

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

Mariane Santos Dorneles

**EXTRAÇÃO ASSISTIDA POR MICRO-ONDAS E ULTRASSOM DE COMPOSTOS
BIOATIVOS DAS BRÁCTEAS DA *Araucaria angustifolia* E SEU
ENCAPSULAMENTO POR ATOMIZAÇÃO E LIOFILIZAÇÃO**

Porto Alegre

2019

Mariane Santos Dorneles

**EXTRAÇÃO ASSISTIDA POR MICRO-ONDAS E ULTRASSOM DE COMPOSTOS
BIOATIVOS DAS BRÁCTEAS DA *Araucaria angustifolia* E SEU
ENCAPSULAMENTO POR ATOMIZAÇÃO E LIOFILIZAÇÃO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos do Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Caciano Pelayo Zapata Noreña

Porto Alegre

2019

CIP - Catalogação na Publicação

Dorneles, Mariane Santos
EXTRAÇÃO ASSISTIDA POR MICRO-ONDAS E ULTRASSOM DE
COMPOSTOS BIOATIVOS DAS BRÁCTEAS DA *Araucaria
angustifolia* E SEU ENCAPSULAMENTO POR ATOMIZAÇÃO E
LIOFILIZAÇÃO / Mariane Santos Dorneles. -- 2019.
122 f.
Orientador: Caciano Pelayo Zapata Noreña.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Instituto de Ciência e Tecnologia
de Alimentos, Programa de Pós-Graduação em Ciência e
Tecnologia de Alimentos, Porto Alegre, BR-RS, 2019.

1. Brácteas de *Araucaria angustifolia*. 2. Extração
assistida por micro-ondas. 3. Compostos fenólicos. 4.
Taninos condensados. 5. Encapsulamento. I. Noreña,
Caciano Pelayo Zapata, orient. II. Título.

Mariane Santos Dorneles

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

EXTRAÇÃO ASSISTIDA POR MICRO-ONDAS E ULTRASSOM DE COMPOSTOS
BIOATIVOS DAS BRÁCTEAS DA *Araucaria angustifolia* E SEU ENCAPSULAMENTO
POR ATOMIZAÇÃO E LIOFILIZAÇÃO

Submetido como requisito parcial para obtenção do título de:

MESTRE EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (PPGCTA)
Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)

Aprovada em: ____ / ____ / ____

Pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. Caciano Pelayo Zapata Noreña

Orientador – PPGCTA/UFRGS

Prof. Dr. Éder Cláudio Lima

Banca – UFRGS

Prof^a Dr^a. Juliane Elisa Welke - UFRGS

Banca – PPGCTA/UFRGS

Prof^a Dr^a. Paula Rossini Augusti – UFRGS

Banca – PPGCTA/UFRGS

Homologada em: ____ / ____ / ____

Por:

Prof. Dr. Eliseu Rodrigues

Coordenador do Programa de Pós-
Graduação em Ciência e Tecnologia de
Alimentos (PPGCTA-ICTA/UFRGS)

Prof^a. Dr^a. Simone Hickmann Flôres

Diretora do Instituto de Ciência e
Tecnologia de Alimentos ICTA/UFRGS

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a “Energia” criadora da vida, pela proteção e pelas conquistas.

A minha família agradeço pelo amor incondicional, o apoio em todos os momentos e a compreensão pela ausência. Sem vocês nada seria possível, e nada teria valor. Pai e mãe obrigada por tudo! Rafaela, Valentina e Tiago (cunhado), obrigada por estarem sempre presentes em minha vida, pela parceria nas horas boas e ruins.

Ao meu marido Tiago, não há palavra que mensure o que sinto por ti. Obrigada por encarar meus sonhos junto comigo. Por compreender minha ausência, minhas angústias, minha irritação... E fazer meus dias felizes. Te amo!

Ao meu Orientador Caciano, minha gratidão pela acolhida e ensinamentos recebidos. Agradeço pela confiança depositada na minha pessoa, e por todo o apoio para a realização deste trabalho. Fico imensamente feliz em ter como Orientador um profissional comprometido, responsável e ético que és. Meu muito obrigada de coração.

À Luana (Lu), aquela pequena grande mulher que conheci em um dia de seleção, e que de cara simpatizei, e quem diria que ela se tornaria a melhor vizinha que se pode ter? Com certeza o mestrado não seria igual sem a presença desta que se tornou uma grande amiga, que sempre me acolheu, ajudou e aturou nos momentos mais tensos deste período. Obrigada por tudo!

À Liliana (Lili), que me aguentou perguntando tudinho naqueles primeiros dias (desesperadores) de Lab, e que em apenas um dia de conversa já tínhamos contado uma boa parte de nossa vida. Obrigada por me ouvir, por me ajudar e por ter se tornando tão importante na minha vida, e desculpa o meu jeito “sincero” de ser.

Ao Cassiano (Júnior), não tenho palavras para descrever minha gratidão! Sem a tua ajuda eu não teria conseguido. Obrigada por ter feito parte de cada etapa deste trabalho, desde o recebimento das amostras até a última palavra escrita.

À Fernanda (Fê) e ao Loleny (Lole) que fizeram o Lab 116 o melhor. Obrigada por me ajudarem sempre, por ouvirem meus desabafos, por tirarem as dúvidas, por estarem do meu lado agora nesse finalzinho “puxado” e por serem estes Doutorandos que são meus maiores exemplos de dedicação e comprometimento! Espero poder retribuir toda a força que me deram!

As melhores bolsistas que o Lab podia ter, Camille e Eduarda, meu muito obrigada! Vocês fizeram meus dias mais felizes. Eduarda, cada parte deste trabalho tem o teu empenho e dedicação, sou grata pelo teu engajamento e responsabilidade!

À Andréia que chegou de mansinho e conquistou nossos corações com a sua alegria e espontaneidade, obrigada pelo carinho e ajuda que recebi.

Aos “agregados” do Lab 116, Eli e Cristian, muito obrigada pelas conversas e ajuda recebida.

Aos professores do ICTA agradeço os ensinamentos recebidos, e toda a ajuda oferecida, seja nas dúvidas ou empréstimos de materiais e equipamentos.

Aos funcionários, em especial a Ana, Michele, Edgar e Diogo por todo o apoio nas análises, equipamentos e manutenções.

Aos professores, Dr. Éder Cláudio Lima, Dr^a Juliane Elisa Welke, Dr^a Paula Rossini Augusti, meu muito obrigada pela participação em minha banca examinadora.

As empresas SETA S/A, Laboratório Químico Farmacêutico Tiaraju Ltda e R & S Blumos pelo materiais cedidos.

Agradeço imensamente a Universidade Federal do Rio Grande do Sul e ao Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos do Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, a possibilidade de execução da presente pesquisa, contribuindo com meu crescimento profissional. Agradeço também ao apoio financeiro recebido da CAPES, CNPQ e FAPERGS.

*Ninguém nasce feito, é experimentando-nos
no mundo que nós nos fazemos.*

Paulo Freire

RESUMO

Conífera nativa da região sul e sudeste do Brasil a *Araucaria angustifolia*, sofreu através dos anos com a exploração indiscriminada de sua madeira, mas converteu-se numa espécie símbolo do sul do Brasil, devido ao consumo, pela população, das suas sementes comestíveis, os pinhões. Atualmente, as cascas dos pinhões e brácteas (sementes estéreis) da araucária são descartadas no ambiente sem reaproveitamento, porém estes subprodutos são fontes de compostos fenólicos, que podem ser usados para agregar valor. Para a extração de compostos bioativos tem sido empregado técnicas não convencionais que diminuem o uso de solventes orgânicos e o gasto energético. Por outro lado, o encapsulamento destes compostos busca garantir sua estabilidade e minimizar as limitações na aplicação industrial. À vista disso, o presente estudo objetivou avaliar a extração de compostos bioativos das brácteas da *Araucaria angustifolia*, através das extrações assistida de micro-ondas (EAM) e ultrassom (EAU) e o posterior encapsulamento do extrato através dos métodos de atomização e liofilização, utilizando pectina (PEC), colágeno hidrolisado (CH), polidextrose (PD) e goma guar parcialmente hidrolisada (GGPH) como materiais de parede. Para a EAU utilizou-se as potências de 250, 350 e 450 W, e tempos de 10, 15 e 20 min; e na EAM foram usadas potências de 700, 800 e 1000 W com tempos de 10, 15 e 20 min. A extração assistida por micro-ondas com o tempo de 20 min e potência de 1000 W resultou na melhor condição de extração, com teores de 47,61 mg g⁻¹ (b.s) EAT, 27,09 mg g⁻¹ (b.s) EAT, 779,95 mg g⁻¹ (b.s) ECAT, 427,28 μmol g⁻¹ (b.s) ET, 467,79 μmol g⁻¹ (b.s) ET para compostos fenólicos totais, taninos totais, taninos condensados, e atividade antioxidante por ABTS e DPPH, respectivamente. Essa condição quando comparada com a extração exaustiva realizada, não apresentou diferenças significativas quanto aos compostos fenólicos totais, taninos totais e taninos condensados, enquanto que a atividade antioxidante por DPPH apresentou valores maiores. Este mesmo extrato (1000 W; 20 min) foi encapsulado por atomização e liofilização, utilizando misturas de PEC-CH e PD-GGPH, adicionadas ao extrato nas proporções de (0,25:0,75:9; m/m/m) e (0,5:0,5:9; m/m/m), respectivamente. Os testes reológicos realizados nessas dispersões indicaram que ambas apresentaram comportamento de fluidos não-Newtonianos. Os pós obtidos com PD-GGPH resultaram nos maiores teores de compostos fenólicos totais (42,50 e 47,44 mg g⁻¹ (b.s) EAT), taninos totais (36,88 e 40,91 mg g⁻¹ (b.s) EAT), taninos condensados (498,46 e 669,58 mg g⁻¹ (b.s) ECAT) e atividade antioxidante por ABTS (264,97 e 267,24 μmol g⁻¹ (b.s) ET) e DPPH (139,78 e 157,83 μmol g⁻¹ (b.s) ET) atomizados e liofilizados, respectivamente. Com relação às características físico-químicas, todos os pós apresentaram baixa atividade de água entre 0,19 e

0,35 e umidades de 1,52 a 3,48 %. A higroscopicidade foi elevada em todas as amostras com valores que variaram entre 30,68 a 45,27 %, enquanto que a solubilidade em água apresentou os melhores valores para os pós encapsulados com PD-GGPH, atomizado e liofilizado, com valores de 98,00 e 97,69 %, respectivamente. A microscopia eletrônica de varredura dos pós atomizados com PD-GGPH mostraram partículas com formato esférico regular, enquanto os pós de PEC-CH, exibiram formato irregular com a presença de rugosidade. Os pós liofilizados das duas dispersões apresentaram tamanhos e formas irregulares, devido principalmente a moagem realizada após liofilização. Os resultados do FTIR indicaram que o encapsulamento foi proporcionado por interações físicas entre os encapsulantes e os compostos fenólicos. A análise termogravimétrica indicou que a partir dos 220 °C iniciam-se as reações que desestruturam os materiais de parede, deixando os compostos encapsulados expostos, suscetíveis à degradação. A avaliação do armazenamento em condições aceleradas (temperaturas de 35 e 55 °C com 75 e 90 % de umidade relativa durante 35 dias) indicou que nos pós obtidos não ocorreram reduções significativas nos teores de compostos fenólicos e taninos totais durante o período de estocagem avaliado, havendo em algumas condições, o aumento destes teores no final da armazenagem, sendo que os pós resultantes da encapsulação com PEC-CH apresentaram os maiores aumentos com 70,7 e 101,9 % para compostos fenólicos totais e 81,0 e 116,0 % para taninos totais, atomizados e liofilizados, respectivamente. Estes aumentos se devem às reações de hidrólises e/ou reações de polimerizações que possam ter ocorrido durante a estocagem. Com os resultados obtidos tem-se que as brácteas de *Araucaria angustifolia* são fontes de compostos bioativos, sendo possível sua obtenção através da extração assistida por micro-ondas, e que seu encapsulamento permite a aplicação em formulações alimentícias.

Palavras-chave: Brácteas de *Araucaria angustifolia*. Extração assistida por micro-ondas. Extração assistida por ultrassom. Encapsulamento. Taninos condensados.

