

Tabela 3. Parâmetros termodinâmicos da degradação dos compostos fenólicos das microcápsulas de yacon armazenadas sob diferentes condições.

| | ΔG (kJ mol ⁻¹) | ΔH (kJ mol ⁻¹) | ΔS (J mol ⁻¹ K ⁻¹) |
|--------------|------------------------------------|------------------------------------|---|
| 75% 35 °C GA | 86,757 | 6,740 | -259,797 |
| 75% 45 °C GA | 89,356 | 6,657 | -260,063 |
| 90% 35 °C GA | 86,559 | 6,081 | -261,290 |
| 90% 45 °C GA | 89,173 | 5,998 | -261,556 |
| 75% 35 °C PD | 85,904 | 10,864 | -243,638 |
| 75% 45 °C PD | 88,342 | 10,781 | -243,904 |
| 90% 35 °C PD | 85,775 | 8,705 | -250,224 |
| 90% 45 °C PD | 88,278 | 8,622 | -250,490 |

Os valores de ΔG referem-se aos critérios de equilíbrio e espontaneidade, e representam a diferença entre o estado ativo e reagente, sendo que o sinal positivo significa que a degradação dos fenóis é uma reação não espontânea (Kouadio et al., 2013; Al-Zubaidy e Khalil, 2007). Todos os valores foram próximos para os dois materiais de parede, na faixa de 86,56 a 89,36 para a goma arábica e 85,77 a 88,34 kJ mol⁻¹ para a povidexose, o que indica que fatores semelhantes afetam a degradação dos compostos fenólicos (Al-Zubaidy e Khalil, 2007; Labuza, 1980).

Nossos valores de ΔH foram baixos e menores para os tratamentos utilizando goma arábica, indicando que a barreira de energia que tem de ser ultrapassada, a fim de alcançar o estado de transição é maior para as microcápsulas com povidexose e o sinal positivo significa que a degradação dos fenóis é uma reação endotérmica que leva a um aumento da degradação com o aumento da temperatura (Al-Zubaidy e Khalil, 2007).

Os valores de ΔS foram próximos para os dois agentes encapsulantes e para todas as condições avaliadas na faixa de 243,64- 261,56 $\text{Jmol}^{-1}\text{K}^{-1}$, sendo que esse parâmetro mede a variação da desordem das moléculas no sistema. Mercali et al. (2015) também obtiveram valores negativos para ΔS em estudo de degradação de antocianinas, o que sugere que o estado de transição é estruturalmente mais organizado do que os reagentes e, portanto, a formação do complexo ativado está associada a uma diminuição de entropia. De acordo com Georgieva et al. (2012), uma entropia de ativação mais baixa significa que o estado do material se aproxima do seu próprio equilíbrio termodinâmico e como consequência, apresenta pouca reatividade, aumentando o tempo necessário para formar o complexo ativado. Ainda de acordo com esses autores, ao contrário, quando os valores de entropia de ativação são mais elevados, tal como observado no presente estudo, o material está longe do seu próprio equilíbrio termodinâmico, sendo que, nessa situação, o sistema pode reagir mais rapidamente para produzir o complexo ativado devido à reatividade mais elevada.

3.4 Degradação da diferença total de cor das microcápsulas de yacon sob testes acelerados

A diferença total de cor foi determinada considerando como referência os valores correspondentes ao início (dia 0) de armazenamento. A Figura 3 demonstra a diferença total de cor das microcápsulas em função do tempo para os dois materiais de parede, indicando o aumento desse parâmetro ao longo do armazenamento e mostrando que ele foi amplamente afetado pelas condições de umidade e temperatura.

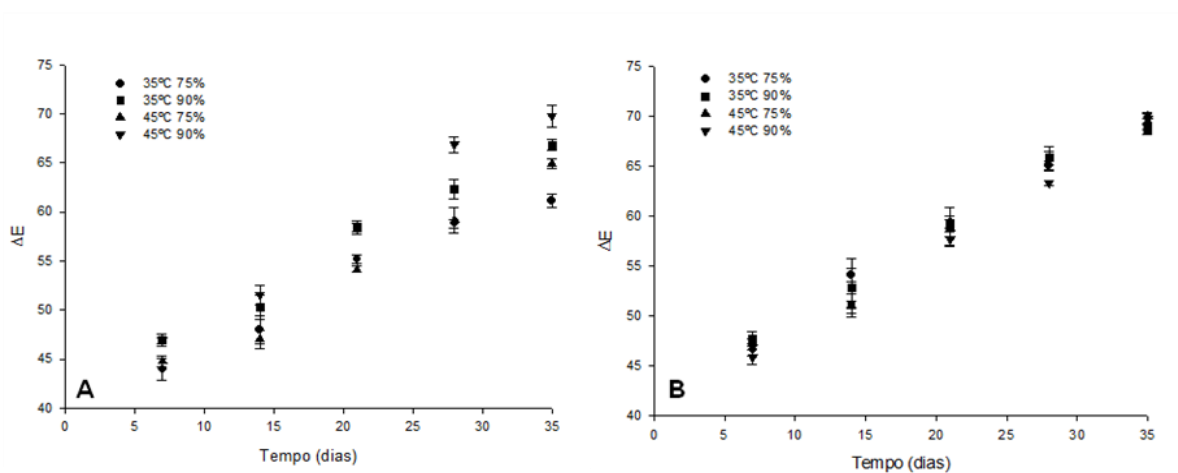


Figura 3. Efeito da temperatura de armazenamento (35 e 45 °C) e umidade relativa (75 e 90%) na diferença total de cor das microcápsulas de yacon usando goma arábica (A) e polidextrose (B)

Os valores iniciais dos parâmetros de cor foram: $L^* = 91,85 \pm 0,35$; $a^* = -1,82 \pm 0,03$ e $b^* = 12,13 \pm 0,67$ para as microcápsulas com goma arábica e de $L^* = 90,49 \pm 0,07$; $a^* = -2,15 \pm 0,06$ e $b^* = 15,33 \pm 0,60$ para a polidextrose. As microcápsulas tornaram-se gradualmente mais escuras ao longo do tempo, onde os valores de luminosidade (L^*) de todas as condições avaliadas para os dois materiais de parede diminuiu, sendo esse decréscimo mais acentuado nos primeiros sete dias do experimento, enquanto que os parâmetros a^* e b^* sofreram pouca variação.

Os valores da diferença total de cor após os 35 dias de armazenamento para as partículas atomizadas com goma arábica foram de 61,14 e 66,83 para a temperatura de 35 °C, em umidades relativas de 75 e 90% e de 64,95 e 69,90 em temperatura de 45 °C em umidades de 75 e 90%, respectivamente. Quando o material de parede foi a polidextrose os valores de ΔE foram muito próximos da goma arábica sendo de 69,19; 68,68; 69,96 e 69,71, para a temperatura de 35 °C e umidade de 75%; 35 °C e 90% de umidade; 45 °C e 75% de umidade e 45 °C com 90% de umidade, respectivamente. De acordo com Borges e Cal-Vidal (1994), a cinética de sorção de água é governada por vários fatores, tais como a quantidade de água absorvida pelo material seco, condições ambientais (principalmente pela temperatura e umidade relativa) e microestrutura do produto. As mudanças estruturais causadas pelo colapso (causado pela absorção de umidade) do pó afetam algumas das propriedades físicas, tais como a cor ou o comportamento mecânico (Moraga et al., 2012).

No presente trabalho, as temperaturas de armazenamento podem ter resultado numa formação de produtos da reação de Maillard, evidenciado pelo aumento da diferença total de cor das microcápsulas, como já relatado em estudo de Tonon et al. (2010) na avaliação da estabilidade de microcápsulas de suco de açaí nas temperaturas de 25 e 35 °C. Segundo esses autores, a ocorrência de reação de Maillard tem sido estudada em sistemas amorfos e vítreos.

