

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
ESCOLA DE ENGENHARIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

**Extração e microencapsulação de compostos antociânicos do
bagaço de mirtilo (*Vaccinium corymbosum L.*)**

-Dissertação de Mestrado-

Ivanor Zardo

Porto Alegre

2014

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
ESCOLA DE ENGENHARIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

Extração e microencapsulação de compostos antociânicos do bagaço de
mirtilo (*Vaccinium corymbosum L.*)

Ivanor Zardo

Dissertação de Mestrado apresentada como requisito parcial
para obtenção de título de Mestre em Engenharia.
Área de concentração: Fenômenos de Transporte

Orientadores:

Prof.^a Dr.^a Lígia Damasceno Ferreira Marczak

Prof. Dr. Caciano Pelayo Zapata Noreña

Porto Alegre

2014

Agradecimentos

Aos meus orientadores Prof.^a Dr.^a Lígia Damasceno Ferreira Marczack e Prof. Dr. Caciano Pelayo Zapata Noreña pelo acompanhamento e motivação durante a execução deste trabalho.

Aos colegas do Laboratório de Tecnologia e Processamento de Alimentos.

Ao bolsista e aluno de graduação Marcelo Brando, pelo auxílio na execução dos experimentos.

A todos os professores que me impulsionaram na vida acadêmica e ao Departamento de Engenharia Química pela utilização da estrutura física dos laboratórios.

Ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da UFRGS, ao CNPq e Capes pelo suporte contínuo.

Aos colegas de Pós-Graduação pela convivência e amizade durante todo o curso.

À toda minha família, em especial aos meus pais Hylario e Celita, pelos valores a mim passados desde criança, pelo apoio e incentivo em minhas escolhas.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
ESCOLA DE ENGENHARIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação *Extração e microencapsulação de compostos antociânicos do bagaço de mirtilo (Vaccinium corymbosum L.)*, elaborada por Ivanor Zardo, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Engenharia.

Comissão Examinadora:

Prof^a. Dr^a. Caroline Dellinghausen Borges

Prof^a. Dr^a. Aline Schiling Cassino

Pesquisadora Dr^a. Vivian Caetano Bochi

Resumo

O mirtilo é uma fruta nativa da América do Norte e ainda pouco conhecida no Brasil. O principal fator de interesse desta fruta é seu elevado potencial antioxidante associado à presença de compostos bioativos, em especial as antocianinas, responsáveis por efeitos benéficos para a saúde humana no tratamento de diversas doenças. O processamento do mirtilo para produção de suco gera em torno de 20% de resíduos (bagaço), o qual contém cerca de 60% das antocianinas totais presentes na fruta fresca. Dentro deste contexto, o presente trabalho tem como objetivo principal avaliar a recuperação das antocianinas presentes no bagaço proveniente da produção de suco de mirtilo, bem como o processo para manter sua estabilidade frente a certas condições ambientais para então servirem como aditivo alimentar. Para isso, a partir do bagaço de mirtilo, foram testadas diferentes condições de extração, utilizando água a 1% de ácido cítrico como solvente, nas temperaturas de 60 e 80 °C e tempos de 5, 15 e 45 minutos. Para extração das antocianinas a condição de 80 °C durante 5 minutos apresentou o melhor resultado, totalizando 1.944 mg de cianidina-3-glicosídeo/100 g de bagaço em base seca, enquanto para extração de compostos fenólicos totais obteve-se o melhor resultado na temperatura de 80 °C e 45 minutos analogamente à atividade antioxidante. A etapa subsequente à extração foi a microencapsulação das antocianinas presentes no extrato (80 °C, 5 minutos) pela técnica de secagem por atomização (*spray drying*), utilizando como material de parede a maltodextrina e a goma arábica na concentração de 15% m/v. Quanto aos parâmetros de secagem, testaram-se as temperaturas do ar de entrada de 140 e 160 °C. Os pós obtidos foram analisados segundo os aspectos físicos de retenção de antocianinas, morfologia, umidade, higroscopicidade, solubilidade em água e atividade de água. Todas as condições testadas apresentaram um microparticulado com características físicas adequadas para sua estabilidade. Para estudo da degradação das antocianinas quando expostas à radiação ultravioleta (UV) foram feitas análises de concentração de antocianinas e variação de cor durante 41 dias, verificando-se duas cinéticas de degradação. Analisando a cinética mais lenta, o tempo de meia vida das micropartículas de antocianinas ficou entre 7,8 e 14,9 meses, sendo o pó obtido com maltodextrina e temperatura de ar de entrada de 140 °C o qual se mostrou mais estável à radiação UV.

Palavra chave: antocianinas, cinética, estabilidade, micropartículas, *spray dryer*

Abstract

The blueberry is a native fruit from North America and still little known in Brazil. The main interest factor in this fruit is its high antioxidant potential associated with the presence of bioactive compounds, especially anthocyanins, responsible for beneficial effects on human health in the treatment of several diseases. From blueberry juice process, around 20% of waste (pomace) is generated, which contains about 60% of total anthocyanins present in the fresh fruit. This work aims to evaluate the recovery of anthocyanins present in the waste from blueberry juice production and the process to maintain its stability against some environmental conditions to be used as a replacement to synthetic dyes. The blueberry pomace was subjected to different anthocyanins extraction condition, using water with 1% citric acid as solvent, temperatures of 60 to 80 °C and times of 5, 15 and 45 minutes. The best extracted condition was at 80 °C for 5 minutes, yielding a total of 1,944 mg of anthocyanins extracted from pomace cyanidin-3-glucoside/100 g on dry weight basis, while for the phenolic compounds extraction the best result was obtained in the temperature of 80 °C and 45 minutes analogously to the antioxidant activity. After the extraction, the subsequent step was the microencapsulation of anthocyanins in the extract with the technique of spray drying using as wall material maltodextrin and arabic gum. Regarding the parameters of drying, the inlet air temperature was 140 to 160 °C. The powders were analyzed according to the physical aspects of anthocyanin retention, morphology, moisture content, hygroscopicity, solubility in water and water activity. All conditions tested showed a microparticle with suitable physical characteristics for its stability. To study the anthocyanins degradation when exposed to ultraviolet irradiation, analysis of anthocyanin content and color variation were done during 41 days. Two degradation kinetics where observed. Analyzing the slower kinetics, the half life of anthocyanins microparticles was between 7.8 and 14.9 months, being the powder obtained with maltodextrin and 140 °C inlet air temperature the most stable to UV radiation.

Keywords: anthocyanins, kinetics, stability, microparticles, spray dryer

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 - INTRODUÇÃO	1
CAPÍTULO 2 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA E FUNDAMENTOS TEÓRICOS	4
2.1 MIRTILO	4
2.1.1 <i>Classificação botânica e morfologia do fruto</i>	5
2.1.2 <i>Fatores edafo-climáticos</i>	6
2.1.3 <i>Fatores de qualidade à colheita e pós-colheita</i>	9
2.1.4 <i>Aspectos econômicos</i>	11
2.1.5 <i>Composição e valor nutricional</i>	12
2.2 COMPOSTOS FENÓLICOS	14
2.3 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	14
2.4 ANTOCIANINAS	16
2.4.1 <i>Estabilidade das antocianinas</i>	18
2.4.1.1 <i>Estrutura</i>	19
2.4.1.2 <i>pH</i>	19
2.4.1.3 <i>Temperatura</i>	21
2.4.1.4 <i>Luz</i>	21
2.4.1.5 <i>Enzimas</i>	22
2.4.1.6 <i>Copigmentação</i>	23
2.4.1.7 <i>Outros fatores que influenciam a estabilidade das antocianinas</i>	24
2.4.2 <i>Benefícios nutricionais à saúde</i>	25
2.5 OBTENÇÃO DO SUCO	27
2.6 EXTRAÇÃO DE ANTOCIANINAS	29
2.6.1 <i>Extração convencional</i>	30
2.7 MICROENCAPSULAÇÃO DE ALIMENTOS	33
2.7.1 <i>Agentes encapsulantes</i>	36
2.7.2 <i>Técnicas de encapsulação</i>	38
2.7.3 <i>Microencapsulação por atomização “spray drying”</i>	39
CAPÍTULO 3 - MATERIAIS E MÉTODOS	44
3.1 MATÉRIA-PRIMA	44
3.2 EXTRAÇÃO DO SUCO E OBTENÇÃO DO BAGAÇO	44
3.3 DETERMINAÇÃO DAS PROPRIEDADES DA FRUTA E DO BAGAÇO	45
3.4 EXTRAÇÃO DE ANTOCIANINAS DO BAGAÇO DE MIRTILO	46
3.5 EXTRAÇÃO EXAUSTIVA	48
3.6 CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO	48
3.6.1 <i>Quantificação de antocianinas monoméricas totais</i>	48
3.6.2 <i>Compostos Fenólicos</i>	51
3.6.3 <i>Atividade Antioxidante Total (AAT)</i>	52
3.6.3.1 <i>Método da captura do radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilidrazila)</i> ..	52
3.6.3.2 <i>Método da captura do radical ABTS (ácido 2,2'-azinobis-(3-etil- benzotiasolína-6-ácido sulfônico))</i>	53
3.7 MICROENCAPSULAÇÃO	54
3.7.1 <i>Preparo das microcápsulas</i>	54
3.7.2 <i>Caracterização das micropartículas</i>	55

3.7.2.1	<i>Solubilidade</i>	55
3.7.2.2	<i>Retenção de antocianinas</i>	55
3.7.2.3	<i>Higroscopicidade</i>	56
3.7.2.4	<i>Umidade</i>	56
3.7.2.5	<i>Determinação da atividade de água (aw)</i>	56
3.7.2.6	<i>Colorimetria</i>	56
3.7.2.7	<i>Fotoestabilidade</i>	57
3.7.2.8	<i>Modelagem cinética</i>	58
3.7.2.9	<i>Microscopia eletrônica de varredura (MEV)</i>	58
3.7.2.10	<i>Distribuição de tamanho de partículas</i>	58
3.8	ANÁLISE ESTATÍSTICA	59
CAPÍTULO 4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO		60
4.1	PROPRIEDADES DA FRUTA E DO BAGAÇO	60
4.2	EXTRATO	60
4.2.1	<i>Extração de antocianinas</i>	60
4.2.2	<i>Fenólicos totais</i>	63
4.2.3	<i>Atividade antioxidante</i>	65
4.3	MICROCÁPSULAS	67
4.3.1	<i>Produção das microcápsulas</i>	67
4.3.2	<i>Distribuição de tamanho de partículas</i>	69
4.3.3	<i>Morfologia da partícula</i>	72
4.3.4	<i>Fotoestabilidade</i>	73
CAPÍTULO 5 – CONCLUSÕES E SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS		80
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS		83

Lista de Figuras

Figura 2.1: Mirtilo.....	4
Figura 2.2: Mapa de horas de frio estimadas de maio a setembro (abaixo de 7,2 °C), na região Sul do Brasil.....	7
Figura 2.3: Estrutura do cátion flavílico.....	16
Figura 2.4: a) Principais antocianinas encontradas em frutas. b) Estrutura da antocianina cianidina-3-glucosídeo.....	17
Figura 2.5: Formas estruturais das antocianinas em solução alcoólica.....	20
Figura 2.6: Esquema representativo de copigmentação.....	23
Figura 2.7: Fluxograma simplificado para produção de sucos.....	28
Figura 2.8: Modelos de microcápsulas. A) microesfera; B) microcápsula simples; C) simples irregular; D) duas paredes E) vários núcleos F) agrupamento de microcápsulas.....	36
Figura 2.9: Esquema das principais etapas envolvidas no processo de microencapsulação por <i>spray drying</i>	40
Figura 2.10: Micrografias de pós provenientes de extrato de jabuticaba com diferentes materiais encapsulantes (MD – maltodextrina (30%), GA/MD – Goma Arábica (25%) com maltodextrina (5%). Magnificação de 3000 vezes (esquerda) e 1000 vezes (direita).	41
Figura 3.1: Fluxograma de operação do processo de extração do suco de mirtilo por desintegração seguida de prensagem.....	45
Figura 3.2: Aparato para extração de antocianinas do bagaço de mirtilo.....	47
Figura 3.3: Espectro de varredura do extrato de antocianinas entre os comprimentos de onda de 300 e 700 nm em pH 1 e 4,5.....	49
Figura 3.4: Atomizador MSDi 1.0-LABMAQ.....	54
Figura 3.5: Diagramas representativos do sistema de cores CIELAB.....	57
Figura 4.1: Concentração de antocianinas (mg de cianidina-3-glucosídeo por 100 g de bagaço em base seca) para as diferentes condições de extração. Médias seguidas da mesma letra, na barra, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, em nível de 5% de probabilidade.....	61
Figura 4.2: Concentração de fenólicos totais em mg de ácido gálico por 100 g de bagaço em base seca para as diferentes condições de extração. Médias seguidas da mesma letra, na barra, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, em nível de 5% de probabilidade.....	64
Figura 4.3: Atividade antioxidante dos extratos aquosos do bagaço de mirtilo analisados pelos métodos: (A) DPPH e (B) ABTS.....	65
Figura 4.4: Distribuição do tamanho das partículas para os pós produzidos segundo as diferentes formulações e temperaturas.....	71

- Figura 4.5:** Micrografias obtidas por MEV das microcápsulas de antocianinas produzidas com: A) maltodextrina 140 °C, B) Goma Arábica 140°C, C) maltodextrina 160°C e D) Goma Arábica 160°C. Magnificação das imagens de 2000 vezes. 72
- Figura 4.6:** Amostras dos pós obtidos por atomização com maltodextrina (coluna 1) e goma arábica (coluna 2) anteriormente aos testes. 73
- Figura 4.7:** Gráficos obtidos para a fotoestabilidade dos parâmetros de cor (luminosidade (A e B), ângulo de cor (C e D) e *chroma* (E e F)) das microcápsulas de acordo com as diferentes condições de produção. Controle: A, C e E; irradiadas B, D e F). 75
- Figura 4.8:** Estabilidade do conteúdo de antocianinas totais monoméricas dos microparticulados mantidos ao abrigo de luz (A) e expostos à radiação ultravioleta (B) em função do tempo de acordo com as condições de produção. 76

Lista de Tabelas

Tabela 2.1: Características físico-químicas dos frutos de mirtilo.	10
Tabela 2.2: Composição média do mirtilo por 100 g de fruto.	13
Tabela 2.3: Métodos utilizados na elaboração de micropartículas.	38
Tabela 4.1: Coeficientes de correlação entre fenólicos totais e atividade antioxidante (DPPH, ABTS).	66
Tabela 4.2: Retenção de antocianinas (ACI), umidade, atividade de água, higroscopicidade e solubilidade das micropartículas para os diferentes materiais carreadores e temperaturas de secagem.	68
Tabela 4.3: Resultados da análise da distribuição de tamanho de partículas para os pós formados a partir da maltodextrina e goma arábica nas temperaturas de 140 e 160 °C.	70
Tabela 4.4: Coeficiente cinético de degradação das antocianinas (k), tempo de meia-vida ($t_{1/2}$) e do coeficiente de determinação da curva de ajuste (R^2) para as diferentes condições de produção expostas à radiação UV.	78

Lista de Símbolos

<i>a</i>	parâmetro colorimétrico que indica verde/vermelho
<i>A</i>	absorbância
<i>ACI</i>	antocianinas
<i>b</i>	parâmetro colorimétrico que indica azul/amarelo
<i>b.s.</i>	base seca
<i>b.u.</i>	base úmida
<i>C</i>	concentração (mol L^{-1})
<i>C₀</i>	concentração inicial (mol L^{-1})
<i>FD</i>	fator de diluição
<i>GAE</i>	equivalente de ácido gálico
<i>ha</i>	hectare
<i>k</i>	coeficiente cinético (meses^{-1})
<i>L</i>	parâmetro colorimétrico que indica a intensidade de claridade
<i>l</i>	distância (cm ou m)
<i>MM</i>	massa molar (g mol^{-1})
<i>m_s</i>	massa seca (g)
<i>m_u</i>	massa úmida (g)
<i>p</i>	probabilidade (%)
<i>t_{1/2}</i>	tempo de meia-vida (dias ou meses)
<i>UV</i>	ultravioleta
<i>V</i>	volume (mL ou m^3)
<i>x_w</i>	umidade (%)
ϵ	coeficiente de absorvidade molar ($\text{L mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$)

Capítulo 1 - Introdução

O mirtilo, também conhecido como *blueberry*, é classificado como uma das frutas frescas mais ricas em compostos antioxidantes já estudadas, tendo um conteúdo elevado de compostos fenólicos tanto na casca quanto na polpa. Bastante conhecido e apreciado em países do Hemisfério Norte, o mirtilo ainda é pouco conhecido pela população brasileira. O mirtilo vem ganhando destaque e interesse de produtores e consumidores graças às suas propriedades funcionais, sendo conhecido como a “fruta da longevidade”. O seu caráter medicinal está relacionado, principalmente, ao elevado teor de antocianinas presentes no fruto, substâncias consideradas de alto poder antioxidante, às quais se atribui propriedades preventivas de doenças crônico-degenerativas (SINELLI et al., 2008).

Além das diversas propriedades funcionais, as antocianinas são responsáveis pela coloração azul, roxa e tonalidades de vermelho encontradas em flores, frutos, algumas folhas, caules e raízes de plantas (BRIDLE; TIMBERLAKE, 1997). A busca pela substituição de corantes sintéticos por corantes naturais tem sido uma das áreas de intenso e crescente estudo nos últimos anos, pois além de não serem tóxicos como a maioria dos corantes sintéticos, os corantes naturais possuem comprovados efeitos benéficos à saúde humana (CASTAÑEDA-OVANDO et al., 2009).

As antocianinas são pigmentos solúveis em água, o que as tornam atraentes para uso como corantes naturais em alimentos, despertando grande interesse em indústrias de alimentos, fármacos e de cosméticos (PAZMIÑO-DURÁN et al., 2001; CASTAÑEDA-OVANDO et al., 2009). A síntese artificial de antocianinas ainda é um processo difícil e de custo elevado e, por isso, a obtenção desses compostos é feita através da sua extração a partir de espécies vegetais, principalmente frutas, nas quais o teor de antocianinas é mais alto.

Os resíduos do processamento de frutas que apresentam elevada concentração de compostos bioativos, em geral, são apontados como fontes promissoras de corantes e antioxidantes naturais, podendo ser utilizados como ingredientes na formulação de outros alimentos industrializados; associado a isto, o reaproveitamento deste resíduo também

contribuiu para a diminuição da contaminação ambiental, resultando em grandes benefícios para a sociedade.

No Brasil, a fruta mirtilo é ainda pouco consumida *in natura* e uma grande quantidade é processada para obtenção de sucos e derivados que são, posteriormente, consumidos como bebidas, xaropes ou outros produtos alimentares. Inevitavelmente, esse processamento gera subprodutos residuais como caules, sementes e cascas, denominados bagaço, os quais são ricos em antocianinas e outros polifenóis, sendo uma potencial fonte de corantes naturais e compostos antioxidantes (LEE; DURST; WROLSTAD, 2002; LEE; WROLSTAD, 2004). Esse processo gera em torno de 20% de resíduo sólido (bagaço), o qual segundo KECHINSKI (2011), contém cerca de 63% do teor de antocianinas totais presentes no fruto.

As antocianinas, como os demais corantes naturais, possuem elevada sensibilidade e podem ser destruídas pela ação da luz, oxigênio, calor, microrganismos e variações das condições do meio onde estão presentes, como o pH (WINEFIELD et al., 2009). A degradação de compostos antociânicos pode ocorrer desde a extração, purificação dos pigmentos até o processamento e estocagem (LIMA; MÉLO; LIMA, 2002).

Neste contexto, devido ao mirtilo apresentar-se como potencial fonte de pigmentos naturais e possuir elevado valor agregado associado às suas propriedades funcionais é de grande importância o desenvolvimento e aprimoramento de técnicas de extração e estabilização de antocianinas a partir da fruta e dos resíduos do seu processamento. Além disso, após o processo de extração, devido à baixa estabilidade das antocianinas quando isoladas, é necessária a aplicação de técnicas de estabilização para sua conservação durante tempos prolongados.

Este trabalho tem como objetivos gerais: i) analisar o desempenho da extração de antocianinas provenientes do bagaço do mirtilo gerado pelo processamento do suco, realizada sob diferentes condições (temperatura, tempo), buscando-se maximizar a quantidade produzida e garantir a durabilidade das antocianinas recuperadas no solvente extrator, bem como, avaliar o desempenho da extração quanto à concentração de fenólicos totais e à atividade antioxidante do extrato; ii) a partir do extrato obtido pela melhor condição de extração, efetuar sua secagem por atomização (*spray dryer*),

utilizando maltodextrina e goma arábica como material de parede sob diferentes temperaturas de ar de secagem; iii) analisar os pós obtidos quanto aos aspectos físicos (morfologia, umidade, higroscopicidade, solubilidade em água e atividade de água) e investigar a degradação das antocianinas, bem como a variação de sua cor, quando expostos à radiação ultravioleta (fotoestabilidade).

O presente trabalho está estruturado da forma descrita a seguir. No Capítulo 2 está apresentada uma revisão sobre a fruta “mirtilo”, classificação botânica, aspectos relacionados à colheita e pós-colheita, aspectos econômicos e valor nutricional. Serão descritos também os componentes bioativos do mirtilo, como fenólicos totais, dando ênfase especial às antocianinas, englobando suas propriedades funcionais, estabilidade e diferentes métodos de extração, bem como seu método de análise. Finalmente, serão descritas as finalidades e métodos de produção de micropartículas, principais agentes encapsulantes utilizados e a técnica de secagem por atomização (*spray drying*).

O Capítulo 3 apresenta materiais e métodos, incluindo materiais utilizados para realização deste trabalho, a descrição dos métodos de análise e a metodologia experimental adotada. No Capítulo 4 serão apresentados e discutidos os resultados obtidos neste trabalho e, finalmente, no Capítulo 5 são apresentadas as conclusões referentes aos resultados obtidos e as sugestões para trabalhos futuros.

Capítulo 2 – Revisão Bibliográfica e Fundamentos Teóricos

Neste capítulo serão apresentadas a revisão bibliográfica e a fundamentação teórica dos tópicos envolvidos neste trabalho que envolvem a fruta mirtilo, seus compostos bioativos, as técnicas de extração destes compostos e sua microencapsulação.

2.1 Mirtilo

O mirtilo (*Vaccinium corymbosum L.*), também conhecido como “*blueberry*” em inglês ou “*arándano*” em espanhol (Figura 2.1), pertence ao grupo das pequenas frutas, junto com a amora, morango, framboesa e fisális, entre outras, sendo uma espécie frutífera originária da América do Norte, onde é cultivado e consumido cerca de 90% da produção mundial (SANTOS; RASEIRA, 2002).

O mirtilo tem sua popularidade e interesse de produtores e consumidores associados às suas excepcionais propriedades funcionais, que o tornaram conhecido como a “fruta da longevidade”. Sua riqueza em compostos com alto poder antioxidante e preventiva de doenças degenerativas, seu sabor e coloração agradáveis são fatores que atraem diretamente o consumidor. Para o produtor, o interesse é voltado para a grande potencialidade econômica e para a elevada rentabilidade que a fruta pode proporcionar (ANTUNES; RASEIRA, 2006).



Figura 2.1: Mirtilo. Fonte: RASEIRA; FRANZON (2012).

Com sabor levemente agridoce, esta fruta pode ser consumida *in natura* ou em forma de geleias, sucos, iogurtes, sorvetes e torta, ou ainda, pode ser congelada sem perder suas

propriedades nutricionais. As folhas também podem ser usadas para fazer chás, saladas e medicamentos (ANTUNES, 2004; RASEIRA; FRANZON, 2012). O mirtilo é uma das frutas que mais cresce em consumo no mundo, cerca de 20% ao ano (HOFFMAN; ANTUNES, 2004).

No Brasil, essa fruta é ainda pouco conhecida; os primeiros experimentos com mirtilo datam de 1983, através da introdução de variedades do grupo *Rabbiteye* (Olho de Coelho), oriundas da Universidade da Flórida (Estados Unidos), pelo pesquisador da Embrapa Clima Temperado (Pelotas-RS) Alverides Machado dos Santos. A iniciativa comercial no País deu-se a partir de 1990, na cidade de Vacaria (RS) (ANTUNES; RASEIRA, 2006; FACHINELLO, 2008).

A alta demanda da fruta pelos países do Hemisfério Norte (europeus e norte-americanos) tem impulsionado o cultivo em regiões não tradicionais, como a América do Sul, na qual se destaca o Chile, a Argentina e o Uruguai. Muitos destes países se beneficiam da possibilidade de produção durante a entressafra europeia e norte-americana (FACHINELLO, 2008).

2.1.1 Classificação botânica e morfologia do fruto

O mirtilo pertence à família das Ericaceae, subfamília das *Vaccinoideae* e gênero *Vaccinium*, sendo nativo da América do Norte: Estados Unidos e Canadá (SANTOS; RASEIRA, 2002; FACHINELLO, 2008).

A planta possui porte arbustivo com hábito ereto ou rasteiro. O fruto apresenta aparência semelhante ao araçá; é de cor azul-escura, formato achatado, corado pelos lóbulos persistentes do cálice, com muitas sementes que se encontram envolvidas em uma polpa de coloração esbranquiçada com, aproximadamente, 1 a 2,5 cm de diâmetro e 1,5 a 4 g de peso (KLUGE; HOFFMANN; BILHALVA, 1994; RODRIGUES et al., 2007).

Segundo GALLETTA; BALLINGTON (1996), os tipos de mirtilo comercialmente plantados podem ser classificados em cinco grupos importantes, descritos a seguir:

Highbush (arbusto alto): são plantas de porte alto (dois ou mais metros de altura) que necessitam de 650 a 850 horas de frio hibernal, tem melhor classificação em tamanho e sabor dos frutos.

Half high (arbusto de médio porte): constituído de plantas de 0,5 a 1,0 m de altura, envolve híbridos de *V. angustifolium* e *V. corymbosum*, tendo menor exigência de frio do que o grupo "*highbush*".

Southern highbush (arbusto de porte alto, originário do sul dos Estados Unidos): este grupo também é conhecido como *highbush*, tem como espécie predominante a *V. corymbosum*, possui baixa necessidade de frio e apresenta boa resistência a doenças.

Rabbiteye (olho de coelho): alcançam de dois a quatro metros de altura, compreende a espécie *Vaccinium ashei*, que tem como principais características: baixa necessidade de frio (abaixo de 7,2 °C), tolerância ao calor e à seca, problemas com fungos e variações de pH do solo, vigor e longevidade. Produzem frutos de menor tamanho, menor qualidade, maior produção por planta e melhor conservabilidade pós-colheita.

Lowbush (arbusto de pequeno porte): as plantas são inferiores a 0,5 metros de altura e a maioria delas são pertencentes à espécie *V. angustifolium*, embora também participe deste grupo o mirtilo do Canadá (*V. myrtilloides* e *V. Boreale*); produzem frutos de tamanho pequeno, destinados em sua maior parte a indústria de processamento.

No Brasil as principais cultivares de mirtilos encontradas são dos grupos *Highbush*, *Rabbiteye* e mais recentemente introduzidas, *Southern Highbush Blueberries*. A maior parte das áreas cultivadas encontra-se no Rio Grande do Sul, especialmente na região de Vacaria, sendo cultivado também no Centro Sul de Santa Catarina e na região Sudeste do Paraná (HOFFMAN; ANTUNES, 2004). Segundo RASEIRA; ANTUNES (2004), na parte sul do RS (Encosta da Serra do Sudeste) e locais com condições climáticas semelhantes, as cultivares do grupo "*Rabbiteye*" foram as que melhor se adaptaram.

2.1.2 Fatores edafo-climáticos

Os fatores climáticos atuam diferentemente segundo a fase de desenvolvimento da planta, determinando seu potencial de produção. O mirtilo, em seu ciclo biológico, possui basicamente duas fases de desenvolvimento: de repouso e vegetativa. Durante a fase de

repouso, período em que o crescimento das plantas cessa por completo, o frio é o fator mais importante; durante a fase vegetativa, a temperatura, a precipitação e a radiação solar são os mais importantes (ANTUNES, 2004).

A necessidade de acúmulo de frio hibernal (temperatura inferior a 7,2 °C) é de 650 a 850 horas para o grupo do tipo *Highbush* e de até 250 horas para o *Southern Highbush* (SANTOS; RASEIRA, 2002). Períodos de frio hibernal menores que os necessários pela planta causam brotação e floração deficientes, comprometendo a futura produção (RASEIRA; ANTUNES, 2004).

A região Sul do Brasil se caracteriza por apresentar uma diversidade climática considerável, com zonas de clima tropical, clima típico temperado e, entre elas, áreas com clima ameno. Em função das variações bruscas de temperatura e diferentes índices de acúmulo de frio durante o inverno, as regiões de clima ameno se apresentam como potenciais áreas de produção de mirtilo (HERTER; WREGGE, 2007).

Na Figura 2.2 está apresentado o mapa de horas de frio dos três estados da região Sul. Observa-se que as regiões de maior altitude, desde o Sul do Paraná (região de Palmas e General Carneiro) até o Norte do Rio Grande do Sul (região de Vacaria e São José dos Ausentes), apresentam um número elevado de horas de frio. Essas regiões, por apresentarem mais de 500 horas de frio abaixo de 7,2 °C se mostram com condições propícias para cultivares mais exigentes em frio (HERTER; WREGGE, 2007).