ABSTRACT

Araucaria angustifolia, a native southern and southeastern Brazilian plant, has suffered through the years with the indiscriminate exploitation of its wood, but it has become a symbolic species in Brazil, due to the population's consumption of its edible seeds, named *pinhão*. At present, the bark of pine nuts and bracts (sterile seeds) of *Araucaria* are discarded in the environment without any reuse, but these by-products are considerable sources of phenolic compounds, which can be used to add value. For the extraction of the bioactive compounds, several unconventional techniques have been applied to minimize the use of organic solvents and energy expenditure. On the other hand, the encapsulation of these compounds seeks to guarantee the stability and to minimize the limitations in the industrial application. Therefore, the present study aimed to evaluate the extraction of bioactive compounds from *Araucaria angustifolia* bracts through assisted microwave extractions (MAE) and ultrasound (UAE) and subsequent encapsulation of the extract through spray drying and freeze drying methods, using pectin (PEC), hydrolyzed collagen (HC), polydextrose (PD) and partially hydrolyzed guar gum (PHGG) as wall materials. For UAE, potencies of 450, 350 and 250 W and times of 10, 15 and 20 min were used; for MAE it was used potencies of 1000, 800 and 700 W with times of 10, 15 and 20 min. The MAE with the time of 20 min and power of 1000 W resulted in the best extraction condition, with contents of 47.61 mg g⁻¹ (d.b)_{EAT}, 27.09 mg g⁻¹ (d.b)_{EAT}, 779.95 mg g⁻¹ (d.b)_{ECAT}, 427.28 μmol g⁻¹ (d.b)_{ET}, 467.79 μmol g⁻¹ (d.b)_{ET} for total phenolic compounds, total tannins, condensed tannins, and antioxidant activity by ABTS and DPPH assays, respectively. This condition, when compared to the exhaustive extraction, did not show significant differences in total phenolic compounds, total tannins and condensed tannins, while the antioxidant activity by DPPH presented higher values. The same extract (1000 W, 20 min) was encapsulated by spray drying and freeze drying using mixtures of PEC-HC and PD-PHGG added to the extract in the proportions of (0.25:0.75:9) and (0.5:0.5:9) (w/w/w), respectively. The rheological tests performed on these dispersions indicated that both presented non-Newtonian fluid behavior. The PD-PHGG powders produced by spray drying and freeze drying, presented respectively: the highest total phenolic compounds (42.50 and 47.44 mg g⁻¹ (d.b)_{EAT}), total tannins (36.88 and 40.91 mg g⁻¹ (d.b)_{EAT}), condensed tannins (498.46 and 669.58 mg g⁻¹ (d.b)_{ECAT}) and antioxidant activity by ABTS (264.97 and 267.24 μmol g⁻¹ (d.b)_{ET}) and DPPH (139.78 and 157.83 μmol g⁻¹ (d.b)_{ET}). Regarding the physical-chemical characteristics, all the powders had low water activity between 0.19 and 0.35 and humidities of 1.52 to 3.48 %. The hygroscopicity was high in all samples with values ranging from 30.68 to 45.27 %, while the

solubility presented the best values for the powders encapsulated with PD and PHGG, spray dried and freeze dried, with values of 98.00 and 97.69 %, respectively. Scanning electron microscopy of PD-PHGG spray dried powders showed regular spherical-shaped particles, whereas PEC-HC powders exhibited irregular shape with the presence of roughness. The freeze dried powders of the two dispersions presented irregular sizes and shapes, mainly due to the grinding performed after freeze drying. The FTIR results indicated that the encapsulation was provided by physical interactions between the encapsulants and phenolic compounds. The thermogravimetric analysis indicated that the reactions that destructure the wall materials begin at 220 °C, exposing the encapsulated compounds leading to susceptible degradation. The evaluation of the storage under accelerated conditions (temperatures of 35 and 55 °C with 75 and 90 % relative humidity for 35 days) indicated that there were no significant reductions in the contents of phenolic compounds and total tannins in the obtained powders during the evaluated storage period. However, in some conditions, there was an increase of these contents at the end of the storage, and the powders resulting from the encapsulation with PEC-HC showed the highest increases with 70.7 and 101.9 % for total phenolic compounds and 81.0 and 116.0 % for total, spray dried and freeze dried tannins, respectively. These increases might be due to hydrolysis reactions and / or polymerization reactions that may have occurred during storage.

Keywords: *Araucaria angustifolia* bracts. Microwave assisted extraction. Ultrasonic assisted extraction. Encapsulation. Condensed tannins.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	12
OBJETIVOS	15
OBJETIVO GERAL.....	15
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	15
CAPÍTULO 1 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
1 <i>Araucaria angustifolia</i>	16
2 Compostos bioativos	18
2.1 Compostos fenólicos	19
2.1.1 <i>Taninos</i>	21
2.2 <i>Atividade antioxidante</i>	22
3 Processos de extração	23
3.1 <i>Micro-ondas</i>	24
3.2 <i>Ultrassom</i>	26
4 Encapsulamento	27
4.1 <i>Atomização (Spray drying)</i>	28
4.2 <i>Liofilização (Freeze drying)</i>	31
4.3 <i>Materiais de parede</i>	32
4.3.1 <i>Goma guar parcialmente hidrolisada</i>	33
4.3.2 <i>Polidextrose</i>	34
4.3.3 <i>Colágeno hidrolisado</i>	34
4.3.4 <i>Pectina</i>	35
CAPÍTULO 2 – EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS DE BRÁCTEAS DA <i>Araucaria angustifolia</i> POR EXTRAÇÃO ASSISTIDA POR MICRO-ONDAS E ULTRASSOM	37
CAPÍTULO 3 – ENCAPSULAMENTO DO EXTRATO OBTIDO POR EXTRAÇÃO ASSISTIDA POR MICRO-ONDAS DAS BRÁCTEAS DA <i>Araucaria angustifolia</i>	63
CAPÍTULO 4 – DISCUSSÃO GERAL	101
CONSIDERAÇÕES FINAIS	107
PERSPECTIVAS	108
REFERÊNCIAS	109

INTRODUÇÃO

Atualmente, na sociedade existe uma crescente preocupação com a saúde e com o consumo de produtos alimentícios saudáveis. Os alimentos devem, além de satisfazer a fome e fornecer os nutrientes necessários, prevenir doenças, além de aumentar o bem estar físico e mental dos consumidores (Đorđević et al., 2015), sendo crescente a demanda por alimentos funcionais como tendência em todo o mundo. Os compostos bioativos presentes em diversos alimentos, entre eles aqueles com propriedades antioxidantes, são alvos desta demanda, por estarem presentes nas dietas e formulações (Dias et al., 2017).

Os compostos fenólicos conhecidos por sua atividade antioxidante fornecem inúmeros benefícios à saúde, auxiliando na prevenção de diversas doenças tais como o câncer e problemas cardiovasculares, sendo sua ação dependente da quantidade ingerida através da dieta e da biodisponibilidade dos mesmos (Manach et al., 2004).

Devido a estes benefícios, diversas pesquisas e aplicações dos compostos fenólicos em alimentos funcionais estão sendo realizadas, quanto à preservação de sua estabilidade, bioatividade e biodisponibilidade (Fang e Bhandari, 2010; Dias et al., 2017).

Diferentes métodos de extração podem ser utilizados para a separação destes compostos da matriz, entre eles, tem-se os métodos convencionais baseados no uso de solventes orgânicos e altas temperaturas, que se caracterizam por apresentar alto potencial poluidor e gasto energético, longos tempos de extração, não sendo recomendáveis para a extração de compostos termolábeis (Dai e Mumper, 2010). Com o objetivo de minimizar as limitações apresentadas pelas técnicas convencionais de extração, surgem tecnologias alternativas, como a extração assistida por ultrassom (EAU) e a extração assistida por micro-ondas (EAM), que apresentam menor gasto energético, menor tempo de extração, baixo consumo de solventes e podem ser utilizadas para extração de compostos sensíveis à altas temperaturas (Chemat et al., 2011; Chan et al., 2014; Barba et al., 2016).

Quando os compostos fenólicos são isolados ou separados de suas matrizes, estes podem se tornar muito instáveis quimicamente devido a diversos fatores ambientais, tais como, a presença de oxigênio, luz e umidade. Neste contexto, muitos desafios tecnológicos são enfrentados pela indústria alimentícia, referentes ao uso de alimentos enriquecidos com compostos bioativos, pois estes além de serem estáveis precisam manter as suas propriedades funcionais durante o processamento, armazenamento e no processo digestivo (Champagne e Fustier, 2007; Dias et al., 2017).

Uma das formas encontradas pela indústria alimentícia para comercializá-los e usá-los em diversas aplicações tem sido o isolamento de seu entorno mediante a encapsulação. Esta

tecnologia permite o revestimento destes compostos com o emprego de materiais denominados encapsulantes ou de parede, formando partículas de diversos diâmetros variando de alguns nanômetros a alguns milímetros (Champagne e Fustier, 2007).

A técnica de encapsulamento pode ser realizada por diferentes métodos e a escolha mais adequada depende basicamente do tipo de material a ser encapsulado e das características que o produto final deve apresentar para que possam ser utilizados de forma eficiente. Além disso, o material de parede a ser empregado nas partículas tem uma grande influência nas propriedades dos compostos encapsulados, principalmente na eficiência de encapsulação (Dias et al., 2017) e dos sistemas de liberação controlada. Entre os materiais que podem ser utilizados como encapsulantes está o colágeno, uma proteína de origem animal, cuja função é contribuir com a integridade estrutural dos tecidos, apresenta baixa viscosidade em solução aquosa, odor e sabor neutro, além de outras características que permite sua utilização em uma ampla variedade de produtos (Denis et al., 2008). O uso de fibras dietéticas, além de conferir proteção aos compostos, atuam como auxiliares na prevenção de inúmeras doenças e podem apresentar propriedades prebióticas. Entre elas, podemos citar a pectina, polidextrose e a goma guar parcialmente hidrolisada.

Atualmente muitos recursos naturais e subprodutos, reconhecidos como fonte de nutrientes e de compostos bioativos, não são adequadamente aproveitados. É o que ocorre com o pinhão, semente comestível da *Araucaria angustifolia*, largamente consumido no sul do Brasil, que após seu cozimento em água tem sua casca retirada e descartada (Lima et al., 2007). Outro subproduto gerado pela araucária são as brácteas que são as sementes estéreis que se encontram na pinha junto aos pinhões, não possuindo nenhuma utilidade comercial (Souza et al., 2014). Importante ressaltar que tanto cascas como brácteas representam um grande volume de produção anualmente e são descartadas no ambiente, demorando considerável tempo para serem degradadas (Brasil et al., 2006; Souza et al., 2014).

Estudos mostram que o pinhão possui quantidades consideráveis de compostos fenólicos, sendo que estes estão em maior número em sua casca (Cordenunsi et al., 2004; Koehnlein et al., 2012). Assim como as cascas do pinhão, as brácteas de araucária, também são fontes destes compostos (Michelon et al., 2012; Souza et al., 2014). O principal grupo dos compostos fenólicos presentes no revestimento do pinhão são os taninos condensados de alta massa molecular. Estes compostos possuem maior atividade antioxidante que os compostos fenólicos simples, sendo considerados antioxidantes naturais importantes que podem ser alternativas aos antioxidantes sintéticos usados em sistemas alimentares (Troszynska e Ciska, 2002; Cordenunsi et al., 2004; Koehnlein et al., 2012).

A exploração predatória das florestas de araucárias iniciada no início do século 19, levaram a redução de sua área original a menos de 3 % (BRDE, 2005). Em vista disso em 2001 a resolução n° 278 do Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA, suspendeu o corte e exploração de espécies ameaçadas de extinção, entre elas a araucária, limitando a exploração desta espécie (Silva et al., 2009; Figueiredo Filho, 2011). Com isso, do ponto de vista ecológico e de conservação desta espécie, produtores rurais, que antes exploravam a madeira das araucárias, observaram a possibilidade de geração de renda, através das sementes comestíveis, os pinhões, que passaram a ser considerado o principal produto comercial, uma vez que, é fonte rica em amido, proteínas e gorduras, podendo ser utilizados na alimentação humana, de animais domésticos e silvestres (Guerra et al., 2002; Santos et al., 2002; CONAB, 2014).

O pinhão representa grande importância cultural, econômica e ambiental na região sul do Brasil e o seu consumo faz parte dos costumes da população. Seu maior volume de comercialização ocorre nos meses de junho e julho quando ocorrem às festividades típicas da região, com destaque para as tradicionais Festas do Pinhão que ocorrem em Lages/SC e São Francisco de Paula/RS e festas juninas (Santos et al., 2002; BRDE, 2005; Cornejo et al., 2014).

Desta forma é de grande importância comercial e ambiental que seja realizado o aproveitamento integral de subprodutos e resíduos da pinha da araucária. Além de sua utilização como fonte de compostos fenólicos, proporcionará um alto valor agregado à cadeia produtiva deste produto e estimularia a preservação desta espécie, ameaçada de extinção, além de aumentar a renda dos pequenos agricultores.

Assim, este trabalho justifica-se pela utilização de um subproduto, as brácteas de *Araucaria angustifolia*, geralmente descartadas no meio ambiente, para a extração de compostos bioativos e sua encapsulação utilizando-se materiais de parede com potencial aplicação em produtos alimentícios, gerando diversos benefícios à saúde dos consumidores, bem como o provimento de fonte de renda a produtores rurais.

O presente estudo está organizado da seguinte forma: O Capítulo 1 constitui-se na revisão bibliográfica que aborda os principais assuntos propostos. Os Capítulos 2 e 3 apresentam o desenvolvimento do trabalho, em formato de artigos científicos, apresentando metodologias, resultados obtidos e discussão. No capítulo 4 é apresentada a discussão geral do trabalho e ao final constam as considerações finais e as perspectivas.

OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL

Obter compostos bioativos das brácteas de *Araucaria angustifolia* através da extração assistida por micro-ondas (EAM) e ultrassom (EAU) e o encapsulamento do extrato através dos métodos de atomização e liofilização.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Extrair compostos bioativos de brácteas de *Araucaria angustifolia* através dos métodos de extração aquosa assistida por micro-ondas e ultrassom;
- Quantificar os compostos fenólicos, taninos totais, taninos condensados e atividade antioxidante por ABTS e DPPH, presentes nas brácteas de *Araucaria angustifolia*;
- Encapsular o extrato contendo os compostos bioativos através de atomização e liofilização utilizando-se pectina, colágeno hidrolisado, goma guar parcialmente hidrolisada e polidextrose como materiais de parede;
- Avaliar as características físico-químicas e estruturais dos pós encapsulados, assim como sua estabilidade em condições aceleradas de armazenamento.