O escurecimento pode ter ocorrido também devido à degradação térmica dos compostos fenólicos, principalmente na presença de oxigênio e de enzimas, como a peroxidase e polifenoloxidase que podem apresentar atividade residual mesmo após

o branqueamento. A peroxidase catalisa as reações de oxidação utilizando peróxidos ou oxigênio como acceptor de hidrogênio, sendo que os doadores de hidrogênio podem ser fenóis, aminas ou outros compostos orgânicos e produtos formados durante a oxidação (Soysal e Söylemez, 2005) e a polifenoloxidase é uma enzima contendo cobre que, na presença de oxigênio catalisa a oxidação de substratos fenólicos em quinonas, as quais, por sua vez são polimerizadas em pigmentos marrons, vermelhos ou pretos (Mc Evily et al., 1992).

3.5 Análise cinética da degradação da diferença total de cor das microcápsulas de yacon sob testes acelerados

O modelo de primeira ordem ajustou corretamente os dados da diferença total de cor em função do tempo de armazenamento das microcápsulas de suco de yacon, apresentando coeficientes de determinação (R^2) superiores a 0,95. Os parâmetros cinéticos da constante de degradação (k) e tempo de meia vida ($t_{1/2}$) e coeficiente de variação de temperatura (Q_{10}) estão mostrados na Tabela 4.

Tabela 4. Parâmetros cinéticos da reação de primeira ordem na diferença total de cor das microcápsulas de yacon armazenadas sob diferentes condições.

| Amostra | k (dias ⁻¹) | R^2 | $t_{1/2}$ (dias) | Q_{10} |
|--------------|----------------------------|-------|-----------------------|------------------------|
| 75% 35 °C GA | 0,0123±0,0015 ^a | 0,974 | 56,3±7,0 ^a | |
| 75% 45 °C GA | 0,0139±0,0010 ^a | 0,976 | 49,9±3,6 ^a | 1,13±0,06 ^a |
| 90% 35 °C GA | 0,0131±0,0012 ^a | 0,946 | 52,9±4,9 ^a | |
| 90% 45 °C GA | 0,0151±0,0012 ^a | 0,957 | 45,9±3,7 ^a | 1,15±0,01 ^a |
| 75% 35 °C PD | 0,0139±0,0013 ^a | 0,975 | 49,9±4,7 ^a | |
| 75% 45 °C PD | 0,0148±0,0010 ^a | 0,974 | 46,8±3,2 ^a | 1,06±0,03 ^a |
| 90% 35 °C PD | 0,0136±0,0010 ^a | 0,978 | 51,0±3,8 ^a | |
| 90% 45 °C PD | 0,0150±0,0004 ^a | 0,960 | 46,2±4,1 ^a | 1,10±0,05 ^a |

Valores expressos da média ± desvio padrão.

Letras minúsculas iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa ($p < 0,05$).

A constante de degradação do parâmetro diferença total de cor não apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) para nenhuma das condições avaliadas. Isso indica que todas as amostras sofreram degradação com velocidade muito similar independente da temperatura, umidade e tipo de material de parede. Os

valores de tempo de meia vida foram de 56 a 46 dias, porém esses valores não foram diferentes estatisticamente entre si, assim como o fator de aceleração da temperatura (Q_{10}), que indica que todas as microcápsulas sofreram efeito similar ($p < 0,05$) com a variação de temperatura.

A temperatura de transição vítrea (T_g) de um pó seco por atomização pode ser usado como um indicativo para avaliar se o pó é estável durante longos períodos de armazenamento (Fang e Bhandari, 2011). No estado vítreo, algumas reações químicas e enzimáticas dependentes da difusão molecular, que podem causar uma perda no valor de um produto funcional, podem ser evitadas (Moraga et al., 2012). Quando a temperatura de armazenamento está acima da T_g , os produtos sólidos amorfos existem num estado elástico, e a mobilidade molecular da matriz e os reagentes é acelerado. Isso resulta em um aumento na taxa de alterações físico-químicas em produtos secos, como o colapso, a aglomeração, escurecimento e oxidação (Bhandari e Howes, 1999). Devido ao efeito plasticizante da água, o aumento do teor de umidade faz com que a temperatura de transição vítrea diminua (Pittia e Sacchetti, 2008). No presente trabalho os ambientes com elevada umidade relativa (75 e 90%), provavelmente devem ter diminuído consideravelmente a T_g das microcápsulas. Nossos resultados de degradação sugerem que as microcápsulas provavelmente, foram armazenadas em ambientes com temperatura superior a T_g e as microcápsulas não estavam mais no estado vítreo (mais estável), porém necessita-se de maiores estudos para que esta observação seja confirmada.

4. CONCLUSÃO

A degradação dos compostos fenólicos e da diferença total de cor das microcápsulas de suco de yacon atomizadas com goma arábica e povidona exibiram cinética de primeira ordem. O aumento da temperatura de armazenamento afetou negativamente a degradação dos fenólicos das microcápsulas com material de parede povidona. Entretanto, o aumento da umidade relativa não causou efeito significativo na estabilidade dos compostos fenólicos das microcápsulas para nenhum dos encapsulantes avaliados. A goma arábica foi o material de parede que protegeu melhor o composto bioativo, apresentando maiores tempos de meia vida para todas as condições avaliadas. Os valores dos parâmetros termodinâmicos foram próximos para todas as condições de armazenamento, o que indica que fatores semelhantes afetam a degradação dos compostos fenólicos em ambos os

materiais de parede. A análise cinética da diferença total de cor em função do tempo de armazenamento mostrou que o aumento da temperatura e da umidade relativa não causou diferença significativa na constante da velocidade de degradação e tempo de meia vida das microcápsulas atomizadas com goma arábica e com povidexrose. A alta degradação dos compostos fenólicos e de cor que ocorreu nos ambientes de umidade relativa e temperaturas estudadas para os dois materiais de parede, sugerem que as microcápsulas poderiam não estar mais no estado vítreo, e como consequência teríamos a aceleração das reações de degradação, porém estudos posteriores de determinação da Tg seriam necessários para confirmar essa hipótese.

REFERÊNCIAS

- Al-Zubaidy, M.M.I., Khalil, M.M.A. (2007). Kinetic and prediction studies of ascorbic acid degradation in normal and concentrate local lemon juice during storage. *Food Chemistry*, 101, 254–259.
- Andrade, E.F., Leone, R.S., Ellendersen, L.N., Masson, M.L. (2014). Phenolic profile and antioxidant activity of extracts of leaves and flowers of yacon (*Smallanthus sonchifolius*). *Industrial Crops and Products*, 62, 499–506.
- Ahn, J.H., Kim, Y.P., Lee, Y.M., Seo, E.M., Lee, K.W., Kim, H.S. (2008). Optimization of microencapsulation of seed oil by response surface methodology. *Food Chemistry* 107, 98–105.
- Belščak-Cvitanović, A., Stojanović, R., Manojlović, V., Komes, D., Cindrić, I.J., Nedović, V., Bugarski, B. (2011). Encapsulation of polyphenolic antioxidants from medicinal plant extracts in alginate–chitosan system enhanced with ascorbic acid by electrostatic extrusion. *Food Research International*, 44, 1094–1101.
- Bhandari, B. R., Howes, T. (1999). Implication of glass transition for the drying and stability of dried foods. *Journal of Food Engineering*, 40, 71–79.
- Borges, S.V., Cal-Vidal, J., 1994. Kinetics of water vapour sorption by drum-dried banana. *International Journal of Food Science and Technology* 29, 83–90.
- Breda, C.A., Sanjinez-Argandoña, E.J., Correia, C.A.C., (2012). Shelf life of powdered *Campomanesia adamantium* pulp in controlled environments. *Food Chemistry*, 135 (2012) 2960–2964.
- Cai, Y., Corke, H., (2000) Production and properties of spray-dried amaranthus betacyanin pigments. *Journal of Food Science*, 65(6): 1248–1252.
- Çam, M., İçier, N. C., Erdogan, F. (2014). Pomegranate peel phenolics: Microencapsulation, storage stability and potential ingredient for functional food development. *LWT - Food Science and Technology* 55, 117-123.
- Campos, D.; Betalleluz-Pallardel, I.; Chirinos, R.; Aguilar-Galvez, A.; Noratto, G.; Pedreschi, R. (2012). Prebiotic effects of yacon (*Smallanthus sonchifolius* Poepp. & Endl), a source of fructooligosaccharides and phenolic compounds with antioxidant activity, *Food Chemistry*, 135, 1592–1599.
- Cano-Chauca, M., Stringheta, P. C., Ramos, A. M., Cal-Vidal, J. (2005). Effect of the carriers on the microstructure of mango powder obtained by spray drying and its functional characterization. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 6, 420-428.