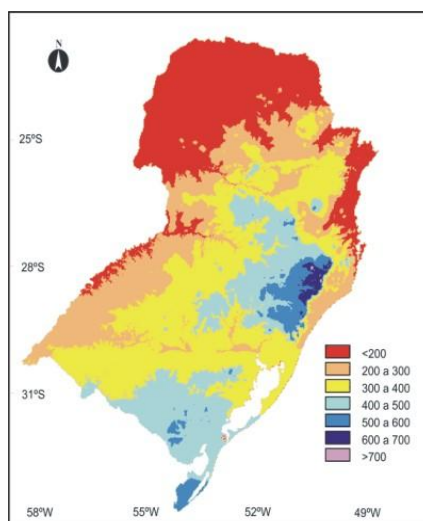


Figura 2.2: Mapa de horas de frio estimadas de maio a setembro (abaixo de 7,2 °C), na região Sul do Brasil. Fonte: HERTER; WREGGE (2007).

Segundo as características climáticas do Rio Grande do Sul, os cultivares que melhor se adaptam à região são do grupo *Rabbiteye*, os quais necessitam de, aproximadamente, 360 horas de frio hibernal (HERTER; WREGGE, 2007).

Outros estados como São Paulo e Minas Gerais também apresentam condições para o cultivo do mirtilo, embora em menor escala, visto que são regiões com baixo acúmulo de frio, de 50 a 250 horas (HERTER; WREGGE, 2007).

Frios tardios (geadas), após o início da brotação, podem causar a necrose, tanto do pistilo como do ovário, prejudicando o bom desenvolvimento vegetativo e comprometendo a produção (ANTUNES, 2004).

Por se tratar de uma planta arbustiva, o mirtilo necessita de boa disponibilidade de água. Para que se atinja um teor adequado de açúcar no fruto, requerendo até 50 mm de água, semanalmente, durante o período de desenvolvimento das frutas. Devido a características adaptativas, o grupo *Rabbiteye*, apesar de possuir raízes superficiais, tem capacidade de sobreviver a períodos de seca (SANTOS; RASEIRA, 2002).

Durante a fase de maturação, a temperatura tem significativa importância na qualidade do fruto; para produção de frutos de qualidade, as melhores regiões de plantio são aquelas que apresentam períodos longos de luminosidade com temperaturas noturnas frescas durante a fase de maturação (SANTOS; RASEIRA, 2002).

O mirtilo tem preferência por solos arenosos, franco-arenosos ou medianamente argilosos, não muito profundos, com certo nível de acidez (pH 4,0 a 5,2), elevado teor de matéria orgânica (superior a 5%), boa retenção de umidade e boa drenagem. Em solos com pH superior a 5,2, recomenda-se a correção com uso de enxofre, ácido sulfúrico ou ácido fosfórico, caso contrário a planta apresentará problemas em seu desenvolvimento (FACHINELLO, 2008).

Segundo HOFFMAN; ANTUNES (2004), algumas orientações gerais para o plantio do mirtilo são:

Propagação: pode ser feita por sementes (propagação sexuada), rebentos ou estacas (propagação assexuada). As sementes podem originar plantas com diferentes

características da planta-matriz, enquanto por rebentos e estacas ocorre a propagação de plantas idênticas. Usar, preferencialmente, mudas de dois anos de viveiro propagadas por estaquia.

Época de plantio: as mudas devem ser transplantadas no seu período de dormência, no inverno.

Espaçamento: recomenda-se espaçamento entre 1,2 a 1,5 metros entre plantas e 3 metros entre fileiras, esta terá relação com os equipamentos utilizados no cultivo.

Custos de implantação e produtividade: dentre os custos de implantação, o mais expressivo é o preço da muda seguido pela manutenção do pomar durante os primeiros dois anos, período em que não há produção. A produtividade varia de seis a dez toneladas por hectare, conforme a região.

2.1.3 Fatores de qualidade à colheita e pós-colheita

A qualidade do mirtilo está relacionada, em primeiro lugar, com seu aspecto exterior (tamanho, forma, defeitos, sanidades) e, posteriormente, com parâmetros como maturação, aroma, sabor, cor e textura (COUTINHO; CANTILLANO, 2004).

Um indicativo de boa qualidade do fruto é a presença de pruína que recobre a epiderme, sendo a sua remoção um sinal de sobrematuração ou deficiente manuseamento, durante ou após a colheita.

O grau ótimo de maturação no momento da colheita é de fundamental importância para a qualidade comercial exigida, sendo que os frutos colhidos imaturos são considerados de inferior qualidade (COUTINHO; CANTILLANO, 2004). O estado ótimo de maturação se dá quando a epiderme da fruta se encontra na cor azul escura (SOUZA et al., 2007). Dependendo da cultivar, podem ser necessárias colheitas em cinco a seis etapas (RASEIRA; FRANZON, 2012).

Para a colheita recomenda-se que os frutos, independente da cultivar, apresentem certas características químicas e físicas, segundo citadas na Tabela 2.1.

Tabela 2.1: Características físico-químicas dos frutos de mirtilo.

Características	Valor médio
Peso (g)	1,0 – 1,3
Sólidos solúveis totais (% SST)	13 – 14
Acidez Titulável (AT) (% ácido cítrico)	0,4 – 0,5
Relação SST/AT	36 – 37
Firmeza (libras)	9 – 10

Fonte: COUTINHO; CANTILLANO (2004).

Durante o armazenamento dos frutos pode ocorrer uma série de alterações que reduzem sua qualidade, dentre elas, segundo COUTINHO; CANTILLANO (2004) podem-se citar:

- processos físicos: perda de água por transpiração. Quando os frutos perdem acima de 3 a 5% em peso de água, resultam numa aparência pouco atrativa, reduzindo seu valor comercial e a qualidade do produto. Como medida preventiva para diminuir a perda de água recomenda-se baixar a temperatura, aumentar a umidade relativa e revestir os frutos;

- processos químicos e bioquímicos: o principal processo é a respiração, consumo de O₂ e produção de CO₂, podendo ocorrer a degradação oxidativa de compostos presentes nas células como amido, açúcares e ácidos orgânicos. Quanto maior a taxa respiratória, mais rápida será a deterioração. De modo geral, a taxa respiratória aumenta de duas a três vezes com o aumento da temperatura em 10 °C. Acima de 35 °C ocorre a diminuição da atividade respiratória devido a um bloqueio enzimático;

ação de microrganismos: após a colheita e durante o armazenamento, os frutos podem ser atacados por agentes causadores de doenças como fungos e bactérias, resultando em perdas qualitativas e quantitativas dos frutos.

Recomenda-se que a colheita dos frutos seja realizada nas horas mais frescas do dia, mantendo-os em local protegido do sol e de preferência refrigerado (SOUZA et al., 2007).

Antes de serem armazenados, os frutos devem passar por um pré-resfriamento para uma rápida eliminação do calor presente no fruto e com isso reduzir rapidamente os processos de respiração e transpiração. Esse processo deve ser realizado cerca de 4 horas

após a colheita, refrigerando os frutos para temperaturas próximas às de armazenamento, em torno de 4 °C (COUTINHO; CANTILLANO, 2004).

Quanto às condições de armazenamento, para que não haja significativa perda de qualidade, os mirtilos podem ser armazenados nas condições ambientes (20 – 25 °C e 65 - 70% de UR) durante no máximo 10 dias ou por 3 a 5 semanas quando submetidos a ambiente com umidade relativa do ar superior a 90% e temperaturas entre -0,5 e 0 °C (SOUZA et al., 2007).

2.1.4 Aspectos econômicos

Decorrente de suas propriedades medicinais e de ser conhecido popularmente como “fonte de longevidade”, o mirtilo atinge valores interessantes no mercado, envolvendo consumidores de diversos níveis econômicos e tornando-se uma boa alternativa para a cadeia produtiva de regiões ainda com pouca tradição de cultivo da fruta, como a América do Sul (SANTOS et al., 2007).

O aumento do interesse dos consumidores norte-americanos, europeus e asiáticos pela fruta nos últimos anos, tem incentivado novos empreendedores a cultivá-la, entre eles o Chile, a Argentina e mais recentemente o Brasil.

Dados de 2011 publicados pela FAOSTAT (2011) registram como maiores produtores mundiais de mirtilo os Estados Unidos, com mais de 200.000 toneladas, 55% da produção mundial, seguidos do Canadá, com 30% e pelo continente europeu com 13%, cabendo ao restante do mundo apenas 2%.

Os Estados Unidos têm os maiores índices de consumo de mirtilo mundiais. Apesar de ser o maior produtor mundial, no período de entressafra, o país não é autossuficiente e, para satisfazer sua demanda, importa 82% da produção do restante do mundo.

Na América do sul, tem-se como maior produtor de mirtilo o Chile, com cerca de 7.500 ton/ano, numa área superior a 2.000 ha, seguido da Argentina e Uruguai, com áreas em torno de 1.500 ha e 500 ha, respectivamente (SANTOS et al., 2007; FACHINELLO, 2008).

No Brasil, a cultura do mirtilo ainda encontra-se em fase de desenvolvimento, ocasião em que se busca um sistema de produção eficiente e competitivo para se inserir no rol dos grandes produtores mundiais. A primeira iniciativa de comercialização deste fruto ocorreu em 1990, no município de Vacaria, que é pioneiro no cultivo de mirtilo e se tornou referência em sua produção (FACHINELLO, 2008; SANTOS et al., 2007).

Estima-se que a área cultivada no país seja superior a 150 ha, sendo o estado do Rio Grande do Sul o maior produtor, com 45 produtores rurais, ocupando uma área de 65 ha e produção de 150 toneladas. A produtividade do fruto varia de 6 a 10 toneladas por hectare com custo de comercialização bastante elevado. O principal destino da produção é para exportação e parte dela é absorvida pelo mercado interno. O maior mercado consumidor do País é São Paulo (FACHINELLO, 2008).

As perspectivas de cultivo no Brasil são promissoras, tanto no consumo interno como para exportação. Além da comercialização da fruta fresca “*in natura*”, seu processamento a produtos alimentícios, buscando manter suas características funcionais, está em crescente desenvolvimento (MORAES et al., 2007).

2.1.5 Composição e valor nutricional

O mirtilo é um fruto conhecido pela sua riqueza em vitamina C, sais minerais e outros componentes tais como taninos, pectinas e antocianinas, responsáveis pelas suas propriedades antioxidantes. A Tabela 2.2 apresenta a composição nutricional média do mirtilo.

A fruta apresenta cerca de 84% de água, podendo esta variar de acordo com a disponibilidade hídrica na etapa da colheita. Um excesso ou deficiência de água neste momento pode acarretar perdas na qualidade.

Os açúcares são os principais componentes solúveis e representam cerca de 80% da matéria seca. Em zonas de verões quentes e secos, os frutos apresentam uma concentração mais elevada de açúcares, são mais aromáticos e de coloração mais intensa do que nas regiões mais amenas e úmidas (SOUZA et al., 2007).

Tabela 2.2: Composição média do mirtilo por 100 g de fruto.

Nutrientes em 100 g de fruto	
Umidade	83-87 g
Valor energético	51-62 kcal
Proteínas	0,4-0,7 g
Lipídios	0,5 g
Glicose	5,7 g
Frutose	5,7 g
Sacarose	Nd
Fibra	1-1,5 g
Cinzas	0,19-2,5 g
Sais minerais	
Cálcio	5,8-8,4 mg
Ferro	14-47 mg
Magnésio	48-112 mg
Fósforo	3,4-4,3 mg
Potássio	0,1 mg
Sódio	0,1 mg
Zinco	0,1-1,2 mg
Vitaminas e outros componentes	
Vitamina C	22-62 mg
Taninos	270-550 mg
Pectinas	300-600 mg
Antocianinas	300-725 mg

Fonte: SOUZA et al. (2007)

Alguns dos benefícios à saúde atribuídos ao mirtilo estão relacionados à visão. Além da comprovada ação de prevenção e reversão de doenças relacionadas à visão, como a catarata e o glaucoma, as antocianinas, que são responsáveis pela pigmentação dos frutos, combatem radicais livres, tem ação anti-inflamatória, melhoram a circulação e reduzem o colesterol ruim (FACHINELLO, 2008).

Os mirtilos frescos são benéficos no tratamento de diversos problemas gastrointestinais, tem ação bactericida que protege contra inflamações de bexiga, estimulam as secreções gástricas e intestinais, além da prevenção de doenças crônicas não transmissíveis, como doenças cardiovasculares e o câncer (CASTREJÓN et al., 2008).

2.2 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos ou polifenóis apresentam estruturas químicas variadas que possuem pelo menos um grupo hidroxila ligado a um anel aromático (NACZK; SHAHIDI, 2004). O teor de compostos fenólicos em frutas varia largamente com a espécie, cultivar, local de cultivo e estação do ano. As plantas produzem uma grande variedade de compostos fenólicos, os quais estão distribuídos por toda sua extensão e exercem a função de defesa para o vegetal. No caso dos frutos, os compostos fenólicos encontram-se mais concentrados na casca do que na polpa (TAIZ; ZEIGER, 2006).

Existem cerca de 8.000 diferentes compostos fenólicos na natureza. Dentre os compostos fenólicos bioativos pertencentes aos vegetais são encontradas estruturas variadas, como os ácidos fenólicos, derivados da cumarina, taninos e flavonoides, que podem atuar como agentes redutores, sequestrantes de radicais livres, quelantes de metais ou desativadores do oxigênio singlete (MELLO; GUERRA, 2002).

Os compostos fenólicos estão incluídos na categoria de neutralizadores de radicais livres, sendo muito eficientes na prevenção da auto-oxidação. Em alimentos, são responsáveis pela cor, adstringência, aroma e estabilidade oxidativa. As principais fontes de compostos fenólicos são frutas cítricas, como limão, laranja e tangerina, além de outras frutas como cereja, uva, ameixa, mirtilo, pera, maçã e mamão entre outras (ANGELO; JORGE, 2007).

2.3 Atividade antioxidante

Um antioxidante pode ser definido como um composto que protege o sistema biológico contra o efeito nocivo de processos ou reações que podem causar oxidações excessivas (KRINSKY, 1994). Os antioxidantes são conhecidos pela ação em diferentes níveis do processo de oxidação envolvendo moléculas de lipídeos. Eles podem agir: diminuindo a concentração de oxigênio; evitando a fase de iniciação da oxidação;

quelando íons metálicos e decompondo produtos primários a compostos que não são radicais (SHAHIDI, 1997).

Os antioxidantes são compostos que funcionam como bloqueadores dos processos óxido-redutivo, desencadeados pelos radicais livres e espécies reativas (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007). São substâncias que retardam a velocidade de oxidação, através de um ou mais mecanismos, como inibição de radicais livres e complexação de metais. Segundo a FDA (*US Food and Drug Administration*), os antioxidantes têm sido definidos como substâncias que retardam a rancidez ou descoloração causada pela oxidação (ROCKENBACH et al., 2008).

Dentre as espécies reativas produzidas em nosso organismo, às que ganham maior destaque são as espécies reativas do oxigênio, como o superóxido, peróxido de hidrogênio e radical hidroxila (VASCONCELOS et al., 2007). Quando do aumento dessas espécies oxidativas ou diminuição da atividade antioxidante celular, diferentes moléculas podem sofrer danos, gerando o estresse oxidativo. Estudos constataam que o estresse oxidativo está associado a inúmeras doenças, entre elas: diabetes, doença de Parkinson e de Alzheimer, distrofia muscular, esclerose múltipla, catarata e retinopatias, infarto do miocárdio, aterosclerose, cirrose hepática e vários tipos de câncer (BALESTRO; SANDRI; FONTANA, 2011; HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007).

Os antioxidantes naturalmente presentes nos alimentos têm sido cada vez mais estudados quanto à sua eficácia e emprego (SHAHIDI, 1997). Assim como os alimentos *in natura*, subprodutos obtidos a partir de resíduos de indústrias alimentícias têm sido estudados por apresentarem uma quantidade significativa de compostos com características antioxidantes (PELIZER; PONTIERI; MORAES, 2007).

Os antioxidantes podem ser classificados em primários: que atuam como doadores de prótons, impedindo o processo de iniciação desencadeado pelos radicais livres, entre eles os compostos fenólicos, o tocoferol, os aminoácidos, os carotenóides e os antioxidantes sintéticos; e secundários: atuando no bloqueio da decomposição dos peróxidos e hidroperóxidos entre eles os antioxidantes sintéticos, as vitaminas A, C e E, e também os compostos fenólicos (DONNELLY; ROBINSON, 1995; ROCKENBACH et al., 2008).

2.4 Antocianinas

As antocianinas são pigmentos naturais, pertencentes ao grupo dos flavonoides, com estruturas fenólicas variadas responsáveis pela maioria das cores azul, roxa e tonalidades de vermelho encontradas em flores, frutos, algumas folhas, caules e raízes de plantas (BRIDLE; TIMBERLAKE, 1997; VOLP et al., 2008; CASTAÑEDA-OVANDO et al., 2009).

Após a clorofila, as antocianinas são o mais importante grupo de pigmentos de origem vegetal (QUADRY et al., 2007), sendo os flavonoides mais abundantes nas frutas e hortaliças (WANG; STONER, 2008). As funções desempenhadas pelas antocianinas nas plantas são variadas: antioxidantes, proteção à radiação ultravioleta, mecanismo de defesa e função biológica. As cores vivas e intensas que elas produzem têm um importante papel na polinização e dispersão das sementes (MALACRIDA, 2005; QUADRY et al., 2007).

As duas classes de flavonoides consideradas como mais importantes são os flavonóis e as antocianidinas. As antocianidinas apresentam como estrutura fundamental o cátion flavílico (2-fenilbenzopirílio), representado na Figura 2.3 (MARÇO; POPPI; SCARMINIO, 2008).

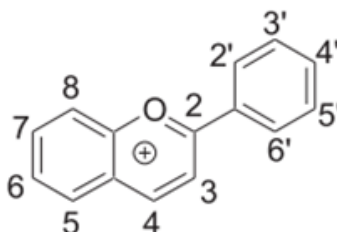


Figura 2.3: Estrutura do cátion flavílico. Fonte: MARÇO; POPPI; SCARMINIO (2008).

As antocianidinas não possuem açúcares e a maioria possui hidroxilas nas posições 3, 5 e 7. Já nas antocianinas, que são derivadas das antocianidinas, uma ou mais destas hidroxilas estão ligadas a açúcares, sendo os mais comuns: glicose, xilose, arabinose, ramnose, galactose ou dissacarídeos constituídos por esses açúcares, aos quais podem estar ligados ácidos fenólicos, como p-cumárico, caféico, fenílico e vanílico (GEISSMAN, 1962). O açúcar presente nas moléculas de antocianinas confere maior

solubilidade e estabilidade a estes pigmentos quando comparados com as antocianidinas (FENNEMA; DAMODARAN; PARKIN, 2008; MARÇO; POPPI; SCARMINIO, 2008).

As antocianinas mais comumente encontradas em frutas são derivadas, principalmente, de seis antocianidinas: pelargonidina, cianidina, delphinidina, peonidina, petunidina e malvidina, mostradas na Figura 2.4(a). A Figura 2.4(b) representa um exemplo de estrutura de antocianina presente na maioria dos vegetais, a cianidina 3-glucosídeo.

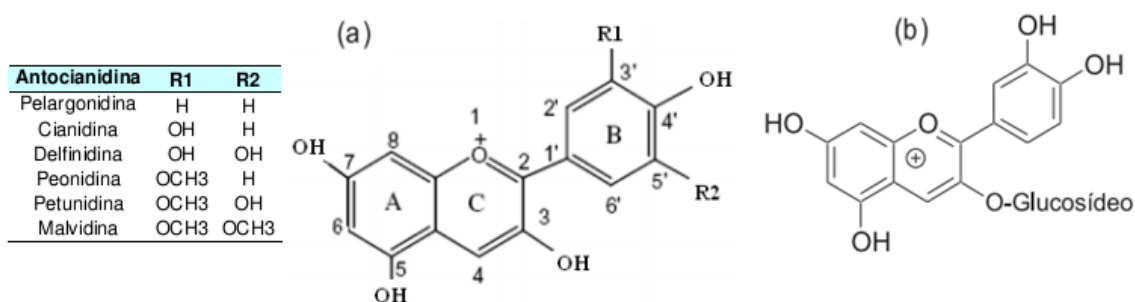


Figura 2.4: a) Principais antocianidinas encontradas em frutas. b) Estrutura da antocianina cianidina-3-glucosídeo. Fonte: CASTAÑEDA-OVANDO et al. (2009).

A coloração das soluções de antocianinas sofre influência do número de hidroxilas, grupos metoxilas e glicólicos presentes na estrutura. Quanto maior o número de metoxilas, mais intensa é a cor vermelha; enquanto que mais hidroxilas e grupos glicólicos intensificam a cor azul (ALKEMA; SEAGER, 1982; FENNEMA; DAMODARAN; PARKIN, 2008).

Segundo MAZZA; BROUILLARD (1990) a quantidade de antocianinas totais presentes nos mirtilos pode variar de 25 e 495 mg/100 g em base úmida para mirtilos da variedade *Highbush*, sendo que seu teor de antocianinas é inversamente proporcional ao tamanho da baga, uma vez que os pigmentos estão concentrados na casca (PRIOR et al., 1998). Os glicosídeos delphinidina, petunidina e malvidina são os que se apresentam em maior quantidade entre as antocianinas totais do mirtilo (LOHACHOOMPOL et al., 2008).

Segundo KADER et al. (1996), a delphinidina seguida da malvidina glicosilada também apresentam grandes concentrações nos frutos de mirtilo e a delphinidina 3-monogalactosídeo é a majoritária. LEE; WROLSTAD (2004) obtiveram as seguintes

concentrações de antocianinas na forma de glicosídeos presentes na casca do mirtilo: malvidina (54,7%), delphinidina (25,7%), petunidina (14,7%), cianidina (3,9%) e peonidina (1,0%). A antocianina presente em maior concentração foi a malvidina-3-galactosídeo, representando 27,8% do total.

2.4.1 Estabilidade das antocianinas

A estabilização química das antocianinas tem sido o principal foco de estudos recentes em razão de seu grande potencial de aplicação, seus efeitos benéficos e sua utilização como alternativa aos corantes artificiais (REIN, 2005).

As antocianinas, quando isoladas, são extremamente instáveis e bastante susceptíveis à degradação (GIUSTI; WROLSTAD, 2003). Tanto as características de cor (tonalidade e saturação) dos pigmentos como sua estabilidade são muito influenciadas pelos substituintes na aglicona. A degradação das antocianinas ocorre durante a sua extração a partir de tecidos vegetais e também durante o processamento e o armazenamento dos alimentos (FENNEMA; DAMODARAN; PARKIN, 2008).

Mirtilos, assim como outras frutas, são muitas vezes processados para produção de sucos ou concentrados para posterior utilização em bebidas, xaropes e outros alimentos; é importante que se conheça o processo pelo qual as antocianinas passam para garantir que suas propriedades benéficas se mantenham. As antocianinas, bem como outros polifenóis, são facilmente oxidados devido às suas propriedades antioxidantes e, por isso, susceptíveis a reações de degradação durante as operações de processamento (SKREDE; WROLSTAD; DURST, 2000).

De acordo com FRANCIS; MARKAKIS (1989), os principais fatores que influenciam a estabilidade das antocianinas são a estrutura química, o pH, a temperatura, a luz, a presença de oxigênio, a degradação enzimática e as interações entre os componentes dos alimentos, tais como ácido ascórbico, íons metálicos, açúcares e copigmentos.

2.4.1.1 Estrutura

A taxa de degradação entre as antocianinas varia muito devido à diversidade de suas estruturas. O aumento da hidroxilação diminui a estabilidade, enquanto o aumento da metilação aumenta a estabilidade, e isso se deve ao bloqueio dos grupos hidroxila da molécula. Decorre disso que as antocianinas são mais estáveis que as antocianidinas, justamente devido à glicosilação da antocianidina, a qual terá uma hidroxila bloqueada para cada molécula de açúcar ligada (FENNEMA; DAMODARAN; PARKIN, 2008; REIN, 2005). Também já foi demonstrado que a estabilidade pode ser influenciada pelo tipo de açúcar ligado à molécula. Segundo STARR MS (1968), as antocianinas de amora que continham galactose eram mais estáveis durante o armazenamento do que as que continham arabinose.

A acilação dos açúcares da molécula também aumenta a estabilidade das antocianinas; a presença de um ou mais grupos acila na molécula de antocianina inibe a hidrólise do cátion flavilium (vermelho) para formar a base carbinol (incolor), permitindo a formação preferencial da base quinoidal (azul), resultando em pigmentos menos sensíveis às mudanças de pH, ou seja, eles mantêm a coloração em meio levemente acidificado a neutro (BRIDLE; TIMBERLAKE, 1997).

2.4.1.2 pH

A sensibilidade ao pH é o principal fator limitante no processamento e utilização das antocianinas, afetando a cor e sua estabilidade química. Em soluções ácidas as antocianinas possuem coloração vermelha, tendo sua intensidade de cor diminuída, tendendo ao azul, com o aumento do pH (QUADRY et al., 2007); para pH próximo a 6 as antocianinas tornam-se incolores (FENNEMA; DAMODARAN; PARKIN, 2008). As antocianinas são mais estáveis em meio ácido (baixo pH) do que em soluções alcalinas (elevado pH) (REIN, 2005). Para valores de pH maiores que 7 as antocianinas, em geral, podem se degradar dando origem a aldeídos, ácidos fenólicos ou diquetonas, dependendo de seus grupos substituintes (CASTAÑEDA-OVANDO et al., 2009; JACKMAN; YADA; TUNG, 1987).

Como mostrado na Figura 2.5, em solução aquosa as antocianinas podem se apresentar em quatro diferentes conformações: cátion flavílico (AH^+), basa quinoidal (A), pseudobase ou carbinol (B).

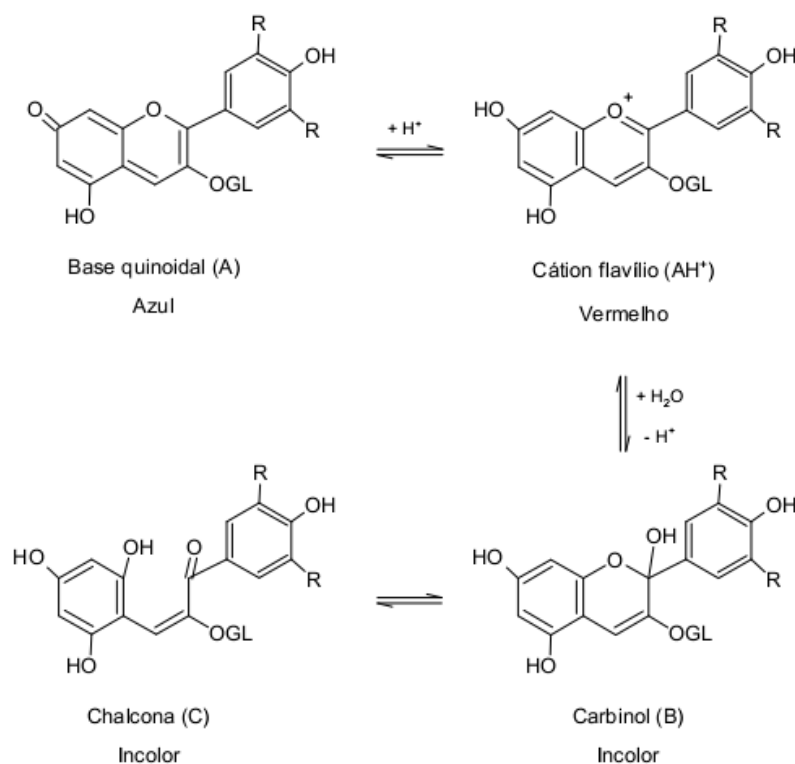


Figura 2.5: Formas estruturais das antocianinas em solução alcoólica. Fonte: MALACRIDA; MOTTA (2006).

Em condições ácidas (pH inferior a 2), as antocianinas encontram-se predominantemente na forma de cátion flavílico (AH^+) de cor vermelha. Elevando-se o pH para valores entre 2 e 4 ocorre a rápida perda do próton para produzir as formas quinoidais (A), azuis ou violetas. Para pH entre 5 e 6 ocorre a hidratação do cátion flavílico (AH^+) gerando a pseudobase incolor ou carbinol (B) que atinge o equilíbrio lentamente formando a chalcona incolor (C). As quantidades relativas de cátion (AH^+), formas quinoidais (A), pseudobase (B) e chalcona (C) na condição de equilíbrio variam conforme o pH e a estrutura da antocianina (CAVALCANTI; SANTOS; MEIRELES, 2011).

As antocianinas podem sofrer transformações estruturais reversíveis para diferentes valores de pH, desde que não se atinjam valores muito elevados a ponto de formar chalconas, as quais não mais se reverterão às cores iniciais (REIN, 2005).

2.4.1.3 Temperatura

A temperatura é outro fator importante na estabilidade das antocianinas. A taxa de degradação das antocianinas durante o processamento e armazenamento aumenta com a elevação da temperatura. Estudos demonstraram relação logarítmica entre a degradação das antocianinas e o aumento aritmético da temperatura (MALACRIDA; MOTTA, 2006). Segundo KECHINSKI et al. (2010), a degradação térmica das antocianinas do mirtilo segue uma reação de cinética de primeira ordem em relação à temperatura. Para melhor retenção dos pigmentos recomenda-se tempos curtos a altas temperaturas durante o processamento. No caso de sucos de frutas vermelhas, perdas de antocianinas mostraram-se insignificantes para tratamentos térmicos com duração inferior a 12 minutos a 100 °C (MARKAKIS; PERICLES, 1982).