CAPÍTULO 1

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1 *Araucaria angustifolia*

A *Araucaria angustifolia* é uma espécie de conífera nativa do Brasil, popularmente conhecida como araucária, Pinheiro Brasileiro, Pinheiro do Paraná, Pinho, entre outros (Freitas et al., 2009). Está inserida no domínio da Mata Atlântica, classificada como Floresta Ombrófila Mista, também denominada como Floresta de Pinheiros, Pinhais e Mata de Araucária (BRDE, 2005). Sua distribuição abrange os estados da região sul: Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul e algumas populações esparsas na região Sudeste (Peralta et al., 2016), representando a conífera de maior importância econômica para o Brasil (Sant'Anna et al., 2016).

A araucária é uma espécie de grande porte, sua altura pode variar de 10 a 35 m e o diâmetro de 0,5 a 1,2 m (Carvalho, 2004). Planta dioica, possuindo espécimes masculinas e femininas, sendo necessário a polinização para a produção de sementes, que são desenvolvidas nas plantas femininas (Branco et al., 2015, Peralta et al., 2016). As sementes desenvolvidas constituem-se na parte comestível, conhecida como pinhões, e são formadas em pinhas, onde são encontradas além dos pinhões, as brácteas, caracterizadas como sementes estéreis (Souza et al., 2014).

As pinhas (Figura 1) se desenvolvem nos galhos, entre uma a duas em cada ramo e possuem de 10 a 25 cm de diâmetro, constituídas de 5 a 150 sementes de cor acastanhada, chegando a pesar até 4,7 kg (Cornejo et al., 2014).

Como a araucária é uma árvore dominante, outras espécies vegetais, tolerantes à sombra, abrigam-se em suas florestas, e com o amadurecimento de suas pinhas, as sementes servem como alimentos a diversos animais, tornando esta espécie fundamental ao ecossistema (Auler et al., 2002). No entanto, as reservas naturais das araucárias foram reduzidas em menos de 3 % de sua área original, devido ao processo intenso de exploração predatória iniciado no século 19 (BRDE, 2005). A exploração intensa ocorreu devida à comercialização de madeira, de qualidade excelente para fabricação de móveis e a construção civil, assim como a produção de papel e celulose (Figueiredo Filho, 2011). Além de sua exploração excessiva para fins comerciais, o desmatamento para a implementação da agricultura em larga escala, também colocou em risco de extinção a espécie (Daudt et al., 2014).



Figura 1 – Pinha, sementes e brácteas.

Fonte: A autora.

Em 1992, a espécie foi incluída na lista oficial de espécies da flora brasileira ameaçadas de extinção do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis – IBAMA. Em 2001 a resolução nº 278 do Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA suspendeu o corte e exploração de espécies ameaçadas de extinção que estavam inclusas na lista oficial, e com isso limitou-se a exploração da espécie (Silva et al., 2009). Desta forma, a legislação impede a exploração extrativista da araucária, para o corte de madeira.

Neste contexto, os produtores rurais, que antes exploravam os produtos madeiráveis das araucárias, tiveram que usufruir das qualidades oferecidas pela espécie para buscar outras fontes de renda (Figueiredo Filho, 2011). Inúmeros subprodutos florestais não madeiráveis são provenientes das araucárias, dentre eles, os pinhões, que passaram a ser considerados o principal produto comercial, uma vez que, são fonte rica em amido, proteínas e gorduras, podendo ser utilizados na alimentação humana, de animais domésticos e silvestres (Auler et al., 2002; Guerra et al., 2002; Santos et al., 2002; CONAB, 2014).

Na região sul e em algumas partes do sudeste do Brasil o pinhão tem grande importância cultural, econômica e ambiental e o seu consumo faz parte dos costumes da população, sendo encontrados em maiores quantidades nos meses de abril a agosto, com maior volume de comercialização nos meses de junho e julho quando ocorrem às festividades típicas da região, com destaque para as tradicionais Festas do Pinhão que ocorrem em Lages/SC e São Francisco de Paula/RS e as festas juninas (BRDE, 2005; Thys et al., 2010).

A pinha ao amadurecer rompe-se espalhando as sementes por vários metros ao redor da araucária, e para serem consumidas, os pinhões precisam ser cozidos, para facilitar a retirada da casca (Cornejo et al., 2014), ou é produzido farinha proveniente das sementes para uso em pratos regionais (Sant'Anna et al., 2016). Além disso, compostos fenólicos são encontrados no pinhão, e em sua grande maioria encontram-se na casca que submetidos à cocção migram para a parte interna da semente. Os taninos condensados de alto peso molecular representam o principal grupo de compostos fenólicos presentes na casca do pinhão, exercendo atividade antioxidante mais elevada que os compostos fenólicos simples (Cordenunsi et al., 2004; Koehnlein et al., 2012).

As brácteas de araucária, tal como as cascas, apresentam compostos fenólicos (Michelon et al., 2012; Souza et al., 2014), e atualmente não possuem nenhuma utilidade comercial. Estudos desenvolvidos por Michelon et al. (2012) e Souza et al. (2014), avaliaram a atividade antioxidante *in vitro* e *in vivo*, bem como a atividade antígeno-tóxica das brácteas de *Araucaria angustifolia*, as quais foram confirmadas e atribuídas ao seu alto conteúdo fenólico, especialmente devido a presença de catequina, epicatequina, quercetina, apigenina e rutina.

De acordo com dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2016), foram produzidos no Rio Grande do Sul, no ano de 2014, em torno de 762 toneladas de pinhão. Levando em conta que uma pinha apresenta cerca de 80 % de brácteas (Michelon et al., 2012), e que o consumo anual no Brasil produz cerca de 10 toneladas de cascas (Brasil et al., 2006), e ainda, que ambas são descartadas no ambiente demorando considerável tempo para serem degradadas, estes subprodutos representam um grande volume considerando-se a produção dos pinhões (Brasil et al., 2006; Souza et al., 2014).

No caso das brácteas, sua utilização como fonte de compostos fenólicos permite além de aumentar a fonte de renda dos produtores, devido ao valor agregado, proporcionar o estímulo da cadeia produtiva, valorizando ainda mais a sua semente e preservando as araucárias, ameaçadas de extinção (Spada et al., 2012; Peralta et al., 2016). Desta forma, estudos sobre o uso sustentável de subprodutos, devem combinar dois elementos: a necessidade de preservação de um ecossistema típico e uma verdadeira alternativa econômica para os produtores locais da espécie.

2 Compostos bioativos

A adição de ingredientes funcionais para adaptar o sabor, cor, textura ou propriedades de conservação é uma prática atual na indústria alimentícia. Além disso, a inclusão de compostos bioativos com potenciais benefícios para a saúde, como antioxidantes e probióticos

é uma tendência crescente (Đorđević et al., 2015), devido ao grande interesse pelo consumo de alimentos saudáveis, que garantam o bem-estar e auxiliem na prevenção de doenças (Alenisan et al., 2017).

Os compostos bioativos possuem ação protetora sobre a saúde humana se forem ingeridos em níveis significativos, através da dieta (Carratù e Sanzini, 2005) e aliados a um estilo de vida saudável. Estes compostos existem em grande número e podem ser subdivididos em grupos com milhares de compostos distintos. Algumas substâncias são próprias de alguma espécie ou gênero de plantas, outras são unidas por um complexo critério de classificação (Horst e Lajolo, 2009). A Figura 2 apresenta um esquema sobre a classificação dos compostos bioativos presentes em alimentos de origem vegetal. Estes compostos são encontrados a partir de várias partes de plantas, como folhas, caule, flores e frutos (Azmir et al., 2013).

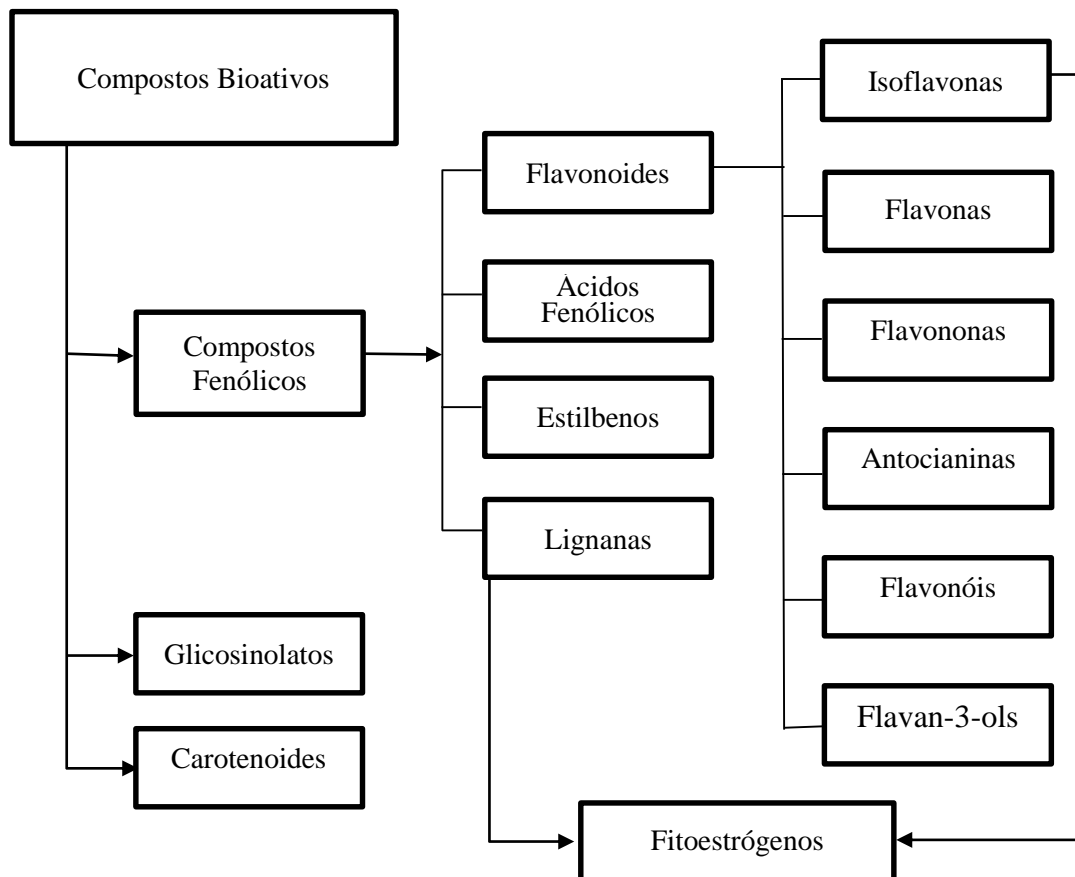


Figura 2 – Classificação de compostos bioativos presentes em alimentos de origem vegetal

Fonte: Carratù e Sanzini (2005).

2.1 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos referem-se a um amplo, numeroso e comum grupo de moléculas encontradas e difundidas em alimentos do reino vegetal (Ferrazzano et al., 2011). São

considerados os mais abundantes metabólitos secundários, que nas plantas estão diretamente envolvidos na proteção contra a radiação solar, defesa contra microrganismos e insetos (Horst e Lajolo, 2009; Ferrazzano et al., 2011). Estes compostos são amplamente distribuídos na dieta humana, principalmente em alimentos e bebidas derivadas de vegetais, podendo influenciar em várias propriedades sensoriais, como sabor e cor, sendo responsáveis, por exemplo, pela adstringência e amargor presente em alguns produtos (Ky et al., 2016).

Estudos epidemiológicos sugerem a associação entre o consumo de compostos fenólicos e a prevenção de doenças, fazendo com que estes compostos ganhem cada vez mais interesse tanto de consumidores quanto da indústria de alimentos. Os benefícios relacionados aos fenólicos, referem-se a sua ação redutora que juntamente com outros compostos, como vitamina C, vitamina E e carotenoides, protegem os tecidos do corpo contra o estresse oxidativo (Scalbert e Williamson, 2000). Sendo os antioxidantes mais abundantes da nossa dieta, os compostos fenólicos podem atuar na prevenção de várias doenças associadas ao estresse oxidativo, como cânceres, doenças cardiovasculares, neurodegenerativas, inflamações, entre outras (Scalbert e Williamson, 2000; Manach et al., 2004; Galan et al., 2017). Estes benefícios são dependentes da quantidade ingerida e da biodisponibilidade destes compostos, sendo que estes afetam a qualidade, aceitabilidade e a estabilidade dos alimentos, atuando como aromatizantes, corantes e antioxidantes (Carratù e Sanzini, 2005).

Galan et al. (2017) evidenciam que nos últimos anos, o interesse pela extração de fenólicos de resíduos ou subprodutos vêm aumentando, visando o aproveitamento de fontes alternativas.

Muitos compostos fenólicos de origem vegetal já foram identificados, sendo caracterizados por possuírem estrutura química derivada de um ou mais anéis aromáticos e em suas extremidades possuem radicais hidroxilas e outros grupos funcionais (Angelo e Jorge, 2007; Horst e Lajolo, 2009; Ferrazzano et al., 2011; Del Rio et al., 2013). É importante conhecer as principais classes dos fenólicos consumidos, os principais alimentos que os contêm e a quantidade presente nestes alimentos (Scalbert e Williamson, 2000). Conforme estes autores, as classes dos compostos fenólicos são definidas de acordo com a natureza da sua estrutura molecular: flavonoides e não-flavonoides.