- Cao, X.M., Bi, X. F., Huang, W.S., Wu, J.H., Hu, X.S., Liao, X.J. (2012). Changes of quality of high hydrostatic pressure processed cloudy and clear strawberry juices during storage. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 16, 181–190.
- Chang, Q., Zuo, Z., Chow, M.S.S., Ho, W.K.K. (2006). Effect of storage temperature on phenolics stability in hawthorn (*Crataegus pinnatifida var. major*) fruits and a hawthorn drink. *Food Chemistry*, 98, 426–430.
- Corrigan, V., Hedderley, D., Harvey, W. (2012). Modeling the shelf-life of fruit filled snack bars using survival analysis and sensory profiling techniques. *Journal of Sensory Studies*, 27, 403-416.
- Delgado, G.T.C., Tamashiro, W.M.S.C., Júnior, M.R.M. Pastore, G.M. (2013). Yacon (*Smallanthus sonchifolius*): A Functional Food Plant Foods for Human Nutrition, 68, 222–228.
- Drush, S., Serfert, Y., Scampicchio, M., Schmidt, B. and Schwarz, K., (2007). Impact of physicochemical characteristics on the oxidative stability of fish oil microencapsulated by spray drying. *Journal of Agriculture Food Chemistry*, 55(26), 11044–11051.
- Esse, R., Saari, A., (2004). Shelf-life and moisture management. In: Steele, R. (Ed.), *Understanding and Measuring the Shelf-life of Food*. Woodhead Publishing Limited, Cambridge, England, 24–41.
- Fang, Z., Bhandari, B. (2011). Effect of spray drying and storage on the stability of bayberry polyphenols. *Food Chemistry*, 129(3), 1139–1147.
- Ferrari, C.C., Germer, S.P.M., Alvim, I.D., Aguirre, J.M. (2013). Storage Stability of Spray-Dried Blackberry Powder Produced with Maltodextrin or Gum Arabic. *Drying Technology*, 31(4), 470-478.
- Flood, M.T., Auerbach, M.H., Craig, S. A. S. (2004). A review of the clinical toleration studies of polydextrose in food. *Food and Chemical Toxicology*, 42, 1531–1542.
- Fuchs, M., Turchiuli, C., Bohin, M., Cuvelier, M.E., Ordonnaud, C., Peyrat-Maillard, M.N., Dumoulin, E., (2006). Encapsulation of oil in powder using spray drying and fluidized bed agglomeration. *Journal of Food Engineering*, 75, 27–35.
- Georgieva, V., Zvezdova, D., Vlaev, L. (2012). Non-isothermal kinetics of thermal degradation of chitosan. *Chemistry Central Journal*, 6(1), 81.

- Gharsallaoui, A., Roudaut, G., Chambin, O., Voilley, A., Saurel, R. (2007). Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: an overview. *Food Research International*, 40, 1107-1121.
- Halliwell, B. (1997). Antioxidants and human disease: A general introduction. *Nutrition Reviews*, 55, 44-52.
- Henriquez, C., Córdova, A., Lutz, M., Saavedra, J. (2013). Storage stability test of apple peel powder using two packaging materials: High-density polyethylene and metalized films of high barrier. *Industrial Crops and Products*, 45, 121– 127.
- Ho, S., Tung, Y., Cheng, K., Wu, J. (2010). Screening, determination and quantification of major antioxidants from *Balanophora laxiflora* flowers. *Food Chemistry*, 122, 584–588
- Jimenez-Aguilar, D.M., Ortega-Regules, A.E., Lozada-Ramírez, J.D., Pérez-Pérez, M.C.I., Vernon-Carter, E.J., Welti-Chanes, J. (2011). Color and chemical stability of spray-dried blueberry extract using mesquite gum as wall material. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24, 889–894.
- Kebede, B.T., Grauwet, T., Magpusao, J., Palmers, S., Michiels, C., Hendrickx, M, Loey, A, V. (2015). An integrated fingerprinting and kinetic approach to accelerated shelf-life testing of chemical changes in thermally treated carrot puree. *Food Chemistry*, 179, 94–102.
- Kechinski, C.P., Guimarães, P.V.R., Noreña, C.P.Z., Tessaro, I.C.; Marczak, L.D.F. Degradation kinetics of anthocyanin in blueberry juice during thermal treatment. *Journal of Food Science*, 75 (2), 173-176.
- Kouadio, E.J.P., Konan, H.K., Dabonné, S., Dué, E. A., Kouamé, L.P. (2013). Study of thermal stability of α -amylases sourced from digestive tract of the tropical house cricket *Grylodes sigillatus* (*orthoptera: gryllidae*): kinetic and thermodynamic analysis. *Journal of Applied Polymer Science*, 2 (3): 74-82.
- Labuza T. (1980). Enthalpy–entropy compensation in food reactions. *Food Technology*, 34(2), 67–77.
- Labuza, T. P., Schmidl, M. K. (1985). Accelerated shelf-life testing of foods. *Food Technology*, 37 (9), 57-64.
- Lago, C.C., Bernstein, A., Brandelli, A. Noreña, C.P.Z. (2011). Study of the rheological behavior, water activity and initial freezing point of Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) juice at different concentrations. *Brazilian Journal Food Technology*, 14(1), 1-9.

- Lago, C.C., Noreña, C.P.Z. (2014). Kinetic and Thermodynamic of Thermal Inactivation of the Peroxidase, Polyphenoloxidase and Inulinase Activities during Blanching of Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) Juice. *Food Bioprocess Technology*, 7, 3560–3568.
- Liu, F., Wang, Y., Li, R., Bi, X., Liao, X. (2014). Effects of high hydrostatic pressure and high temperature short time on antioxidant activity, antioxidant compounds and color of mango nectars. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 21, 35–43.
- Moraga, G., Igual, M., García-Martínez, M., Mosquera, L.H., Martínez-Navarrete, N. (2012). Effect of relative humidity and storage time on the bioactive compounds and functional properties of grapefruit powder. *Journal of Food Engineering*, 112, 191–199.
- Mc Evily, A.J., Iyengar, R., (1992). Inhibition of enzymatic browning in foods and beverages. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 32, 253–273.
- Mercali, G.D., Gurak, P. D., Schmitz, F., Marczak, L.D.F. (2015). Evaluation of non-thermal effects of electricity on anthocyanin degradation during ohmic heating of jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) juice. *Food Chemistry*, 171, 200–205.
- Montenegro, M.A., Boiero, M.L., Valle, L. Borsarelli, C. D. (2012). Gum Arabic: More Than an Edible Emulsifier, *Products and Applications of Biopolymers*, Dr. Johan Verbeek (Ed.), ISBN: 978-953- 51-0226-7.
- Ojansivu, I., Ferreira, L.C., Salminen, S. (2011). Yacon, a new source of prebiotic oligosaccharides with a history of safe use. *Trends in Food Science & Technology*, 22, 40-46.
- Okuro, P. K., Thomazini, M., Balieiro, J. C. C., Liberal, R. D. C. O., Favaro-Trindade, C.S. (2013). Co-encapsulation of *Lactobacillus acidophilus* with inulin or polydextrose in solid lipid microparticles provides protection and improves stability. *Food Research International*, 53(1), 96–103.
- Paini, M., Aliakbarian, B., Casazza, A.A., Lagazzo, A., Botter, R., Perego, P. (2015). Microencapsulation of phenolic compounds from olive pomace using spray drying: a study of operative parameters, *LWT - Food Science and Technology*, 62 (1), 177-186.
- Pitalua, E., Jimenez, Vernon-Carter, M. E.J., Beristain, C.I. (2010). Antioxidative activity of microcapsules with beetroot juice using gum Arabic as wall material. *Food and Bioprocess Processing*, 88, 253–258.