Ainda não se tem certeza do mecanismo da degradação térmica das antocianinas, porém, ADAMS; WOODMAN (1973) mostraram que para valores de pH entre 2,0 e 4,0, o aquecimento das antocianinas provoca, primeiramente, a hidrólise da ligação glicosídica com posterior formação da chalcona. Esta transformação tem como principal causa a perda de cor, uma vez que a aglicona formada é muito menos estável que sua forma glicosídica. Um produto comum da degradação térmica das antocianinas é a cumarina 3,5 diglicosídeo (FENNEMA; DAMODARAN; PARKIN, 2008).

2.4.1.4 Luz

A luz afeta as antocianinas de duas diferentes formas; é essencial para sua biossíntese, mas também acelera sua degradação (MARKAKIS; PERICLES, 1982). As antocianinas substituídas no grupo hidroxila C-5 são mais suscetíveis à fotodegradação que as demais. As não substituídas, ou monosubstituídas, são suscetíveis ao ataque nucleofílico nas posições C-2 e/ou C-4. Outra forma de energia radiante, como a radiação ionizante, também podem resultar na degradação das antocianinas (FENNEMA; DAMODARAN; PARKIN, 2008).

PALAMIDIS; MARKAKIS (1975) observaram que a presença de luz acelerou a destruição das antocianinas em bebidas derivadas da uva. O tempo de meia-vida das antocianinas a 20 °C no escuro foi de 416 dias, diminuindo para 197 dias quando as bebidas foram expostas à luz ambiente nas mesmas condições de temperatura.

2.4.1.5 *Enzimas*

As antocianinas também podem ser degradadas por enzimas endógenas presentes nos tecidos das plantas, tais como glicosidases, polifenoloxidasas e peroxidases. As glicosidases, também denominadas antocianases, hidrolizam as ligações glicosídicas separando o açúcar da aglicona que é instável e degrada-se espontaneamente formando a chalcona incolor. As polifenoloxidasas atuam pelo mecanismo de oxidação, usando como substratos o-dihidroxifenóis. As o-quinonas resultantes podem reagir entre si ou com outros compostos, inclusive antocianinas, e formar polímeros de cor marrom (FENNEMA; DAMODARAN; PARKIN, 2008; MALACRIDA; MOTTA, 2006). As peroxidases também degradam antocianinas, porém necessitam da presença de peróxido de hidrogênio no meio para que ocorra a oxidação dos compostos fenólicos.

Segundo LOPEZ et al. (1994), as polifenoloxidasas (PPO) são as principais enzimas responsáveis pela degradação das antocianinas nas frutas frescas e sucos, resultando numa mudança de cor para tons de marrom.

O método convencional para inibição dessas enzimas é o tratamento térmico, porém quando muito intenso, causa alterações de cor, textura e sabor. Embora o branqueamento de frutas não seja uma prática generalizada, as enzimas PPO que degradam antocianinas podem ser inativadas por um curto tratamento de branqueamento (HTST – *High Temperatura Short Time*) (45-60 segundos a 90-100 °C), não resultando numa perda significativa de antocianinas. Outros métodos também podem ser aplicados como a utilização de agentes redutores (SO₂ ou Na₂SO₄) em pequenas concentrações, caso contrário, provocam a destruição das antocianinas (FENNEMA; DAMODARAN; PARKIN, 2008).

2.4.1.6 Copigmentação

A copigmentação é um fenômeno no qual ocorre a associação entre pigmentos e outros compostos orgânicos (geralmente não coloridos), ou íons metálicos, como pode ser visto na Figura 2.6, intensificando sua cor, causando um efeito batocrômico e proporcionando o aumento da absorção da luz para um comprimento de onda máximo (BOULTON, 2001).

Estudos sugerem que a copigmentação das antocianinas com outros compostos é o principal mecanismo de estabilização das cores nas plantas (DAVIES; MAZZA, 1993). De acordo com STRINGHETA; BOBBIO (2000), se não ocorresse o fenômeno de copigmentação das antocianinas, as plantas não possuiriam cor, já que na maioria dos casos, o pH natural dos vegetais encontra-se na faixa ligeiramente ácida, faixa esta onde a maioria das antocianinas são incolores.

Segundo GOTO; KONDO (1991) podem existir três mecanismos básicos de estabilização de antocianinas: copigmentação intramolecular, intermolecular e auto associação, com o envolvimento de moléculas de antocianidinas, de flavonoides ou ácidos aromáticos e de açúcares. As antocianinas em presença de cátions de alumínio, ferro e outros metais formam complexos insolúveis, que frente a fatores como calor, pH e oxigênio, apresentam maior estabilidade em relação às antocianinas livres (Figura 2.6) (BOBBIO; BOBBIO, 1995).

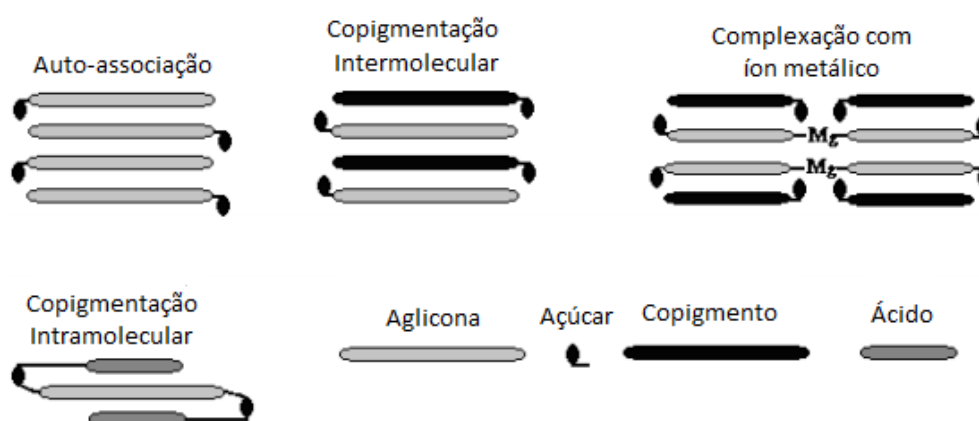


Figura 2.6: Esquema representativo de copigmentação. Fonte: REIN (2005).

A copigmentação intramolecular ocorre quando uma parte da molécula da antocianina responsável pela cor e o copigmento estão covalentemente ligados ao mesmo resíduo de açúcar. Na complexação intermolecular, predominam forças de Van Der Waals e efeitos hidrofóbicos em meio aquoso como resultado do “empilhamento” entre a molécula de antocianina e o copigmento. A reação de copigmentação estabiliza as antocianinas na sua forma colorida e retarda a reação normal de hidratação (REIN, 2005).

Quando a concentração de antocianinas é relativamente alta, estas podem atuar como copigmentos de si mesmas; a copigmentação intramolecular é a mais eficiente na estabilização das antocianinas (STRINGHETA; BOBBIO, 2000). A intensidade dos efeitos gerados pelo fenômeno em questão depende da concentração do copigmento, estrutura da antocianina, pH e da temperatura do meio (REIN, 2005). Em vinhos, as reações de copigmentação são, provavelmente, as principais responsáveis pelas variações de cor e da adstringência durante sua produção e envelhecimento (STRINGHETA; BOBBIO, 2000).

2.4.1.7 Outros fatores que influenciam a estabilidade das antocianinas

Oxigênio: o oxigênio pode causar degradação das antocianinas por mecanismos de oxidação direta ou indireta, quando compostos oxidados do meio reagem com as antocianinas descolorindo-as ou formando produtos de coloração marrom (HENDRY et al., 1996). No engarrafamento a quente do suco de uva, o preenchimento completo das garrafas retarda a degradação da cor púrpura para marrom fosco e no processamento de suco de frutas com pigmentos antociânicos, sob nitrogênio ou a vácuo também retarda a degradação das antocianinas; precipitados e desenvolvimento de turbidez em sucos de frutas podem ser resultado da oxidação direta da base carbinol das antocianinas (HENDRY et al., 1996).

Ácido Ascórbico: o ácido ascórbico interage com as antocianinas, promovendo destruição mútua. O ácido ascórbico ao ser oxidado, forma peróxido de hidrogênio (H₂O₂) que acaba oxidando o núcleo *flavílium* das antocianinas, gerando malvonas incolores. Tal fato leva a crer que a degradação das antocianinas nessas condições seja mediada pelo H₂O₂ (MALACRIDA, 2005). Outra alternativa para explicar sua degradação é a ocorrência da reação de condensação entre o ácido ascórbico e a

antocianina, formando produtos instáveis que se degradam em compostos incolores (WROLSTAD; DURST; LEE, 2005).

Açúcares: o efeito dos açúcares sobre a estabilidade das antocianinas depende da estrutura das antocianinas, concentração e tipo de açúcar. Açúcares, assim como seus produtos degradados, são conhecidos por diminuir a estabilidade das antocianinas (CAVALCANTI; SANTOS; MEIRELES, 2011). Porém, quando em concentrações elevadas, como em conserva de frutas, estabilizam as antocianinas. Acredita-se que esse efeito seja resultado da diminuição da atividade de água. Em baixas concentrações, a frutose, arabinose, lactose e sorbose degradam mais facilmente as antocianinas que a glicose, sacarose e maltose (FENNEMA; DAMODARAN; PARKIN, 2008).

Segundo CAVALCANTI; SANTOS; MEIRELES (2011), dentre os mecanismos não térmicos que afetam a estabilidade das antocianinas, o pH é o mais importante fator a ser controlado durante o processo de extração das antocianinas. Estudos mostram que a melhor maneira de se conservar essas antocianinas intactas por um maior período de tempo é através da técnica de encapsulação com agentes gelificantes.

2.4.2 Benefícios nutricionais à saúde

É comprovado que dietas ricas em frutas e hortaliças tem o poder de reduzir certos tipos de câncer, doenças cardiovasculares e crônicas (KALT; MCDONALD; DONNER, 2000). A maioria destes benefícios estão relacionados à atividade antioxidante de alguns compostos químicos presentes em frutas e vegetais como: antocianinas, polifenóis, vitamina C, vitamina E e carotenoides.

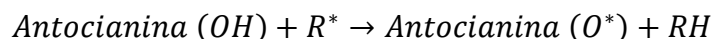
Nosso organismo libera radicais livres, que são moléculas instáveis produzidas pela respiração celular, estresse, poluição, tabagismo e maus hábitos alimentares (LILA, 2004). Os antioxidantes - como as antocianinas - são moléculas de carga positiva que se combinam com os radicais livres, tornando-os inofensivos. Esta ação tem o poder de prevenir nosso organismo contra o câncer, envelhecimento precoce, doenças crônicas degenerativas, enfermidades cardiovasculares e circulatórias (KONG et al., 2003).

Segundo estudos *in vitro* sobre o efeito inibitório das antocianinas no crescimento das células cancerígenas de diferentes linhagens, ZHANG; VAREED; NAIR (2005)

obtiveram resultados mostrando que as formas glicosadas da malvidina e da perlagonidina inibiram em mais de 60% o crescimento das células cancerígenas do estômago, cólon, pulmão e mama.

As antocianinas são compostos naturais com grande potencial antioxidante e a deficiência natural de elétrons das antocianinas as torna particularmente reativas; seu potencial antioxidante também é dependente do número, da posição e da conjugação dos grupos hidroxilas, assim como da presença de elétrons doadores no anel da estrutura (KUSKOSKI et al., 2004; VOLP et al., 2008).

Para combater os radicais livres presentes em nosso corpo produzimos componentes carreadores endógenos, os quais têm a função de inativar esses radicais. As antocianinas desempenham um efeito aditivo a esses componentes carreadores endógenos, sendo oxidadas pelos radicais, resultando em um radical menos reativo e mais estável (VOLP et al., 2008); em outras palavras, as antocianinas estabilizam as espécies reativas de oxigênio através de sua reação com o componente reativo do radical. O alto poder de reação do grupo hidroxil das antocianinas com o radical faz com que o mesmo fique inativo (NIJVELDT et al., 2001). Esta reação pode ser observada na seguinte equação:



onde: R^* = Radical livre e O^* = radical livre de oxigênio.

Diversos flavonóides atuam induzindo ou inibindo enzimas ligadas a processos inflamatórios como: cicloxigenases, lipoxigenases e citocromoxidases (VOLP et al., 2008).

RECHNER; KRONER (2005) demonstraram que as antocianinas e metabólitos colônicos de polifenóis *in vivo* apresentam propriedades antitrombóticas, por inibir a agregação plaquetária. Esses autores também concluíram que as antocianinas e metabólitos de polifenóis, bem como fontes da dieta e seus precursores são promotores em potencial para a saúde cardiovascular.

MANTHEY et al. (1998) mostraram, em seus estudos, a ação antiviral das antocianinas que podem afetar tanto a infectabilidade do vírus como reduzir os estágios do ciclo de replicação viral intracelular (KAUL; MIDDLETON; OGRA, 1985).

Além disso, o consumo de frutas com alta concentração de antocianinas previne algumas sequelas bioquímicas e eletrofisiológicas associadas ao envelhecimento, mesmo quando a mudança na alimentação acontece em idade avançada (COULTRAP; BICKFORD; BROWNING, 2008).

As antocianinas presentes no mirtilo têm capacidade de retardar e até reverter déficits cognitivos e motores no envelhecimento induzido por irradiação, influenciando especialmente a aprendizagem espacial e a memória, melhorando o aprendizado (SHUKITT-HALE et al., 2007). Após uma dieta rica em mirtilos fornecidas a ratos, percebeu-se uma redução no consumo de alimentos, perda de peso, atividade cardioprotetora e redução da pressão arterial (VIZZOTTO, 2012).

2.5 Obtenção do suco

O suco é um derivado das frutas com grande aceitação pelo mercado. Os sucos prontos para beber, assim como os néctares, são bastante consumidos atualmente devido à crescente procura do consumidor por produtos mais convenientes, saudáveis e menos calóricos (RIBEIRO; AZEVEDO; NACHTIGAL, 2011).

De acordo com os Padrões de Identidade e Qualidade de Bebidas Não Alcoólicas (BRASIL, 2009), suco ou sumo é a bebida não fermentada, não concentrada e não diluída, obtida da fruta madura e sã, ou parte do vegetal de origem, por processamento tecnológico adequado, submetida a tratamento que assegure a sua apresentação e conservação até o momento do consumo.

Dentre as vantagens no processamento da fruta para produção de suco destacam-se: aumentar a vida útil do alimento, uniformizar a sua qualidade, facilitar a sua distribuição, facilitar seu preparo, melhorar, em alguns casos, a sua palatabilidade, digestibilidade e valor nutritivo, uma vez que algumas frutas são muito ácidas, fibrosas ou apresentam algum sabor desagradável; melhorar a sua qualidade sanitária, reduzir as perdas e aumentar a disponibilidade (RIBEIRO; AZEVEDO; NACHTIGAL, 2011).

Os métodos mais usuais de obtenção de sucos são: por desintegração seguida de prensagem, centrifugação ou extração por arraste a vapor. O método mais empregado na indústria é o processamento por arraste a vapor, o qual contribui para uma maior

concentração de fenólicos no suco; no entanto, uso de altas temperaturas durante o processamento (branqueamento, extração e pasteurização) pode causar perdas de compostos fenólicos, principalmente devido à degradação das antocianinas (MALACRIDA, 2005; KECHINSKI, 2011).

As principais operações unitárias do processamento de suco de frutas envolvem: pesagem, operações preliminares de seleção e lavagem de frutos, extração, inativação enzimática, refino, desaeração, conservação, envase e armazenamento (ROSENTHAL et al., 2003). Um fluxograma simplificado destas etapas está mostrado na Figura 2.7.

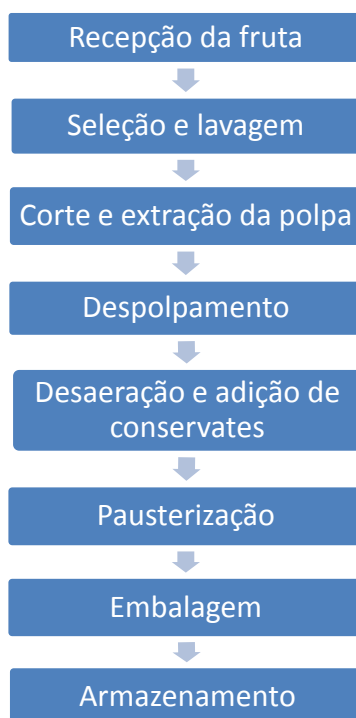


Figura 2.7: Fluxograma simplificado para produção de sucos. Adaptado de SANDI et al. (2003).

Na etapa da extração, separa-se o suco das cascas, fibras, sementes e outras partes não comestíveis em despoldadeiras ou em extratores do tipo prensa. Este processo pode estar associado a tratamentos térmicos e/ou enzimáticos da polpa, visando um maior rendimento da extração de suco (KECHINSKI, 2011); é nesta etapa que o bagaço é produzido, podendo, posteriormente, ser tratado e extraídas as antocianinas remanescentes.

SKREDE; WROLSTAD; DURST (2000) mostraram que, durante o processamento do suco do mirtilo, ocorrem perdas substanciais de antocianinas e compostos fenólicos. A degradação desses compostos é ocasionada, principalmente, devido à presença da enzima polifenoloxidase (PPO) nativa, disponibilizada e ativada na desintegração dos frutos, a qual provoca a degradação oxidativa das antocianinas. No entanto, as PPO podem ser inativadas através de tratamento térmico ou pela adição de dióxido de enxofre (SO₂) (LEE; DURST; WROLSTAD, 2002).

O tratamento térmico aplicado com objetivo de inibir ou minimizar as transformações enzimáticas e reduzir a carga microbiana que deterioram o produto é denominado branqueamento. Segundo ROSSI et al. (2003), ao tratar o mirtilo ainda inteiro (antes da moagem) por 3 minutos com vapor, perceberam uma retenção de 23% de antocianinas no suco em comparação a 12% quando do não-branqueamento.

A escolha da melhor técnica a ser aplicada para obtenção do suco de mirtilo depende das características do produto que se deseja obter e do custo de processamento. Essas técnicas apresentam diferentes rendimentos que impactam diretamente no custo do produto. O conhecimento dessas técnicas de extração é necessário para se atingir um ponto ótimo, a fim de se obter um produto de melhor qualidade, com um menor consumo de energia e menor adição de produtos químicos (KECHINSKI, 2011).

2.6 Extração de antocianinas

A extração sólido-líquido, ou seja, a transferência do soluto de um sólido para um meio solvente é largamente utilizada na indústria de alimentos, tanto para recuperar ou obter produtos desejados como para remover constituintes ou contaminantes indesejáveis (AZEVEDO et al., 1996).

Além da extração convencional (*Soxhlet*), diferentes técnicas de extração de substâncias nutracêuticas presentes nos vegetais têm sido desenvolvidas, objetivando reduzir o tempo de extração, diminuir o consumo de solventes, aumentar o rendimento da extração e melhorar a qualidade dos extratos. Dentre essas técnicas estão incluídas: extração assistida por ultrassom, extração assistida por micro-ondas, extração com fluido supercrítico e extração acelerada por solvente (WANG; WELLER, 2006).

A escolha do método de extração de antocianinas deve levar em conta a posterior aplicação do extrato, é importante que seja um método simples, de baixo custo e que empregue solventes extratores de baixa ou sem toxicidade.

2.6.1 Extração convencional

As antocianinas são solúveis em água e podem ser facilmente extraídas com solventes polares. A sua extração, geralmente, envolve o uso de soluções aquosas acidificadas de etanol, metanol ou acetona (CASTAÑEDA-OVANDO et al., 2009). Os solventes extratores alcoólicos acidificados têm o poder de desnaturar as membranas das células do tecido dos vegetais, auxiliar a penetração do solvente e dissolver os pigmentos, favorecendo dessa forma a extração das antocianinas, além de aumentar a estabilidade do extrato (JACKMAN; YADA; TUNG, 1987; REVILLA; RYAN; MARTÍN-ORTEGA, 1998).

O método de extração considerado universal consiste em tratar a amostra com metanol acidificado (<1% (v/v) de HCl) (FRANCIS; PERICLES, 1982). Segundo METIVIER; FRANCIS; CLYDESDALE (1980), para a extração de antocianinas da polpa de uva, a extração com metanol foi 25% mais eficiente do que com etanol, e 73% mais eficiente do que somente com água. No entanto, em se tratando de alimentos, apesar do menor rendimento em relação ao metanol, emprega-se etanol em razão da sua menor toxidez.

Para uma boa eficiência da extração de compostos bioativos é necessário que se conheça os fatores que a influenciam; os dois parâmetros fundamentais que definem o quanto e quão rapidamente os compostos de interesse serão extraídos dos tecidos vegetais são a taxa de transferência de massa e o equilíbrio da concentração entre o interior do vegetal e meio extrativo (CONSTANT, 2003).

O grau de extração das antocianinas depende de uma série de fatores, entre eles da relação volume de solvente/massa de amostra, do tipo de solvente empregado, pH, tipo de ácido (ácido clorídrico, cítrico, tartárico, acético), tamanho da partícula, tempo e temperatura de extração (CACACE; MAZZA, 2003; LEE; WROLSTAD, 2004).

KALT; MCDONALD; DONNER (2000) mostraram que em pH baixo os sucos de mirtilo contêm concentrações maiores de antocianinas e outros polifenóis, apresentando também uma atividade antioxidante maior que em pH mais elevados. Segundo XAVIER et al. (2008), as condições ótimas para extração de antocianinas do repolho roxo foram em pH 2,3. O acidulante mais comumente utilizado nas soluções de extração é o ácido clorídrico (HCl), porém, devido às suas características nocivas a saúde humana, emprega-se o ácido cítrico, o qual não apresenta qualquer efeito prejudicial e pode servir como conservante do extrato durante seu processamento e armazenamento (MAIN; CLYDESDALE; FRANCIS, 1978).

Quando da utilização de soluções ácidas, deve-se ter o cuidado com o excesso de acidez do meio, que resultará na formação de antocianidinas e outros flavonoides através de reações de hidrólise. A ocorrência desse fato poderá gerar, no caso de análises e quantificações, resultados superestimados da quantidade total de antocianinas, principalmente quando o método para quantificar antocianinas totais utilizado for o espectrofotométrico (REVILLA; RYAN; MARTÍN-ORTEGA, 1998).

Alguns autores relatam que a utilização de SO₂ na solução extratora tem poder de aumentar o rendimento da extração das antocianinas (CACACE; MAZZA, 2002; LEE; WROLSTAD, 2004; LOTFI et al., 2013). GAO; MAZZA (1996) estudaram um processo de extração aquosa para antocianinas de girassol, demonstrando que a extração com água sulfurada (1.000 ppm SO₂) foi melhor do que a extração tradicional com etanol: ácido acético: água. CACACE; MAZZA (2002) especulam uma explicação para esse aumento da extração de antocianinas com a adição de SO₂ como sendo devido ao SO₂ reduzir a constante dielétrica da água, aumentando dessa forma a solubilidade dos polifenóis, porém, o mecanismo exato ainda é desconhecido.

Em concentrações de 0,05% até 0,2%, o dióxido de enxofre reage com antocianinas monoméricas, sais *flavilium* e antocianidinas, formando um complexo com o ânion HSO₃⁻¹. O ânion se liga a grupos *flavilium*, como o das antocianinas, formando um complexo incolor e estável. Essa reação de formação do complexo é rápida, assim como a reação inversa, caso o SO₂ seja removido do sistema ou há acidificação da solução

(TIMBERLAKE; BRIDLE, 1967). O SO₂ também atua como inibidor das enzimas nativas do mirtilo que degradam polifenóis (SAPERS, 1993).

Segundo CONSTANT (2003), para extração de antocianinas do açaí, a solução aquosa sulfitada com 4.000 ppm de SO₂ e etanol 70% com 1.000 ppm de SO₂ foram os solventes que mostraram melhor desempenho, seguidos da solução de etanol 70% a pH 2 com HCl, tradicionalmente utilizada para este fim.

O binômio tempo/temperatura tem forte impacto sobre o rendimento da extração de antocianinas; temperaturas elevadas aumentam a solubilidade e a taxa de difusão dos compostos para o solvente, melhorando a eficiência da extração, no entanto, temperaturas de extração elevadas combinadas com tempos prolongados contribuem para degradação das antocianinas (DAI et al., 2009). Segundo LEE; WROLSTAD (2004), a condição ótima para extração de antocianinas do bagaço de mirtilo na ausência de solventes orgânicos foi com água pura, 1% de ácido cítrico e 100 ppm de SO₂ durante 60 minutos a 50 °C. Para FAN et al. (2008), a condição ótima para extração de antocianinas da batata-doce foi utilizando etanol acidificado à temperatura de 80 °C durante 60 minutos com relação sólido/solvente de 1:32.

CACACE; MAZZA (2003), através de seus estudos de extração de antocianinas de groselhas negras utilizando solução aquosa de etanol acidificado (pH 4,1) a diferentes temperaturas, concluíram que a extração de fenólicos totais aumentaram com a concentração de etanol até 60%, diminuindo em seguida. Temperaturas superiores a 35 °C resultaram na degradação de antocianinas.

O tempo de extração deve ser suficiente para que o solvente dissolva quantidades de soluto suficientes para se chegar o mais próximo possível do equilíbrio entre as concentrações das duas fases (FELLOWS, 2006). Prolongados tempos de extração aumentam a chance de oxidação das antocianinas (NACZK; SHAHIDI, 2004). Este deve ser otimizado para evitar a oxidação e degradação das antocianinas devido às altas temperaturas (SHAHIDI; NACZK, 1995).

OANCEA; STOIA; COMAN (2012) em seus estudos sobre extração de antocianinas do mirtilo do tipo *Highbush* (*Vaccinium corybosum* L.), compararam soluções extratoras

com diferentes concentrações de etanol e água pura como solvente. Sob as condições de extração em batelada, na temperatura de 4 °C, tempo de 2 horas e ao abrigo de luz, OANCEA; STOIA; COMAN (2012) obtiveram a maior concentração de antocianinas (148,51 mg/100g de fruta fresca) utilizando como solvente uma solução hidroalcoólica com 50% de etanol (v/v), e menor concentração (3,24 mg/100g de fruta fresca) ao utilizar água pura. Após essa análise testaram diferentes temperaturas (4, 30 e 50 °C) com a solução extratora 50% etanol (v/v) e a 50 °C obtiveram os melhores resultados.

LAPORNIK; PROSEK; GOLC WONDRA (2005) analisaram o efeito do tempo de extração (1, 12 e 24 horas) de resíduos de uva e groselhas, com soluções extratoras de água, etanol 70% e metanol 70% quando da utilização de somente água como solvente, observou-se degradação das antocianinas em tempos superiores a 12 horas. No entanto, quando da utilização de solventes orgânicos, a extração foi favorecida pelos tempos longos, entre 12 e 24 horas.

2.7 Microencapsulação de alimentos

A microencapsulação é definida como a tecnologia de incorporar substâncias sólidas, líquidas ou gasosas em micropartículas seladas que podem liberar seu conteúdo a taxas controladas sob condições específicas (POTHAKAMURY; BARBOSA-CÁ; NOVAS, 1995; DESAI; JIN PARK, 2005;). O conceito de microcápsula surgiu da idealização do modelo celular, onde o citoplasma é envolto e protegido por uma membrana que controla a entrada e saída de material na célula. De modo semelhante, uma microcápsula consiste em uma camada polimérica com função protetora, isolando a substância ativa e evitando os efeitos de sua exposição inadequada (SUAVE et al., 2009).

Os primeiros registros de tentativas de aplicação da técnica de microencapsulação datam dos anos 1930, mas somente em 1954 surgiu o primeiro produto microencapsulado. A empresa norte-americana *National Cash Register* (NCR) foi a pioneira ao comercializar um papel de cópia sem carbono, revolucionando a indústria de formulários. O papel recebeu uma fina camada de microcápsulas de um corante não ativado em uma de suas superfícies que, quando da aplicação de pressão em sua outra superfície, pela ponta de um lápis ou caneta, rompia as microcápsulas liberando o pigmento. O pigmento ao entrar em contato direto com o revestimento ácido aplicado na

superfície frontal da segunda via, mudava de cor em função do pH, obtendo-se, dessa forma, uma cópia idêntica do que estava sendo escrito no primeiro papel (SUAVE et al., 2009).

Na área de alimentos, os estudos sobre microencapsulação foram iniciados em 1960 pelo Instituto de Pesquisa *Southwest*, nos Estados Unidos, com a microencapsulação de óleos essenciais para prevenir a oxidação e perda de substâncias voláteis e controlar a liberação do aroma (RÉ, 1998). Além da área de alimentos, a microencapsulação é amplamente aplicada na indústria farmacêutica e de agrotóxicos (SUAVE et al., 2009).

O grande desafio recente das indústrias tem sido manter a estabilidade de ingredientes funcionais como vitaminas, antimicrobianos, antioxidantes, corantes e conservantes, que são componentes essenciais de uma ampla escala de produtos industrializados, incluindo fármacos, cosméticos e alimentos. Sob essa exigência, a microencapsulação tem se apresentado como uma tecnologia de grande potencial, carreando o ingrediente ativo ao local desejado de ação, controlando sua liberação e protegendo-o da degradação química ou biológica durante o seu processamento, armazenamento e/ou utilização (WEISS; TAKHISTOV; MCCLEMENTS, 2006). A liberação controlada ajuda a evitar a utilização inefetiva e a perda de compostos durante o processamento (AZEREDO, 2008).