Os flavonoides são os compostos fenólicos mais abundantes da dieta, possuindo uma estrutura de 15 carbonos com dois anéis aromáticos ligados por uma ponte de três carbonos (Figura 3), sendo divididos em subclasses: flavonas, flavonóis, flavan-3-ols, isoflavonas, flavanonas e antocianinas (Scalbert e Williamson, 2000; Del Rio et al., 2013),

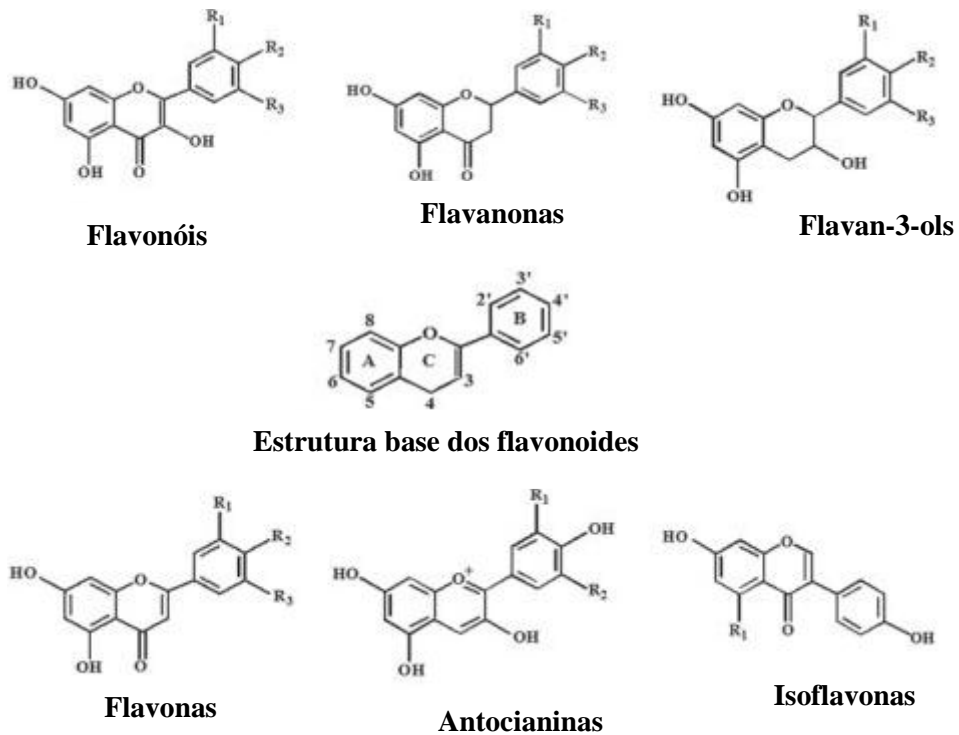


Figura 3 – Estrutura e subclasses de flavonoides.

Fonte: Adaptado de Pandey e Rizvi (2013).

Os Flavan-3-ols referem-se a subclasses mais complexas dos flavonoides, que vão desde os monômeros simples até as proantocianidinas oligoméricas e poliméricas, também conhecidas como taninos condensados (Del Rio et al., 2013).

2.1.1 Taninos

Os taninos são compostos fenólicos em abundância na natureza, estando presentes em altas concentrações em diversas espécies, como *Schinopsis balansae* (madeira de quebracho), *Acacia mearnsii* (casca de mimosa preta), *Pinus radiata*, *Pinus nigra*, *Araucaria angustifolia* (espécies de pinheiros), *Quercus* spp (casca de carvalho) e *Castanea sativa* (madeira de castanheiro) (Cordenunsi et al., 2004; Hoyos-Martínez et al., 2019).

Esses compostos são definidos como fenólicos hidrossolúveis, com peso molecular entre 500 e 3.000, possuindo a capacidade de precipitar alcaloides, gelatinas e outras proteínas (Damodaran et al., 2010). O caráter adstringente característico de alimentos ricos em taninos são provenientes da capacidade de precipitação de proteínas salivares da cavidade oral (Santos-Buelga e Scalbert, 2000). Os taninos, também, estão relacionados a uma ampla gama de potenciais benefícios para a saúde (Silva et al., 2014), como atividades antioxidantes e

propriedades antimicrobiana, antimutagênica e anticarcinogênica (Santos-Buelga e Scalbert, 2000; Zarin et al., 2016).

Dependendo de sua estrutura, os taninos podem ser classificados em taninos hidrolisáveis e condensados (proantocianidinas). Os taninos hidrolisáveis são ésteres de ácidos gálicos e elágicos glicosilados que são facilmente hidrolisáveis. Além disso, esta classe de taninos, é segregada em galotaninos (subunidade de ácido gálico esterificado em glicose) e elagitaninos (polímeros de ácido elágico e ácido gálico) (Craft et al., 2012; Ky et al., 2016; Vignault et al., 2018).

Os taninos condensados são derivados da oligomerização de unidades flavan-3-ols, como as catequinas e/ou epicatequinas e epigalocatequinas. Representam a subclasse estrutural mais complexa dos flavonoides, sendo os mais abundantes dos compostos fenólicos naturais constituintes da dieta (Bladé et al., 2010; Ky et al., 2016). As estruturas das proantocianidinas podem apresentar diferentes graus de polimerização com estruturas poliméricas lineares, com ligações de C (4→8), ou estruturas com ramificações nas ligações de C (4→6), e devido a sua condensação não apresentam resíduos de açúcares glicosilados; além disso, dependendo da natureza as moléculas podem diversificar nos padrões de hidroxilação; e diferentes arranjos estereoquímicos nos três centros quirais. (Dixon et al., 2005; Bladé et al., 2010).

2.2 Atividade antioxidante

Os organismos vivos são continuamente expostos as espécies reativas do oxigênio (EROs). Pequenas quantidades de EROs atuam como moléculas de transdução de sinal, enquanto o excesso causa estresse oxidativo, originando uma série de efeitos adversos como oxidação de proteínas, lipídios, além de danos no DNA, RNA, entre outros (Meng et al., 2017).

Os compostos antioxidantes são substâncias que protegem as células humanas contra as EROs, resultando em diversos benefícios à saúde humana, quando consumidos através da ingestão de alimentos providos de tais compostos (Guçlu et al., 2006; Sahin et al., 2011).

A ação dos antioxidantes ocorre com a doação de um de seus próprios elétrons as espécies reativas de oxigênio, para que seja cessada a ação da oxidação. Os antioxidantes são estáveis em qualquer forma, deste modo, eles não se tornam radicais livres com a doação do elétron (Kaur e Kapoor, 2001).

Antioxidantes podem ser provenientes de fontes naturais, plantas, animais e microrganismos, ou sintetizados quimicamente. As plantas e seus constituintes fornecem uma fonte rica de antioxidantes, tais como os tocoferóis e os fenólicos, encontrados abundantemente em especiarias, ervas, frutas, cereais, sementes, entre outros (Shahidi e Zhong, 2015).

Os antioxidantes, quando adicionados aos alimentos, têm a mesma função que os antioxidantes endógenos do corpo humano, agindo na conservação de alimentos, prolongando sua vida útil e mantendo a qualidade do produto, pois com a utilização de tais compostos evita-se que os alimentos se deterioresem através da oxidação, reduzindo perdas nutricionais e conteúdos energéticos, mantendo o frescor, sabores, odores, coloração e textura (Carocho et al., 2018; Ozkan et al., 2019).

Com base na estrutura química, os antioxidantes alimentares podem ser classificados em solúveis em água (citratos, norbixina, betalaínas, a maior parte de compostos fenólicos) e solúveis em lipídios (carotenoides, tocoferóis, terpenoides e vitamina E) (Ozkan et al., 2019).

Em geral, o conteúdo de compostos fenólicos totais em uma matriz vegetal possui uma forte relação com a atividade antioxidante, sendo estes compostos responsáveis por tal ação (Craft et al., 2012). No entanto, após a extração, os fenólicos tornam-se instáveis e inicia-se um processo de degradação, inviabilizando seu uso, sendo esta, a maior desvantagem do uso de antioxidantes naturais (Carocho et al., 2018).

Diversos ensaios químicos *in vitro* com o propósito de medir a atividade antioxidante de compostos bioativos foram desenvolvidos e são comumente utilizados. Entre eles, podem ser citados o DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) e o ABTS (2,2'-azino-bis (ácido 3-etilbenzotiazolino-6-sulfônico)). O DPPH é um radical cromogênico estável, caracterizado pela cor púrpura. Este ensaio baseia-se na doação de elétrons por antioxidantes para neutralizar o radical DPPH. A reação é acompanhada de mudança de cor do radical, sendo que a descoloração atua como um indicador da eficácia antioxidante (Meng et al., 2017). Para o ensaio de ABTS, é medido a capacidade dos antioxidantes eliminarem o radical estável $ABTS^{\bullet+}$, caracterizado por ser cromóforo azul-esverdeado com absorção máxima a 734 nm que diminui em sua intensidade na presença de antioxidantes (Meng et al., 2017).

3 Processos de extração

A extração é o método mais antigo de separação dos compostos de interesse de uma matriz vegetal utilizando-se solvente (Smith et al., 2003). Para esta ação pode ser empregada uma infinidade de técnicas extrativas, que são, em geral, selecionadas considerando-se o rendimento e o custo de produção (Živković et al., 2018).

As técnicas convencionais de extração baseiam-se no poder extrativo de diferentes solventes e na aplicação de calor (Azmir et al., 2013). Geralmente estes métodos necessitam de longos tempos de extração, possuem custo energético elevado e utilizam altos volumes de solventes orgânicos, podendo resultar em um grande potencial de poluição ambiental. Podem

ocorrer ainda, degradações ou alterações químicas indesejáveis nos produtos, caso o processo não seja cuidadosamente controlado (Cravotto et al., 2008; Dai e Mumper, 2010; Roselló-Soto et al., 2015; Irakli, et al., 2018).

Muitos compostos bioativos são sensíveis à temperatura e vulneráveis a alterações químicas, físicas e microbiológicas, que ficam mais suscetíveis com a utilização de métodos convencionais de extração. Devido a essas deficiências o desenvolvimento e utilização de novas técnicas sustentáveis e inovadoras de processamento estão em constante avanço nos últimos 50 anos (Chemat et al., 2011; Azmir et al., 2013), visando um método de extração que seja eficaz, adequado as matrizes e de baixo custo (Irakli et al., 2018).

Para a obtenção dos compostos de interesse a partir de vegetais, a extração depende de vários fatores, como a natureza da matriz em estudo, as propriedades do solvente, temperatura, a relação material/solvente, pressão e tempo de extração (Karabegović et al., 2013). Assim, encontrar a técnica mais eficiente, onde os compostos não sofram degradações, e que seja ambientalmente limpa, é um dos grandes desafios dos pesquisadores do setor alimentício (Rastogi, 2011; Cai et al., 2016).

Deste modo a indústria alimentícia, tem grande interesse nestas novas técnicas, devido também ao menor gasto de energia consumida em relação aos métodos convencionais à base de calor (Barba et al., 2016). Entre as tecnologias utilizadas, podem ser citadas as extrações assistidas por micro-ondas e ultrassom (Chemat et al., 2011; Chan et al., 2014). Extração assistida por micro-ondas (EAM) e extração assistida por ultrassom (EAU) são reconhecidas como técnicas eficientes de extração que reduzem drasticamente o tempo de trabalho, aumentando a produtividade e frequentemente a qualidade do extrato, já sendo exploradas em escala industrial (Cravotto et al., 2008).

3.1 Micro-ondas

O uso das micro-ondas pela indústria de alimentos iniciou-se na década de 70, devido ao seu aquecimento dielétrico, que diferentemente do aquecimento condutivo aquece todo o volume de amostra instantaneamente (Cravotto et al., 2008). As radiações eletromagnéticas por micro-ondas se encontram na faixa de frequência de 300 MHz a 300 GHz, e comumente os aparelhos micro-ondas domésticos e industriais operam a 2,45 GHz (Wang e Weller, 2006; Azmir et al., 2013; Bouras et al., 2015). A rápida geração de energia é transformada no rápido aquecimento do solvente e da suspensão (Bouras et al., 2015). Desta forma, as micro-ondas penetram no produto e interagem com moléculas de água gerando calor, aquecendo todo o material (Wang e Weller, 2006).

O processo da EAM envolve três etapas sequenciais: primeiramente, ocorre a separação de solutos dos sítios ativos da matriz da amostra sob temperatura e pressão aumentada, em seguida, acontece a difusão do solvente através da matriz da amostra, para finalmente haver a liberação dos solutos da matriz para o solvente (Alupului et al., 2012).

O aquecimento dielétrico é dependente da capacidade dos materiais absorverem energia de micro-ondas e convertê-la em calor, este aquecimento interrompe as ligações de hidrogênio fracas e promove a rotação dipolo. Os movimentos de íons dissolvidos aumentam a penetração do solvente na matriz, facilitando a solvatação do analito (Cravotto et al., 2008).