- Pittia, P.; Sacchetti, G. (2008). Antiplasticization effect of water in amorphous foods. A review. *Food Chemistry*, 106, 1417-1427.
- Richards, M., De Kock, H.L., Buys, E.M. (2014). Multivariate accelerated shelf-life test of low fat UHT milk. *International Dairy Journal*, 36, 38-45.
- Ruiz, N.A.Q., Demarchi, S.N., Massolo, J.F., Rodoni, L.M., Giner, S.A. (2012). Evaluation of quality during storage of apple leather. *LWT - Food Science and Technology*, 47, 485-492.
- Sagdic, O., Ekici, L., Ozturk, I., Tekinay, T., Polat, B., Tastemur, B., et al. (2013). Cytotoxic and bioactive properties of different color tulip flowers and degradation kinetic of tulip flower anthocyanins. *Food and Chemical Toxicology*, 58, 432–439.
- Singleton, V. L., Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic–phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144–158.
- Soysal, C., Söylemez, Z. (2005). Kinetics and inactivation of carrot peroxidase by heat treatment. *Journal of Food Engineering*, 68, 349-356.
- Stamp, J.A.; Labuza, T.P. (1983). Kinetics of the Maillard reaction between aspartame and glucose in solution at high temperatures. *Journal of Food Science*, 48, 543-544.
- Sun, L., Zhang, J., Lu, X., Zhang, L., Zhang, Y. (2011) .Evaluation to the activity of total flavonoids extract from persimmon (*Diospyros kaki L.*) leaves. *Food Chemistry Toxicology*, 49, 2689–2696.
- Sun-Waterhouse, D., Waterhouse, G.I.N. (2015). Spray-Drying of Green or Gold Kiwifruit Juice–Milk Mixtures; Novel Formulations and Processes to Retain Natural Fruit Colour and Antioxidants. *Food Bioprocess Technology*, 8, 191–207.
- Takenaka, M., Yan, X. J., Ono, H., Yoshida, M., Nagata, T., Nakanishi, T. (2003). Caffeic acid derivatives in the roots of yacon (*Smallanthus sonchifolius*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 793–796.
- Tonon, R.V., Brabet, C., Hubinger, M.D. (2010). Anthocyanin stability and antioxidant activity of spray-dried açai (*Euterpe oleracea Mart.*) juice produced with different carrier agents. *Food Research International*, 43, 907–914.
- Wang, W.D., Xu, S.Y. (2007). Degradation kinetics of anthocyanins in blackberry juice and concentrate. *Journal of Food Engineering*, 82, 271–275.
- Yan, X. J., Suzuki, M., Ohnishi-Kameyama, M., Sada, Y., Nakanishi, T., Nagata, T. (1999). Extraction and identification of antioxidants in the roots of yacon

(*Smallanthus sonchifolius*). Journal of Agricultural and Food Chemistry, 47, 4711–4713.

Zheng, L., Ding, Z., Zhang, M., Sun, J. (2011). Microencapsulation of bayberry polyphenols by ethyl cellulose: Preparation and characterization. Journal of Food Engineering, 104, 89–95.

CAPÍTULO 6.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente trabalho teve como objetivo principal minimizar o escurecimento enzimático no suco de yacon e aplicar a técnica do microencapsulamento por atomização visando proteger os compostos bioativos dessa importante raiz com propriedades funcionais.

A raiz de yacon apresenta um escurecimento muito rápido, em poucos minutos após o corte e exposição ao oxigênio ela torna-se escura, e esse é um dos problemas encontrados para elaboração do suco. Em função disso, no capítulo 2 foi apresentado um estudo sobre a inativação enzimática durante branqueamento da peroxidase e polifenoloxidase que são as principais enzimas responsáveis pelo escurecimento, e da enzima inulinase, que hidrolisa as moléculas de frutoligossacarídeos em açúcares simples, diminuindo o valor nutricional do produto. Ao suco de yacon foi imediatamente adicionado 1% de ácido cítrico para que o escurecimento não ocorresse, uma vez que esse acidulante diminui o pH da solução impedindo ou minimizando a ação das enzimas. Posteriormente, o suco foi submetido ao branqueamento nas temperaturas de 80, 90 e 100 °C nos tempos de 1, 2, 4, 6, 8 e 10 minutos e a determinação da atividade enzimática da peroxidase, polifenoloxidase e inulinase foi realizada para todas essas condições. Os dados experimentais foram ajustados a diferentes modelos disponíveis na literatura e o modelo bifásico foi o que apresentou os maiores valores de correlação, sendo então utilizado para a determinação da constante de velocidade da reação de inativação. De acordo com esse modelo, as enzimas avaliadas apresentaram duas frações: uma lábil ao calor e uma fração resistente, ambas com cinética de inativação de primeira ordem. Para todas as enzimas, a constante de velocidade da reação aumentou com o aumento da temperatura, indicando uma inativação mais rápida em temperaturas mais elevadas. Os elevados valores dos parâmetros cinéticos D e z mostraram a inulinase como a enzima mais resistente ao calor. Através da determinação dos parâmetros termodinâmicos, energia de ativação e entalpia baixa, e entropia negativa foi possível supor que a adição do ácido causou a desnaturação da maior parte das enzimas, e, que após aplicação do calor ocorreu agregação das moléculas desnaturadas.

No capítulo 3 foi apresentado um estudo das isotermas de sorção e propriedades termodinâmicas do bagaço de yacon. O bagaço do yacon é um subproduto do processo de extração do suco, e sua principal característica é que mesmo após secagem por desidratação ele ainda mantém altos teores de FOS e

fibras. O suco de yacon foi filtrado para separação do bagaço. Para a secagem do bagaço foi empregado secador de bandejas de ar forçado na temperatura de 70 °C durante 5 horas e posteriormente foi moído. Os dados de umidade de equilíbrio de bagaço de yacon desidratado em pó foram determinados nas temperaturas de 20, 30, 40 e 50 °C usando o método gravimétrico. O modelo de Halsey ajustou adequadamente os dados de sorção e as isotermas obtidas foram do tipo III. As propriedades termodinâmicas de entalpia e entropia diferenciais e integrais foram determinadas e a teoria de compensação entalpia-entropia indicou que o mecanismo de sorção para o bagaço de yacon é controlado pela entalpia e é não espontâneo ($\Delta G > 0$).

O trabalho apresentado no Capítulo 4 teve como objetivo avaliar a eficiência do método de encapsulamento por atomização para proteção dos compostos bioativos do yacon, que são os compostos fenólicos que apresentam atividade antioxidante. Para uso como material de parede fez-se a escolha por gomas com propriedades prebióticas que possuem ação semelhante a fibras, para que em adição com os FOS presentes na composição do yacon pudessem conferir às microcápsulas características de funcionalidade. A goma arábica, um dos materiais de parede mais utilizados em alimentos, foi usada para que se pudesse comparar a eficiência de outro agente de parede inovador, ainda pouco usado para microencapsulação: a povidexose. As microcápsulas foram produzidas com duas temperaturas de ar de entrada do atomizador (140 e 160 °C) e duas concentrações do material de parede (10 e 15%). De forma geral, as análises físico-químicas e de compostos bioativos apresentaram resultados positivos para a povidexose, com características e valores de retenções de fenois muito próximos às produzidas com goma arábica. A microscopia eletrônica de varredura mostrou ainda, que as microcápsulas com povidexose apresentaram superfície lisa, característica essencial para uso em formulações alimentícias.