Abaixo estão listados alguns dos propósitos da aplicação da técnica de microencapsulação para os diversos setores (BRASILEIRO, 2011):

- melhorar propriedades do material encapsulado, mascarando as características organolépticas (sabores, odores, cor) desagradáveis de alguns materiais;
- transformar o estado físico das substâncias para melhor manipulação das mesmas;
- possibilitar a otimização de formulações no que se refere à modulação da liberação da substância a encapsular;
- estabilizar o ingrediente a encapsular, evitando as reações de degradação decorrentes das condições adversas ao longo do trato gastrointestinal (pH, enzimas);
- reduzir ou eliminar efeitos adversos provocados por algumas substâncias a encapsular (irritação gástrica provocada por anti-inflamatórios não esteróides);

- separar de materiais reativos;
- diminuir a toxicidade do composto bioativo;
- controlar a biodisponibilidade;
- diminuir a volatilidade, impedindo a perda de substâncias;
- aumentar o tempo de conservação;
- proteger as substâncias dos agentes atmosféricos (luz, umidade, calor e oxigênio).

A principal finalidade da microencapsulação para as antocianinas é de torná-las mais resistentes a elevadas temperaturas com o objetivo de estabilizá-las e protegê-las de possíveis degradações como oxidações químicas ou de fatores do ambiente (SOBRINHO; FARIAS, 2012).

Segundo BAKER (1987), as cápsulas podem ser classificadas por tamanho em três categorias: macro ($> 5000 \mu\text{m}$), micro ($0,2 - 5000 \mu\text{m}$) e nano ($< 0,2 \mu\text{m}$). A forma e o tamanho das microcápsulas obtidas estão relacionados ao material a ser encapsulado (SOBRINHO; FARIAS, 2012).

Quanto à estrutura física, as micropartículas podem ser classificadas como verdadeiras microcápsulas ou microesferas. As verdadeiras microcápsulas consistem de um núcleo nitidamente concentrado na região central envolto por uma camada ou filme polimérico, formando um sistema do tipo reservatório (SPADA et al., 2011). As microcápsulas podem ter ainda mais de um núcleo, ou várias paredes para um mesmo núcleo.

As microesferas diferem das microcápsulas pelo fato de constituírem um sistema matricial, onde o material encapsulado se encontra disperso, podendo estar absorvido, incorporado ou ligado covalentemente à matriz polimérica, formando sistemas de dissolução dispersão ou sistemas porosos (SPADA et al., 2011; SUAVE et al., 2009). Porém, o termo “encapsulação” tem sido usado englobando tanto a formação de microcápsulas quanto de microsferas (DEYPERE et al., 2003). A Figura 2.8 apresenta alguns dos principais modelos de microcápsulas.

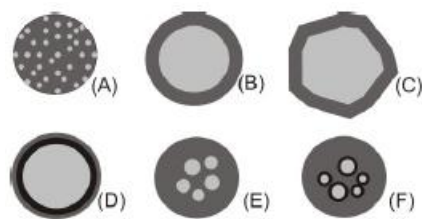


Figura 2.8: Modelos de microcápsulas. A) microesfera; B) microcápsula simples; C) simples irregular; D) duas paredes E) vários núcleos F) agrupamento de microcápsulas.
Fonte: AZEREDO (2008).

2.7.1 Agentes encapsulantes

A natureza do material encapsulante é um dos principais fatores que influenciam a estabilidade dos compostos encapsulados (ROSENBERG; KOPELMAN; TALMON, 1990). Para a escolha do agente a encapsular deve-se levar em consideração uma série de fatores como propriedades físicas e químicas do núcleo (porosidade, solubilidade etc.) e da parede (viscosidade, propriedades mecânicas, transição vítrea, capacidade de formação de filme etc.), compatibilidade do núcleo com a parede e fatores econômicos (BRAZEL, 1999; REBELLO, 2009).

Os principais requisitos de um bom agente encapsulante são: ser de fácil manutenção durante o processo, ter boa capacidade de incorporar e selar o material a encapsular, ter baixa higroscopicidade, para facilitar a manipulação e evitar aglomeração, ter habilidade para dispersar ou emulsificar e estabilizar o material do núcleo, ter baixa viscosidade a altas concentrações de sólidos, possuir boas propriedades para formação de filme, não reatividade com o núcleo, propiciar liberação completa do solvente ou outros materiais utilizados durante o processo de encapsulação, possuir máxima proteção ao núcleo contra condições adversas como luz, pH e oxigênio, possuir fácil reconstituição, ter ausência de odor ou sabor desagradável e baixo custo (REBELLO, 2009; SHAHIDI; HAN, 1993; TRUBIANO; LACOURSE, 1988).

Os carboidratos são os compostos mais utilizados como material de parede pois, além da sua diversidade, apresentam baixo custo e são de fácil aquisição (DZIEZAK, 1988). Os mais típicos dentre os materiais de parede utilizados estão as maltodextrinas, goma arábica, amidos modificados e misturas entre eles.

A seleção do material a ser utilizado como agente encapsulante, com base nos critérios já mencionados, são geralmente caros e demorados procedimentos de tentativa e erro (PÉREZ-ALONSO et al., 2003). Como neste trabalho serão utilizados maltodextrina e goma arábica como agentes encapsulantes, maior ênfase será dada a esses materiais.

A goma arábica ou goma acácia é uma resina exsudada dos troncos e galhos da árvore da acácia *Senegal* ou de outras espécies africanas de acácia, como a Acácia *seyal* cultivadas principalmente na África. A goma acácia é classificada como um complexo arabinogalactano sendo que esta substância nativa tem uma massa molecular entre 300 e 800 kDa; é constituída por um arranjo altamente ramificado de galactose, arabinose, ramnose e ácido glicurônico, contendo, ainda, 2% de um componente protéico ligado covalentemente a esse arranjo molecular, exercendo um papel crucial na determinação das propriedades emulsificantes da goma. Os três grandes campos de aplicação da goma arábica são: confeitos, emulsão de aromas em bebidas e encapsulamento de aromas (RENARD et al., 2006).

A goma arábica é considerada, historicamente, como um material encapsulante por excelência, em razão da sua solubilidade, baixa viscosidade, boas propriedades emulsificantes, sabor suave e alta estabilidade oxidativa conferida ao núcleo (KENYON, 1995; REINECCIUS, 1988; TRUBIANO; LACOURSE, 1988). Em contrapartida, a goma arábica apresenta alto custo e problemas de disponibilidade, visto que é produzida em regiões sujeitas a variações climáticas imprevisíveis e conflitos políticos, o que pode comprometer sua oferta (MCNAMEE; O'RIORDA; O'SULLIVAN, 1998).

As maltodextrinas são biopolímeros originados da hidrólise parcial do amido e têm extensa utilização como ingredientes por proporcionarem características desejáveis a alimentos processados. Maltodextrinas são classificadas pelo seu grau de hidrólise, expresso em dextrose equivalente (DE), que é a porcentagem de açúcares redutores calculados como glicose em relação ao peso seco do amido (COUTINHO, 2007; SHAHIDI; HAN, 1993). BANGS; REINECCIUS (1982) mostraram que a retenção de compostos de aroma dependem da dextrose equivalente (DE) da maltodextrina. Em geral, as maltodextrinas são carboidratos de baixa densidade, baixa viscosidade a altas concentrações, totalmente solúveis em água, não possuem aromas de amido, que

mascaram o aroma original e, ainda, podem ser encontradas em diferentes massas moleculares (GARCÍA-GUTIÉRREZ et al., 2004).

2.7.2 Técnicas de encapsulação

Atualmente, o número de métodos microencapsulantes patenteados superam várias centenas; a diferença básica entre os métodos existentes está no tipo de envolvimento ou aprisionamento do material ativo pelo agente encapsulante, visto que a combinação entre o material e o agente ativo pode ser de natureza física, química ou físico-química (SUAVE et al., 2009). Na Tabela 2.3 estão citados alguns dos métodos de encapsulação mais utilizados.

Tabela 2.3: Métodos utilizados na elaboração de micropartículas.

Métodos de encapsulação	Natureza do material encapsulável	Faixa de tamanho da partícula (μm)
Métodos físicos		
Extrusão estacionária	Líquido/sólido	1.000 - 6.000
Bocal submerso	Líquido/sólido	700 - 6.000
<i>Spray drying</i>	Líquido/sólido	5 - 150
<i>Pan coating</i>	Sólido	>500
Suspensão por ar	Sólido	50 - 10.000
<i>Spray chilling</i> e <i>spraycooling</i>	Líquido/sólido	20 - 200
Leito fluidizado	Sólido	>100
Liofilização	Líquido	-
Métodos químicos		
Polimerização interfacial	Líquido/sólido	1 - 500
Inclusão molecular	Líquido	5 - 50
Polimerização <i>in situ</i>	Líquido/sólido	1 - 500
Métodos físico-químicos		
Coacervação simples	Líquido/sólido	20 - 500
Lipossomas	Líquido/sólido	0,02 - 3
Lipoesferas	Líquido/sólido	0,02 - 10

Adaptado de MADENE et al. (2006); SPADA et al. (2011); SOBRINHO; FARIAS (2012).

Ao se iniciar um processo de microencapsulação há vários fatores que devem ser levados em conta para a escolha do melhor método de encapsulação a empregar, podendo-se citar: i) a funcionalidade que o ingrediente encapsulado deve fornecer ao produto final; ii) o tipo de agente encapsulante que deve ser empregado; iii) as condições de processamento, bem como condições biológicas que o ingrediente encapsulado deve suportar antes de sua liberação; iv) a melhor concentração do material ativo na microcápsula; v) o mecanismo de liberação do ingrediente ativo; vi) o tamanho de partícula, densidade, e exigências para a estabilidade do ingrediente encapsulado; vii) custo do processo e se o ingrediente encapsulado encontrará os regulamentos padrões para ser considerado como um ingrediente de alimento funcional (SOBRINHO; FARIAS, 2012).

Dada sua versatilidade e atributo de ser o principal equipamento para a secagem de materiais que apresentam sensibilidade ao calor, a técnica escolhida para obtenção das micropartículas de antocianinas neste trabalho foi a técnica de secagem por atomização, também conhecida por *spray drying*.

2.7.3 Microencapsulação por atomização “*spray drying*”

A secagem por atomização (*spray drying*) é uma técnica relativamente barata e a mais comumente utilizada para encapsulação de ingredientes alimentícios; é conhecida como a mais antiga técnica de encapsulação, tendo sido originalmente utilizada na década de 30 para encapsular aromas, usando como agente encapsulante a goma acácia (DESAI; JIN PARK, 2005; WILSON; SHAH, 2007).

Muitos autores têm utilizado esta técnica para microencapsulação de antocianinas provenientes de diferentes fontes vegetais como: cenoura preta (ERSUS; YURDAGEL, 2007), mirtilos (JIMÉNEZ-AGUILAR et al., 1995), uva (VALDUGA et al., 2008), acerola (MOREIRA, 2007), açaí (TONON; BRABET; HUBINGER, 2008), jabuticaba (SILVA; STRINGHETA, 2011), entre outras.

No método *spray drying*, a substância a encapsular é homogeneamente dispersa ou dissolvida numa solução aquosa ou dispersão que contém o agente encapsulante, sendo o sistema atomizado numa corrente de ar quente. Com a evaporação do solvente a altas

temperaturas obtêm-se a rápida solidificação das gotículas e formação de micropartículas (BRASILEIRO, 2011). A Figura 2.9 esquematiza as etapas envolvidas na técnica de microencapsulação por *spray drying*.

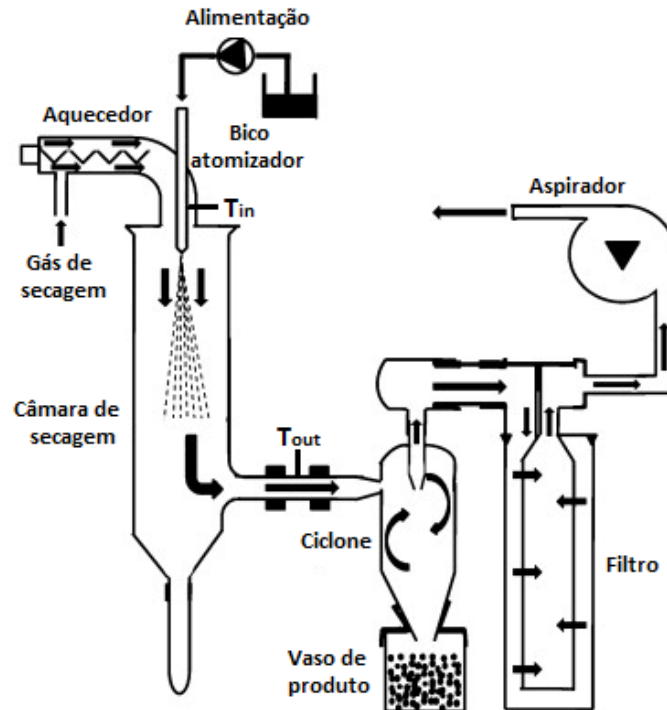


Figura 2.9: Esquema das principais etapas envolvidas no processo de microencapsulação por *spray drying*. Adptado de SARAWADE et al. (2011).

O processo de secagem por atomização “*spray drying*” consiste, basicamente, de uma câmara, geralmente cônica e com dimensões devidamente calculadas, na qual o fluido a ser secado é introduzido por meio de bicos atomizadores, os quais tem a função de aspergir a solução na forma de pequenas gotículas. Essas gotículas são submetidas a um processo rápido de evaporação do solvente (secagem por ar quente), onde as gotas líquidas passam a partículas secas, que depois são recolhidas no ciclone ou noutro sistema de coleta de pó (AZEREDO, 2008; BRASILEIRO, 2011).

As variáveis deste processo correspondem às temperaturas do ar de entrada e saída do secador, ao fluxo de ar ou do fluido de arraste, à distribuição de temperatura e umidade, ao tempo de residência, à geometria da câmara de secagem e à temperatura da alimentação (SANTOS; FERREIRA; GROSSO, 2000; GHARSALLAOUI et al., 2007).

O diâmetro do bico atomizador é também responsável pela distribuição do tamanho das partículas do produto desidratado, podendo ser regulado de acordo com as formas e tamanhos de partículas desejados. A construção da câmara e as condições de trabalho são ajustados de modo a permitir a total evaporação da água sem que se eleve em demasia a temperatura do produto (SOBRINHO; FARIAS, 2012).

Diferentes formas do material seco podem ser obtidas através da secagem, como: esferas intactas, com superfície imperfeita ou fragmentada, sólidas ou ocas. A ocorrência dessas diferentes formas depende da elasticidade e da permeabilidade da crosta formada em decorrência da evaporação superficial das gotículas aspergidas na câmara de secagem (OLIVEIRA; PETROVICK, 2010). As cápsulas produzidas por atomização são geralmente do tipo matricial, com o núcleo distribuído na forma de micropartículas na matriz seca do material encapsulante (AZEREDO, 2008).

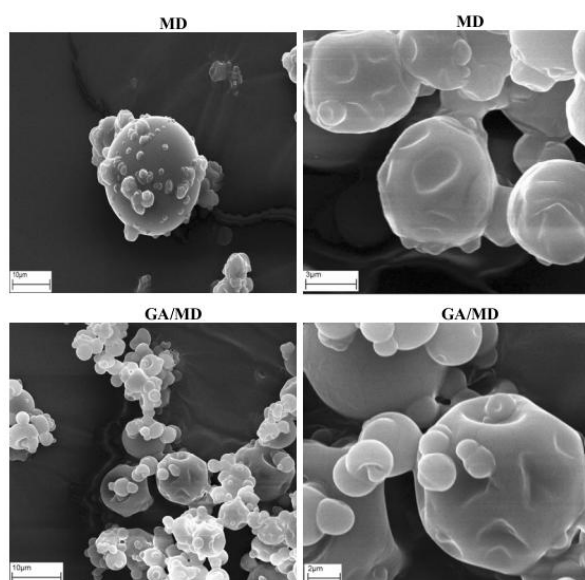


Figura 2.10: Micrografias de pós provenientes de extrato de jaboticaba com diferentes materiais encapsulantes (MD – maltodextrina (30%), GA/MD – Goma Arábica (25%) com maltodextrina (5%). Magnificação de 3000 vezes (esquerda) e 1000 vezes (direita). Adaptado de (SILVA; STRINGHETA, 2011).

Considerando como sendo uma esfera a forma que o material adquire quando é atomizado por um bico de "spray", ao diminuirmos o diâmetro dessa esfera pela metade, temos um aumento de oito vezes na sua área superficial. Por exemplo, se um líquido for pulverizado em gotículas de 20 microns, sua área chegará a 17.000 m²/kg, o que corresponde a espalhar um galão de líquido sobre a superfície total de dois campos de

futebol (ROSA; TSUKADA; FREITAS, 2001). A elevada relação entre a superfície específica e o volume das partículas faz com que o tempo de exposição das partículas a altas temperaturas, para que ocorra a evaporação do solvente, seja bastante reduzido (poucos segundos); ao não permitir que a temperatura do núcleo das partículas ultrapasse determinado valor, previne-se a ocorrência de alterações indesejáveis em compostos termossensíveis (AZEREDO, 2008; GHARSALLAOUI et al., 2007).

Um dos parâmetros de maior importância para a determinação da qualidade do produto obtido é a temperatura do ar de entrada; a temperatura de entrada do ar de secagem deve estar acima do ponto de ebulição do solvente utilizado. O aumento da temperatura do material de entrada facilita o processo de secagem, pois, normalmente, reduz a viscosidade e a tensão superficial, facilitando a formação de gotículas (OLIVEIRA; PETROVICK, 2010). Mesmo sendo a temperatura de entrada consideravelmente elevada, os sólidos presentes em cada partícula não ultrapassam a temperatura de saída (a temperatura de saída é influenciada pela temperatura do ar de entrada, pela velocidade de atomização da solução e pela taxa de aspiração do produto para o ciclone). Uma diferença excessivamente alta entre a temperatura de entrada e saída resulta em um produto com alta umidade residual, o que pode comprometer sua estabilidade (AULTON; WELLS, 2002; BASSANI, 1997; OLIVEIRA; PETROVICK, 2010).

A elevação da vazão de entrada mantendo a temperatura do ar de secagem constante acarretará na diminuição da temperatura de saída e, conseqüente, aumento da umidade do produto seco (MASTERS, 1991; OLIVEIRA; PETROVICK, 2010). Muitas são as condições de operação a serem monitoradas, devendo estas serem ajustadas de forma a buscar as características desejadas do produto. ERSUS; YURDAGEL (2007), ao estudarem a secagem do extrato de antocianinas extraídas de cenouras pretas pela técnica *spray drying* usando maltodextrina como agente carreador, ao manterem a temperatura de entrada do ar de secagem constante perceberam uma diminuição da temperatura de saída de 107 para 102 °C quando do aumento da vazão de 5 mL/min para 6,37 mL/min.

Dentre as vantagens do processo de secagem por *spray drying* estão (MASTERS, 1991; AULTON; WELLS, 2002; OLIVEIRA; PETROVICK, 2010):

- fácil controle da uniformidade das partículas do produto através da manipulação das variáveis do processo;
- disponibilidade para alterar as condições de operação sem a necessidade de interrupção do processo;
- rapidez e rendimento alto;
- baixa agressividade a produtos termossensíveis devido ao curto tempo de contato com a fonte de calor;
- as partículas produzidas apresentam forma esférica;
- custo do processo relativamente baixo.

Segundo DESOBRY; NETTO; LABUZA (1997), o custo relacionado à técnica de secagem por *spray drying* é de 20 a 50 vezes menor que por liofilização.

A principal limitação do método *spray-drying* na microencapsulação é o número reduzido de material encapsulante que deve ter boa solubilidade em água. Outra desvantagem é a formação de partículas muito pequenas -pó-, necessitando de outro processo para formação de aglomerados. O custo inicial para instalação desse processo é considerado elevado, visto que, necessita de espaço físico relativamente grande para instalação do equipamento (OLIVEIRA; PETROVICK, 2010).

Capítulo 3 - Materiais e Métodos

Neste capítulo será apresentada a metodologia utilizada para obtenção do bagaço, extração e microencapsulação das antocianinas, bem como os equipamentos e métodos de análises utilizados.

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Tecnologia e Processamento de Alimentos (LATEPA) do Departamento de Engenharia Química da UFRGS e no Laboratório de Engenharia de Processos em Alimentos (LEPA) do Instituto de Ciências e Tecnologia de Alimentos.

3.1 Matéria-prima

Os mirtilos (*Vaccinium corymbosum L.*) do grupo *Highbush* foram adquiridos em um único lote, congelados e embalados em sacos de polietileno de 1 kg da empresa Italbraz Ltda, situada na cidade de Vacaria no Estado do Rio Grande do Sul. Após seu recebimento, os mirtilos foram armazenados e mantidos à temperatura de -18 °C até a extração do suco.

3.2 Extração do suco e obtenção do bagaço

Para extração do suco e obtenção do bagaço, os mirtilos foram descongelados à temperatura ambiente (aproximadamente 25 °C) e submetidos a um processo de branqueamento para inativação das enzimas polifenoloxidasas (PPO) que degradam antocianinas.

O método utilizado para inativação das enzimas (PPO) foi através do tratamento térmico por vapor segundo ROSSI et al. (2003). O branqueamento foi realizado colocando as frutas descongeladas no interior de uma autoclave (Autoclave Vertical, Phoenix Lufarco) a 100 °C por 3 minutos seguido de resfriamento em água fria.

Em seguida os mirtilos foram misturados manualmente e triturados em um Ultra Mixer, (Britania, modelo XB986B) até que a massa se tornasse homogênea e não fossem observados pedaços grandes de frutas. Uma pequena parte dessa massa foi separada para

posterior análise e o restante prensada manualmente em tecido de nylon, separando-se dessa forma a porção líquida (suco) da parte sólida (bagaço). O bagaço foi então congelado a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ até posterior tratamento.

Na Figura 3.1 encontra-se um fluxograma para melhor entendimento do processo de extração do suco de mirtilo pelo método de desintegração seguida de prensagem adotado neste trabalho.

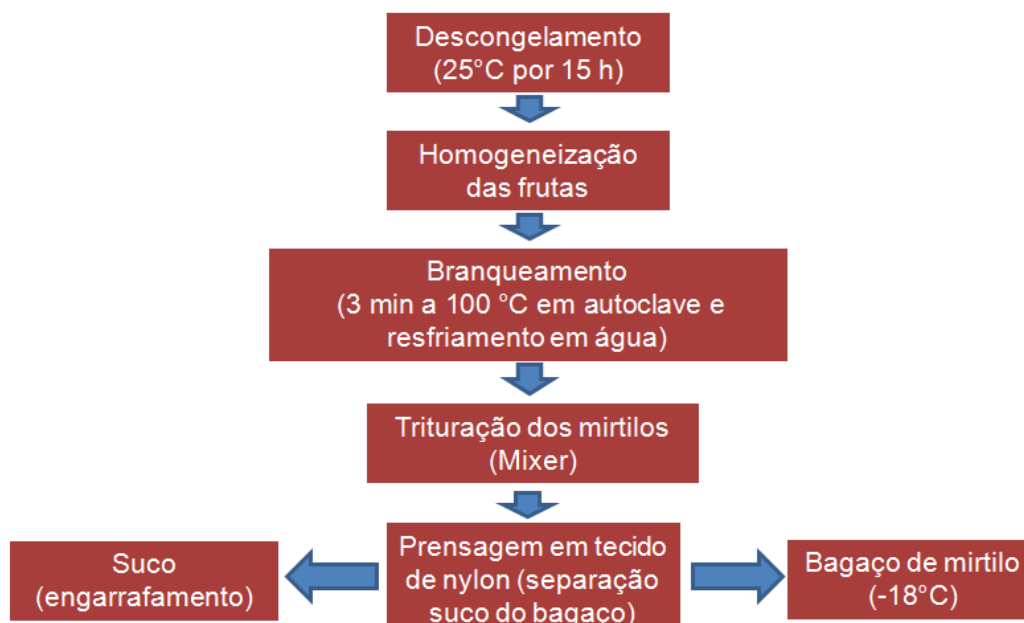


Figura 3.1: Fluxograma de operação do processo de extração do suco de mirtilo por desintegração seguida de prensagem.

3.3 Determinação das propriedades da fruta e do bagaço

Foram analisadas as seguintes propriedades físico-químicas do mirtilo: o teor de sólidos solúveis ($^{\circ}\text{Brix}$), o pH e a acidez total titulável. O teor de sólidos solúveis foi determinado utilizando um refratômetro de bancada (Carl Zeiss GmbH, Vienna, Áustria) conforme AOAC 932.12 (AOAC, 2000), o pH foi determinado utilizando um pHmetro (Tecnal, modelo TEC-3MP, Brasil) (método AOAC 981.12 (AOAC, 2000)) e a acidez total titulável por volumetria segundo o Método Oficial 942.15 (AOAC, 2002).

O método para determinar a acidez total titulável consiste em titular uma mistura de 10 mL de suco e 75 mL de água destilada com NaOH 0,1 M até que se atinja pH 8,1. Os resultados foram calculados e expressos em porcentagem de ácido cítrico.

A umidade do bagaço foi determinada pelo método gravimétrico de acordo com a metodologia 934.06 (AOAC, 2000) com algumas modificações. O método consiste em pesar de 5 a 10 g de amostra em uma cápsula de alumínio contendo um bastão de vidro e 10 g de areia, em balança de precisão 0,0001 g (BOSH, modelo SAE 200, Alemanha); após a pesagem, mistura-se a amostra e a areia com auxílio do bastão de vidro, colocando-os em estufa (De Leo, modelo A3, Brasil) a 105 °C por, aproximadamente, 16 horas. A areia é necessária para evitar que o açúcar presente na amostra, após caramelizar a altas temperaturas, forme uma crosta superficial que impessa a saída de água. Após transcorrido o tempo, a amostra foi resfriada em dessecador com sílica gel e pesada. A umidade é calculada através da diferença de massa antes e depois da secagem da água segundo a Equação 3.1. O resultado é obtido em percentagem de umidade por massa em base seca.

$$x_w = \frac{m_u - m_s}{m_s} * 100 \quad (3.1)$$

em que, x_w é a umidade em percentagem por massa em base seca, m_u é a massa de amostra úmida e m_s é a massa de amostra seca.

A pesagem da amostra deve ser feita somente após resfriá-la completamente no dessecador, pois a pesagem a quente levaria a um resultado falso. A análise foi feita em triplicata.

3.4 Extração de antocianinas do bagaço de mirtilo

O bagaço utilizado para extração foi proveniente da produção de suco de mirtilo (*Vaccinium corymbosum* L.) pelo método de dilaceração seguida de prensagem, que encontrava-se congelado a -18 °C, conforme descrito na Seção 3.1.

O método convencional para extração de antocianinas é, normalmente, realizado com solventes orgânicos, tais como metanol, etanol, acetona entre outros, na presença de ácido clorídrico em baixas concentrações (1%). Por apresentar características nocivas à saúde humana, o ácido clorídrico pode ser substituído por ácido cítrico, o qual não apresenta qualquer efeito prejudicial à saúde e pode servir como conservante do extrato durante o seu processamento e armazenamento (MAIN; CLYDESDALE; FRANCIS, 1978). No

entanto, neste trabalho, optou-se por utilizar somente água na presença de ácido cítrico como solvente, uma vez que o extrato deverá ser destinado para fins alimentícios onde não é aconselhável a presença de solventes orgânicos.

A extração das antocianinas foi realizada em batelada, utilizando-se água na presença de 1% m/v de ácido cítrico como solvente (LEE; WROLSTAD, 2004). Como aparato para extração, utilizou-se uma célula extratora encamisada e envolta em papel alumínio, a qual manteve a solução à temperatura constante e protegida da luz durante todo o processo (Figura 3.2). Para o controle da temperatura de extração foi utilizado um banho termostático (Lauda, modelo TYP T, Alemanha). A extração foi conduzida sob agitação constante através de um agitador magnético.



Figura 3.2: Aparato para extração de antocianinas do bagaço de mirtilo.

A razão massa de amostra/volume de solvente (m/v) assumida neste trabalho foi determinada com intuito de se extrair grande parte da quantidade total de antocianinas do bagaço, obtendo ao mesmo tempo um extrato com boa concentração de antocianinas. Para cada extração foram pesados em balança analítica (BOSH, modelo SAE 200, Alemanha) 4 g de bagaço em base úmida e misturados a 60 mL de água destilada com 1% de ácido cítrico m/v, resultando numa relação massa de amostra (g) por volume de solvente (mL) de 1:15.

Foram realizados experimentos de extração segundo as condições testadas de temperatura (60 e 80 °C) e tempo (5, 15 e 45 minutos) de extração, com um total de 6 tratamentos. As condições de extração foram escolhidas baseadas e em testes preliminares. As extrações foram realizadas em triplicata.

Após o tempo de extração transcorrido, filtrou-se a solução em papel filtro com auxílio de vácuo, separando-se o sólido, que foi descartado, e o extrato aquoso de antocianinas, que foi acondicionado em frascos âmbar, devidamente identificados e armazenados na geladeira (5 °C) até posterior análise.

3.5 Extração exaustiva

Para fim de comparação e análise da eficiência de cada ensaio de extração, foi realizada uma extração exaustiva, onde se objetivou obter uma quantificação total dos compostos presentes no bagaço de mirtilo.

Neste procedimento, foram pesados 5 g de bagaço em base umida em béquer de 100 mL, adicionado de 40 mL de metanol 50% e deixado sob agitação, à temperatura ambiente e protegido da luz por 1 h. Após esse período a mistura foi centrifugada a 5.000 rpm ou Força Centrífuga Relativa (RCF) de 5.233,7 g (modelo CT5000R, Cientec Instrumentos Científicos S.A.) durante 15 minutos; o sobrenadante foi transferido para um balão volumétrico e o resíduo retornado ao processo de extração com metanol 50%, repetindo-se sequencialmente este procedimento até não mais se perceber significativa coloração do extrato. O procedimento realizado foi adaptado de LARRAURI; RUPÉREZ; SAURA-CALIXTO (1997).