Extrair compostos bioativos através de micro-ondas apresenta grande potencial na intensificação dos processos de extração de produtos naturais, devido principalmente ao tempo de extração e ao consumo de solventes, pois estes podem ser significativamente menores quando comparados com extrações convencionais e ainda apresentarem maiores rendimentos e melhor qualidade dos extratos (Cravotto et al., 2008; Li et al., 2010; Galan et al., 2017). Além disso, a utilização de equipamentos menores e tempos reduzidos de operação requerem menores gastos energéticos, diminuindo custos e promovendo uma técnica de extração com menor potencial de poluição (Cravotto et al., 2008; Galan et al., 2017).

Para um processo de extração eficiente de compostos fenólicos com a utilização de micro-ondas é fundamental que se atente a vários fatores, como a potência, tamanho de partículas, tempo de radiação e temperatura. Desta forma, a otimização do processo de extração faz-se necessário para que se obtenha extratos de qualidade, sem a ocorrência de degradação dos compostos e com custos viáveis (Bouras et al., 2015).

A utilização da EAM tem sido usada para extração de compostos fenólicos de uma variedade de matrizes vegetais, como de cascas de *Pinus radiata* (Aspé e Fernández, 2011) e *Pinus pinaster* (Chupin et al., 2015) e cascas de tangerinas (*Citrus reticulata*) (Hayat et al., 2009). Sutivisedsak et al. (2010) avaliaram a extração de compostos fenólicos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) e obtiveram rendimentos duas a três vezes maior ao extraído convencionalmente à mesma temperatura (100 °C), demonstrando que a EAM foi eficiente na extração de tais compostos.

Dahmoune et al. (2015), verificaram que o tempo de extração necessários para resultados similares de compostos fenólicos de folhas de murta comum (*Myrtus communis* L.) usando a EAM foi 14 vezes menor que o método de extração convencional. Os autores justificam estes resultados pela ação das micro-ondas, pois a exposição mesmo que em curto tempo, promove o rompimento das células vegetais, favorecidas também pelo aquecimento promovido pelas ondas eletromagnéticas.

3.2 Ultrassom

Estudos desenvolvidos a partir de 1950 mostram a aplicabilidade do ultrassom em vários processos. Seu uso facilita e potencializa a extração de vários componentes de uma matriz vegetal, inclusive aqueles compostos sensíveis à temperatura, utilizados em alimentos, cosméticos e produtos farmacêuticos (Dong et al., 2010; Gaete-Garretón et al., 2011).

A utilização de técnicas envolvendo o ultrassom no processamento de alimentos permite amplos avanços, principalmente na escala industrial. A aplicação da EAU permite a extração de componentes de materiais vegetais de forma facilitada, possibilitando vantagens com o uso desta tecnologia quando comparado com as demais (Garcia-Salas et al., 2010; Chemat et al., 2011; Roselló-Soto et al., 2015).

O ultrassom é um tipo especial de onda sonora, que opera normalmente de 20 kHz a 100 MHz. As ondas ultrassônicas passam por um meio criando compressão e expansão do mesmo, gerando o fenômeno da cavitação, que significa que haverá o surgimento de bolhas de ar, que aumentarão de tamanho até que entrem em colapso, o que por sua vez liberará energia em forma de calor (Rastogi, 2011; Azmir et al., 2013). A cavitação induzida por ultrassons aumenta a permeabilidade dos tecidos das plantas e aumenta o processo de transferência de massa (Gaete-Garretón et al., 2011). Os efeitos positivos do ultrassom são resultantes dos efeitos mecânicos do processo, que aumentam a penetração do solvente no produto devido à ruptura das paredes celulares causadas pela cavitação (Rastogi, 2011).

A indústria alimentícia tem mostrado interesse nos métodos envolvendo o ultrassom, principalmente por ser uma tecnologia verde com importante papel na sustentabilidade ambiental, além do menor gasto energético necessário para o processamento, tornando-se uma opção viável economicamente sem perder a qualidade do processo (Chemat et al., 2011; Roselló-Soto et al., 2015; Živković et al., 2018).

As características do produto (teor de umidade e tamanho de partícula), o solvente a ser utilizado e as especificações técnicas para operação do equipamento (frequência, pressão, temperatura e tempo de sonicação) devem ser analisadas criteriosamente para que se obtenha um sistema eficiente (Wang e Weller, 2006; Azmir et al., 2013).

Contudo, a produtividade, o rendimento e a seletividade aumentam com a utilização da extração assistida por ultrassom, pois esta técnica possui alto potencial de redução dos tempos de extração e volumes de solventes, reduz perigos físicos e químicos, bem como aumenta as recuperações de compostos fenólicos, tornando uma técnica bem estabelecida tanto em laboratórios quanto em escala industrial (Garcia-Salas et al., 2010; Chemat et al., 2011; Irakli et al., 2018).

4 Encapsulamento

A adição de ingredientes ricos em compostos fenólicos, com potenciais benéficos para a saúde, principalmente devido a ação antioxidante, em produtos alimentares é uma tendência crescente (Craft et al., 2012). Porém estes compostos precisam ser empregados de forma adequada, visto sua alta suscetibilidade às condições ambientais (oxigênio, luz, temperatura e umidade), de processamento e/ou gastrointestinais, que levam a degradação dos mesmos antes de alcançar seu ponto de absorção quando consumidos e que não interfiram adversamente nos atributos sensoriais dos alimentos (Nedovic et al., 2011; Craft et al., 2012; Đorđević et al., 2015; Dias et al., 2017).

Desse modo, o encapsulamento surge como uma tecnologia alternativa que visa assegurar a estabilidade dos compostos bioativos durante o processamento e armazenamento, prevenindo interações indesejáveis da matriz alimentícia com o meio externo, além de mascarar o sabor residual, o amargor e a adstringência dos fenólicos (Đorđević et al., 2015; Dias et al., 2017; Ozkan et al., 2019).

O encapsulamento é definido como um processo no qual pequenas partículas individuais ou gotículas de material sólido ou líquido (chamada núcleo) são revestidas, ou incorporadas em uma matriz homogênea ou heterogênea (chamada de material de parede), formando pequenas partículas com propriedade úteis, fornecendo uma barreira física entre o composto de interesse e outros componentes do produto (Gharsallaoui et al., 2007; Tyagi et al., 2011).

Esta tecnologia começou a ser desenvolvida por volta de 1950, com interesse significativo no setor farmacêutico e na indústria de alimentos (Nedovic et al., 2011), e atualmente muitos processos de encapsulamento existem, sendo alguns deles implementados em escala industrial solucionando diversas limitações, principalmente na indústria alimentícia (Champagne e Fustier, 2007; Đorđević et al., 2015).

No campo do processamento de alimentos, o encapsulamento tem sido amplamente utilizado para proteger os ingredientes alimentares contra a deterioração, perdas voláteis ou interação com outros ingredientes, além de permitirem a produção de ingredientes alimentícios na forma de produtos em pó (Kaderides et al., 2015).

As técnicas de encapsulamento podem ser classificadas em três grupos: métodos físicos, onde destaca-se a secagem por atomização, a liofilização, a precipitação com fluido supercrítico e evaporação de solvente; métodos físico-químicos, inclui-se a coacervação, lipossomas e gelificação iônica; e por fim os métodos químicos, tais como polimerização interfacial e a inclusão molecular (Ozkan et al., 2019).

A escolha adequada da técnica a ser empregada, decorre principalmente do tipo de material a ser encapsulado, compreensão de suas propriedades físico-químicas, e das características do produto final onde a encapsulação será aplicada (Augustin e Hemar, 2009; Dias et al., 2017). No entanto, Labuschagne (2018) ressalta que a secagem por atomização e a liofilização são os métodos de encapsulamento mais utilizados, estando presentes em cerca de 84 % das publicações, enquanto outras tecnologias de encapsulamento tem ganhado destaque apenas nos últimos anos.

Os materiais encapsulantes, chamados de materiais de parede, devem ter a capacidade de isolar e proteger o composto do ambiente externo, garantir a liberação dos compostos de forma adequada, não ter reatividade com o ingrediente ativo, ser de fácil manuseio, com baixa higroscopicidade e biodegradável, além de apresentar baixo custo, o que torna viável sua aplicação em formulações alimentícias (Labuschagne, 2018; Rocha et al., 2019).

Desse modo, é de grande importância selecionar apropriadamente a técnica de encapsulamento, assim como os materiais de parede, maximizando desta forma a incorporação e a retenção dos compostos funcionais dentro da matriz (Ballesteros et al., 2017).

4.1 Atomização (Spray drying)

Entre as técnicas de encapsulamento, a secagem por atomização (*spray drying*) caracteriza-se por ser um método econômico e que resulta em formação de pós estáveis, operando normalmente com temperaturas maiores que outras técnicas, mas com tempos de secagem mais curtos (Flores et al., 2014).

O princípio de funcionamento do método por atomização é a remoção da fase líquida por aplicação de calor ao produto a ser encapsulado e o controle da umidade do meio de secagem (Gharsallaoui et al., 2007). A evaporação do solvente é promovida pulverizando o produto a ser encapsulado numa atmosfera aquecida. A secagem por atomização é dividida em 4 estágios (Figura 4): atomização da solução a ser encapsulada; contato da dispersão com o gás quente; evaporação do solvente; e separação e recolhimento das partículas. Esses estágios são responsáveis pelas transformações que a dispersão que entra no secador de pulverização passa antes de se tornar pó através da retirada do solvente (Anandharamakrishnan e Ishwarya, 2015).

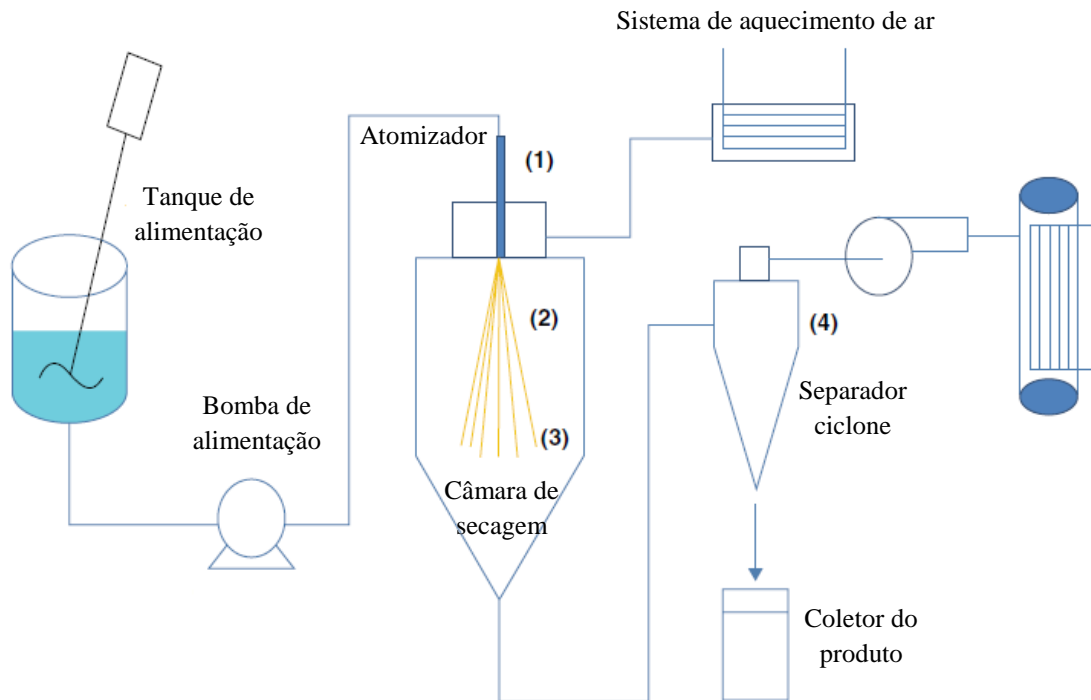


Figura 4 – Etapas do processo de secagem por pulverização. (1) Atomização. (2) Dispersão em contato com ar quente. (3) Evaporação do solvente (4) Separação do produto.

Fonte: Adaptado de Anandharamakrishnan e Ishwarya (2015).

As partículas são separadas em um ciclone, e o ar sai do sistema com uma temperatura mais baixa e uma umidade mais elevada (Dias et al., 2017). Esta técnica deve ser realizada adequadamente, escolhendo cuidadosamente a temperatura de secagem, tipo de atomização, material encapsulante e condições de armazenamento (Alexe e Dima, 2014).

Uma etapa de homogeneização da dispersão a ser encapsuladas deve ser realizada previamente antes da secagem, pois esta desempenha um papel fundamental na eficiência da encapsulação, garantindo que o material do núcleo fique completamente encapsulado na matriz (Cano-Higueta et al., 2015).

Diferentes materiais podem ser utilizados para o encapsulamento, tais como, proteínas lácteas e isolados proteicos vegetais; e polissacarídeos, como goma arábica, maltodextrina, amido modificado, inulina, goma de caju, polidextrose, goma guar parcialmente hidrolisada, e pectina (Dias et al., 2017).

A técnica de encapsulamento por atomização apresenta como vantagens, o baixo custo operacional, a alta qualidade, assim como a alta solubilidade dos pós obtidos, que possuem pequena granulometria e alta estabilidade no armazenamento (Madene et al., 2006). Este método pode ser aplicado em escala industrial, devido aos altos rendimentos, e por ser um

sistema relativamente barato, rápido e eficiente para o encapsulamento de componentes bioativos, tais como, óleos essenciais, corantes naturais, vitaminas e probióticos (Alexe e Dima, 2014; Dias et al., 2017).