Posteriormente, no Capítulo 5 foi apresentado um trabalho realizado referente à estabilidade dos compostos fenólicos e cor dessas microcápsulas sob condições aceleradas de armazenamento para que a análise pudesse ser realizada em um menor período de tempo, visto que produtos em pó com baixa atividade de água e umidade como verificado no trabalho anterior, tem uma vida de útil relativamente extensa. As partículas produzidas com 10% de goma arábica e povidexose atomizadas na temperatura de 140 °C foram armazenadas em ambientes com

condições de umidade relativa de 75 e 90% e nas temperaturas de 35 e 45 °C. Para avaliar a constante de velocidade da degradação, o modelo de primeira ordem ajustou os dados experimentais para compostos fenólicos e diferença total de cor. Para os fenóis, apenas as microcápsulas com polidextrose apresentaram diferença significativa com o aumento da temperatura. Os parâmetros cinéticos de energia de ativação e Q_{10} indicaram que essas microcápsulas apresentaram maior sensibilidade às variações de temperatura em relação às partículas com goma arábica. Para todas as condições de temperatura e umidade, as microcápsulas com goma arábica foram mais estáveis, apresentando valores superiores de tempo de meia vida. Os parâmetros termodinâmicos de energia livre de Gibbs, entalpia e entropia foram determinados e indicaram que as vias de degradação dos fenóis foram semelhantes nas microcápsulas com os dois materiais de parede. A análise cinética da diferença total de cor em função do tempo de armazenamento mostrou que o aumento da temperatura e/ou da umidade relativa não causou diferença significativa na constante da velocidade de degradação.

CONCLUSÕES

- O tratamento com 1% de ácido cítrico seguido de branqueamento foi eficiente para evitar o escurecimento enzimático do suco de yacon;
- A análise cinética demonstrou a alta resistência térmica das enzimas peroxidase, polifenoloxidase e inulinase do suco de yacon;
- A análise termodinâmica sugeriu que a etapa de agregação das enzimas foi limitante da velocidade da reação;
- O bagaço é o subproduto do suco de yacon, apresenta baixa atividade de água e teor de FOS mesmo após secagem, com potencial para reaproveitamento em formulações alimentícias depois de desidratado;
- O modelo de Halsey ajustou adequadamente os dados de sorção do bagaço de yacon desidratado e as isotermas obtidas foram do tipo III, características de produtos contendo açúcares;
- A teoria compensatória indicou que o processo de adsorção do bagaço de yacon desidratado foi controlado pela entalpia e não espontâneo;
- As microcápsulas produzidas com polidextrose apresentaram características de retenção dos compostos bioativos e características físico-químicas similares às produzidas com goma arábica;
- As partículas produzidas com polidextrose apresentaram superfícies mais lisas que as atomizadas com goma arábica;
- A polidextrose, quando comparada com a goma arábica mostrou-se efetiva para uso como material de parede frente às análises realizadas nesse trabalho;
- As microcápsulas com goma arábica foram mais estáveis que as produzidas com polidextrose na avaliação da degradação dos compostos fenólicos sob condições aceleradas de umidade e temperatura;
- A análise termodinâmica da degradação dos compostos fenólicos das microcápsulas indicou que esses componentes bioativos tiveram similar degradação tanto com a goma arábica quanto com o uso da polidextrose;
- A análise cinética da diferença total de cor em função do tempo de armazenamento mostrou que o aumento da temperatura e da umidade relativa não causou diferença significativa na constante da velocidade de

degradação das microcápsulas atomizadas com goma arábica e com povidexrose.

REFERÊNCIAS

- Al-Muhtaseb, A.H. Al.; McMinn, W.A.M.; Magee, T.R.A. (2002). Moisture sorption isotherm characteristics of foods products: a review. *Food and Bioproducts Processing*, 80 (2), 118–128.
- Al-Muhtaseb, A.H.; McMinn, W.A.M.; Magee, M.G.A. (2004). Water sorption isotherms of starch powders. Part 2: Thermodynamic characteristics. *Journal of Food Engineering*, 62, 135–142.
- Anema, S.G., McKenna, A.B., (1996). Reaction kinetics of thermal denaturation of whey proteins in heated reconstituted whole milk. *J. Agric. Food Chem.* 44, 422–428.
- Apenten, R. K. O. (1998). The effect of protein unfolding stability on their rates of irreversible denaturation. *Food Hydrocolloids* 12, 1-8.
- Apostolopoulos, D.; Gilbert, S. (1990). Water sorption of coffee solubles by frontal inverse gas chromatography: Thermodynamic considerations. *Journal of Food Science*, 55, 475–477.
- Asami, T.; Minamisawa, K.; Tsuchiya, T.; Kano, K.; Hori, I.; Ohyama, T.; Kubota, M.; Sukihashi, T. (1991). Fluctuations of oligofructan contents in tubers of yacon (*Polymnia sonchifolia*) during growth and storage. *Japan Journal Soil Science Plant Nutrition*, 62, 621-627.
- Ascheri, D.P.R.; Ascheri, J.L.R.; Carvalho, C.W.P.; Devilla, I.A. (2007). Propriedades termodinâmicas de adsorção de água de farinhas mistas pré-gelatinizadas de bagaço de jaboticaba e arroz: efeito dos parâmetros de extrusão, *Brazilian Journal of Food Technology*, 10 (3), 183-193.
- Aybar, M.J.; Riera, A.N.S.; Grau, A.; Sanchez, S.S. (2001). Hypoglycemic effect of the water extract of *Smallantus sonchifolius* (Yacon) leaves in normal and diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 74, 125-132.
- Bakan, J.A. (1973). Microencapsulation of foods and related products. *Food Technology*, 27(11), 34-44.
- Bhandari, B.R.; Senoussi, A.; Dumoulin, E.D.; Lebert, A. (1993). Spray drying of concentrated fruit juices. *Drying Technology*, 11 (5), 1081-1092.
- Brandelero, R.P.H.; Viira, A.P.; Telis, V.R.N.; Telis-Romero, J.; Yamashita, F. (2005). Aplicação de revestimento comestível em abacaxis processados por métodos combinados: isothermas de sorção e cinética de desidratação osmótica. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 25 (2), 285-290.

- Brazel, C.S. (1999). Microencapsulation: offering solutions for the food industry. *Cereal Foods World*, 44 (6), 338-393.
- Burdock, G.A.; Flamm, G.A. (1999). A Review of the Studies of the Safety of Polydextrose in Food. *Food and Chemical Toxicology* 37, 233,264.
- Cabello, C. (2005) Extração e Pré-Tratamento químico de frutanos de Yacon, *Polymnia sonchifolia*. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 25, 202-207.
- Cano-Chauca, M.; Stringheta, P.C.; Ramos, A.M.; Cal-Vidal, J. (2005). Effect of the carries on the microstructure of mango powder spray drying and its functional characterization. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 6 (4), 420-428.
- Carabin, I.G.; Flamm, W.G. (1999) Evaluation of Safety of Inulin and Oligofructose as Dietary Fiber. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, v.30, p.268–282.
- Cazetta, M.L.; Martins, P.M.M.; Monti, R.; Contiero, J. (2005). Yacon (*Polymnia sanchifolia*) extract as a substrate to produce inulinase by *Kluyveromyces marxianus* var.bulgaricus. *Journal of Food Engineering*, 66, 301–305.
- Chambi, H.N.M.; Alvim, I.D.; Barrera-Arellano, D.; Grosso, C.R.F. (2008) Solid lipid microparticles containing water-soluble compounds of different molecular mass: Production, characterisation and release profiles. 4 (3), 229–236.
- Chen, C.S.; Wu, M.C. (1998). Kinetic models for thermal inactivation of multiple pectinesterases in citrus juices. *Journal of Food Science*, 63(5), 747–750.
- Cherbut, C.; Michel, C.; Raison, V.; Kravtchenko, T.; Severine, M. (2003). Acacia gum is a bifidogênico dietary fibre with high digestive tolerance in healthy humans. *Microbial ecology in healthy and disease*, 15, 43-50.
- Chuda, Y.; Suzuki, M.; Nagata, T.; Tsushida, T. (1998). Contents and cooking loss of threequinic acid derivatives from garland (*Chrysanthemum coronarium L.*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 1437-1439.
- Damodaran, S., Parkin, K.L., Fennema, O.R. (2010). *Química de Alimentos de Fennema*. 4ª ed. Porto Alegre: Artmed, 900p.
- Desai, K.G.H.; Park, H.J. (2005). Recent developments in microencapsulation of food ingredients, *Drying Technology Journal*, 23, 1361-1394.
- Dziezak, J.D. (1988). Microencapsulation and encapsulated ingredients. *Food technology*, 42 (4), 136-151.