3.6 Caracterização do extrato

Todas as análises do extrato apresentadas neste trabalho foram realizadas nos laboratórios do Departamento de Engenharia Química da UFGRS.

3.6.1 *Quantificação de antocianinas monoméricas totais*

A determinação do teor total de antocianinas monoméricas utilizada neste trabalho foi o método do pH diferencial. Segundo LEE; DURST; WROLSTAD (2005), através de um estudo colaborativo, essa metodologia de análise foi validada em 2005 como sendo um método da *Association of Analytical Communities* (AOAC).

O método do pH diferencial caracteriza-se por ser um método rápido e fácil para quantificação de antocianinas monoméricas e se baseia nas mudanças estruturais sofridas pelas antocianinas na faixa de pH entre 1 e 4,5, podendo ser observadas por

espectroscopia ótica devido aos compostos serem coloridos em pH 1 e incolores em pH 4,5 (LEE; DURST; WROLSTAD, 2005).

O método consiste em diluir a amostra em soluções tampão de pH 1,0 (0,025 M de cloreto de potássio) e 4,5 (0,4 M de aceato de sódio), com fator de diluição da amostra previamente determinado, após realiza-se medidas de absorbância no comprimento de onda que apresenta máxima absorção. A diferença entre as absorbâncias nos dois pHs é proporcional à concentração das antocianinas (GIUSTI; WROLSTAD, 2001; WROLSTAD; DURST; LEE, 2005). As soluções tampão foram preparadas segundo LEE; DURST; WROLSTAD (2005). O fator de diluição foi determinado de modo que a absorbância da amostra em pH 1 se mantenha inferior a um, ou seja, valores em que a absorbância apresenta comportamento linear com a concentração.

O comprimento de onda de máxima absorção do extrato foi determinado através de um espectrofotômetro de varredura (T80 UV/VIS Spectrometer, PG Instruments ltd) entre os comprimentos de onda 300 e 700. O branco utilizado para zerar o espectrofotômetro foi a água destilada. A Figura 3.3 mostra o espectro de varredura na faixa de comprimento de onda da radiação visível do extrato de antocianinas.

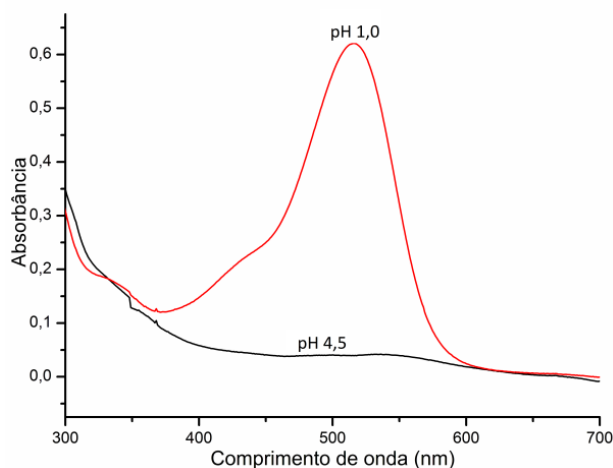


Figura 3.3: Espectro de varredura do extrato de antocianinas entre os comprimentos de onda de 300 e 700 nm em pH 1 e 4,5.

Conforme se observa na Figura 3.3, o pico de absorção ocorreu no comprimento de onda de 518 nm, sendo, portanto, este comprimento de onda adotado para análise de antocianinas monoméricas neste trabalho.

As amostras foram diluídas em tampão de pH 1 até a absorvância da amostra a 518 nm ficar entre 0,2 e 1. A diluição encontrada foi de 1 mL de extrato de antocianinas para 40 mL de tampão de pH 1. O cálculo do fator de diluição foi realizado de acordo com a Equação 3.2.

$$FD = \frac{V_T}{V_{Extrato}} + 1 \quad (3.2)$$

em que V_T é o volume de tampão (mL) e $V_{Extrato}$ o volume de extrato de antocianinas (mL). O FD encontrado foi de 41 e o mesmo foi utilizado para todas as análises.

Para leitura da absorvância, foi utilizado um espectrofotômetro (Pró-análise, modelo UV 1600, Brasil).

A determinação da absorvância foi feita através da Equação 3.3:

$$A = (A_{518} - A_{700})_{pH\ 1,0} - (A_{518} - A_{700})_{pH\ 4,5} \quad (3.3)$$

em que A_{518} é a absorvância no comprimento de onda de máxima detecção das antocianinas e A_{700} é a absorvância no comprimento de 700 nm, onde não há absorvância de cor da amostra e a medida serve apenas para corrigir erros relacionados à turbidez ou a sedimentos presentes na amostra.

A concentração de antocianinas na amostra é determinada através da Equação 3.4 que é expressa, para fins de comparação com a literatura, em mg/L da antocianina cianidina-3-glucosídeo.

$$Antocianinas \left(\frac{mg}{L} \right) = \frac{A * MM * FD * 10^3}{\epsilon * l} \quad (3.4)$$

em que A é a absorvância calculada utilizando a Equação 3.3, MM [449,2 g.mol⁻¹] é a massa molar da antocianina cianidina-3-glucosídeo, ϵ [26.900 L.mol⁻¹.cm⁻¹] o coeficiente de absorvidade molar da antocianina, FD é o fator de diluição da amostra (Equação 3.2) [41] e l o comprimento da cubeta na direção de passagem de luz [1 cm] (LEE; DURST; WROLSTAD, 2005).

Levando em conta as diluições feitas na amostra e sua umidade, é possível obter o teor total de antocianinas em mg por 100 g de amostra em base seca.

As análises foram feitas em triplicata para cada repetição de tratamento.

3.6.2 Compostos Fenólicos

A determinação do teor de compostos fenólicos totais presentes nas amostras de extrato aquoso foi feita pelo método de *Folin-Ciocalteu*, utilizando o ácido gálico como padrão (WATERHOUSE, 2001). O método espectrofotométrico de *Folin-Ciocalteu* é baseado na redução química dos óxidos de Tungstênio e Molibdênio, que apresentam coloração azul e têm alta absorção da luz. A absorbância máxima da mistura desses óxidos se dá no comprimento de onda (λ) de 765 nm, sendo a intensidade da absorção de luz nesse λ proporcional à concentração de fenólicos (WATERHOUSE, 2001).

A metodologia utilizada para avaliação dos compostos fenólicos neste trabalho foi adaptada de WATERHOUSE (2001). Para cada tubo de ensaio foram pipetados 40 μ L de extrato ou padrão de ácido gálico, adicionados de 3,2 mL de água destilada e 200 μ L do reagente *Folin-Ciocalteu* e a mistura foi agitada e deixada ao abrigo da luz por 5 minutos para ocorrência da reação. Após esse período foram adicionados 600 μ L de uma solução saturada de carbonato de sódio, agitada em *vortex* (Phoenix Lufenco, modelo AP 56, Brasil) e colocada ao abrigo de luz à temperatura ambiente por 1 hora. Para leitura da absorbância, as amostras foram transferidas para cubetas plásticas e efetuadas as leituras em espectrofotômetro (*Pró-Análise*, modelo UV 1600, Brasil) no comprimento de onda de 765 nm. Os resultados foram expressos na forma de mg de EAG (equivalentes de ácido gálico) por g de bagaço em base seca. Para elaboração do branco, foram seguidos os mesmos procedimentos para preparação da amostra, somente substituindo a amostra por água destilada.

Para quantificação dos compostos fenólicos totais, foi elaborada uma curva padrão, relacionando diferentes concentrações de soluções de ácido gálico (Sigma Aldrich, St. Louis, Estados Unidos) (50, 100, 300, 400 e 500 ppm) com as respectivas absorbâncias após procedimento de preparação da amostra.

Todos os experimentos foram feitos em triplicata e no caso da curva de calibração, obtido um coeficiente de determinação superior a 0,99.

3.6.3 Atividade Antioxidante Total (AAT)

Os métodos para avaliação da atividade antioxidante total (AAT) propostos na literatura são numerosos, porém alguns são mais apropriados que outros, dependendo da natureza dos compostos presentes em cada fruta (SILVA, 2008).

Neste trabalho, para a mensuração da atividade antioxidante do extrato aquoso do bagaço de mirtilo, foram utilizados as técnicas espectrofotométricas dos métodos dos radicais ABTS e DPPH.

3.6.3.1 Método da captura do radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilidrazila)

O método DPPH é baseado na captura do radical (2,2-difenil-1-picrilidrazila) por antioxidantes presentes na amostra, produzindo um decréscimo da absorvância no comprimento de onda de 515 nm segundo BRAND-WILLIAMS; CUVELIER; BERSSET (1995).

A reação do radical livre *DPPH* com um antioxidante (*AH*) ou uma espécie radical (*R*) ocorre de acordo com as Equações 3.5 e 3.6 (MILARDOVIĆ; IVEKOVIĆ; GRABARIĆ, 2006):



Para análise, foram preparadas, inicialmente, três diluições do extrato aquoso de antocianinas com água destilada em triplicata. Alíquotas de 0,1 mL de cada diluição do extrato foram transferidas para tubos de ensaio e adicionados de 3,9 mL de uma solução 0,06 mM de DPPH (Sigma Aldrich, St. Louis, Estados Unidos) e homogeneizados em *vortex* (Phoenix Lufenco, modelo AP 56, Brasil). A solução 0,06 mM de DPPH foi preparada através da dissolução do radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilidrazila) em álcool metílico no mesmo dia da análise. Da mesma forma que as amostras, uma solução controle foi preparada substituindo a amostra por água destilada. As misturas foram

deixadas ao abrigo de luz por 1 h e a absorvância foi medida em espectrofotômetro (*Pró-Análise*, modelo UV 1600, Brasil) a 515 nm; álcool metílico foi utilizado como branco para calibrar o espectrofotômetro (RUFINO et al., 2007).

A absorvância final é interpolada em uma curva padrão de Trolox, e os resultados são expressos em $\mu\text{Mol TEAC/g}$ (atividade antioxidante equivalente ao Trolox).

3.6.3.2 Método da captura do radical ABTS (ácido 2,2'-azinobis-(3-etil-benzotiasolina-6-ácido sulfônico))

Esse método baseia-se na reação de forma energética com compostos doadores de hidrogênio, como compostos fenólicos, sendo convertido em uma forma não colorida de ABTS* (CAMPOS; LISSI, 1997).

Esta análise foi adaptada de RE et al. (1999). O reagente ABTS (Sigma Aldrich, St. Louis, Estados Unidos), foi dissolvido em água destilada para formar uma solução de 7 mmol/L. O radical ABTS foi produzido 16 horas antes de sua utilização, reagindo a solução 7 mmol/L de ABTS com solução de 4,9 mM de persulfato de potássio na proporção de 1:1. Para o ensaio a solução contendo o radical ABTS foi diluída com etanol até se obter uma absorvância de $0,7 \pm 0,05$ a 734 nm.

Para análise, foram preparadas, inicialmente, três diluições do extrato aquoso de antocianinas com água destilada em triplicata. Alíquotas de 30 μL de cada diluição do extrato foram transferidas para tubos de ensaio, adicionados de 3 mL do radical ABTS e homogeneizados em *vortex* (Phoenix Luferco, modelo AP 56, Brasil). As misturas foram deixadas ao abrigo de luz por 20 minutos e a absorvância foi medida em espectrofotômetro (*Pró-Análise*, modelo UV 1600, Brasil) a 734 nm; álcool etílico foi utilizado como branco para calibrar o espectrofotômetro (RUFINO et al., 2007).

A capacidade antioxidante total da amostra foi calculada em relação à atividade do antioxidante sintético Trolox (Sigma Aldrich, St. Louis, Estados Unidos), nas mesmas condições, e os resultados foram expressos em atividade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC) ($\mu\text{Mol TEAC/g}$ de amostra em base seca) (RICE-EVANS; MILLER; PAGANGA, 1996).

Por fim, os valores de atividade antioxidante e fenólicos totais foram correlacionados entre si pelo coeficiente de correlação de Pearson, o qual indica o quão estão relacionados os dois fatores.

3.7 Microencapsulação

3.7.1 Preparo das microcápsulas

O extrato antociânico aquoso do bagaço de mirtilo, obtido sob as condições de extração determinadas como “ótimas” estudadas neste trabalho, foi submetido à microencapsulação por atomização, utilizando-se goma arábica e maltodextrina (MOR REX® 1914) como encapsulantes. Os agentes carreadores foram preparados na concentração de 15% (m/v) em extrato antociânico, sendo essa quantidade definida através de testes preliminares. A mistura foi homogeneizada por 5 minutos a 4.000 rpm em Ultra Turrax (T 25 Ultra-Turrax®, IKA, Wilmington, USA) e submetidas à secagem.

A atomização foi conduzida em um *Mini Spray Dryer* (LM MSDi 1.0, LABMAQ, Brasil) (Figura 3.4) com bico de alimentação de 1 mm de diâmetro. Foram avaliadas as temperaturas de entrada de 140 ± 1 e 160 ± 1 °C para os diferentes agentes encapsulantes. As temperaturas de saída variaram em função das temperaturas de entrada. O equipamento operou em todos os experimentos com pressão manométrica de ar comprimido de 3,43 bar, vazão de ar de secagem de 40,5 L/min e vazão de alimentação de 0,35 L/h.

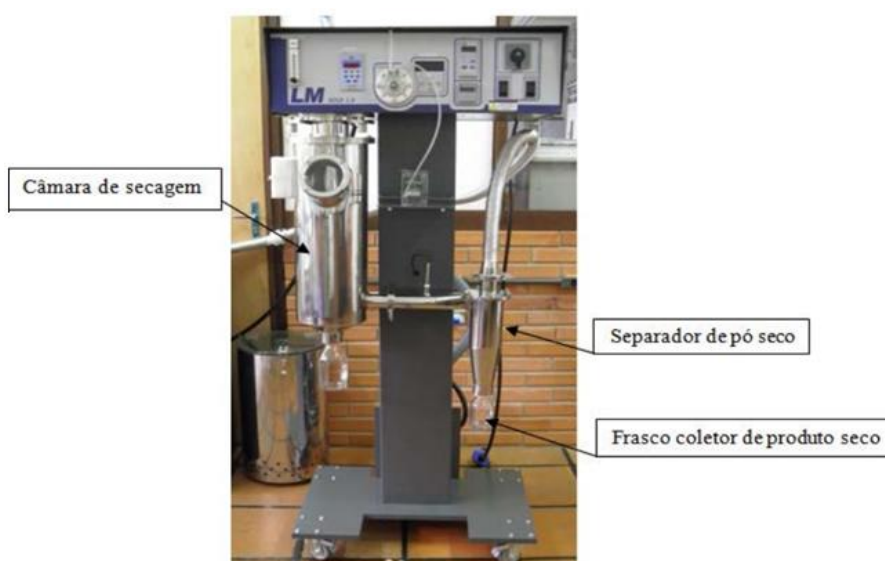


Figura 3.4: Atomizador MSDi 1.0-LABMAQ

Os pós obtidos foram armazenados à temperatura ambiente (aproximadamente 25 °C) e acondicionados em sacos de polietileno devidamente fechados e revestidos com papel alumínio. Todos os experimentos foram realizados em duas repetições, totalizando um total de 8 secagens.

3.7.2 Caracterização das micropartículas

As micropartículas provenientes da secagem pela técnica *spray drying* foram caracterizadas: físicoquimicamente através de análises de dissolução em água, teor de antocianinas, colorimetria, solubilidade, higroscopicidade e fotoestabilidade; e morfologicamente por microscopia eletrônica de varredura (MEV) e distribuição de tamanho de partículas por difratometria laser.

3.7.2.1 Solubilidade

Para determinação da solubilidade dos pós foi utilizado o método descrito por CANO-CHAUCA et al. (2005). A técnica consiste em diluir 1 g de amostra em 100 mL de água destilada sob agitação a 2500 rpm (agitador tipo Shaker, modelo MA563, Marconi, Brasil) por 5 min. A solução é então transferida para um tubo de ensaio e centrifugada (modelo CT5000R, Cientec Instrumentos Científicos S.A.) a 5.000 rpm (5.233,7 g) por 10 min. Uma alíquota de 25 mL do sobrenadante centrifugado foi transferida para uma cápsula de alumínio previamente pesada e submetida a 105 °C por 5 h. Por diferença de peso calcula-se o percentual de dissolução.

3.7.2.2 Retenção de antocianinas

Para a determinação do teor total de antocianinas monoméricas a amostra foi dissolvida em água acidificada (1% ácido cítrico) sob agitação a 2500 rpm (agitador tipo Shaker, modelo MA563, Marconi, Brasil) durante 1 hora e após centrifugada a 5.500 rpm (6332,8 g) (modelo CT5000R, Cientec Instrumentos Científicos S.A.) por 10 minutos, sendo o sobrenadante analisado para quantificação de antocianinas segundo metodologia descrita na Seção 3.6.1.

Para determinação da retenção de antocianinas, foram relacionadas as concentrações de antocianinas totais em base seca da mistura extrato/carreador antes do

microencapsulamento e após a formação das microcápsulas (TONON; BRABET; HUBINGER, 2008).

3.7.2.3 Higroscopicidade

As análises de higroscopicidade das microcápsulas foram determinadas segundo TONON; BRABET; HUBINGER (2009). Essa metodologia consiste em pesar 1 g de cada amostra e colocá-las em um dessecador à temperatura ambiente contendo uma solução saturada de NaCl (umidade relativa de 75%). Após uma semana, as amostras foram pesadas novamente e a higroscopicidade foi expressa em gramas de umidade absorvida por 100 g de sólido seco.

3.7.2.4 Umidade

A umidade dos pós foi determinada pelo método gravimétrico a $105 \pm 0,5$ °C, até peso constante, segundo método da AOAC 934.06 (AOAC, 2000) com algumas modificações descrito na Seção 3.3 deste trabalho.

3.7.2.5 Determinação da atividade de água (a_w)

A atividade de água foi medida para as amostras obtidas segundo as diferentes condições de secagem testadas, por meio de um medidor de atividade de água (Lab Master.aw, Novasina AG, Switzerland) conforme método n° 978.18 da (AOAC, 1990).

3.7.2.6 Colorimetria

A cor das amostras obtidas foi avaliada através de um colorímetro (Color QUEST XE, Hunterlab, USA) calibrado para a cor branca. Para cálculo das coordenadas de cor, foi estabelecido o iluminante D65, o ângulo de 10° para o observador e a escala de leitura colorimétrica empregada foi a do sistema de coordenadas cromáticas com base no espaço de cor CIELAB $L^*a^*b^*$, onde L^* mede a luminosidade tendo uma variação de branco (100) a preto (0), a^* é uma indicação de tonalidade na direção do verde se assumir valores negativos ($-a^*$) e na direção do vermelho se assumir valores positivos ($+a^*$) e b^* é uma indicação de tonalidade na direção do azul se assumir valores negativos ($-b^*$) e na direção do amarelo se assumir valores positivos ($+b^*$) (SANT'ANNA et al., 2013). A partir destes parâmetros, foram calculadas as coordenadas cilíndricas *Croma* e *Hue*

(Equações 3.7 e 3.8), onde o *Croma* refere-se à saturação, percebida como inrtenvidade da cor e o *Hue* representa o ângulo de tom (AGUILERA, 1997). Esses parâmetros podem ser representados em um diagrama tridimensional que está mostrado na Figura 3.5.

$$Croma = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2} \quad (3.7)$$

$$^{\circ}Hue = \arctan\left(\frac{b^*}{a^*}\right) \quad (3.8)$$

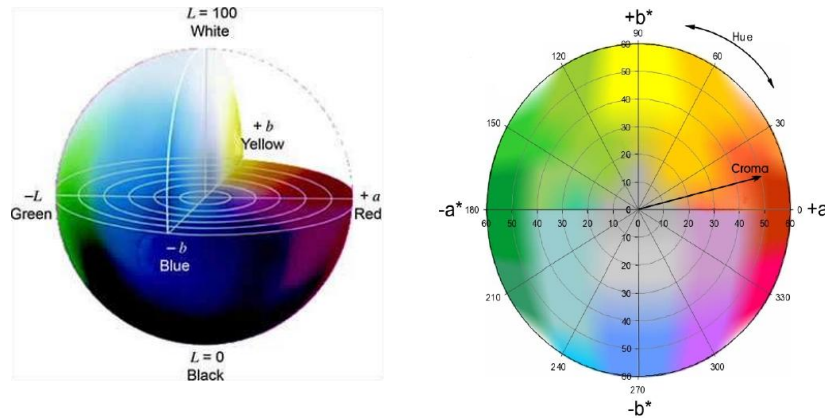


Figura 3.5: Diagramas representativos do sistema de cores CIELAB. Extraído de MINOLTA (1994).

3.7.2.7 Fotoestabilidade

A fotoestabilidade das micropartículas foi avaliada conforme metodologia utilizada por (RAFFIN et al., 2008). As amostras foram acondicionadas em placas de petri transparentes e colocadas em uma câmara sob exposição à radiação UV produzida por quatro lâmpadas de 40 W de potência cada, dispostas paralelamente a uma distância de 42 cm das amostras. A câmara foi revestida internamente por espelhos que têm a finalidade de provocar a incidência da radiação de forma homogênea em toda a amostra, sendo composta por quatro ventoinhas para garantir que a temperatura interna permaneça em equilíbrio com a ambiente (aproximadamente 25 °C). As amostras foram mantidas na câmara por 41 dias e retiradas para análises do teor de antocianinas totais monoméricas (seção 3.7.2.2) e de cor (3.7.2.6) nos tempos de 4, 7, 10, 19, 28 e 41 dias. Uma amostra controle também foi analisada, amostra esta mantida em recipiente fechado, na temperatura ambiente (aproximadamente 25 °C) e ao abrigo de luz.

3.7.2.8 Modelagem cinética

A modelagem matemática dos perfis de degradação das antocianinas foi realizada utilizando uma reação de primeira ordem, como mostrado na Equação 3.9 e o tempo de meia vida ($t_{1/2}$) foi calculado segundo a Equação 3.10 (IDHAM; MUHAMAD; SARMIDI, 2012).

$$\ln\left(\frac{c}{c_0}\right) = -k * t \quad (3.9)$$

$$t_{1/2} = \frac{\ln(2)}{k} \quad (3.10)$$

em que, C_0 é a concentração inicial de antocianinas (tempo zero), C é a concentração de antocianinas após tempo t e k a constante de degradação das antocianinas; $t_{1/2}$ é o tempo de meia vida das antocianinas.

3.7.2.9 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A morfologia das micropartículas de antocianinas foi analisada através da microscopia eletrônica de varredura (MEV) conforme método proposto por TONELI et al. (2008). As amostras foram preparadas pela deposição dos pós em porta-amostras de alumínio (*stubs*) recobertas com fitas de carbono dupla-face, metalizadas com ouro e analisadas em microscópio eletrônico de varredura (MEV) (JSM 6060, Jeol, Tóquio, Japão) operando a uma tensão de 5 kV.

3.7.2.10 Distribuição de tamanho de partículas

As distribuições de tamanho de partícula foram determinadas por difração a laser em aparelho (CILAS 1180, Compagnie Industrielle de Lasers, França) disponível no Laboratório de Materiais Cerâmicos (LACER) da UFRGS. O equipamento utiliza três lasers para cobrir uma ampla faixa analítica de tamanhos (0,004 μm a 2500 μm), com precisão maior que 99%. As amostras foram dispersas em isopropanol em banho de ultrassom, a distribuição do tamanho foi determinada com base na teoria de difração de Fraunhofer e os resultados foram expressos em diâmetro por volume equivalente a 10% ($d_{0,1}$), 50% ($d_{0,5}$) e 90% ($d_{0,9}$) do volume acumulado e como diâmetro médio ($d_{3,4}$). O método de análise foi baseado em TONON; BRABET; HUBINGER (2010).

3.8 Análise estatística

Todas as análises foram realizadas em triplicata. Para avaliação dos resultados foi utilizada a análise de variância (ANOVA) e para as diferenças entre os tratamentos, utilizou-se o teste de diferenças entre médias de Tukey com significância estatística de 0,05. A análise estatística foi realizada no programa Statistica para Windows (versão 11, StatSoft®) (STATSOFT, 2012).

Capítulo 4 - Resultados e Discussão

Neste capítulo serão apresentados os resultados dos estudos feitos a partir do extrato antociânico obtido do bagaço de mirtilo como teor de antocianinas, fenólicos totais e atividade antioxidante. Além disto, são discutidos os resultados associados às micropartículas obtidas por *spray drying*, onde avaliou-se sua estabilidade à radiação ultravioleta, colorimetria, granulometria, morfologia, solubilidade, atividade de água e higroscopicidade.

4.1 Propriedades da fruta e do bagaço

Os mirtilos processados para produção de suco e obtenção do bagaço continham um teor de sólidos solúveis igual a $12 \pm 0,1$ °Brix, pH de $3,05 \pm 0,01$ e acidez total expressa em porcentagem de ácido cítrico de $0,433 \pm 0,006\%$. Esses resultados estão de acordo com SANTOS et al. (2007) que relata que o pH deve ser inferior a 4,5, aumentando no decorrer do amadurecimento e o teor de sólidos solúveis varia de 7% nos frutos verdes e 15% ou mais nos frutos maduros.

O rendimento em suco do processamento do mirtilo foi de 83,43%, restando 16,57% em massa de bagaço, o qual apresentou um teor de umidade de $210,3 \pm 4,5\%$ b.s. ou $67,78 \pm 0,46\%$ b.u.

A composição físico-química do mirtilo pode variar de acordo com diversos fatores como espécie, variedade, fertilidade do solo de cultivo, época do ano da colheita, grau de maturação, condições ambientais e prática de cultivo (SILVEIRA; VARGAS; ROSA, 2007).

4.2 Extrato

4.2.1 Extração de antocianinas

O grau de extração das antocianinas depende de uma série de fatores, entre eles da relação volume de solvente/massa de amostra, do tipo de solvente empregado, do pH, do tipo de ácido (ácido clorídrico, cítrico, tartárico, acético), do tamanho da partícula, do

tempo e da temperatura de extração (CACACE; MAZZA, 2003; LEE; WROLSTAD, 2004).

O pH da solução de extração (água destilada e 1% ácido cítrico m/v) ficou em torno de $2,07 \pm 0,06$, próximo à condição ótima de extração de antocianinas do repolho roxo (pH 2,3), segundo XAVIER et al. (2008).

Os resultados de extração das antocianinas monoméricas totais sob as diferentes condições de tempo (5, 15, 45 minutos) e temperatura (60 e 80 °C) foram expressos em mg da antocianinas cianidina 3-glucosídeo por 100 g de amostra em base seca e estão mostrados na Figura 4.1.

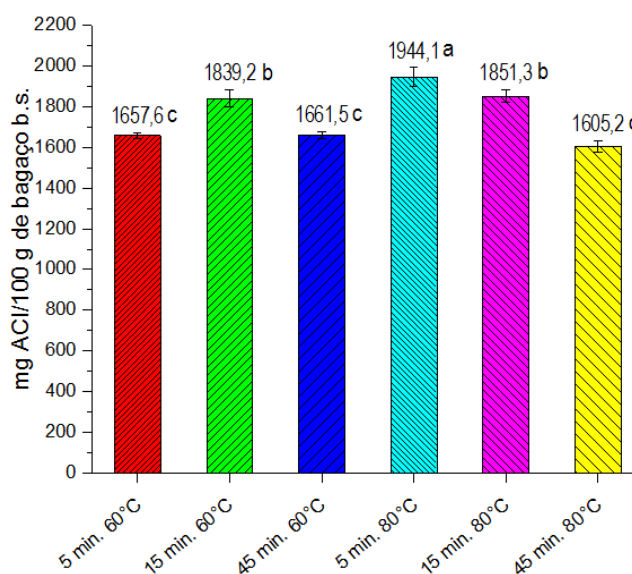


Figura 4.1: Concentração de antocianinas (mg de cianidina-3-glucosídeo por 100 g de bagaço em base seca) para as diferentes condições de extração. Médias seguidas da mesma letra, na barra, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, em nível de 5% de probabilidade.

A análise da Figura 4.1 mostra que a extração em 5 minutos foi superior em temperatura mais elevada, porém, para tempos prolongados observou-se uma diminuição significativa na concentração de antocianinas no extrato para a temperatura de 80 °C. O maior valor de extração obtido ocorreu na condição de 80 °C e 5 minutos, resultando em um extrato com concentração significativamente ($p > 0,05$) superior as demais de $417,7 \pm 10,1$ mg de antocianinas (cianidina-3-glucosídeo) por litro de extrato, o que equivale a 1.944 ± 46 mg de antocianinas totais monoméricas (cianidina-3-glucosídeo) por 100 g de bagaço em base seca (valor mostrado no gráfico), ou ainda $626,57 \pm 15,06$ mg por 100 g

de bagaço em base úmida. Esse resultado representa aproximadamente 81,41% do valor total da concentração de antocianinas (2.387,90 mg/100 g b.s.) obtida através da extração exaustiva do bagaço do mirtilo, mostrando-se, dessa forma, como uma técnica de extração bastante eficiente. Nas condições de 60 e 80 °C durante 15 minutos os valores não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$), assim como para as condições de 60 °C durante 5 e 60 e 80 °C durante 45 minutos.

KECHINSKI (2011) obteve como máxima extração 520,6 mg/100 g de bagaço de mirtilo previamente seco a 60 °C em estufa com ar circulante por 48 horas, utilizando solução de água e etanol como solvente extrator. Resultados semelhantes foram encontrados por outros autores em polpa de mirtilo (SU; SILVA, 2006) e no bagaço de uva (ROCKENBACH et al., 2008; VALDUGA et al., 2008). NICOUÉ; SAVARD; BELKACEMI (2007) obtiveram seu melhor resultado em antocianinas totais extraídas de mirtilos inteiros com etanol a 5% de ácido fórmico a 79 °C por 2 horas no valor de 2.890 mg/100 g de fruta em base seca.