Para o uso desta técnica deve-se considerar os fatores como a solubilidade e a sensibilidade ao calor dos compostos bioativos a serem encapsulados, assim como a estrutura química e natureza do material da parede, presença de outros componentes como açúcares e proteínas, bem como aspectos econômicos (Ozkan et al., 2019).

Vários estudos utilizam a atomização para o encapsulamento de compostos fenólicos provenientes de matrizes vegetais, conforme é apresentado na Tabela 1:

Tabela 1 – Estudos utilizando atomização no encapsulamento de compostos fenólicos.

Matéria prima	Material de parede	Temperatura do ar de secagem	Referência
Extrato de bagaço de uva (<i>Vitis vinifera</i>)	Maltodextrina, isolado de proteína de soro de leite e ervilha	140 °C	Moreno et al., 2018
Extrato de bagaço de uva (<i>Vitis vinifera</i>)	Maltodextrina, leite em pó desnatado e concentrado proteico de soro de leite	152–189 °C	Tsali e Goula, 2018
Resíduo de polpa e resíduo de acerola (<i>Malpighia emarginata</i> DC.)	Goma arábica e maltodextrina	170 °C	Rezende et al., 2018
Extrato de hibisco (<i>Hibiscus sabdariffa</i> L.)	Goma arábica, goma guar parcialmente hidrolisada e povidexose	140 °C	Piovesana e Noreña, 2018
Extrato de folhas de oliveira (<i>Olea europaea</i>)	Alginato de sódio	135–195 °C	González et al., 2019
Extrato de bagaço de amora-preta (<i>Rubus fruticosus</i>)	Maltodextrina	170 °C	Santos et al., 2019

4.2 Liofilização (Freeze drying)

A liofilização é um processo usado para a desidratação de quase todos os materiais sensíveis ao calor ou produtos com alto valor comercial. A operação de liofilização é baseada na sublimação da água presente na amostra. O material a ser encapsulado é congelado e, em seguida, reduzindo a pressão, a valores menores que 0,006 bar e posterior adição de calor suficiente, para permitir que a água congelada no material sublime diretamente da fase sólida para a fase gasosa (Fang e Bhandari, 2010).

Produtos sensíveis ao calor geralmente utilizam a encapsulação por liofilização, no entanto, a aplicação comercial desta técnica é restringida a ingredientes de alto valor. Isso ocorre porque a liofilização é um método lento e caro, comparado com o método de encapsulamento por atomização, uma vez que o ciclo pode ser longo, necessitando de um consumo de energia considerável (Morais et al., 2016). A estrutura dos pós liofilizados é mais porosa do que os pós secos por pulverização, no entanto, a secagem por congelamento é capaz de melhorar a estabilidade e facilitar o manuseio do produto final (Augustin e Hemar, 2009; Morais et al., 2016).

Ceballos et al. (2012) indicam que quando a liofilização é bem sucedida as propriedades iniciais da matéria-prima, tais como, aparência, sabor, cor, aroma e atividade biológica, são preservadas. Os autores ressaltam também que além de altamente porosas, as partículas obtidas apresentam aspecto quebradiço, são higroscópicas (durante o armazenamento é necessário o uso de embalagem impermeável ao vapor de água) e possuem excelente capacidade de reidratação.

Diferentes estudos utilizando a liofilização para o encapsulamento de compostos fenólicos de plantas são apresentados na Tabela 2:

Tabela 2 – Estudos utilizando liofilização no encapsulamento de compostos fenólicos.

Matéria prima	Material de parede	Temperatura	Referência
Extrato de polpa de amora preta (<i>Rubus</i> spp.)	Maltodextrina	-20 °C	Yamashita et al., 2017
Extrato de bagaço de carambola (<i>Averrhoa carambola</i>)	Maltodextrina	-55 °C	Saikia et al., 2015
Extrato de casca de uva	Goma arábica, goma guar parcialmente hidrolisada e polidextrose	-57 °C	Kuck e Noreña, 2016
Extrato de grãos de café torrado	Maltodextrina e goma arábica	-60 °C	Ballesteros et al., 2017.

4.3 Materiais de parede

O material de parede utilizado para o revestimento das partículas possui uma grande influência nas propriedades da substância encapsulada, principalmente no que diz respeito a eficiência de encapsulação e a estabilidade dos pós e devem ser escolhidos cuidadosamente (Dias et al., 2017). Çam et al. (2014) ressaltam que estes materiais exercem papel fundamental na preservação dos compostos existentes no momento do encapsulamento, contribuindo assim para uma maior estabilidade dos pós sob condições adversas de armazenagem e utilização.

Os critérios para escolha do agente encapsulante baseiam-se em vários fatores, entre eles, a não reatividade com o material a ser encapsulado, o processo utilizado para a formação da partícula, o mecanismo de liberação ideal, solubilidade, massa molar, cristalinidade, difusibilidade, propriedades formadoras de filme e emulsionantes, e a viabilidade econômica (Gharsallaoui et al., 2007; Favaro-Trindade et al., 2008).

Os materiais de parede geralmente utilizados na encapsulação podem ser materiais tais como os carboidratos, lipídeos e proteínas. As propriedades destes materiais definem as características do produto final, influenciando no tamanho, forma e estrutura das partículas, assim como determina sua estabilidade durante a produção, armazenamento e consumo, além de ainda, controlar a liberação do material encapsulado quando necessário (Gharsallaoui et al., 2007; Dias et al., 2017).

A indústria alimentícia tem grande interesse pela procura de novos materiais encapsulantes, que visem melhorar a eficiência do processo de encapsulamento e a proteção dos compostos bioativos, sendo a aplicação de partículas em matrizes alimentares complexas o maior desafio (Dias et al., 2017).

4.3.1 Goma guar parcialmente hidrolisada

A goma guar é uma das fibras dietéticas mais promissoras utilizada na indústria de alimentos. É um polissacarídeo solúvel em água e composta por cadeias de açúcares de galactomananas (galactose e manose), sendo sintetizada a partir das sementes de guar (*Cyamopsis tetragonoloba* L.), planta comumente encontrada na Índia e Paquistão (Slavin e Greenberg, 2003; Yoon et al., 2008; Prajapati et al., 2013; Bosio et al., 2014). A partir de 1950 as sementes de guar foram transformadas em goma e utilizadas como aditivo alimentar. Na indústria alimentícia, a goma guar é amplamente utilizada, atuando como um agente espessante e estabilizante em uma grande variedade de produtos, geralmente em quantidades inferiores a 1 % do peso do alimento (Slavin e Greenberg, 2003; Yoon et al., 2008).

A goma guar é solúvel em água fria, formando uma estrutura de gel em água quente, e assim como outras fibras é resistente à degradação enzimáticas que ocorre na boca, estômago e intestino delgado, sofrendo degradações apenas no cólon (Fathi et al., 2014). No entanto, a goma guar é extremamente viscosa, o que dificulta a sua incorporação em produtos alimentares, e sua aplicação como encapsulante, inviabilizando seu potencial benéfico à saúde, visto que ela deve ser adicionada em pequenas quantidades (Parisi et al., 2005; Fathi et al., 2014). Desta forma, uma alternativa para sua aplicação é a realização de hidrólise parcial, onde se produz uma goma com viscosidade reduzida, podendo ser facilmente adicionada nos alimentos em quantidades superiores à goma guar nativa (Fernandes et al., 2006; Fathi et al., 2014).

Desta forma, a goma guar parcialmente hidrolisada fornece os benefícios associados com ingestão de fibra dietética, pois com seu menor peso molecular e menor viscosidade do que a goma guar natural, apresenta-se estável, não contendo muita água e com sabor suave, gerando aceitação por parte dos consumidores (Slavin e Greenberg, 2003). Prajapati et al. (2013) relatam que a fibra dietética diminui as concentrações plasmáticas de glicose, triglicerídeos, colesterol, além de auxiliar na redução de peso e na terapia do câncer, especialmente aqueles relacionados com a desordem intestinal. Além disso, estudos demonstram que a goma guar parcialmente hidrolisada, melhora moderadamente o crescimento de diversas cepas de bactérias do cólon apresentando atividade prebiótica (Okubo et al., 1994).

4.3.2 *Polidextrose*

A polidextrose é definida como um polímero de moléculas de glicose unidas por ligações α (1 \rightarrow 6), contendo como grupo terminal o sorbitol e/ou ligações monoésteres de ácido cítrico (Gomes et al., 2007). Como não é hidrolisada por enzimas digestivas no intestino delgado, passa intacta ao cólon, onde é gradualmente e parcialmente fermentada pela microbiota endógena. O restante, cerca de 60 %, é excretada nas fezes (Carmo et al., 2016). Estas características resultam em seu baixo teor calórico, sendo esta propriedade responsável pela sua classificação como fibra dietética (Flood et al., 2004).

Este polímero apresenta-se na forma de pó, com coloração creme, possuindo alta higroscopicidade, sua aplicação confere ao produto corpo e textura, não atribuindo sabor e odor aos alimentos, além disso, demonstra características funcionais semelhantes às da sacarose. É utilizada em uma ampla variedade de alimentos como produtos de panificação, confeitaria, produtos lácteos e bebidas funcionais, pois é altamente solúvel em água e resulta em uma solução não-viscosa, sendo alvo de vários estudos, devido à sua versatilidade e multifuncionalidade (Carmo et al., 2016).

A polidextrose apresenta atividade prebiótica, pois estimula o crescimento de lactobacilos e bifidobactérias e a fermentação contínua ao longo do cólon (Jie et al., 2000), além disso seu mecanismo de ação assemelha-se ao de outras fibras, tais como as pectinas, β -glucanas da aveia e a fração solúvel do farelo de trigo (Montenegro et al., 2008).

Kuck e Noreña (2016) encapsularam extratos provenientes de cascas de uva por atomização e liofilização, utilizando polidextrose e goma guar parcialmente hidrolisada como materiais de parede, obtendo as melhores retenções de compostos fenólicos (valores superiores a 80 %) com a mistura destes dois encapsulantes.

4.3.3 *Colágeno hidrolisado*

O colágeno representa, juntamente com a elastina e a queratina, um importante conjunto de proteínas fibrosas, fornecendo suporte estrutural para células e tecidos de mamíferos invertebrados, sendo essencial para a locomoção (Ferraro et al., 2016). É geralmente extraído de peles, couros, ossos, tendões e cartilagens (Gómez-Guillén et al., 2011).

Colágeno hidrolisado apresenta como característica mais importante a sua composição de aminoácidos, fornecendo alto níveis de dois aminoácidos essenciais, glicina e prolina, fundamentais para a estabilidade e a regeneração das cartilagens (Walrand et al., 2008). A glicina representa cerca de 30 % do total de aminoácidos presentes, fazendo com que o peso do

colágeno seja menor que de outras proteínas com o mesmo número de resíduos de aminoácidos (Ferraro et al., 2016).

Devido a estes consideráveis teores de aminoácidos essenciais, o colágeno desempenha um importante papel nas dietas humanas, contribuindo para a prevenção de doenças articulares além de possuir quantidades significativas de fibras nutritivas e constituir uma relevante fonte de proteína animal (Sousa et al., 2017).

Em consequência das propriedades funcionais e bioativas, o uso do colágeno está presente em diferentes áreas, como alimentos, cosméticos e produtos farmacêuticos. Atualmente, um número crescente de novas aplicações para o colágeno em produtos alimentícios são relatados, pois pode ser utilizado como agente emulsificante, formador de espuma, estabilizante coloidal, hidrogel, formador de filmes, encapsulante, bem como um peptídeo bioativo, estando sua utilização em consonância com a tendência crescente de uso de agentes naturais para tais aplicações (Gómez-Guillén et al., 2011).

4.3.4 *Pectina*

Pectinas são polissacarídeos complexos, constituídos principalmente de resíduos de ácido galacturônico covalentemente ligados a α (1 \rightarrow 4) intercalados com cadeias laterais com ligações α (1 \rightarrow 2) de ramnose e alguns outros resíduos de açúcares neutros, estando presentes nas paredes celulares das plantas conferindo resistência mecânica e flexibilidade (Liu et al., 2003; Fathi et al., 2014; Chan et al., 2017; Petkowicz et al., 2017). Sua composição e estrutura são dependentes da fonte extraída, estágios de desenvolvimento e das condições da extração (Petkowicz et al., 2017).

Como constituinte dos vegetais, a pectina é um componente natural da dieta humana, contribuindo com a ingestão de fibras solúveis, que embora, não sejam digeridas pelo trato gastrointestinal superior, há evidências de que estas fibras sejam benéficas para a saúde (Maxwell et al., 2012). Apresenta resistência à digestão enzimática na boca e no estômago, mas é degradada pela microflora do cólon, o que torna útil sua aplicação em formulações alimentares sensíveis a ácidos (Fathi et al., 2014).

Na indústria alimentícia as pectinas são amplamente utilizadas, principalmente como agentes gelificantes, emulsificantes, estabilizantes e espessantes (Maxwell et al., 2012; Petkowicz et al., 2017; Chan et al., 2017). A pectina pode ser incorporada em estruturas mistas e tem a propriedade de estabilizar outros sistemas (polissacarídeos e/ou proteínas). O sinergismo leva a uma estrutura diferente dos géis puros, melhorando a qualidade do produto

final (Chan et al., 2017). Além disso, pectinas podem gerar emulsões estáveis com concentrações entre 1 e 2 % (Sun et al., 2019).