- Ersus, S.; Yurdagel, U. (2007). Microencapsulation of anthocyanin pigments of black carrot (*Daucus carota L.*) by spray drier. *Journal of Food Engineering*, 80 (3), 805-812.
- Fante, L.; Noreña, C.P.Z. (2012). Enzyme inactivation kinetics and colour changes in Garlic (*Allium sativum L.*) blanched under different conditions. *Journal of Food Engineering*, 108, 436-443.
- Fante, L.; Scher, C.F.; Noreña, C.P.Z.; Rios, A.O. (2013). Study of enzyme inactivation using steam in yacon (*Smallanthus sonchifolius*) roots. *Journal of Food Processing and Preservation*.
- Fasina, O.; Ajibola, O.; Tyler, R. (1999). Thermodynamics of moisture sorption in winged bean seed and gari. *Journal of Food Process Engineering*, 22 (6), 405–418.
- Fasina, O.O. (2006). Thermodynamic properties of sweetpotato. *Journal of Food Engineering*, 75 (2), 149–155.
- Fennema, O.R. (1993). *Química de los Alimentos*. Editorial Acribia S.A. Zaragoza (España).
- Flood, M.T.; Auerbach, M.H.; Craig, S. A. S. A review of the clinical toleration studies of polydextrose in food. *Food and Chemical Toxicology* 42 (2004) 1531–1542.
- Fooks, L.; Fuller, R.; Gibson, G.R. (1999). Prebiotics, probiotics and human gut microbiology. *International Dairy Journal*, 9 (1), 53-61.
- Franck, A. (2002). Technological functionality of inulin and oligofructose. *British Journal of Nutrition*, 87, S287–S291.
- Franck, A.; Leenheer, L.D. (2005). Inulin. *Polysaccharides and Polyamides in the Food Industry*. Technology and Industrial Arts. Cap.8, Wiley – VCH.
- Fujikawa, H.; Itoh, T. (1996). Characteristics of a multicomponent first order model for thermal inactivation of microorganisms and enzymes. *International Journal of Food Microbiology*, 31(1–3), 263–271.
- Furuta, T.; Hayashi, H.; Ohashi, T. (1994). Some criteria of *spray dryer* design for food liquid. *Drying technology*, 12(1), 151-177.
- Gabas, A.L. (2007). Effect of maltodextrin and Arabic gum in water vapor sorption thermodynamic properties of vacuum dried pineapple pulp powder. *Journal of Food Engineering*, 82, 246-252.
- Genta, S.B.; Cabrera, W.M.; Grau, A.; Sanchez, S.S. (2005). Subchronic 4-month oral toxicity study of dried *Smallanthus sonchifolius* (yacon) roots as a diet supplement in rats. *Food and Chemical Toxicology*, 43, 1657-1665.

- Genta, S.; Cabrera, W.; Habib, N.; Pons, J.; Manrique Carillo, I.; Grau, A. (2009). Yacon syrup: beneficial effects on obesity and insulin resistance in humans. *Clinical Nutrition*, 28, 182-187.
- Gibson, G.R.; Roberfroid, M.B. (1995). Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *Journal of Nutrition*, 125, 1401-1412.
- Golub, N.; Meremyanin, A.; Markossian, K.; Eronina, T.; Chebotareva, N.; Asryants, R.; Muronets, V.; Kurganov, B. (2007). Evidence for the formation of start aggregates as an initial stage of protein aggregation. *FEBS Letters* 581, 4223–4227.
- Goto, K.; Fukai, K.; Hikida, J.; Nanji, F.; Hara, Y. (1995). Isolation and structural analysis fructooligosaccharides from Yacon (*Polymnia sonchifolia*). *Bioscience, Biotechnology, Biochemistry*, 59, 2346-2347.
- Goula, A.M.; Karapantsios, T.D.; Achilias, D.S.; Adamopoulos, K.G. (2008) Water sorption isotherms and glass transition temperature of spray dried tomato pulp. *Journal of Food Engineering*, 85, 73–83.
- Graefe, S.; Hermann, M.; Manrique, I.; Golombek, S.; Buerkert, A. (2004). Effects of post-harvest treatments on the carbohydrate composition of yacon roots in the Peruvian Andes. *Field Crops Research*, 86, 157-165.
- Grau, A.; Rea, J. (1997). Yacon: *Smallanthus sonchifolius*. (Poepp. & Endl.) H. Robinson. In: Hermann, M.; Heller, J. (eds.): *Andean roots and tubers: ahupa, arracacha, maca and yacon. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops*. 21. Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research, Gatersleben, Cap. 5, 199-242.
- Hatamipour, M.S.; Kazemi, H.H.; Nooralivand, A.; Nozarpoor, A. (2007). Drying characteristics of six varieties of sweet potatoes in different dryers. *Food and Bioproducts Processing*, 85,171–177.
- Haully, M.C.O.; Moscatto, J. A. (2002). Inulina e oligofrutoses: uma revisão sobre propriedades funcionais, efeito prebiótico e importância na indústria de alimentos. *Semina: Ciências Exatas e Tecnológica*, 23 (1), 105-118.
- Hemeda, H.M.; Klein, B.P. (1990). Effects of naturally occurring antioxidants on peroxidase activity of vegetable extracts. *Journal of Food Science*, 55, 184–187.
- Hermann, M.; Freire, I.; Pazoz, C. (1998). Compositional diversity of the yacon storage root. CIP Program Report, 425-432.