Segundo SPANOS; WROLSTAD; HEATHERBELL (1990), um aumento na temperatura de extração aumenta a permeabilidade dos tecidos da casca, facilitando a migração das antocianinas para o solvente. Outro fator bastante relevante que justifica a alta temperatura de extração encontrada como melhor condição é que, ao se aumentar a temperatura de extração, ocorre uma diminuição na solubilidade do oxigênio na solução extratora, o que reduz a degradação oxidativa das antocianinas durante o processo. KHANAL; HOWARD; PRIOR (2010) analisaram a estabilidade das antocianinas presentes no bagaço de mirtilo e uva quando submetidos a diferentes temperaturas durante 3 dias e obtiveram uma redução na concentração das antocianinas quando da elevação da temperatura de 60 para 125 °C.

A rápida extração das antocianinas observada na Figura 4.1, em comparação aos resultados obtidos por outros autores, por exemplo, 2 horas para extração de antocianinas do mirtilo (NICOUÉ; SAVARD; BELKACEMI, 2007) e 3 horas para extração de antocianinas do bagaço de uva (VALDUGA et al., 2008), pode também estar associado ao grau de dilaceração da casca sofrida durante o processo de trituração pelo *mixer*, o que resulta em uma maior área exposta para a extração.

Outro aspecto que pode ser observado na Figura 4.1 é a ocorrência de um decréscimo na concentração de antocianinas para a mesma temperatura, após um determinado tempo de extração, exceção feita entre os tempos de 5 e 15 minutos para a temperatura de 60 °C. Esse comportamento pode ser decorrente da degradação das antocianinas provocada pela sua prolongada exposição à alta temperatura com a ocorrência de hidrólise da ligação glicosídica, e posterior formação de chalconas, ocasionando conseqüente perda de cor (ADAMS; WOODMAN, 1973). LEE; WROLSTAD (2004) estudaram a extração das antocianinas do bagaço do mirtilo nas temperaturas de 50 e 80 °C com água destilada na presença de 1% de ácido cítrico e 100 ppm de SO₂ com tempo de extração de 1 hora e verificaram que o melhor rendimento ocorreu na temperatura de 50 °C. Segundo os autores, na temperatura de 80 °C pode ter ocorrido a degradação térmica das antocianinas devido ao prolongado tempo de exposição.

4.2.2 Fenólicos totais

A quantidade de fenólicos totais presentes em produtos e subprodutos do processamento de frutas depende, principalmente, da técnica empregada para sua extração destacando-se o tempo de contato das cascas com o solvente extrator, o solvente, o grau de dilaceração da casca, a temperatura, o pH da solução, entre outros (SU; SILVA, 2006).

A Figura 4.2 apresenta o comportamento das diferentes condições de extração de fenólicos totais, relacionando a concentração, expressa em mg de ácido gálico por 100 g de bagaço em base seca, em função das temperaturas e dos tempos de extração.

A partir da Figura 4.2 pode-se verificar que, para um mesmo tempo, na temperatura de 80 °C foram obtidas concentrações significativamente mais altas de fenólicos totais. Não foi observada diferença significativa entre as extrações a 80 °C durante 15 e 45 minutos, condições nas quais se obteve a máxima quantidade de fenólicos totais extraídos do bagaço de mirtilo com valor médio de $794,6 \pm 35,3$ mg GAE/100 g de extrato, o que equivale a 3.698 ± 164 mg GAE/100 g de bagaço em base seca. Esse resultado apresentou um rendimento de 81,5% quando comparado ao extrato obtido pela extração exaustiva (4.533 ± 293 mg GAE/100 g de bagaço em base seca).

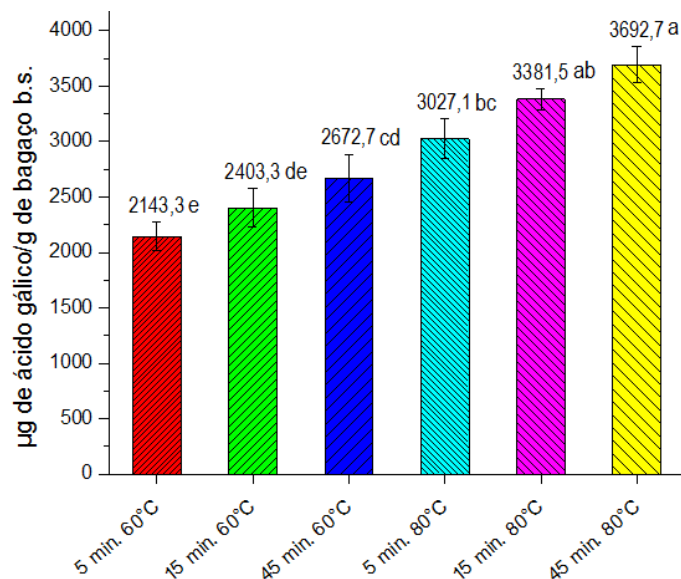


Figura 4.2: Concentração de fenólicos totais em mg de ácido gálico por 100 g de bagaço em base seca para as diferentes condições de extração. Médias seguidas da mesma letra, na barra, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, em nível de 5% de probabilidade.

LEE; WROLSTAD (2004) encontraram 978,3 mg GAE/100 g de extrato extraído do bagaço de mirtilo quando da extração com água acidificada à 80 °C, 100 ppm de SO₂, razão massa de amostra/volume de solvente 1:2 m/v por uma hora. Este foi o único trabalho encontrado sobre extração de fenólicos totais em bagaço de mirtilo. KALT; MCDONALD; DONNER (2000), obtiveram um rendimento na extração de fenólicos totais do mirtilo (fruta fresca) na temperatura de 60 °C duas vezes maior do que a 25 °C, comprovando, dessa forma, que temperaturas mais altas favorecem a extração de compostos fenólicos. BUCIĆ-KOJIĆ et al. (2011) ao estudarem o desempenho da extração de compostos fenólicos de figos liofilizados (*Ficus Carica L.*) concluíram que maiores temperaturas de extração influenciavam positivamente na extração destes compostos.

No trabalho de ROCKENBACH et al. (2007), bagaço de uva (*Vitis vinifera L.*) da variedade “*Pinot Noir*” e “*Regente*” foram analisadas quanto ao conteúdo total de compostos fenólicos extraídos com solventes aquosos a 50% (v/v) de metanol, etanol e acetona acidificados (HCl 0,1%). A solução aquosa de acetona apresentou os melhores rendimentos como solvente extrator, resultando num total de 7.852 mg GAE/100 g na variedade *Pinot Noir* e 5.334 mg GAE/100g na variedade *Regente* em base seca.

4.2.3 Atividade antioxidante

A Figura 4.3 apresenta os valores de atividade antioxidante, expressos em $\mu\text{Mol TEAC/g}$ de amostra em base seca, para as condições de extração testadas considerando os dois métodos de análise (A) métodos DPPH e (B) método do radical ABTS.

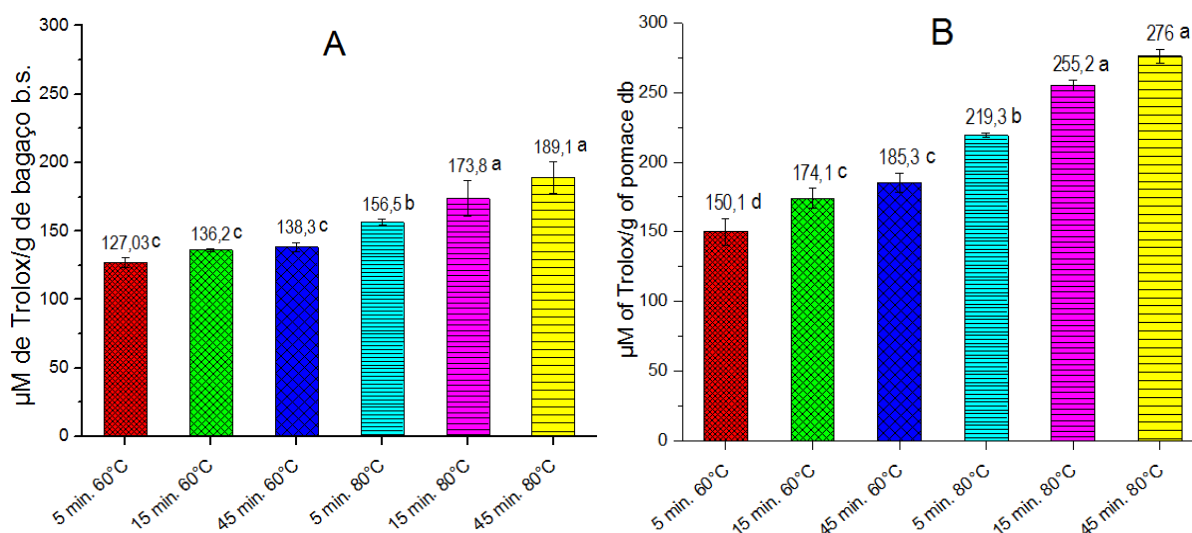


Figura 4.3: Atividade antioxidante dos extratos aquosos do bagaçõ de mirtilo analisados pelos métodos: (A) DPPH e (B) ABTS. Médias seguidas da mesma letra, na barra, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, em nível de 5% de probabilidade.

Conforme pode ser observado, a média dos valores de atividade antioxidante encontrada nos extratos aquosos do bagaçõ de mirtilo foi superior na temperatura mais elevada de extração testada. Não houve diferença significativa ($p > 0,05$) para as médias dos valores de atividade antioxidante analisadas pelo método DPPH a 60 °C nos diferentes tempos (5, 15 e 45 minutos); os melhores resultados ocorreram para a temperatura de 80 °C nos tempos de 15 e 45 minutos, nos quais as médias dos valores não apresentaram diferença significativa entre si ($p > 0,05$). Para o método ABTS, os resultados apresentaram o mesmo comportamento que o método DPPH, com maior valor de atividade antioxidante na temperatura de extração de 80 °C. As médias dos valores de atividade antioxidante nas duas temperaturas (60 e 80 °C) não apresentaram diferença significativa para os tempos de extração de 15 e 45 minutos ($p > 0,05$).

Se, por um lado, altas temperaturas promovem a destruição de antocianinas e alguns compostos fenólicos, por outro lado, aumentam a disponibilidade de compostos com atividade antioxidante. Dentre os antioxidantes presentes em frutas e vegetais, os mais

ativos e frequentemente encontrados são os compostos fenólicos, tais como ácidos fenólicos e flavonoides (SILVA; VENDRUSCOLO; TORALLES, 2011).

A melhor condição de extração que resultou num extrato com maior atividade antioxidante média foi na temperatura de 80 °C durante 15 e 45 minutos para os dois métodos (DPPH e ABTS), apresentando um valor máximo respectivo aos métodos DPPH e ABTS de $275,99 \pm 4,67$ e $189,15 \pm 11,32$ $\mu\text{Mol TEAC/g}$ de amostra em base seca.

Os valores de atividade antioxidante, pelos dois métodos, foram correlacionados com o teor de fenólicos totais. O resultado dos coeficientes de correlação de Pearson estão mostrados na Tabela 4.1.

Tabela 4.1: Coeficientes de correlação entre fenólicos totais e atividade antioxidante (DPPH, ABTS).

	Extratos de ACI	DPPH	ABTS
Fenólicos Totais	60 °C	0,937	0,977
	80 °C	0,999	0,993

Conforme pode ser observado, houve forte correlação linear positiva entre os resultados referentes à concentração de fenólicos totais e a atividade antioxidante, indicando que, de fato, os compostos fenólicos são os principais responsáveis pela atividade antioxidante do extrato.

DRAGOVIC-UZELAC et al. (2010), ao avaliarem a capacidade antioxidante de diferentes cultivares de mirtilo do nordeste da Croácia pelos métodos DPPH e ABTS, obtiveram valores de atividade antioxidante medidos pelo método ABTS (15,8 a 28,4 mmol TEAC/100 g de fruta fresca) maiores que os medidos por DPPH (5,6 a 7,6 mmol TEAC/100 g de fruta fresca), apresentando correlação com a quantidade de fenólicos totais presentes no fruto.

Através do extrato de mirtilo extraído com solução aquosa a 50% de etanol durante 30 minutos, FARIA et al. (2005) estudaram o potencial antioxidante de extrato de mirtilo e obtiveram como resultado $5,36 \mu\text{Mol TEAC/g}$ de amostra e teor de fenólicos igual a 25,79 mg de ácido gálico/g de amostra, que são valores bastante próximos aos

encontrados por SILVA; VENDRUSCOLO; TORALLES (2011) ao analisar diversos cultivares de mirtilo produzidos em Pelotas no Rio Grande do Sul.

Como conclusão geral desta primeira etapa referente à escolha do método mais adequado de extração de antocianinas do bagaço de mirtilo, observou-se que, referente à quantidade de antocianinas, a condição de extração que apresentou melhor resultado foi na temperatura de 80 °C durante 5 minutos, sendo que, em tempos maiores, observou-se um decaimento na concentração, resultado da degradação térmica das antocianinas com possível formação de chalconas e consequente perda de cor. No que diz respeito à concentração de fenólicos totais e atividade antioxidante, a melhor condição encontrada foi na temperatura de 80 °C e tempos de 15 e 45 minutos. Para dar continuidade ao trabalho de microencapsulação de antocianinas, optou-se por trabalhar com a condição que forneceu a maior concentração de antocianinas, pois este é o composto bioativo que se deseja microencapsular. Desta forma, na sequência do trabalho as extrações foram realizadas para a condição de 80 °C durante 5 minutos.

4.3 Microcápsulas

4.3.1 Produção das microcápsulas

De acordo com os parâmetros de secagem assumidos, segundo descrito na Seção 3.7.1, as temperaturas de saída do pó foram de 106 ± 1 e 92 ± 1 °C para as temperaturas de entrada de 160 e 140 °C, respectivamente, e para ambos os materiais de parede utilizados: maltodextrina (MD) e goma arábica (GA). Ao microencapsular antocianinas extraídas de cenouras pretas utilizando ar de secagem com 160 °C, ERSUS; YURDAGEL (2007) obtiveram como temperatura de saída da câmara de secagem 107 ± 2 °C.

A Tabela 4.2 apresenta os resultados referentes à retenção de antocianinas, umidade, atividade de água, higroscopicidade e solubilidade das micropartículas para os diferentes materiais carreadores e temperaturas de secagem.

Tabela 4.2: Retenção de antocianinas (ACI), umidade, atividade de água, higroscopicidade e solubilidade das micropartículas para os diferentes materiais carreadores e temperaturas de secagem.

Amostras	Retenção de ACI (%)*	Umidade (%)*	Aw*	Higroscop. (%)*	Solubilidade (%)*
MD 140°C	82,05 ± 1,56 ^a	2,51 ± 0,36 ^a	0,086 ± 0,002 ^{ab}	13,60 ± 0,03 ^d	94,33 ± 1,85 ^c
MD 160°C	77,33 ± 3,19 ^a	2,18 ± 0,01 ^a	0,071 ± 0,004 ^c	14,52 ± 0,06 ^c	97,77 ± 1,22 ^c
GA 140°C	80,21 ± 1,16 ^a	2,72 ± 0,28 ^a	0,093 ± 0,003 ^a	17,74 ± 0,16 ^b	95,77 ± 2,09 ^c
GA 160°C	79,34 ± 3,22 ^a	2,36 ± 0,12 ^a	0,078 ± 0,003 ^{bc}	18,33 ± 0,30 ^a	96,50 ± 2,45 ^c

*Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, em nível de 5% de probabilidade.

Conforme pode ser observado, não houve diferença significativa entre as médias dos valores de retenção de antocianinas para os diferentes materiais de parede e temperaturas do ar de secagem, oscilando de 77,33 e 82,05%. SILVA et al. (2013), ao secar extrato da casca de jabuticaba com maltodextrina nas temperaturas de 140, 160 e 180 °C obtiveram valores de retenção entre 83,21 e 99,02% e TONON; BRABET; HUBINGER (2008), ao microencapsular antocianinas extraídas do açaí sob diferentes concentrações de maltodextrina (10, 20 e 30%) e diferentes temperaturas (138 e 202 °C) obtiveram valores de retenção de antocianinas entre 77 e 86%. Esse resultado indica que ambos os materiais de parede foram eficientes na proteção das antocianinas em relação às diferentes temperaturas de secagem.

Para os teores de umidade, observa-se que não houve diferença significativa ($p > 0,05$) para os materiais de parede e temperaturas utilizadas. Valores semelhantes foram encontrados por SILVA et al. (2013) ao secar extrato de casca de jabuticaba em *spray dryer* com maltodextrina, com valores variando de 2,11 a 5,31%, bem como por MOREIRA et al. (2009), quando da secagem de bagaço de acerola por *spray drying* com maltodextrina como material carreador. Para micropartículas produzidas com 20% de maltodextrina sob diferentes temperaturas de secagem (138, 170 e 202 °C), TONON; BRABET; HUBINGER (2009) obtiveram os valores de umidade (2,56, 1,45 e 0,66%), respectivamente a cada temperatura.

Os valores de atividades de água (a_w) das amostras variaram de 0,071 a 0,093, estando bastante abaixo do valor de 0,3 (valor limite que garante o não crescimento de microrganismos e retardo no escurecimento não enzimático (FENNEMA;

DAMODARAN; PARKIN, 2008)), o que é favorável à estabilidade do pó obtido. Resultados superiores de atividade de água (de 0,2 a 0,29) foram obtidos por QUEK; CHOK; SWEDLUND (2007), quando da secagem por *spray drying* de suco de melancia utilizando maltodextrina como material de parede.

As médias dos valores de higroscopicidade dos pós apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) entre si. Os pós produzidos com goma arábica se apresentaram mais higroscópicos que os produzidos com maltodextrina, assim como o uso de temperaturas mais elevadas de secagem proporcionou a formação de pós mais higroscópicos. A goma arábica possui um número maior de ramificações com grupos hidrofílicos em relação à maltodextrina 10 DE e, por isso, absorve mais facilmente a umidade do ar ambiente (CAI; CORKE, 2000; ERSUS; YURDAGEL, 2007; TONON et al., 2009). Segundo TONON et al. (2009), ao microencapsularem antocianinas com 20% de maltodextrina nas temperaturas de 138, 170 e 202 °C, obtiveram valores de higroscopicidade de 15,54, 15,15 e 15,79%, respectivamente a cada temperatura.

Com relação à solubilidade, os valores encontrados ficaram acima de 94%; CANO-CHAUCA et al. (2005), em seu trabalho com atomização de suco de manga, também obtiveram valores de solubilidade acima de 90% para os pós produzidos com maltodextrina e goma arábica como agente carreador. BARBOSA (2010) encontrou valores entre 97,29 e 99,37% para pós obtidos a partir de sucos de frutas secados por *spray drying*, utilizando maltodextrina como agente carreador e temperaturas de 155 a 165 °C. AUGUSTA (2011), através de um estudo da secagem do extrato da casca do jambo vermelho por *spray drying* com maltodextrina e temperaturas de entrada de 169 e 211 °C, obteve um pó com solubilidade de 90,97 a 96,92%.

4.3.2 Distribuição de tamanho de partículas

Na Tabela 4.3 estão apresentados os diâmetros médios para diferentes populações acumuladas de micropartículas e os diâmetros médios em volume.

Tabela 4.3: Resultados da análise da distribuição de tamanho de partículas para os pós formados a partir da maltodextrina e goma arábica nas temperaturas de 140 e 160 °C.

Agentes Encapsulantes	Temperatura (°C)	D _{0,1} * (µm)	D _{0,5} * (µm)	D _{0,9} * (µm)	D _{4,3} * (µm)
Maltodextrina	140	1,23 ± 0,00 ^c	5,75 ± 0,02 ^c	13,48 ± 0,02 ^a	6,68 ± 0,04 ^a
	160	1,19 ± 0,02 ^c	4,17 ± 0,01 ^d	9,45 ± 0,00 ^d	4,82 ± 0,06 ^c
Goma Arábica	140	1,34 ± 0,00 ^a	6,27 ± 0,04 ^b	11,06 ± 0,09 ^c	6,35 ± 0,05 ^b
	160	1,42 ± 0,00 ^b	6,45 ± 0,04 ^a	11,20 ± 0,04 ^b	6,45 ± 0,03 ^b

*D(4,3 µm): diâmetro médio em volume; D(0,1 µm): diâmetro de partícula correspondente a 10% da distribuição acumulada; D(0,5 µm): diâmetro de partícula correspondente a 50% da distribuição acumulada; D(0,9 µm): diâmetro de partícula correspondente a 90% da distribuição acumulada. *Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, em nível de 5% de probabilidade.

A análise da tabela mostra que o material de parede maltodextrina na temperatura de 160 °C produziu micropartículas menores do que as demais, condições, principalmente nas porcentagens de acumulação de 50 e 90% da distribuição acumulada. Com relação ao diâmetro médio (D_{4,3}), observa-se que as micropartículas produzidas com goma arábica nas diferentes temperaturas não apresentaram diferença significativa entre si ($p > 0,05$), com valores de diâmetros médios de $6,35 \pm 0,05$ e $6,45 \pm 0,03$ µm para as temperaturas de 140 e 160 °C, respectivamente. Para as micropartículas produzidas com maltodextrina, as médias dos diâmetros respectivos às temperaturas de 140 e 160 °C apresentaram diferença significativa entre si, sendo que na temperatura de 160 °C o diâmetro médio ($4,82 \pm 0,06$ µm) foi inferior à temperatura de 140 °C ($6,68 \pm 0,04$ µm) e às demais condições referentes ao material de parede.

A Figura 4.4 apresenta as distribuições granulométricas obtidas por difratometria a laser dos pós obtidos por atomização, elaborados com maltodextrina e goma arábica nas diferentes temperaturas de ar de entrada.

De acordo com a Figura 4.4, pode-se visualizar que as micropartículas obtidas utilizando goma arábica nas diferentes temperaturas (140 e 160 °C) apresentam comportamento bastante semelhante na sua distribuição granulométrica, enquanto para os pós produzidos a partir da maltodextrina observa-se uma clara discrepância entre as curvas. Os picos maiores referentes à goma arábica indicam uma população maior de microcápsulas com diâmetro referente aquele pico, significando uma maior homogeneidade de diâmetros presente neste material de parede.

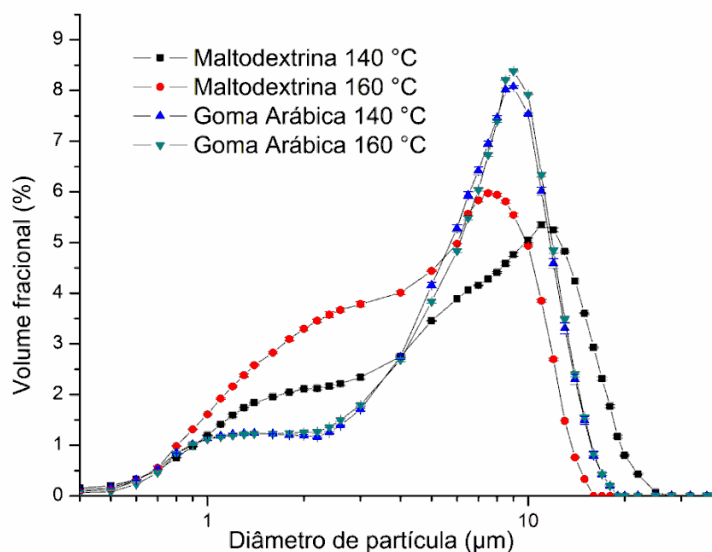


Figura 4.4: Distribuição do tamanho das partículas para os pós produzidos segundo as diferentes formulações e temperaturas.

Além disto, pela análise da Figura 4.4 pode-se observar, também, o formato bimodal da curva de distribuição do tamanho de partículas para todos os casos, indicando a presença de dois tamanhos predominantes. Esse comportamento já foi detectado por outros autores, e, segundo RODRIGUES (2004), a presença de partículas de menor tamanho pode ser atribuída às antocianinas que não foram encapsuladas com sucesso, enquanto a presença de partículas de maior tamanho pode ser atribuída a um possível início de processo de aglomeração, onde ocorre a formação de pontes de ligação irreversíveis entre as partículas e, conseqüentemente, a formação de partículas maiores.

TONON; BRABET; HUBINGER (2010), ao atomizarem suco de açaí com 20% de maltodextrina, obtiveram partículas com diâmetros médios de 13,38, 16,12 e 20,11 µm respectivos às temperaturas de secagem de 140, 170 e 200 °C. Ainda segundo estes autores, o tamanho das partículas tem influência da concentração do agente encapsulante, que tem relação com a viscosidade da solução. Quanto maior a concentração de sólidos, maior será a viscosidade da solução, o que formará gotas de tamanhos maiores e conseqüentemente partículas com diâmetros maiores.

A distribuição de tamanhos das partículas é um fator importante no comportamento físico-químico dos encapsulados, existindo, porém, controvérsias quanto à relação entre

retenção de voláteis e o tamanho de partícula. CHANG Y. I.; SCIRE J.; JACOBS B. (1988) ao estudarem a influência do diâmetro de partícula na vida de prateleira do óleo de casca de laranja atomizado, chegaram a hipótese de que o aumento do tamanho de partícula resulta numa redução da área superficial em relação ao volume da cápsula, conferindo uma melhora na retenção e estabilidade das cápsulas. Porém, com o aumento do tamanho das partículas pode ocorrer um maior grau de imperfeições na superfície das partículas como poros e fissuras, levando a uma redução da proteção à oxidação.

4.3.3 Morfologia da partícula

A Figura 4.5 apresenta as imagens das micrografias obtidas por MEV correspondentes às partículas produzidas com os agentes carreadores: A) maltodextrina a 140 °C, B) Goma arábica a 140 °C, C) Maltodextrina a 160 °C e D) Goma arábica a 160 °C. Observa-se que os pós obtidos apresentam partículas com diferentes tamanhos, desde diâmetros menores que 1 µm até em torno de 15 µm, o que está de acordo com a distribuição granulométrica mostrada na Figura 4.4.

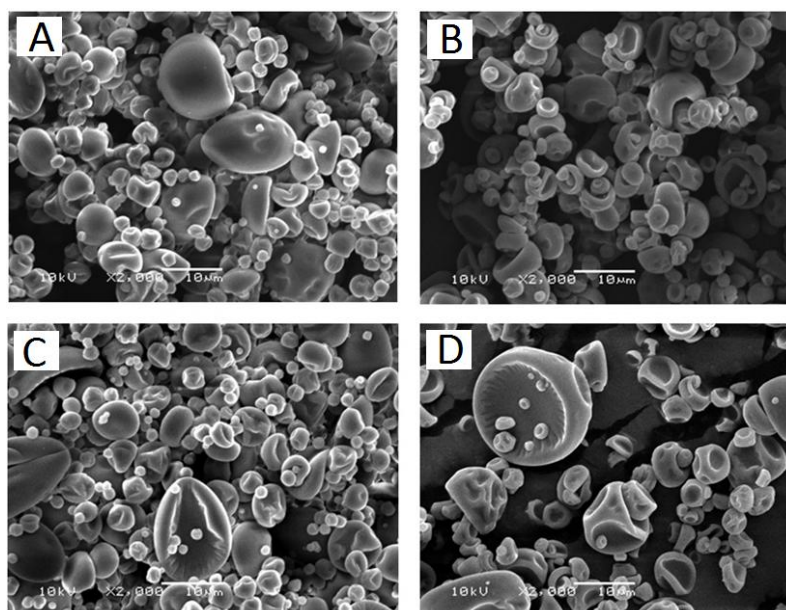


Figura 4.5: Micrografias obtidas por MEV das microcápsulas de antocianinas produzidas com: A) maltodextrina 140 °C, B) Goma Arábica 140°C, C) maltodextrina 160°C e D) Goma Arábica 160°C. Magnificação das imagens de 2000 vezes.

Como pode ser visualizado nas micrografias, não se observam grandes diferenças entre os distintos materiais utilizados. De um modo geral, as micropartículas produzidas

pelo processo *spray dryer* apresentam formato esférico com a presença de reentrâncias na superfície das micropartículas que é geralmente atribuído à contração das partículas durante o processo de secagem e resfriamento (ERSUS; YURDAGEL, 2007; TONON et al., 2009; FERNANDES; CANDIDO; OLIVEIRA, 2012). Além disto, pode ser visualizado um efeito de acomodação das partículas de menor tamanho nos espaços das partículas maiores, fato também observado por CANO-CHAUCA et al. (2005), ao atomizar suco de manga com goma arábica.

Para ambos os agentes encapsulantes não se observam fissuras ou poros na superfície das partículas, o que indica uma boa cobertura do agente encapsulante sobre o material de núcleo, fator essencial para garantir a menor permeabilidade do ar e melhor proteção do produto (FRASCARELI et al., 2012; DA SILVA et al., 2013).

Resultados semelhantes foram encontrados por TONON et al. (2009), ao visualizar as micrografias de pós obtidos a partir do suco de açaí com diferentes concentrações de maltodextrina e goma arábica, não perceberam qualquer diferença entre os tamanhos e formatos das partículas produzidas.

4.3.4 Fotoestabilidade

Na Figura 4.6 podem ser visualizados os diferentes aspectos de cor entre as micropartículas obtidas com maltodextrina (coluna 1) e goma arábica (coluna 2) antes de serem expostas à radiação UV.



Figura 4.6: Amostras dos pós obtidos por atomização com maltodextrina (coluna 1) e goma arábica (coluna 2) anteriormente aos testes.