Na utilização de uma mistura de pectina e maltodextrina como materiais de parede, Sansone et al. (2011) obteve retenções acima de 80 % para compostos fenólicos provenientes de extratos de plantas medicinais encapsulados por atomização. Souza et al. (2017), para o encapsulamento de fenólicos oriundos de bagaço de jaboticaba, através da liofilização, empregando pectina, maltodextrina e proteína isolada de soja, também obtiveram resultados satisfatórios, com retenções superiores a 90 % quando as partículas foram expostas a radiação UV por 90 dias.

CAPÍTULO 2

EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS DE BRÁCTEAS DA *Araucaria angustifolia* POR EXTRAÇÃO ASSISTIDA POR MICRO-ONDAS E ULTRASSOM

Mariane Santos Dorneles, Caciano Pelayo Zapata Noreña *

* Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos (ICTA), Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Av. Bento Gonçalves, 9500, Prédio 43.212 Campus do Vale, CEP 91501-970 Porto Alegre, RS, Brasil

Resumo

As brácteas da *Araucaria angustifolia* são um subproduto que atualmente não está sendo aproveitado comercialmente, porém apresenta valores consideráveis de compostos fenólicos, entre eles os taninos. Neste estudo foram propostos dois métodos de separação dos compostos fenólicos presentes nas brácteas, a extração assistida por micro-ondas nas potências de 700, 800 e 1000 W, em tempos de 10, 15 e 20 min; e a extração assistida por ultrassom com potências de 250, 350 e 450 W e tempos de 10, 15 e 20 min. Os resultados obtidos indicaram que a melhor condição de extração foi obtida através da extração assistida por micro-ondas a 1000 W por 20 min, com teores de 47,61 mg g⁻¹ (b.s)_{EAT}, 27,09 mg g⁻¹ (b.s)_{EAT}, 779,95 mg g⁻¹ (b.s)_{ECAT}, 427,28 μmol g⁻¹ (b.s)_{ET}, 467,79 μmol g⁻¹ (b.s)_{ET}, para compostos fenólicos totais, taninos totais, taninos condensados, e atividade antioxidante por ABTS e DPPH, respectivamente. Essa condição quando comparada com a extração exaustiva realizada, não apresentou diferenças significativas quanto aos compostos fenólicos totais, taninos totais e taninos condensados, enquanto que para atividade antioxidante por DPPH apresentou valores significativamente maiores. A extração assistida por ultrassom não obteve resultados satisfatórios em relação a extração exaustiva e a extração assistida por micro-ondas, apresentando valores inferiores para os compostos investigados.

Palavras-Chaves: Brácteas. *Araucaria angustifolia*. Taninos condensados. Compostos fenólicos. Ultrassom. Micro-ondas.

1 Introdução

A *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Kuntze é uma conífera nativa do sul do Brasil, popularmente conhecida como “pinheiro-do-paraná”, “pinheiro-brasileiro”, ou apenas araucária (BRDE, 2005; Souza et al., 2014). No Brasil está presente nos estados da região sul: Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul e algumas áreas do sudeste, também sendo encontrada no nordeste da Argentina e no leste do Paraguai (Bittencourt e Sebbenn, 2007; Souza et al., 2014).

É uma espécie dioica, onde as estruturas reprodutivas masculinas e femininas são formadas em árvores diferentes. No gênero feminino são encontradas as pinhas, que possuem sementes comestíveis, conhecidas como pinhão, que apresentam alto valor nutricional sendo consumidas pela população local e por diferentes espécies de animais (Guerra et al., 2002; Santos et al., 2002; Peralta et al., 2016). Nas pinhas também são encontradas as brácteas, que são sementes estéreis, comumente descartadas no ambiente, pois atualmente não possuem nenhuma utilidade comercial, constituindo cerca de 80 % do peso da pinha (Souza et al., 2014).

Estudos reportam que tanto as cascas dos pinhões como as brácteas possuem altos teores de compostos fenólicos, entre eles, os taninos condensados de alta massa molecular, os quais possuem maior atividade antioxidante do que os compostos fenólicos simples (Cordenunsi et al., 2004; Koehnlein et al., 2012, Michelin et al., 2012; Mota et al., 2014; Souza et al., 2014).

Atualmente existe uma tendência no mercado pelo consumo de alimentos que, além de satisfazerem a fome e garantirem os nutrientes básicos necessários a uma dieta, promovam outros benefícios relacionados à saúde (Đorđević et al., 2015; Rao et al., 2018). O interesse por compostos bioativos principalmente aqueles com alta capacidade antioxidante aumentou nas últimas décadas (Liu et al., 2019), devido principalmente, ao potencial de auxílio e redução dos riscos das doenças ligadas ao estresse oxidativo (Karabegović et al., 2013).

Os compostos fenólicos são amplamente utilizados em diferentes indústrias, incluindo tintas, fertilizantes, explosivos, têxteis, borrachas, plásticos, alimentos, entre outras (Raza et al., 2019). Na indústria alimentícia o uso de tais compostos vem atender a exigência dos consumidores na promoção dos benefícios desejados e com isso tornou crescente a procura por fontes que contenham compostos fenólicos para sua aplicação, principalmente como agentes antimicrobianos e antioxidantes (Sahreen et al., 2010; Alcântara et al., 2019).

Os taninos condensados são compostos fenólicos poliméricos amplamente encontrados em frutas, sementes, flores e cascas (Nandakumar et al., 2008; Yang et al., 2012). Estes compostos têm recebido grande atenção, em virtude de estarem relacionados a uma ampla gama de potenciais benefícios para a saúde (Silva et al., 2014), como atividade antioxidante, e

propriedades antimicrobiana, antimutagênica e anticarcinogênica (Santos-Buelga e Scalbert, 2000; Zarin et al., 2016).

Estudos já demonstram que as brácteas de araucária, ricas em taninos condensados, desempenham além da função antioxidante, ação antimutagênica e antigenotóxica contra o peróxido de hidrogênio, assim como atividades antitumorais e pró-apoptóticas (Michelon et al., 2012; Souza et al., 2014; Branco et al., 2015).

A fim de obter-se uma extração eficiente de compostos bioativos provindos de matrizes vegetais, diferentes métodos de extração e solventes podem ser usados (Karabegović et al., 2014). Para as extrações dos compostos fenólicos geralmente são empregados métodos que utilizam solventes orgânicos e altas temperaturas. No entanto, métodos não convencionais são também empregados, como a extração assistida por micro-ondas (EAM), extração assistida por ultrassom (EAU), fluidos supercríticos, entre outras (Barrales et al., 2018).

O emprego destas tecnologias não convencionais tem como intuito alcançar um menor gasto energético, baixo consumo de solventes orgânicos, menores tempos de extração, e sua aplicação em compostos sensíveis à temperatura (Chemat et al., 2011; Chan et al., 2014; Barba et al., 2016). Diante disso, um método de extração eficaz deve maximizar a extração de compostos alvo com uma degradação mínima dos mesmos, além de ser baseado em tecnologias chamadas limpas ou verdes (Cai et al., 2016).

Na EAM, as radiações eletromagnéticas das micro-ondas encontram-se na faixa de frequência de 300 MHz a 300 GHz, e comumente os aparelhos domésticos e industriais operam a 2,45 GHz (Wang e Weller, 2006; Azmir et al., 2013). Nesta tecnologia de extração, as micro-ondas transferem energia para os materiais por aquecimento dielétrico. As interações das micro-ondas com os componentes polares do alimento geram calor por conversão de energia eletromagnética em térmica, causando aquecimento rápido e uniforme nos materiais da extração (Wang e Weller, 2006; Martinez-Guerra e Gude, 2014; Pimentel-Moral et al., 2018).

O ultrassom é uma onda sonora não detectada pela audição humana, apresentando uma frequência acima de 16 kHz (Fellows, 2000). As ondas passam por um meio criando compressão e expansão, produzindo o fenômeno da cavitação, que se caracteriza pela produção, crescimento e colapso de bolhas (Azmir et al., 2013). As propriedades físicas e químicas dos materiais são alteradas devido à cavitação, que rompe as paredes celulares e com isso facilita a liberação de compostos extraíveis (Dhanani et al., 2017).

Devido à estas características, a utilização das EAM e EAU para extrair taninos tem despertado grande interesse e potencial de pesquisa, tornando-se um método bastante utilizado em laboratórios e em escala industrial, pois além de reduzirem tempos de extração e uso de

solvente tem mostrado aumento da recuperação de compostos bioativos quando comparado com métodos convencionas (Naima et al., 2015; Irakli et al., 2018).

Este estudo objetivou avaliar os métodos de EAM e EAU para obtenção de compostos fenólicos provenientes das brácteas de *Araucaria angustifolia* utilizando água como solvente, comparando estas extrações com um método exaustivo com utilização de solvente orgânico.

2 Materiais e métodos

O estudo foi desenvolvido nos Laboratórios de Engenharia de Processos em Alimentos e de Desidratação do Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (ICTA/UFRGS).

2.1 Matéria-prima

As brácteas de *Araucaria angustifolia* foram provenientes de uma propriedade rural do município de Brochier, RS, Brasil, (Localização GPS 29°34'06,0"S e 51°38'38,7"O), safra 2017 nos meses de maio e junho. No laboratório, foram realizadas as operações de: seleção manual para a retirada de injúrias e materiais estranhos; lavagem em água potável; evaporação do excesso de água na superfície em temperatura ambiente (20 °C); moagem; e acondicionamento em embalagens seladas de polietileno para armazenamento a -18 °C até o momento da utilização.

2.2 Caracterização das brácteas

As brácteas foram caracterizadas quanto ao teor de umidade (AOAC, 2012, n° 984.25), lipídios (AOAC, 2012, n° 920.39), proteínas (AOAC, 2012, n° 960.52), fibra (AOAC, 2012, n° 991.43), cinzas (AOAC, 2012, n° 923.03) e carboidratos (AOAC, 2012, n° 984.25). A atividade de água (a_w) foi avaliada pelo medidor de a_w (Aqualab, 3TE-Decagon) conforme método da AOAC (2012) n° 978.18 e o potencial hidrogeniônico (Quimis, Q400M1) de acordo com AOAC (2012) n° 973.41.

2.3 Métodos de extração

As brácteas foram previamente descongeladas. A seguir foram adicionadas à água destilada, obtendo-se uma suspensão aquosa na proporção 1:20 (m/m). Esta suspensão foi submetida à agitação mecânica (Ika, RW 20) durante 10 min, e resfriada até 0 °C para posteriormente ser submetida às extrações assistidas.

Dois métodos de extração foram usados neste estudo. O primeiro método baseou-se na extração assistida por micro-ondas (EAM) usando um micro-ondas (Electrolux, MEF41). Dois fatores foram avaliados nesta extração: potência e tempo. De acordo com testes preliminares foram determinados os níveis de cada fator, tendo a potência os níveis de 700, 800 e 1000 W, e o tempo, os níveis de 10, 15 e 20 min. O segundo método investigado foi a extração assistida por ultrassom (EAU). A suspensão foi submetida a um sonicador de ponteira (Eco-Sonics, QR750), utilizando-se dois fatores: potência, com níveis de 250, 350 e 450 W; e tempo, com níveis de 10, 15 e 20 min. Nos dois métodos de extração padronizou-se a temperatura inicial à 0 °C e ao final de cada tratamento a temperatura foi mensurada. Os extratos obtidos foram filtrados à vácuo com filtro *Whatman* n° 01. Para ambos métodos de extração as variáveis de resposta analisadas foram os teores de compostos fenólicos totais (CFT), taninos totais (TT), taninos condensados (TC) e atividade antioxidante usando os métodos de ABTS e DPPH.

Para comparação aos métodos de EAM e EAU realizou-se uma extração exaustiva conforme a metodologia proposta por Makkar (2003), onde utilizou-se uma solução acetona:água (70:30; v/v) como solvente. Para o preparo do extrato, misturou-se 200 mg de brácteas, juntamente com 10 mL da solução aquosa de acetona em um béquer, o qual foi colocado em um banho de ultrassom (Unique, USC 1400) e submetido ao tratamento durante 20 min à temperatura ambiente (20 °C). O conteúdo do béquer foi centrifugado (Sigma, 4K15) por 10 min a 3000×g e 4 °C. Após, o sobrenadante foi filtrado e mantido no gelo. O retido neste processo foi submetido a extração por mais duas vezes.

Todas as extrações e análises realizadas foram executadas em triplicata e sob o abrigo da luz.

2.4 Análises espectrofotométricas

As análises realizadas através da espectrofotometria tiveram as medidas de absorbâncias lidas em espectrofotômetro UV-visível (Thermo Scientific, Genesys S10).

2.4.1 Compostos fenólicos totais

Para a análise do teor de compostos fenólicos totais foi utilizado o método de *Folin-Ciocalteu*, medindo as absorbâncias em comprimento de onda de 765 nm de acordo com Singleton e Rossi (1965). Elaborou-se uma curva padrão de ácido tânico e os resultados foram expressos em mg de equivalente de ácido tânico (EAT) por g de bráctea em base seca.