- Hill, P.E.; Rizvi, S.S.H. (1982). Thermodynamic parameters and storage stability of drum dried peanut flakes. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 15(2), 185–190.
- Ho, S., Tung, Y.; Cheng, K.; Wu, J. (2010). Screening, determination and quantification of major antioxidants from *Balanophora laxiflora* flowers. *Food Chemistry*, 122, 584–588.
- Hussain, A., Rashid, M. H., Perveen, R., Ashraf, M. (2009). Purification, kinetic and thermodynamic characterization of soluble acid invertase from sugarcane (*Saccharum officinarum* L.). *Plant Physiology and Biochemistry* 47, 188–194.
- Iglesias, H.A.; Chirife, J.; Viollaz, P. (1976). Thermodynamics of water vapour sorption by sugar beet root. *Journal of Food Technology*, 11(1), 91–101.
- Iguedjatal, T.; Louka, N.; Allaf, K. (2008). Sorption isotherms of potato slices dried and texturized by controlled sudden decompression. *Journal of Food Engineering*, 85, 180-190.
- Itaya, N.M.; Carvalho, M.A.M.; Ribeiro, R.C.L.F. (2002). Fructosyl tranferse and hyfrolase activities in rhizophores and tuberous roots upon growth of *Polymnia sonchifolia* (Asteraceae). *Physiologia Plantarum*, 116, 451–459.
- Jackson, L. S.; Lee, K. (1991) Microencapsulation and food industry. *Food Science and Tecnology. Lebensmittel – Wissenchaft & Technologie*, 42 (4), 289-297.
- Jang, M.S.; Sanada, A.; Ushio, H.; Tanaka, M.; Ohshima, T. (2002). Inhibitory effects of ‘Enokitake’ mushroom extracts on polyphenol oxidase and prevention of apple browning. *Lebensmittel-Wissefnschaft und Technolologie*, 35, 697-702.
- Kaur, N.; Gupta, A.K. (2002). Applications of inulin and oligofructose in health and nutrition. *Journal of Biosciences*, 27(7), 703-714.
- Kaya, S.; Kahyaoglu, T. (2005). Thermodynamic properties and sorption equilibrium of pestil (*grape leather*). *Journal of Food Engineering*, 71, 200–207.
- Kaymak-Ertekin, F.; Gedik, A. (2004). Sorption isotherms and isosteric heat of sorption for grapes, apricots, apples and potatoes. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, 37, 429–438.
- Kockel, T.K.; Allen, S.; Hennigs, C.; Langrish, T.A.G. (2002). An experimental study of the equilibrium for skim milk powder at elevated temperature. *Journal of Food Engineering*, 51, 291–297.
- Kolida, S.; Gibson, G.R. (2007). Prebiotic Capacity of Inulin-Type Fructans. *The Journal of Nutrition*, 137 (11), 2503-2506.

- Kripke, S.A., Fox, A.D., Berman, J.M., Settle, R.G., Rombeau, J.L. (1989). Stimulation of intestinal mucosal growth with intracolonic infusion of short-chain fatty acids. *J. Parent. Enteral Nutr.* 13, 109–116.
- Krishnan, S.; Kshirsagar, A.C.; Singhal, R.S. (2005). The use of gum arabic and modified starch in the microencapsulation of a food flavoring agent. *Carbohydrate Polymers*, 62 (4), 309-315.
- Lachman, J.; Fernández, E.C.; Orsák, M. (2003). Yacon [*Smallanthus sonchifolia* (Poepp. et Endl.) H. Robinson]: chemical composition and use – a review. *Plant and Soil Environment*, 49 (6), 283-290.
- Lasekan, O.O.; Lasekan, W.O. (2000). Moisture sorption and the degree of starch polymer degradation on flours of popped and malted sorghum (*sorghum bicolor*). *Journal of Cereal Science*, 31, 55–61.
- Lenart, A. (1996). Osmo-convective drying of fruits and vegetables: technology and application. *Drying Technology*, 14, 391-413.
- Leonel, M.; Oliveira, M.; Mischan, M.M.; Pinho, S.Z. (2006). Chemical Composition and Sugar Profile of Jerusalem Artichoke Tubers under Different Storage Conditions. *Brazilian Journal Food Technology*, 9 (2), 109-113.
- Lewis, D.H. (1993). Nomenclature and diagrammatic representation of oligomeric fructans - paper for discussion. *New Phytologist*, 124, 583-594.
- Ling, A.C.; Lund, D.B. (1978). Determining Kinetic Parameters for Thermal Inactivation of Heat-Resistant and Heat-Labile Isozymes from Thermal Destruction Curves. *Journal of Food Science*, 43, 1307–1310.
- Lomauro, C.J.; Bakshi, A.S.; Labuza, T.P. (1985). Evaluation of food moisture isotherms equations. 1:fruit, vegetable and meat products. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, 18(2), 111-117.
- Ludikhuyze, L., Ooms, V., Weemaes, C.; Hendrickx, M. (1999). Kinetic study of the irreversible thermal and pressure inactivation of myrosinase from broccoli (*Brassica oleracea L. Cv. Italica*). *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 47(5), 1794–1800.
- Madamba, P.S.; Driscoll, R.H.; Buckle, K.A. (1996). Enthalpy–entropy compensation models for sorption and browning of garlic. *Journal of Food Engineering*, 28, 109–119.

- Madene, A.; Jacquot, M.; Scher, J.; Desobry, S. (2006). Flavour encapsulation and controlled release – a review. *International Journal of Food Science and Technology*, 41, 1–21.
- Manrique, I.; Párraga A.; Hermann, M. (2004). Jarabe de Yacón. Principios y Procesamiento. *Centro Internacional de la Papa (CIP)*, La Molina. Lima 12, Peru.
- Martinez, M.V.; Whitaker, J.R. (1995). The biochemistry and control of enzymatic browning. *Trends in Food Science & Technology*, 5, 195-200.
- Marx, S.P.; Nosberguer, J.; Frehner, M. (1997). Seasonal variation of frutan β -fructosidase (FEH) activity and characterization of a β (2→1) linkage specific FEH from tubers of Jerusalém artichoke (*Helianthus tuberosus*). *New Phytologist*, 135, 267-277.
- Mathlouthi, M.; Rogé, B. (2003). Water vapour sorption isotherms and the caking os food powders. *Food Chemistry*, 82, 61-71.
- McMinn, W.A.M.; Magee, T.R.A. (2003). Thermodynamic properties of moisture sorption of potato. *Journal of Food Engineering*, 60 (2), 157–165.
- Menolli, L.N.; Finger, F.L.; Puiatti, M.; Barbosa, J.M.; Barros, R.S. (2008). Atuação das enzimas oxidativas no escurecimento causado pela injúria por frio em raízes de batata baroa. *Acta Scientiarum Agronomy*, 30 (1), 57-63.
- Meyer, D.; Bayarri, S.; Tárrega, A.; Costell, E. (2011). Inulin as texture modifier in dairy products. *Food Hydrocolloids*, 25 (8), 1881-1890.
- Mosquera, L.H.; Moraga, G.; Martínez-Navarrete, N. (2012). Critical water activity and critical water content of freeze-dried strawberry powder as affected by maltodextrin and arabic gum. *Food Research International* 47, 201–206.
- Mothé, C.G.; Rao, M.A. (1999). Rheological behavior of aqueous dispersions of cashew gum and gum Arabic: effect of concentration and blending. *Food Hidrocolloids*, 13, 501-506.
- Narai-Kanayama, A.; Tokita, N.; Aso, K. (2007). Dependence of fructooligosaccharide content on activity of fructooligosaccharide- metabolizing enzymes in yacon (*Smallanthus sonchifolius*) tuberous roots during storage. *Journal of Food Science*, 72(6), 381-387.
- Noshad, M.; Mohebbi, M.; Shahidi, F.; Mortazavi, S.A. (2011). Effect of osmosis and ultrasound pretreatment on the moisture adsorption isotherms of quince, *Food and Bioproducts Processing*, 90(2), 266-274.