Pela análise do parâmetro *Hue* e pelo parâmetro *croma*, os pós obtidos com ambos os materiais de parede apresentaram uma coloração roxa avermelhada, porém não muito intensa. O pó obtido com maltodextrina (MD) apresentou os valores destes parâmetros um pouco superiores aos obtidos por goma arábica (de 7 a 8 unidades de *Hue* e de 6 a 7 unidades de *croma*), o que o caracteriza por uma coloração mais avermelhada e menos opaca que as microcápsulas originadas com goma arábica (GA).

Num processo degradativo as antocianinas podem sofrer duas mudanças básicas quanto a sua coloração: tornar-se gradativamente menos intensa pela perda de saturação e ou mudar de tonalidade pela formação de compostos de degradação de cores diferentes da original (CONSTANT, 2003). A Figura 4.7 apresenta os valores de luminosidade (A e B), ângulo *Hue* (C e D) e *Croma* (E e F) para as 4 condições testadas. As Figuras A, C e E representam o comportamento das amostras controle, armazenadas no escuro, e as figuras B, D e F as amostras expostas à radiação UV. Nesta figura, os pontos experimentais foram unidos por retas apenas para fins de melhor visualização.

Durante o tempo de armazenamento, para o parâmetro luminosidade (L^*), não foram percebidas mudanças em seus valores para as amostras controle (Figura 4.7 A), enquanto para as amostras submetidas à radiação UV (Figura 4.7 B) ocorreu um decréscimo em seu valor para todas amostras com o tempo, o que indica a ocorrência de um leve escurecimento da amostra em comparação com o controle. Comportamento semelhante foi encontrado por IDHAM; MUHAMAD; SARMI (2012), ao analisar a estabilidade de micropartículas de antocianinas durante o armazenamento. FERRARI; RIBEIRO; AGUIRRE (2012) atribuíram a diminuição da luminosidade de amostras de antocianinas microencapsuladas à sua degradação, assumindo cores tendendo ao marrom.

Ao analisar as Figuras 4.7 C e D, observa-se um pequeno aumento nos valores do módulo do ângulo de cor (*Hue*); esse aumento ocorreu mais lentamente na amostra controle (Figura 4.7 C) do que na amostra exposta à radiação UV. Observa-se, nos primeiros 4 dias de exposição à radiação, um aumento no valor do *Hue* para as microcápsulas com goma arábica, que pode estar associado à rápida degradação das antocianinas que não estavam perfeitamente encapsuladas. Este fato será discutido mais adiante quando da análise da concentração de antocianinas.

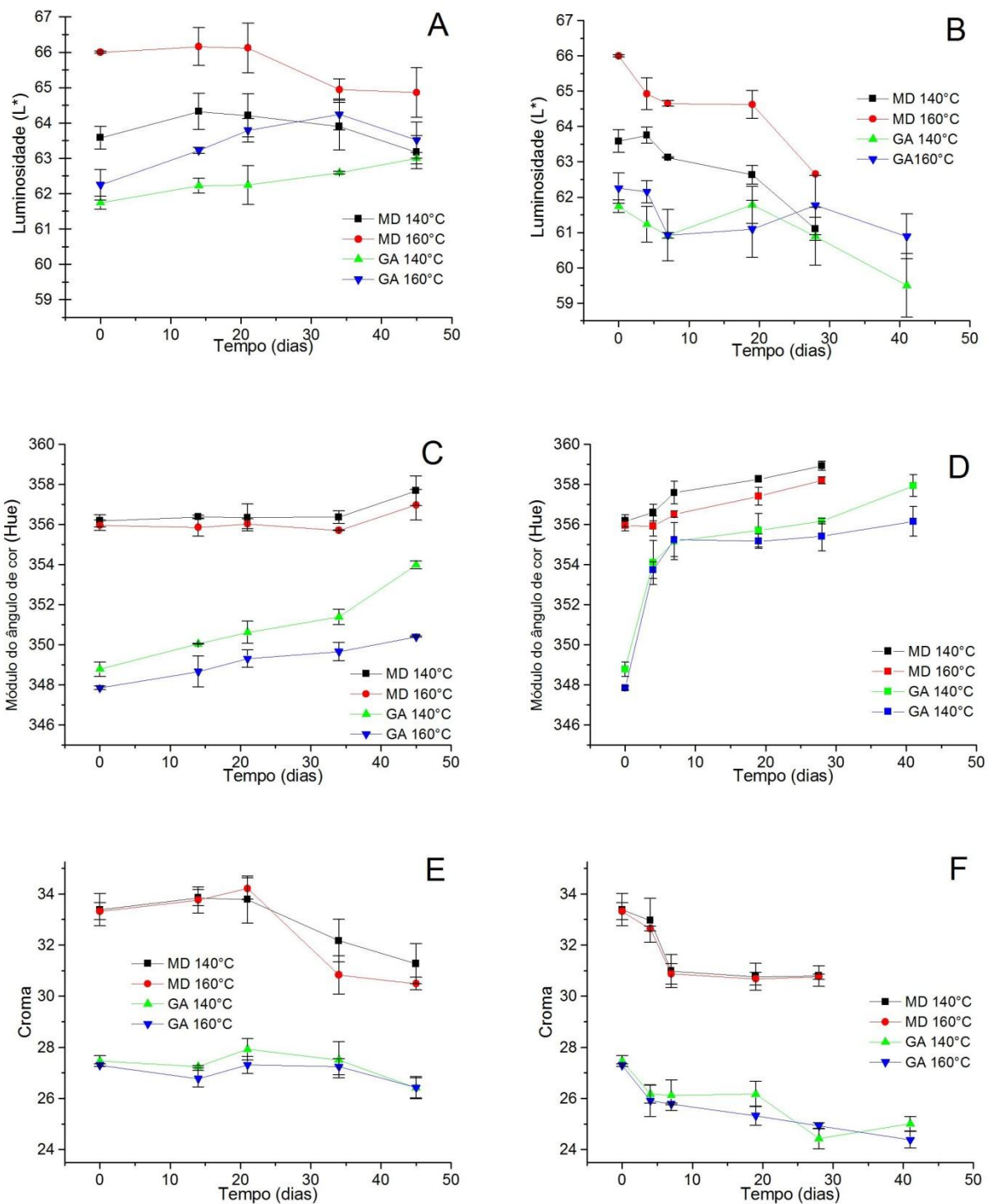


Figura 4.7: Gráficos obtidos para a fotoestabilidade dos parâmetros de cor (luminosidade (A e B), ângulo de cor (C e D) e *cromia* (E e F)) das microcápsulas de acordo com as diferentes condições de produção. Controle: A, C e E; irradiadas B, D e F).

Com relação ao parâmetro de *cromia*, (Figura 4.7 E e F) percebe-se uma diminuição deste parâmetro mais lenta nas amostras controle (4.7 E) quando comparado às amostras

expostas à radiação UV (4.7 F). Relacionando os parâmetros *Hue* e *croma* observa-se que um aumento no *Hue* tende a deslocar a coloração para o amarelo e uma diminuição do parâmetro *croma* torna a coloração da amostra menos intensa, tendendo ao marrom, sendo esses resultados característicos da degradação das antocianinas. A velocidade da mudança desses parâmetros pode ser explicada pela diferente velocidade de degradação das antocianinas submetidas a cada situação: ao abrigo de luz e exposta a radiação UV.

IDHAM; MUHAMAD; SARMIDI (2012) analisaram antocianinas microencapsuladas após determinado tempo de estocagem e também observaram uma diminuição na intensidade da coloração vermelha, bem como seu deslocamento para a coloração amarela com o passar do tempo, atribuindo esse comportamento à degradação das antocianinas durante o armazenamento.

BAKOWSKA (2003) investigou a influência da radiação UV, durante 3 meses de armazenamento e verificou que a irradiação UV teve um efeito mais forte de degradação das antocianinas e da cor do que a luz solar direta.

Na Figura 4.8 são mostrados os gráficos referentes à degradação sofrida pelas antocianinas totais monoméricas dos microparticulados obtidos segundo diferentes condições de tratamento e em relação ao tempo de estocagem ao abrigo de luz (Controle) e expostas à radiação UV.

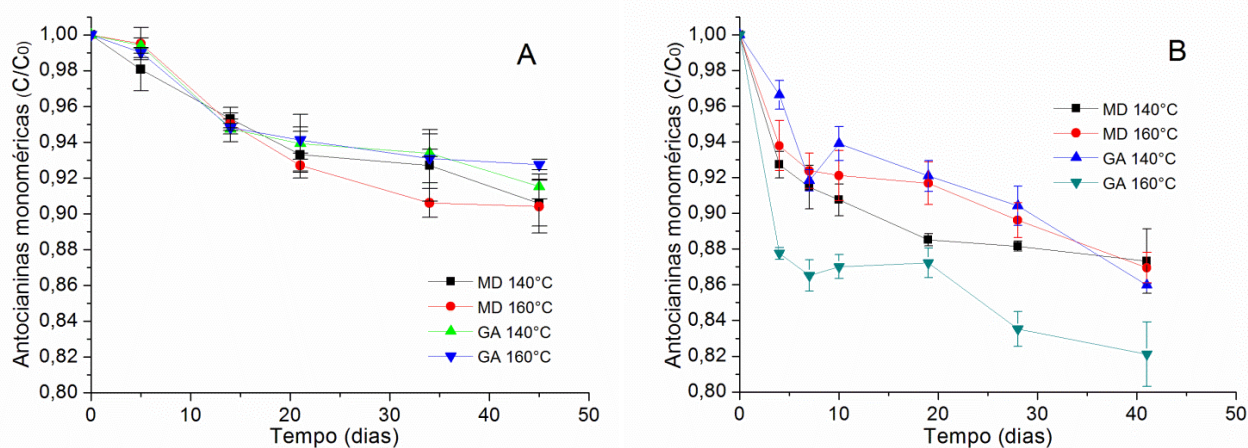


Figura 4.8: Estabilidade do conteúdo de antocianinas totais monoméricas dos microparticulados mantidos ao abrigo de luz (A) e expostos à radiação ultravioleta (B) em função do tempo de acordo com as condições de produção.

Observa-se na Figura 4.8 B uma rápida degradação das antocianinas, de 6 a 14%, em apenas 4 dias de exposição à luz UV, degradando mais lentamente após este período até alcançar de 12 a 18% de degradação no tempo de 41 dias. Tal fato está mais evidenciado para as micropartículas com goma arábica produzidas a 160 °C. Na Figura 4.8 A, a degradação das antocianinas ocorre de forma mais lenta e uniforme, resultando numa degradação em torno de 10% do total após 45 dias. Esse comportamento também foi percebido nos parâmetros de cor analisados, onde a mudança da coloração para as amostras expostas à radiação UV foi mais expressiva nos primeiros 4 dias de análise.

Esse rápido decréscimo na concentração das antocianinas monoméricas totais verificado nos primeiros 4 dias para as amostras expostas a radiação UV, pode estar associado a uma microencapsulação incompleta das antocianinas, resultando em sua degradação antecipada às microencapsuladas com êxito. Após este período de 4 dias, a degradação das antocianinas foi mais amena, o que pode justificar a eficácia das microcápsulas na proteção das antocianinas contra efeitos externos. Comportamento semelhante foi detectado por TONON; BRABET; HUBINGER (2010), verificando duas diferentes cinéticas de degradação, atribuindo esse fato à presença de antocianinas não encapsuladas ou ainda, em contato com o oxigênio presente nos poros ou em bolhas dentro das microcápsulas, as quais degradam mais rapidamente. Segundo essa interpretação, dos pós gerados com maltodextrina, nas temperaturas de ar de secagem de 140 e 160 °C, e goma arábica a 140 °C, em torno de 8% do total de antocianinas presentes não foram microencapsuladas com sucesso, assim como em torno de 13% para o material goma arábica secado a 160 °C (Figura 4.8 B). Para as amostras controle se observam comportamentos semelhantes entre os resultados de degradação segundo os diferentes materiais e temperaturas utilizados, sendo a degradação percebida durante o tempo de análise (45 dias) referente às antocianinas não microencapsuladas, uma vez que durante os 45 dias de análise a concentração das mesmas não decresceram mais do que 10% do total de antocianinas medidas no tempo zero.

A cinética da degradação das antocianinas microencapsuladas submetidas à radiação UV foi analisada, portanto, a partir desse determinado período (4 dias), seguindo uma reação de primeira ordem, o que está de acordo com pesquisas realizadas previamente (IDHAM; MUHAMAD; SARMIDI, 2012).

Na Tabela 4.4 são apresentados os resultados para o valor do coeficiente cinético de degradação das antocianinas expostas à radiação ultravioleta (k), do tempo de meia vida ($t_{1/2}$) e do coeficiente de determinação da curva de ajuste (R^2).

Tabela 4.4: Coeficiente cinético de degradação das antocianinas (k), tempo de meia-vida ($t_{1/2}$) e do coeficiente de determinação da curva de ajuste (R^2) para as diferentes condições de produção expostas à radiação UV.

Amostras	k (dias ⁻¹)*10 ³	$t_{1/2}$ (meses)	R^2
Maltodextrina 140 °C	1,55	14,9	0,946
Maltodextrina 160 °C	1,81	12,7	0,912
Goma Arábica 140 °C	2,96	7,8	0,9812
Goma Arábica 160 °C	1,78	12,9	0,972

Como observado na Tabela 4.4, o maior tempo de meia-vida ($t_{1/2}$) foi obtido pela amostra seca a 140 °C, utilizando maltodextrina como material de parede, resultando num total de 14,9 meses. Os pós secos a 160 °C com maltodextrina e goma arábica apresentaram valores de 12,7 e 12,9 meses, respectivamente. O microencapsulado antociânico obtido por goma arábica a 140 °C apresentou o menor tempo de meia-vida: 7,8 meses.

Resultados semelhantes foram encontrados por ERSUS; YURDAGEL (2007), os quais analisaram pós provenientes da secagem de antocianinas extraídas da cenoura preta com maltodextrina durante 69 dias de estocagem na presença de luz 3000 lx a 25 °C, onde obtiveram um tempo de meia vida de 9 meses.

Com relação à degradação de antocianinas após os 41 dias de exposição à radiação UV encontrados no presente trabalho, que variaram de 12 a 18%, TANTITUVANONT et al. (2008), observaram valores inferiores ao analisar antocianinas extraídas da *Clitoria ternatea* e atomizadas com gelatina e HPMC durante 60 dias expostas à radiação UV, obtendo um percentual de degradação de $61,98 \pm 3,43$ e $81,16 \pm 4,51$ respectivamente a cada carreador.

Os pós mantidos ao abrigo de luz também obedecem à cinética de reação de primeira ordem, porém tiveram sua degradação uniforme desde o tempo zero. A degradação ocorrida, até diminuição de 10% da concentração inicial, pode ser referente às

antocianinas não submetidas ao microencapsulamento, sendo que a partir deste período a reação passa a apresentar cinética mais lenta. TONON; BRABET; HUBINGER (2010) analisaram pós obtidos com antocianinas provindas do açaí armazenados a 25 °C e ao abrigo de luz e chegaram a duas cinéticas de degradação: uma, nos primeiros 60 dias de estocagem, resultando num tempo de meia-vida de 495 dias (16,5 meses) e outra dos 60 aos 120 dias com tempo de meia-vida de 1.386 dias (46 meses). Segundo esses autores, este comportamento se deu devido à presença de antocianinas não microencapsuladas ou em contato com oxigênio presente no interior das microcápsulas, as quais degradaram mais rapidamente que as protegidas pelo material encapsulante, resultando dessa forma em duas cinéticas diferentes.

Os resultados de meia-vida encontrados neste trabalho foram superiores aos encontrados por IDHAM; MUHAMAD; SARMIDI (2012), os quais analisaram a degradação de pós obtidos por *spray dryer* com maltodextrina e goma arábica armazenados ao abrigo de luz a 25 °C, resultando num tempo de meia-vida de 5 e 4,7 meses respectivamente.

Com os resultados obtidos neste trabalho para a degradação das antocianinas, pode-se concluir que ocorrem duas cinéticas de reação diferentes para cada pó analisado. Para as amostras expostas a radiação UV, verifica-se uma cinética mais rápida do tempo zero até o tempo de 4 dias e uma mais lenta do tempo 4 aos 41 dias. A cinética mais rápida não pôde ser determinada, pois durante este período foram realizadas apenas duas análises de concentração de antocianinas, resultando em apenas dois pontos para construção da reta que define a constante cinética de degradação (k). Para as amostras mantidas ao abrigo da luz (controle), verifica-se apenas uma cinética de reação durante os 45 dias de análise, indicando que, até este momento, não se atingiu a degradação necessária para se ter início à cinética mais lenta. Pela diferença entre as duas cinéticas encontradas para as amostras expostas à radiação UV, comprova-se que a microencapsulação por *spray drying* se mostra bastante eficaz na proteção e estabilização das antocianinas extraídas do bagaço de mirtilo frente a fatores adversos do ambiente.

Capítulo 5 – Conclusões e Sugestões para Trabalhos Futuros

O presente trabalho trata da extração e microencapsulação de antocianina proveniente do bagaço da produção de suco de mirtilo. Na etapa de extração, a mesma foi feita utilizando de água acidificada (1% de ácido cítrico) e variando o binômio tempo temperatura de extração, com objetivo de se obter um extrato livre de solventes orgânicos e com bom rendimento em antocianinas extraídas. Na segunda etapa, o extrato obtido com a melhor condição de extração de antocianinas foi submetido ao processo de secagem por atomização (*spray drying*), utilizando-se 15% (m/v) dos materiais de parede (maltodextrina e goma arábica), variando-se as temperaturas de ar de entrada de 140 e 160 °C. As micropartículas obtidas foram analisadas quanto a sua estabilidade quando expostas à radiação UV, bem como realizada uma caracterização físico química do pó obtido.

A extração de antocianinas apresentou um rendimento satisfatório, além de produzir um extrato livre de solventes orgânicos, o que é de grande importância para a indústria de alimentos. A condição de extração que resultou em um extrato com maior concentração de antocianinas foi obtida a 80 °C durante 5 minutos, mostrando que altas temperaturas favorecem a extração das antocianinas e os tempos curtos evitam sua degradação térmica.

A concentração de compostos fenólicos e a atividade antioxidante do extrato do bagaço de mirtilo apresentaram elevados índices de correlação para as diferentes condições extrativas testadas tanto para o método DPPH como para o método ABTS, tendo seus melhores rendimentos na temperatura de 80 °C durante 15 e 45 minutos de extração.

A secagem por atomização mostrou-se eficaz na microencapsulação e estabilização das antocianinas extraídas do bagaço de mirtilo. Não se observaram diferença significativa entre os valores de retenção de antocianinas para as diferentes condições de secagem, que ficaram entre 77,33 e 82,05%. Não foram observadas diferenças significativas entre os teores de umidade e solubilidade dos pós obtidos segundo os diferentes materiais de parede e temperaturas de ar de secagem testados, apresentando valores adequados para a estabilidade do produto.

Os valores de atividade de água encontrados (inferiores a 0,1) ficaram abaixo do valor considerado limite para segurança microbiológica e química do produto, que é igual 0,3.

Os valores de higroscopicidade dos pós obtidos foram semelhantes aos encontrados na literatura, sendo que as micropartículas produzidas com goma arábica apresentaram maior higroscopicidade do que as produzidas com maltodextrina; para um mesmo material de parede, a temperatura mais alta do ar de entrada produziu pós mais higroscópicos.

As partículas formadas a partir da goma arábica apresentaram maior uniformidade em seus diâmetros, enquanto as compostas por maltodextrina tiveram uma variabilidade maior. As curvas de distribuição de tamanhos de partícula para todas as condições testadas apresentaram comportamento bimodal, onde ocorreram dois diâmetros médios de partícula predominantes. Esse comportamento pode ser explicado pela presença de antocianinas não microencapsuladas e com conseqüente menor diâmetro médio.

Pela análise das micrografias obtidas por MEV não foi possível verificar diferenças entre os materiais de parede e temperaturas de secagem testados; o que se pôde observar claramente é o formato esférico com a presença de reentrâncias na superfície das microcápsulas, o que é geralmente atribuído à contração das partículas durante o processo de secagem e resfriamento.

Ao se analisar a estabilidade das antocianinas quando expostas a radiação UV por determinado tempo, percebeu-se que, tanto para os parâmetros de cor como para a concentração de antocianinas, seus valores sofreram uma mudança brusca no início do experimento (primeiros 4 dias), variando mais lentamente a partir desse tempo. Acredita-se que essa degradação das antocianinas verificada nos primeiros 4 dias de experimento seja resultante da degradação das antocianinas não encapsuladas com êxito, estando, dessa forma, mais susceptíveis à degradação provocada pela luz e pelas condições do ambiente externo.

Ao se determinar as cinéticas de reação de degradação das antocianinas microencapsuladas expostas à radiação UV verificou-se a presença de duas cinéticas de

reação. Avaliando a cinética mais lenta, ou seja, a partir do quarto dia de experimento observou-se um comportamento de reação de primeira ordem.

As micropartículas produzidas com maltodextrina na temperatura de ar de entrada de 140°C apresentaram os melhores resultados referentes à estabilidade, resultando num tempo de meia-vida de 14,9 meses.

Este trabalho traz como contribuição para a área de alimentos um produto do reaproveitamento do bagaço de mirtilo (subproduto gerado do processo de extração de sucos) que tem um caráter ambientalmente correto de minimização de resíduos. O produto obtido é rico em antocianinas e compostos fenólicos, livre de solventes orgânicos e estável para posterior utilização como aditivo alimentar.

Como sugestão para trabalhos futuros, cita-se:

- a possibilidade de produção de microcápsulas em outras faixas de temperatura e, também, com outros materiais de parede, o que poderia produzir pós que não estariam sujeitos à degradação brusca nos primeiros dias, conforme foi observado neste trabalho;
- testar a degradação de antocianinas presentes no extrato (sem atomização), para fins de comparação;
- avaliar a estabilidade das micropartículas nos primeiros quatro dias de exposição à radiação UV;
- desenvolvimento de novos produtos que utilizem, em sua formulação, e como corantes, os pós produzidos neste trabalho.

Referências Bibliográficas

- ADAMS, J. B.; WOODMAN, J. S. Thermal degradation of anthocyanins with particular reference to the 3-glycosides of cyanidin. II. The anaerobic degradation of cyanidin-3-rutinoside at 100 °C and pH 3.0 in the presence of sodium sulphite. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 24, n. 7, p. 763–768, 1973.
- AGUILERA, J. M. **Temas en tecnología de alimentos**/. [s.l.] Instituto Politécnico Nacional, 1997.
- ALKEMA, J.; SEAGER, S. L. The chemical pigments of plants. **Journal of Chemical Education**, v. 59, n. 3, p. 183, 1982.
- ANGELO, P. M.; JORGE, N. Phenolic compounds in foods: a brief review. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v. 66, n. 1, p. 1–9, 2007.
- ANTUNES, L. E. C. A cultura do mirtilo. **Pelotas: Embrapa Clima Temperado**, p. 43–54, 2004.
- ANTUNES, L. E. C.; RASEIRA, M. Cultivo do mirtilo (*Vaccinium* spp). **Embrapa Clima Temperado. Sistemas de produção**, v. 8, 2006.
- AOAC. **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. Washington, DC., 1990.
- AOAC. **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. Gaithersburg, Estados Unidos, 2000.
- AOAC. **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. Gaithersburg, Estados Unidos, 2002.
- AUGUSTA, I. M. **Extração e Secagem da Casca de Jambo Vermelho (*Syzygium malaccensis*, (L.) Merryl Et Perry) para obtenção de corante**. [s.l.] Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2011.
- AULTON, M.; WELLS, T. **Pharmaceutics: The science of dosage form design**. 2002.
- AZEREDO, H. M. C. Encapsulação: aplicação à tecnologia de alimentos. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 16, n. 1, p. 89–97, 2008.
- AZEVEDO, B. C. et al. **Modelagem da extração multiestágio e contracorrente aplicada à cana-de-açúcar**. Campinas: Unicamp, 1996.
- BAKER, R. W. **Controlled release of biologically active agents**. [s.l.] John Wiley & Sons, 1987.

- BAKOWSKA, A. The effects of heating, UV irradiation, and storage on stability of the anthocyanin–polyphenol copigment complex. **Food Chemistry**, v. 81, n. 3, p. 349–355, jun. 2003.
- BALESTRO, E. A.; SANDRI, I. G.; FONTANA, R. C. Utilização de bagaço de uva com atividade antioxidante na formulação de barra de cereais. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 13, n. 2, p. 203–209, 2011.
- BANGS, W. E.; REINECCIUS, G. A. Influence of dryer infeed matrices on the retention of volatile flavor compounds during spray drying. **Journal of Food Science**, v. 47, n. 1, p. 254–259, 1982.
- BARBOSA, S. Qualidade de suco em pó de mistura de frutas obtido por spray drying. 2010.
- BASSANI, L. Desenvolvimento de extratos secos nebulizados de *Ilex paraguariensis* St. Hil., Aquifoliaceae (erva-mate) visando a exploração do potencial do vegetal como fonte de produtos. In: **congresso sul-americano da erva-mate, 1. Reuniao tecnica do cone sul sobre a cultura da erva-mate, 2., 1997, Curitiba. Anais. Colombo: EMBRAPA-CNPF, 1997. p.69-88.**, 1997.
- BOBBIO, F. O.; BOBBIO, P. A. **Química do processamento de alimentos: pigmentos**. 2ª. ed. Campinas: [s.n.]. p. 105–120
- BOULTON, R. The Copigmentation of Anthocyanins and Its Role in the Color of Red Wine: A Critical Review. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 52, n. 2, p. 67–87, 2001.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25–30, 1995.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto nº 6.871, de 14 de julho de 2009. Regulamenta a Lei nº 8.918, de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de beb. In: **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. 1. ed. Brasília: [s.n.]. p. 20–29.
- BRASILEIRO, J. S. L. **Microencapsulação de compostos bioativos: inovação em diferentes áreas**. Porto: Universidade Fernando Pessoa, 2011.
- BRAZEL, C. S. Microencapsulation: offering solutions for the food industry. **Cereal foods world.**, v. 44, n. 6, p. 388–390, 1999.
- BRIDLE, P.; TIMBERLAKE, C. F. Anthocyanins as natural food colours: selected aspects. **Food Chemistry**, v. 58, n. 1-2, p. 103–109, 1997.

BUCIĆ-KOJIĆ, A. et al. Effect of Extraction Conditions on the Extractability of Phenolic Compounds from Lyophilised Fig Fruits (*Ficus Carica* L.). **Polish Journal of Food and Nutrition Sciences**, v. 61, n. 3, p. 195–199, 1 set. 2011.

CACACE, J. E.; MAZZA, G. Extraction of Anthocyanins and Other Phenolics from Black Currants with Sulfured Water. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 21, p. 5939–5946, 2002.

CACACE, J. E.; MAZZA, G. Optimization of Extraction of Anthocyanins from Black Currants with Aqueous Ethanol. **Journal of Food Science**, v. 68, n. 1, p. 240–248, 2003.

CAI, Y. Z.; CORKE, H. Production and Properties of Spray-dried *Amaranthus* Betacyanin Pigments. **Journal of Food Science**, v. 65, n. 7, p. 1248–1252, out. 2000.

CAMPOS, A. M.; LISSI, E. A. Kinetics of the reaction between 2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) derived radical cations and phenols. **International Journal of Chemical Kinetics**, v. 29, n. 3, p. 219–224, 1 jan. 1997.

CANO-CHAUCA, M. et al. Effect of the carriers on the microstructure of mango powder obtained by spray drying and its functional characterization. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 6, n. 4, p. 420–428, 2005.

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

CASTREJÓN, A. D. R. et al. Phenolic profile and antioxidant activity of highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) during fruit maturation and ripening. **Food Chemistry**, v. 109, n. 3, p. 564–572, 2008.

CAVALCANTI, R. N.; SANTOS, D. T.; MEIRELES, M. A. A. Non-thermal stabilization mechanisms of anthocyanins in model and food system - An overview. **Food Research International**, v. 44, n. 2, p. 499–509, 2011.

CHANG Y. I.; SCIRE J.; JACOBS B. **Flavor Encapsulation**. Washington, DC: American Chemical Society, 1988. v. 370p. 87–102

CONSTANT, P. B. L. **Extração, caracterização e aplicação de antocianinas de açaí (Euterpe oleraea, M.)**. Viçosa: [s.n.].

COULTRAP, S. J.; BICKFORD, P. C.; BROWNING, M. D. Blueberry-enriched diet ameliorates age-related declines in NMDA receptor-dependent LTP. **Age (Dordr)**, v. 30, n. 4, p. 263–272, 2008.

COUTINHO, A. P. C. **Produção e caracterização de maltodextrinas a partir de amidos de mandioca e batata-doce**. [s.l.] UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA, 2007.

COUTINHO, E. F.; CANTILLANO, R. F. F. Conservação pós-colheita. **Embrapa Clima Temperado**, p. 53–60, 2004.

DA SILVA, F. C. et al. Assessment of production efficiency, physicochemical properties and storage stability of spray-dried propolis, a natural food additive, using gum Arabic and OSA starch-based carrier systems. **Food and Bioproducts Processing**, v. 91, n. 1, p. 28–36, jan. 2013.

DAI, J. et al. A comprehensive study of anthocyanin-containing extracts from selected blackberry cultivars: extraction methods, stability, anticancer properties and mechanisms. **Food and Chemical Toxicology**, v. 47, n. 4, p. 837–847, 2009.

DAVIES, A. J.; MAZZA, G. Copigmentation of simple and acylated anthocyanins with colorless phenolic compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 41, n. 5, p. 716–720, 1993.