- Ohyama, T.; Ito, O.; Yasuyoshi, S.; Ikarashi, T.; Inamisawak.; Kubota, M.; Tsukihashi, T.; Asami, T. (1990). Composition of storage carbohydrate in tubers of yacon (*Polymnia sonchifolia*). *Soil Science and Plant Nutrition*, 36(1), 167-1990.
- Ojansivu, I.; Ferreira, L.C.; Salminen, S. (2011). Yacon, a new source of prebiotic oligosaccharides with a history of safe use. *Trends in Food Science & Technology*, 22, 40-46.
- Ordóñez, J.A.; Rodríguez, M.I.C.; Álvarez, L. F.; Sanz, M. L. G.; Minguillón, G. G. F.; Perales, L.; Cortecero, M. D. S. (2005). *Tecnología de Alimentos*, 1, Arimed.
- Padilha, V.M.; Rolim, P.M.; Salgado, S.M.; Lireva, A.V.S.; Oliveira, M.G. (2009). Tempo de secagem e da atividade de óxido-redutases de yacon (*Smallanthus sonchifolius*) sob tratamento químico. *Ciência Rural*, 39(7), 2178-2184.
- Park, K.J.; Bin, A.; Brod, F.P.R. (2001). Obtenção das isotermas de sorção e modelagem matemática para a pêra bartlett (*Pyrus sp.*) com e sem desidratação osmótica. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, 21(1), 73-77.
- Passos, L.M.P.; Park, Y.K. (2003). Frutooligosacarídeos: implicações na saúde humana e utilização em alimentos. *Ciência Rural*, 33(2), 385-390.
- Pedreschi, R.; Campos, D.; Noratto, G.; Chirinos, R.; Cisneros- Zevallos, L. (2003). Andean yacon root (*Smallanthus sonchifolius* Poepp. Endl) fructooligosaccharides as a potential novel source of prebiotics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 5278-5284.
- Pérez- Alonso, C.; Berinstain, C.I.; Lobato-Calleros, C.; Rodríguez-Huezo, M.E.; Vernon- Carter, E.J. (2006). Thermodynamic analysis of the sorption isotherms of pure and blended carbohydrate polymers, *Journal of Food Engineering*, 77, 753–760.
- Phillips, G.O.; Ogasawara, T.; Ushida, K. (2008). The regulatory and scientific approach to defining gum Arabic (*Acacia Senegal* and *Acacia seyal*) as a dietary fiber. *Food Hydrocolloids*, 22, 24-35.
- Pollock, C.J. (1986). Fructans and the metabolism of sucrose in vascular plants. *New Phytologist*, 104, 1-24.
- Quinteros, E.T.T. (2000). Produção com tratamento enzimático e avaliação do suco de Yacon. Campinas, 2000. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.
- Reed, G (1975). *Enzymes in food processing*. NY: Academic Press.

- Ribeiro, C.; Zimeri, J.E.; Yildiz, E.; Kokini, J.L. (2003). Estimation of effective diffusivities and glass transition temperature of polydextrose as a function of moisture content. *Carbohydrate Polymers* 51, 273–280.
- Richard-Forget, F.C.; Gaillard, F.A. (1997). Oxidation of chlorogenic acid, catechins, and 4-methylcatechol in model solutions by combinations of pear (*Pyrus communis* Cv. *Williams*) polyphenol oxidase and peroxidase: A possible involvement of peroxidase in enzymatic browning. *J. Agric. Food Chem.*, 45, 2472-2476.
- Rizvi, S.S.H.; Benado, A.L. (1983). Thermodynamic analysis of drying foods. *Food Technology*, 2, 471–502.
- Roberfroid, M.B. (1993). Dietary fiber, inulin and oligofructose: a review comparing their physiological effects. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 33, 103-148.
- Robinson, H. (1997). Studies in the Heliantheae (Asteraceae). XII.Re-establishment of the genus *Smallanthus*. *Phytologia*, 39(1), 47-53.
- Ronkarta, S.N.; Bleckera, C.S.; Fourmanoir, H.; Fougnes, C.; Deroanne, C. (2007). Isolation and identification of Inulooligosaccharides resulting from inulin hydrolysis. *Analytica Chimica Acta*, 604, 81-87.
- Rosenberg, M.; Kopelman, I.J.; Talmon, Y. (1990). Factors affecting retention in spray-drying microencapsulation of volatile materials. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38, 1288-1294.
- Saad, S.M.I. (2006). Probióticos e prebióticos: o estado da arte. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, 42,11-16.
- Santana, I.; Cardoso, M.N. (2008). Raiz tuberosa de yacon (*Smallanthus sonchifolius*): potencialidades de cultivo, aspectos tecnológicos e nutricionais. *Ciência Rural*, 38 (3), 898-905.
- Seminario, J.; Valderrama, M.; Manrique, I. (2003). El yacón: fundamentos para el aprovechamiento de un recurso promisorio. Centro Internacional de La Papa (CIP), Lima, Peru.
- Shahidi, F.; Han, X. Q. (1993). Encapsulation of food ingredients. *Critical reviews in food science and nutrition*, 33 (6), 501-547.
- Simal, S.; Femenia, A.; Castell-Palou, A.; Roselló, C. (2007). Water desorption thermodynamic properties of pineapple, *Journal of Food Engineering*, 80, 1293–1301.

- Singh, R.P.; Chen, G (1980). Lethality-Fourier method to predict blanching. In P. Linko, Y. Malakki, J. Olkku, & J. Larinkari (Eds.). Food process engineering, v.1. Applied Science Publishers.
- Sogi, B. S.; Shivhare, V.S.; Gare, S.K.; Bawa, A.S. (2003). Water sorption isotherm and drying characteristics of tomato seeds. Biosystems Engineering, 84 (3), 297-301.
- Soysal, C; Söylemez, Z (2005). Kinetics and inactivation of carrot peroxidase by heat treatment Journal of Food Engineering, 68, 349-356.
- Stamp, J.A.; Labuza, T.P. (1983). Kinetics of the Maillard reaction between aspartame and glucose in solution at high temperatures. Journal of Food Science, 48, 543-544.
- Steventon, A. J.; Gladden, L. F.; Fryer, P. J. (1991). A percolation analysis of the concentration dependence of the gelation of whey protein concentrates. J. Texture Stud. 1991, 22, 201-218.
- Takenaka, M.; Yan, X.; Ono, H.; Yoshida, M.; Nagata, T.; Nakanishi, T. (2003). Caffeic Acid Derivatives in the Roots of Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51, 793-796,.
- Trindade, C.S.F.; Pinho, S.C.; Rocha, G.A. (2008). Revisão: Microencapsulação de ingredientes alimentícios. Brazilian Journal of Food Technology, 11(2), 103-112.
- Tsami, E. (1991). Differential enthalpy of sorption in dried fruits. Journal of Food Engineering, 14, 327-335.
- Valentová, K.; Ulrichová, J. (2003). *Smallanthus sonchifolius* and *Lepidium meyenii* – prospective Andean crops for the prevention of chronic diseases. Biomedical Papers, 147 (2), 119-130.
- Valero, E.; Varón, R.; Garcia-Carmona, F. (1992). Kinetic study of the effect of metabisulfite on polyphenol oxidase. Journal Agricultural and Food Chemistry, 40, 904-908.
- Vamos-Vigyazo, L.; Nádudvari-Márrus, V. (1982). Enzymatic browning, polyphenol content, polyphenol oxidase and peroxidase activities in pear cultivars. Acta Alimentaria, 11 (2), 157-168.
- Wang, C. H.; Damodaran, S. (1991). Thermal gelation of globular proteins: influence of protein conformation on gel strength. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 39, 433–438.
- Weibull, W. (1951). A statistical distribution of wide applicability. Journal of Applied Mechanics, 18, 293–297.

- Whataker, J.R.; Lee, C.Y. (1995). Recent advances in chemistry of enzymatic browning. *Enzymatic Browning and its Prevention*, 2-7.
- Wolf, M.; Walker, J.E.; Kapsalis, J.G. (1972), Water vapour sorption hysteresis in dehydrated foods, *J Agr Food Chem*, 20, 1073–1077.
- Yacon apresenta resultado positivo na região Norte. Erechim: Emater/RS, 2003. Disponível em: <http://www.emater.tche.br/site/noticias/noticia.php?id=753>. Acesso em: 22 maio 2010.
- Yan, X.; Suzuky, M.; Kameyama, M. O.; Sada, Y.; Nakanishi, T.; Nagata, T. (1999). Extraction and identification of antioxidants in the roots of Yacon (*Smallanthus sonchifolius*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 4711-4713.
- Yun, J.W. (1996). Fructooligosaccharides – occurrence, preparation and application. *Enzyme and Microbial Technology*, 19, 107-117.
- Zhang, L.; Lu, D.; Liu, Z. (2008). How native proteins aggregate in solution: A dynamic Monte Carlo simulation. *Biophysical Chemistry* 133, 71–80.