DEPYPERE, F. et al. Food powder microencapsulation: principles, problems and opportunities. **Applied Biotechnology, Food Science and Policy**, v. 1, n. 2, p. 75–94, 2003.

DESAI, K. G. H.; JIN PARK, H. Recent Developments in Microencapsulation of Food Ingredients. **Drying Technology**, v. 23, n. 7, p. 1361–1394, 2005.

DESOBRY, S. A.; NETTO, F. M.; LABUZA, T. P. Comparison of Spray-drying, Drum-drying and Freeze-drying for β -Carotene Encapsulation and Preservation. **Journal of Food Science**, v. 62, n. 6, p. 1158–1162, 1997.

DONNELLY, J. K.; ROBINSON, D. S. Free radicals in foods. **Free radical research**, v. 22, n. 2, p. 147–76, fev. 1995.

DRAGOVIĆ-UZELAC, V. et al. Evaluation of Phenolic Content and Antioxidant Capacity of Blueberry Cultivars (*Vaccinium corymbosum* L.) Grown in the Northwest Croatia. **Food Technology and Biotechnology**, v. 48, n. 2, p. 214–221, 10 jun. 2010.

DZIEZAK, J. D. Microencapsulation and encapsulated ingredients. **Food Technology**, v. 42, n. 4, p. 136–151, 1988.

ERSUS, S.; YURDAGEL, U. Microencapsulation of anthocyanin pigments of black carrot (*Daucus carota* L.) by spray drier. **Journal of food engineering**, v. 80, n. 3, p. 805–812, 2007.

FACHINELLO, J. C. Mirtilo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, n. 2, p. 285–576, 2008.

FAN, G. et al. Optimizing conditions for anthocyanins extraction from purple sweet potato using response surface methodology (RSM). **LWT - Food Science and Technology**, v. 41, n. 1, p. 155–160, 2008.

FAO. **FAOSTAT**. Disponível em: <<http://faostat3.fao.org/faostat-gateway/go/to/download/Q/QC/E>>. Acesso em: 5 jan. 2014.

FARIA, A. et al. Antioxidant properties of prepared blueberry (*Vaccinium myrtillus*) extracts. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 53, n. 17, p. 6896–902, 24 ago. 2005.

FELLOWS, P. J. **Tecnologia do Processamento de Alimentos: Princípios e Prática**. 2°. ed. [s.l.] Publishing, Whoodhead Ltda, 2006. p. 602

FENNEMA, O. R.; DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L. **Fennema's Food Chemistry**. [s.l.] CRC Press, 2008.

FERNANDES, L. P.; CANDIDO, R. C.; OLIVEIRA, W. P. Spray drying microencapsulation of *Lippia sidoides* extracts in carbohydrate blends. **Food and Bioproducts Processing**, v. 90, n. 3, p. 425–432, jul. 2012.

FERRARI, C. C.; RIBEIRO, C. P.; AGUIRRE, J. M. DE. **Spray drying of blackberry pulp using maltodextrin as carrier agent**. **Brazilian Journal of Food Technology**, 2012. Disponível em: <<http://www.bv.fapesp.br/pt/publicacao/57745/spray-drying-blackberry-pulp-maltodextrin/>>. Acesso em: 23 abr. 2014

FRANCIS, F. J.; MARKAKIS, P. C. Food colorants: Anthocyanins. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 28, n. 4, p. 273–314, 1989.

FRANCIS, F. J.; PERICLES, M. Chapter 7 - Analysis of Anthocyanins. In: **Anthocyanins As Food Colors**. [s.l.] Academic Press, 1982. p. 181–207.

FRASCARELI, E. C. et al. Effect of process conditions on the microencapsulation of coffee oil by spray drying. **Food and Bioproducts Processing**, v. 90, n. 3, p. 413–424, jul. 2012.

GALLETTA, G. J.; BALLINGTON, J. R. Blueberries, cranberries and lingonberries. **Fruit breeding**, v. 2, p. 1–107, 1996.

GAO, L.; MAZZA, G. Extraction of Anthocyanin Pigments from Purple Sunflower Hulls. **Journal of Food Science**, v. 61, n. 3, p. 600–603, 1996.

GARCÍA-GUTIÉRREZ, C. et al. Microencapsulación de jugo de cebada verde mediante secado por aspersión microencapsulation of barley green juice by spray drying microencapsulación de zume de cebada verde mediante secado por aspersión. **CYTA-Journal of Food**, v. 4, n. 4, p. 262–266, 2004.

GEISSMAN, T. A. **The chemistry of flavonoid compounds**. New York: Macmillan, 1962. p. 666 p.

GHARSALLAOUI, A. et al. Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. **Food Research International**, v. 40, n. 9, p. 1107–1121, 2007.

GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R. E. Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. In: **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**. [s.l.] John Wiley & Sons, Inc., 2001.

GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R. E. Acylated anthocyanins from edible sources and their applications in food systems. **Biochemical Engineering Journal**, v. 14, n. 3, p. 217–225, 2003.

GOTO, T.; KONDO, T. Structure and Molecular Stacking of Anthocyanins—Flower Color Variation. **Angewandte Chemie International Edition in English**, v. 30, n. 1, p. 17–33, 1991.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. **Free Radicals in Biology and Medicine**. [s.l.] Oxford University Press, USA, 2007. p. 704

HENDRY, G. A. F. et al. Anthocyanins and betalains. In: **Natural Food Colorants**. [s.l.] Springer US, 1996. p. 244–309.

HERTER, F. G.; WREGE, M. S. **Fatores Climáticos Embrapa Clima Temperado**. Pelotas, 2007. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Mirtilo/SistemaProducaoMirtilo/fatores.htm>>

HOFFMAN, A.; ANTUNES, L. E. C. Mirtilo: Grande Potencial. **Cultivar- hortaliças e frutas**, v. 5, p. 28–30, 2004.

IDHAM, Z.; MUHAMAD, I. I.; SARMIDI, M. R. Degradation kinetics and color stability of spray-dried encapsulated anthocyanins from Hibiscus Sabdariffa L. **Journal of Food Process Engineering**, v. 35, n. 4, p. 522–542, 3 ago. 2012.

JACKMAN, R. L.; YADA, R. Y.; TUNG, M. A. A review: separation and chemical properties of anthocyanins used for their qualitative and quantitative analysis. **Journal of Food Biochemistry**, v. 11, n. 4, p. 279–308, 1987.

JIMÉNEZ-AGUILAR, D. M. et al. Color and chemical stability of spray-dried blueberry extract using mesquite gum as wall material. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 24, n. 6, p. 889–894, 1995.

KADER, F. et al. Fractionation and identification of the phenolic compounds of Highbush blueberries (*Vaccinium corymbosum*, L.). **Food Chemistry**, v. 55, n. 1, p. 35–40, 1996.

KALT, W.; MCDONALD, J. E.; DONNER, H. Anthocyanins, Phenolics, and Antioxidant Capacity of Processed Lowbush Blueberry Products. **Journal of Food Science**, v. 65, n. 3, p. 390–393, 2000.

KAUL, T. N.; MIDDLETON, E.; OGRA, P. L. Antiviral effect of flavonoids on human viruses. **Journal of Medical Virology**, v. 15, n. 1, p. 71–79, 1985.

KECHINSKI, C. P. et al. Degradation Kinetics of Anthocyanin in Blueberry Juice during Thermal Treatment. **Journal of Food Science**, v. 75, n. 2, p. C173–C176, 2010.

KECHINSKI, C. P. **Estudo de diferentes formas de processamento do mirtilo visando à preservação dos compostos antociânicos**. [s.l.] Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2011.

KENYON, M. M. **Modified starch, maltodextrin, and corn syrup solids as wall materials for food encapsulation** ACS Symposium Series. **Anais**. ACS Publications, 1995

KHANAL, R. C.; HOWARD, L. R.; PRIOR, R. L. Effect of heating on the stability of grape and blueberry pomace procyanidins and total anthocyanins. **Food Research International**, v. 43, n. 5, p. 1464–1469, 2010.

KLUGE, R. A.; HOFFMANN, A.; BILHALVA, A. B. Comportamento de frutos de mirtilo (*Vaccinium ashei* Reade) cv. Powder Blue em armazenamento refrigerado. **Ciência Rural, Santa Maria**, v. 24, n. 2, p. 281–285, 1994.

KONG, J.-M. et al. Analysis and biological activities of anthocyanins. **Phytochemistry**, v. 64, n. 5, p. 923–933, 2003.

KRINSKY, N. I. The biological properties of carotenoids. **Pure and Applied Chemistry**, v. 66, n. 5, p. 1003–1010, 1994.

KUSKOSKI, E. M. et al. Actividad antioxidante de pigmentos antociânicos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, p. 691–693, 2004.

LAPORNIK, B.; PROSEK, M.; GOLC WONDRA, A. Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time. **Journal of Food Engineering**, v. 71, n. 2, p. 214–222, 2005.

LARRAURI, J. A.; RUPÉREZ, P.; SAURA-CALIXTO, F. Effect of Drying Temperature on the Stability of Polyphenols and Antioxidant Activity of Red Grape Pomace Peels. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, n. 4, p. 1390–1393, abr. 1997.

LEE, J.; DURST, R. W.; WROLSTAD, R. E. Impact of Juice Processing on Blueberry Anthocyanins and Polyphenolics: Comparison of Two Pretreatments. **Journal of Food Science**, v. 67, n. 5, p. 1660–1667, 2002.

- LEE, J.; DURST, R. W.; WROLSTAD, R. E. Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: Collaborative study. **Journal of AOAC international**, v. 88, n. 5, p. 1269–1278, 2005.
- LEE, J.; WROLSTAD, R. E. Extraction of anthocyanins and polyphenolics from blueberry processing waste. **Journal of Food Science**, v. 69, n. 7, p. 564–573, 2004.
- LILA, M. A. Anthocyanins and Human Health: An In Vitro Investigative Approach. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, v. 2004, n. 5, p. 306–313, 2004.
- LIMA, V. L. A. G. DE; MÉLO, E. DE A.; LIMA, D. E. DA S. Fenólicos e carotenóides totais em pitanga. **Scientia Agricola**, v. 59, n. 3, p. 447–450, set. 2002.
- LOHACHOOMPOL, V. et al. Determination of anthocyanins in various cultivars of highbush and rabbiteye blueberries. **Food Chemistry**, v. 111, n. 1, p. 249–254, 2008.
- LOPEZ, P. et al. Inactivation of peroxidase, lipoxygenase, and polyphenol oxidase by manothermosonication. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 42, n. 2, p. 252–256, 1994.
- LOTFI, L. et al. Effects of sulfur water extraction on anthocyanins properties of tepals in flower of saffron (*Crocus sativus* L). **Journal of Food Science and Technology**, p. 1–9, 2013.
- MADENE, A. et al. Flavour encapsulation and controlled release – a review. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 41, n. 1, p. 1–21, 2006.
- MAIN, J. H.; CLYDESDALE, F. M.; FRANCIS, F. J. Spray drying anthocyanin concentrates for use as food colorants. **Journal of Food Science**, v. 43, n. 6, p. 1693–1694, 1978.
- MALACRIDA, C. R. Compostos fenólicos totais e antocianinas em suco de uva. **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, p. 659–664, 2005.
- MALACRIDA, C. R.; MOTTA, S. DA. **Antocianinas em suco de uva: composição e estabilidade**. [s.l.: s.n.].
- MANTHEY, J. et al. Recent Advances in the Discovery and Development of Flavonoids and their Analogues as Antitumor and Anti-Hiv Agents. In: **Flavonoids in the Living System**. [s.l.] Springer US, 1998. v. 439p. 191–225.
- MARÇO, P. H.; POPPI, R. J.; SCARMINIO, I. S. Procedimentos analíticos para identificação de antocianinas presentes em extratos naturais. **Química Nova**, v. 31, p. 1218–1223, 2008.
- MARKAKIS, P.; PERICLES, M. Chapter 6 - Stability of Anthocyanins in Foods. In: **Anthocyanins As Food Colors**. [s.l.] Academic Press, 1982. p. 163–180.

- MASTERS, K. **Spray drying handbook**. Londres: [s.n.].
- MAZZA, G.; BROUILLARD, R. The mechanism of co-pigmentation of anthocyanins in aqueous solutions. **Phytochemistry**, v. 29, n. 4, p. 1097–1102, 1990.
- MCNAMEE, B. F.; O'RIORDA, E. D.; O'SULLIVAN, M. Emulsification and microencapsulation properties of arabic gum. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, n. 11, p. 4551–4555, 1998.
- MELLO, E. A.; GUERRA, N. B. Ação antioxidante de compostos fenólicos naturalmente presentes em alimentos. **Boletim da SBCTA, Campinas**, v. 1, n. 36, p. 1–11, 2002.
- METIVIER, R. P.; FRANCIS, F. J.; CLYDESDALE, F. M. Solvent extraction of anthocyanins from wine pomace. **Journal of Food Science**, v. 45, n. 4, p. 1099–1100, 1980.
- MILARDOVIĆ, S.; IVEKOVIĆ, D.; GRABARIĆ, B. S. A novel amperometric method for antioxidant activity determination using DPPH free radical. **Bioelectrochemistry (Amsterdam, Netherlands)**, v. 68, n. 2, p. 175–80, maio 2006.
- MINOLTA, K. **Precise color communication: color control from feeling to instrumentation**. Osaka Japan: Minolta, 1994.
- MORAES, J. O. DE et al. Estudo do mirtilo (*Vaccinium ashei* Reade) no processamento de produtos alimentícios. **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, p. 18–22, 2007.
- MOREIRA, G. E. G. Obtenção e caracterização de extrato microencapsulado de resíduo agroindustrial de acerola. **PPGEQ/Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Natal-RN (Dissertação de Mestrado)**, 2007.
- MOREIRA, G. É. G. et al. Physical properties of spray dried acerola pomace extract as affected by temperature and drying aids. **LWT - Food Science and Technology**, v. 42, n. 2, p. 641–645, mar. 2009.
- NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of chromatography. A**, v. 1054, p. 95–111, 2004.
- NICOUÉ, E. É.; SAVARD, S.; BELKACEMI, K. Anthocyanins in Wild Blueberries of Quebec. Extraction and Identification. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 14, p. 5626–5635, 2007.
- NIJVELDT, R. J. et al. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. **Am J Clin Nutr**, v. 74, n. 4, p. 418–425, 2001.
- OANCEA, S.; STOIA, M.; COMAN, D. Effects of Extraction Conditions on Bioactive Anthocyanin Content of *Vaccinium Corymbosum* in the Perspective of Food Applications. **Procedia Engineering**, v. 42, n. 0, p. 489–495, 2012.

OLIVEIRA, O.; PETROVICK, P. Secagem por aspersão (spray drying) de extratos vegetais: bases e aplicações. **Rev Bras Farmacogn**, 2010.

PALAMIDIS, N.; MARKAKIS, P. Stability of grape anthocyanin in a carbonated beverage. **Journal of Food Science**, v. 40, n. 5, p. 1047–1049, 1975.

PAZMIÑO-DURÁN, A. E. et al. Anthocyanins from *Oxalis triangularis* as potential food colorants. **Food Chemistry**, v. 75, n. 2, p. 211–216, 2001.

PELIZER, Lúcia Helena; PONTIERI, Márcia Helena; DE OLIVEIRA MORAES, Iracema. Utilização de resíduos agro-industriais em processos biotecnológicos como perspectiva de redução do impacto ambiental. **Journal of Technology Management & Innovation**, v. 2, n. 1, p. 118-127, 2007.

PÉREZ-ALONSO, C. et al. Estimation of the activation energy of carbohydrate polymers blends as selection criteria for their use as wall material for spray-dried microcapsules. **Carbohydrate Polymers**, v. 53, n. 2, p. 197–203, 2003.

POTHAKAMURY, U. R.; BARBOSA-CÁ; NOVAS, G. V. Fundamental aspects of controlled release in foods. **Trends in Food Science & Technology**, v. 6, n. 12, p. 397–406, 1995.

PRIOR, R. L. et al. Antioxidant Capacity As Influenced by Total Phenolic and Anthocyanin Content, Maturity, and Variety of *Vaccinium* Species. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, n. 7, p. 2686–2693, 1998.

QUADRY, T. J. et al. Antocianinas: uma breve revisão das características estruturais e da estabilidade. **R. Bras. Agrociência**, v. 3, n. 3, p. 291–297, 2007.

QUEK, S. Y.; CHOK, N. K.; SWEDLUND, P. The physicochemical properties of spray-dried watermelon powders. **Chemical Engineering and Processing: Process Intensification**, v. 46, n. 5, p. 386–392, maio 2007.

RAFFIN, R. P. et al. Increasing sodium pantoprazole photostability by microencapsulation: effect of the polymer and the preparation technique. **European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics: official journal of Arbeitsgemeinschaft für Pharmazeutische Verfahrenstechnik e.V**, v. 69, n. 3, p. 1014–8, ago. 2008.

RASEIRA, M.; ANTUNES, L. E. C. A Cultura do mirtilo. **Embrapa Clima Temperado. Documentos**, v. 121, 2004.

RASEIRA, M. DO C. B.; FRANZON, R. C. Melhoramento genético e cultivares de amora-preta e mirtilo. **Informe Agropecuário, Belo Horizonte**, v. 33, n. 268, p. 11–20, 2012.

RÉ, I. M. Microencapsulation by spray drying. **Drying Technology**, v. 16, n. 6, p. 1195–1236, 1998.

RE, R. et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, n. 9–10, p. 1231–1237, 1999.

REBELLO, F. D. F. P. Microencapsulação de ingredientes alimentícios. **Revista Agrogeoambiental**, v. 1, n. 3, 2009.

RECHNER, A. R.; KRONER, C. Anthocyanins and colonic metabolites of dietary polyphenols inhibit platelet function. **Thrombosis Research**, v. 116, n. 4, p. 327–334, 2005.

REIN, M. **Copigmentation Reactions and Color Stability of Berry Anthocyanins**. [s.l.] University of Helsinki, 2005.

REINECCIUS, G. A. **Spray-drying of food flavors**. ACS Publications, , 1988.

RENARD, D. et al. Acacia senegal Gum: Continuum of Molecular Species Differing by Their Protein to Sugar Ratio, Molecular Weight, and Charges. **Biomacromolecules**, v. 7, n. 9, p. 2637–2649, 2006.

REVILLA, E.; RYAN, J.-M.; MARTÍN-ORTEGA, G. Comparison of Several Procedures Used for the Extraction of Anthocyanins from Red Grapes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, n. 11, p. 4592–4597, 1998.

RIBEIRO, A. A.; AZEVEDO, E. C.; NACHTIGAL, J. C. Produção de sucos de frutas como alternativa para agroindústria familiar. **Cadernos de Agroecologia**, v. 6, 2011.

RICE-EVANS, C. A.; MILLER, N. J.; PAGANGA, G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 20, n. 7, p. 933–956, 1996.

ROCKENBACH, I. I. et al. Antioxidante activity of grape bagasse extracts from Regente and Pinot Noir varieties (*Vitis vinifera*). **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v. 66, n. 2, p. 158–163, 2007.

ROCKENBACH, I. I. et al. Influência do solvente no conteúdo total de polifenóis, antocianinas e atividade antioxidante de extratos de bagaço de uva (*Vitis vinifera*) variedades Tannat e Anceleta. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, p. 238–244, dez. 2008.

RODRIGUES, R. Preparo, caracterização e avaliação funcional de microcápsulas obtidas por spray drying, contendo extrato de café crioconcentrado. 2004.

RODRIGUES, S. Á. et al. Influência da cultivar nas características físicas, químicas e sensoriais de topping de mirtilo. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 1, n. 1, 2007.

ROSA, E. D.; TSUKADA, M.; FREITAS, L. A. P. Secagem por atomização na indústria alimentícia: fundamentos e aplicações. v. 11, n. 09, p. 7, 2001.

ROSENBERG, M.; KOPELMAN, I. J.; TALMON, Y. Factors affecting retention in spray-drying microencapsulation of volatile materials. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 38, n. 5, p. 1288–1294, 1990.

ROSENTHAL, A. . et al. Processo de produção. In: Iniciando um pequeno grande negócio agroindustrial: polpa e suco de frutas. **Embrapa Informação Tecnológica: Embrapa Hortaliças: SEBRAE**, p. 123, 2003.

ROSSI, M. et al. Effect of fruit blanching on phenolics and radical scavenging activity of highbush blueberry juice. **Food Research International**, v. 36, n. 9-10, p. 999–1005, 2003.

RUFINO, M. DO S. M. et al. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura de Radical Livre DPPH. **Embrapa Agroindústria Tropical Comunicado Técnico 127**, v. a, n. 1679-6535, p. 4p, 2007.

RUFINO, M. DO S. M. et al. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre ABTS. **Embrapa Agroindústria Tropical Comunicado Técnico 128**, v. b, n. 1679-6535, p. 4p, 2007.

SANDI, D. et al. Correlações entre características físico-químicas e sensoriais em suco de maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* var. *flavicarpa*) durante o armazenamento. **Food Science and Technology (Campinas)**, v. 23, p. 355–361, 2003.

SANT'ANNA, V. et al. Tracking bioactive compounds with colour changes in foods – A review. **Dyes and Pigments**, v. 98, n. 3, p. 601–608, set. 2013.

SANTOS, A. B.; FERREIRA, V. P.; GROSSO, C. R. F. Microcápsulas: uma alternativa viável. **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento, Brasília, ano**, v. 3, 2000.

SANTOS, A. M. DOS et al. Sistema de Produção do Mirtilo. **Embrapa Clima Temperado**, 2007.

SANTOS, A. M. DOS; RASEIRA, M. C. B. A cultura do mirtilo. **Pelotas: Embrapa Clima Temperado**, 2002.

SANTOS, A. M. DOS; RASEIRA, M. DO C. B. **O cultivo do mirtilo**. [s.l.] Embrapa Clima Temperado, 2002.

SAPERS, G. M. Browning of foods: control by sulfites, antioxidants, and other means. **Food Technology**, v. 47, 1993.

SARAWADE, P. B. et al. Effect of drying technique on the physicochemical properties of sodium silicate-based mesoporous precipitated silica. **Applied Surface Science**, v. 258, n. 2, p. 955–961, 2011.

- SHAHIDI, F. **Natural Antioxidants: Chemistry, Health Effects, and Applications**. [s.l.: s.n.].
- SHAHIDI, F.; HAN, X.-Q. Encapsulation of food ingredients. **Critical Reviews in Food Science & Nutrition**, v. 33, n. 6, p. 501–547, 1993.
- SHAHIDI, F.; NACZK, M. **Food phenolics: sources, chemistry, effects, applications**. [s.l.] Technomic publishing company Lancaster, 1995.
- SHUKITT-HALE, B. et al. Beneficial effects of fruit extracts on neuronal function and behavior in a rodent model of accelerated aging. **Neurobiology of Aging**, v. 28, n. 8, p. 1187–1194, 2007.
- SILVA, W. S. DA. **Qualidade e atividade antioxidante em frutos de variedades comerciais de aceroleira (Malpighia emarginata D.C)**. [s.l.: s.n.].
- SILVA, P. I. et al. Parameter optimization for spray-drying microencapsulation of jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) peel extracts using simultaneous analysis of responses. **Journal of Food Engineering**, v. 117, n. 4, p. 538–544, ago. 2013.
- SILVA, P. I.; STRINGHETA, P. C. **Otimização da extração e microencapsulamento de polifenóis e antocianinas de jaboticaba (Myrciaria jaboticaba)**. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2011.
- SILVA, Roberta S.; VENDRUSCOLO, João L.; TORALLES, Ricardo P. Avaliação da capacidade antioxidante em frutas produzidas na região sul do rs. **Current Agricultural Science and Technology**, v. 17, n. 3, 2013.
- SILVEIRA, NGA; VARGAS, P. N.; ROSA, C. S. Teor de polifenóis e composição química do mirtilo do grupo highbush. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 18, n. 4, p. 365-370, 2008.
- SINELLI, N. et al. Evaluation of quality and nutraceutical content of blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.) by near and mid-infrared spectroscopy. **Postharvest Biology and Technology**, v. 50, n. 1, p. 31–36, out. 2008.
- SKREDE, G.; WROLSTAD, R. E.; DURST, R. W. Changes in Anthocyanins and Polyphenolics During Juice Processing of Highbush Blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.). **Journal of Food Science**, v. 65, n. 2, p. 357–364, 2000.
- SOBRINHO, E. C. DE S.; FARIAS, M. C. A microencapsulação na indústria alimentícia. **Pharmacia Brasileira**, v. 24, n. 1-3, p. 84–92, 2012.
- SOUZA, M. B. et al. Mirtilo: qualidade pós-colheita. **Agro Divulgação**, v. 556, n. 8, 2007.
- SPADA, J. C. et al. Uso do amido de pinhão como agente encapsulante. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.

SPANOS, G. A.; WROLSTAD, R. E.; HEATHERBELL, D. A. Influence of processing and storage on the phenolic composition of apple juice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 38, n. 7, p. 1572–1579, jul. 1990.

STARR MS, F. F. J. Oxygen and ascorbic acid effect on the relative stability of four anthocyanin pigments in cranberry juice. **Food Tech**, v. 22, p. 1293–1295, 1968.

STATSOFT. **STATISTICA (data analysis software system)**, 2012. Disponível em: <www.statsoft.com.>

STRINGHETA, P. C.; BOBBIO, P. A. Copigmentação de antocianinas. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, v. 14, p. 34–37, 2000.

SU, M.-S.; SILVA, J. L. Antioxidant activity, anthocyanins, and phenolics of rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei*) by-products as affected by fermentation. **Food Chemistry**, v. 97, n. 3, p. 447–451, 2006.

SUAVE, J. et al. Microencapsulação: Inovação em diferentes Áreas. **Revista Saúde e Ambiente**, v. 7, n. 2, p. 12–20, 2009.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. [s.l.: s.n.].

TANTITUVANONT, A. Preparation and stability of butterfly pea color extract loaded in microparticles prepared by spray drying. **Thai J. Pharm.**, 2008.

TIMBERLAKE, C. F.; BRIDLE, P. Flavylium salts, anthocyanidins and anthocyanins II.—Reactions with sulphur dioxide. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 18, n. 10, p. 479–485, 1967.

TONELI, J. T. DE C. L. et al. Effect of moisture on the microstructure of inulin powder. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 2008. Disponível em: <<http://www.scientificcircle.com/en/92219/effect-moisture-microstructure-inulin-powder/>>. Acesso em: 8 maio. 2014.

TONON, R. V.; BRABET, C.; HUBINGER, M. D. Influência da temperatura do ar de secagem e da concentração de agente carreador sobre as propriedades físico-químicas do suco de açaí em pó. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n. 2, p. 444–450, jun. 2009.

TONON, R. V.; BRABET, C.; HUBINGER, M. D. Influence of process conditions on the physicochemical properties of açaí (*Euterpe oleraceae* Mart.) powder produced by spray drying. **Journal of Food Engineering**, v. 88, n. 3, p. 411–418, 2008.

TONON, R. V. et al. Physicochemical and morphological characterisation of açaí (*Euterpe oleraceae* Mart.) powder produced with different carrier agents. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 44, n. 10, p. 1950–1958, out. 2009.

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

TRUBIANO, P. C.; LACOURSE, N. L. Emulsion stabilizing starches. **RISCH, SJ; REINECCIUS, GA Flavor encapsulation. Washington, DC: ACS**, p. 45–54, 1988.

VALDUGA, E. et al. Extração, secagem por atomização e microencapsulamento de antocianinas do bagaço da uva isabel (*Vitis labrusca*). **Ciência e Agrotecologia**, v. 32, n. 5, p. 1568-1574, 2008.

VASCONCELOS, S. M. L. et al. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. **Química Nova**, v. 30, n. 5, p. 1323–1338, out. 2007.

VIZZOTTO, M. Propriedades funcionais das pequenas frutas. **Informe agropecuário**, v. 33, n. 268, p. 84–88, 2012.

VOLP, A. C. P. et al. Flavonóides antocianinas: características e propriedades na nutrição e saúde. **REVISTA BRASILEIRA DE NUTRIÇÃO CLÍNICA**, v. 23, n. 2, p. 141–149, 2008.

WANG, L.; WELLER, C. L. Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. **Trends in Food Science & Technology**, v. 17, n. 6, p. 300–312, 2006.

WANG, L.-S.; STONER, G. D. Anthocyanins and their role in cancer prevention. **Cancer Letters**, v. 269, n. 2, p. 281–290, 2008.

WATERHOUSE, A. L. **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc., 2001.

WEISS, J.; TAKHISTOV, P.; MCCLEMENTS, D. J. Functional Materials in Food Nanotechnology. **Journal of Food Science**, v. 71, n. 9, p. R107–R116, 2006.

WILSON, N.; SHAH, N. P. Microencapsulation of Vitamins. **ASEAN Food Journal**, v. 14, n. 1, p. 1–14, 2007.

WINEFIELD, C. et al. Anthocyanins as Food Colorants. In: **Anthocyanins**. [s.l.] Springer New York, 2009. p. 284–304.

WROLSTAD, R. E.; DURST, R. W.; LEE, J. Tracking color and pigment changes in anthocyanin products. **Trends in Food Science & Technology**, v. 16, n. 9, p. 423–428, 2005.

XAVIER, M. F. et al. Extraction of red cabbage anthocyanins: optimization of the operation conditions of the column process. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 51, p. 143–152, 2008.

ZHANG, Y.; VAREED, S. K.; NAIR, M. G. Human tumor cell growth inhibition by nontoxic anthocyanidins, the pigments in fruits and vegetables. **Life Sciences**, v. 76, n. 13, p. 1465–1472, 2005.