2.4.2 Taninos totais

Os taninos totais (TT) foram analisados conforme a metodologia proposta por Makkar (2003) que consistiu em adicionar 100 mg de polivinilpolipirrolidona (PVPP) em um tubo de ensaio com 1,0 mL de água destilada e 1,0 mL do extrato e agitar em vortex (Quimis, Q920A2). A reação foi mantida a 4 °C durante 15 min, e centrifugada a 3000×g a 4 °C, por 10 min. O sobrenadante, contendo apenas os compostos fenólicos simples foi analisado conforme Singleton e Rossi (1965), com leitura a 765 nm, sendo o teor de taninos totais determinado pela diferença do teor de compostos fenólicos totais encontrado anteriormente e o teor dos compostos fenólicos simples encontrado no sobrenadante. A curva padrão de ácido tânico foi utilizada para que os resultados fossem expressos em mg de equivalente de ácido tânico (EAT) por g de bráctea em base seca.

2.4.3 Taninos condensados

Os taninos condensados (TC) foram determinados pelo método descrito por Makkar (2003), onde em um tubo de ensaio foi depositado 0,5 mL do extrato, 3 mL de uma solução de butanol/HCl (95:5, v/v) e 0,1 mL da solução de sulfato férrico/HCl (2 g de sulfato férrico amoniacal em 100 mL de solução HCl 2N).

O tubo foi tampado, agitado em vortex (Quimis, Q920A2) e aquecido em banho-maria a 100 °C por 60 min. Após arrefecimento, a absorbância foi lida a 550 nm. Um branco de cada amostra foi preparado nas mesmas condições, porém sem o aquecimento. Elaborou-se uma curva padrão de catequina para que os teores de taninos condensados fossem expressos em equivalente de catequina (ECAT) por g de bráctea em base seca.

2.4.4 Atividade antioxidante por ABTS

O método de ABTS descrito por Re et al. (1999) foi utilizado para medir a atividade antioxidante das amostras. O radical ABTS (2,2'-azino-bis (ácido 3-etilbenzotiazolino-6-sulfônico)) foi produzido através da diluição de uma solução estoque de ABTS (7 mM) com persulfato de potássio (140 mM), sendo a mistura mantida no escuro em temperatura ambiente (± 20 °C) durante 16 h. A solução radical ABTS foi diluída com etanol (99,5 %) até atingir um valor de absorção de $0,700 \pm 0,050$ a 734 nm. Após, uma alíquota de 30 μ L da amostra foi adicionada a 3 mL de solução de radical ABTS e depois de 6 min de reação a leitura foi realizada a 734 nm. A fim de expressar os resultados como μ mol de equivalentes de Trolox (ácido 6-hidróxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxílico) por g de bráctea em base seca, foi elaborada uma curva padrão de Trolox.

2.4.5 Atividade antioxidante por DPPH

O método de DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) descrito por Brand-Williams et al. (1995) foi utilizado para avaliar a atividade antioxidante das amostras. O radical DPPH foi preparado em metanol puro. Para as análises foram usados 100 µL dos extratos e 3,9 mL do radical, e após 1 h de repouso ao abrigo de luz, a reação foi lida a 515 nm. Uma curva padrão de Trolox foi elaborada para que os resultados fossem expressos como µmol de equivalente de Trolox por g de bráctea em base seca.

2.5 Análise colorimétrica

Para a medida de cor, foi utilizado um colorímetro (Minolta, CR400/410) de acordo com o sistema CIEL*a*b*, onde L^* indica a luminosidade e a^* e b^* , são as coordenadas cromáticas. Estes parâmetros foram necessários para que se calcule os valores de *Chroma*, ângulo *Hue* e a diferença total de cor (ΔE) em relação às brácteas, de acordo com as equações (1), (2), (3) (CIE, 2004).

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

$$Hue = tg^{-1}\left(\frac{b^*}{a^*}\right) \quad (2)$$

$$\Delta E = \sqrt{(L_0^* - L^*)^2 + (a_0^* - a^*)^2 + (b_0^* - b^*)^2} \quad (3)$$

Onde: a^* ; b^* ; L^* : referem-se aos dados dos extratos.

a_0^* ; b_0^* ; L_0^* : referem-se aos dados das brácteas.

2.6 Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as comparações entre as médias dos tratamentos foram realizadas utilizando o teste de *Tukey*. Os cálculos foram realizados através do *software* estatístico SAS 9.3

3 Resultados e discussão

3.1 Caracterização matéria prima

Na Tabela 1 é apresentada a análise centesimal das brácteas após moagem.

Tabela 1 – Composição centesimal das brácteas da *Araucaria angustifolia*

	Brácteas
a_w	0,91±0,00
pH	6,80±0,03
Umidade	0,31±0,27
Cinzas	2,46±0,01
Proteínas	9,44±0,22
Lipídios	0,82±0,06
Fibras	54,03±0,47
Carboidratos	33,25±0,05

Valores de concentração expressos em g 100 g⁻¹ em base seca.

As brácteas caracterizam-se pela predominância de fibras (54,03 g 100 g⁻¹), seguida de carboidratos (33,25 g 100 g⁻¹), e baixo teor de lipídios (0,82 g 100 g⁻¹). Até o momento a literatura não reporta a caracterização centesimal de brácteas.

3.2 Extração assistida por micro-ondas

Os teores de CFT, TT e TC obtidos na EAM e extração exaustiva (EE) estão apresentados na Figura 1. Na potência de 1000 W por 20 min (T9) o teor de CFT obtido foi de 47,61 mg g⁻¹ (b.s.)_{EAT}, sendo significativamente maior ($p < 0,05$) que nos demais tratamentos por EAM, atingindo no final da extração a temperatura aproximada de 95 °C.

Piñeiro et al. (2017) avaliaram os efeitos da EAM, na recuperação de estilbenos, em subprodutos da produção de vinho, atingindo resultados satisfatórios em condições de 750 W de potência em 5 min de exposição, com etanol (80 %) como solvente. Os autores concluíram que o tempo empregado com a EAM foi 10 % do tempo total usados pela extração com etanol

a 75 °C em ultrassom e pela extração com acetona em temperatura ambiente durante toda a noite, sem diferença significativa dos teores dos compostos entre as técnicas analisadas.

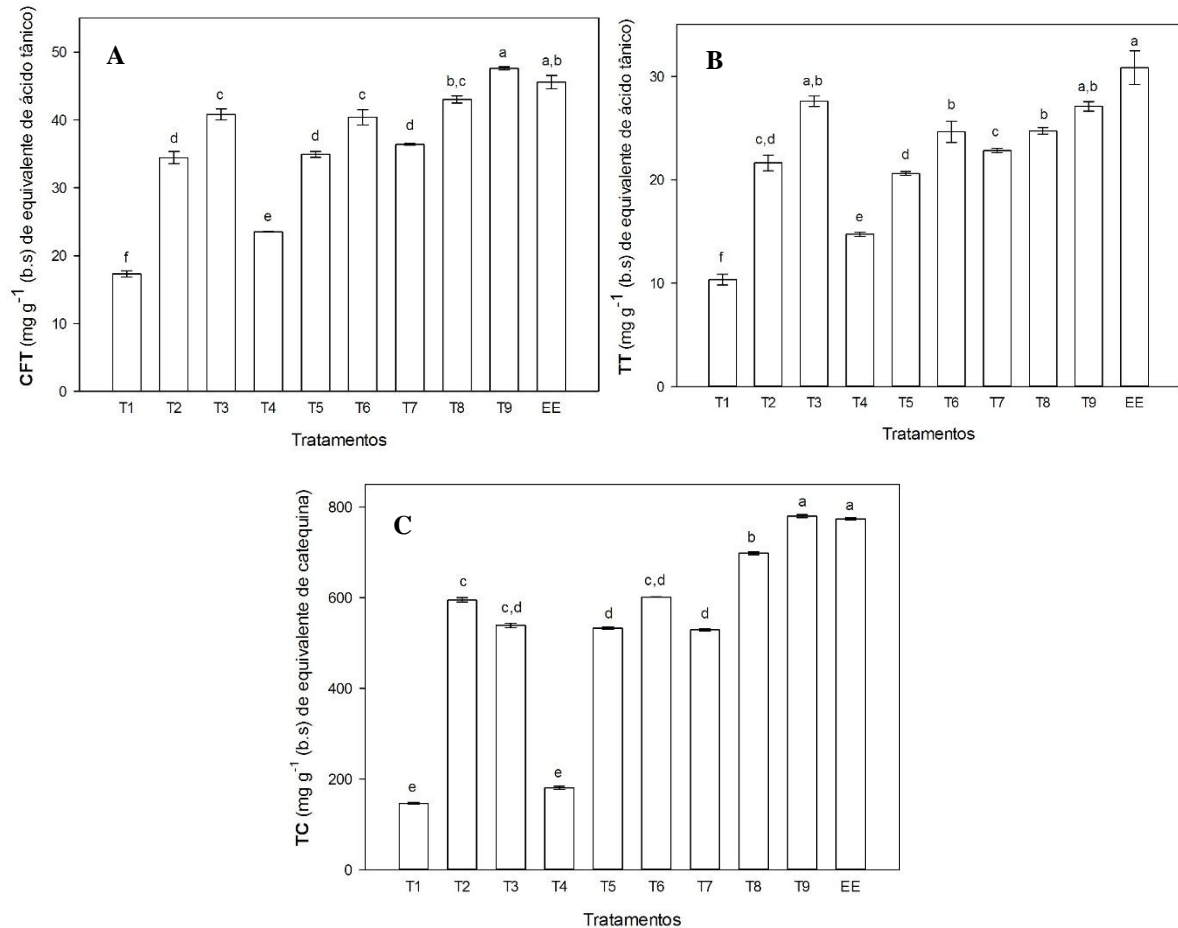


Figura 1 – Teores de compostos fenólicos totais (CFT) (A), taninos totais (TT) (B), taninos condensados (TC) (C), dos extratos de brácteas de *Araucaria angustifolia* obtidos por extração assistida por micro-ondas e extração exaustiva. (T1: 700 W, 10 min; T2: 700 W, 15 min; T3: 700 W, 20 min; T4: 800 W, 10 min; T5: 800 W, 15 min; T6: 800 W, 20 min; T7: 1000 W, 10 min; T8: 1000 W, 15 min; T9: 1000 W, 20 min; EE: extração exaustiva). Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).

No presente estudo as brácteas de araucária foram extraídas usando apenas água destilada como solvente na EAM, e em comparação com a extração exaustiva empregada utilizando-se acetona, o tratamento T9 (1000 W; 20 min), apresentou um rendimento sem diferenças significativas em relação aos teores de CFT, mas com uma redução de 83 % no tempo de extração. A polaridade do solvente é um fator importante para a EAM. Em razão disso, a utilização de água como solvente afeta positivamente a solubilidade dos compostos fenólicos na solução (Bouras et al., 2015). A constante dielétrica da água é superior a de solventes como etanol e metanol e isso implica um fator de dissipação menor, e como resultado

o sistema absorve mais energia do que pode dissipar, sendo que esta absorção proporciona o aumento da temperatura dentro da amostra, levando a ruptura das células da matriz (Bouras et al., 2015; Veggi et al., 2013).

Os resultados indicaram que com a maior potência e o maior tempo utilizados (Figura 1A), foi proporcionada a melhor condição de extração dos compostos fenólicos para EAM. Além disso para as potências menores, percebe-se que quanto maior o tempo de exposição maior é a extração de fenólicos. Este fato era esperado, pois a potência das micro-ondas é uma das principais variáveis que afetam a liberação de compostos fenólicos das mais diversas matrizes, pois provocam a ruptura da parede celular, e também tem a capacidade de modificar as condições de equilíbrio e transferência de massa durante o processo (Dahmoune et al., 2015). Além disso, a potência quando aumentada, induz a uma temperatura mais alta, ocasionando uma extração mais eficaz dos compostos fenólicos (M'Hiri et al., 2015). Porém, o binômio tempo-potência que determina a temperatura final atingida ou controlada define o sucesso da extração.

Galan et al. (2017) no estudo da extração de CFT proveniente de folhas secas de espinheiro do mar (*Hippophae rhamnoides* L.), compararam a EAM com a extração convencional com aquecimento. Neste estudo, os pesquisadores aplicaram as mesmas variáveis nas extrações, incluindo taxas de aquecimento e solventes orgânicos, diferindo apenas a fonte de aquecimento. Como resultado obtiveram um incremento de 8 % nos teores de CFT com a utilização da EAM sugerindo que este efeito deve-se ao aquecimento proporcionado pela ação das micro-ondas.

Os dados apresentados na Figura 1B referem-se aos teores de TT presentes nos diferentes tratamentos. Observa-se que as maiores extrações na EAM foram obtidas nos tratamentos T9 (1000 W; 20 min), T8 (1000 W; 15min), T6 (800 W; 20 min) e T3 (700 W; 20 min), não havendo diferenças significativas entre eles ($p < 0,05$).

Para os TC (Figura 1C), o T9 (1000 W; 20 min) foi o tratamento por EAM cujo teor foi significativamente maior que os demais, assim como verificado para CFT, não havendo diferenças significativas com a extração exaustiva empregada.

Dahmoune et al. (2015) mencionam que quanto maiores as potências e tempos de exposição as micro-ondas, maiores são as temperaturas de extração, aumentando dessa forma a solubilidade e difusividade dos compostos fenólicos e diminuindo a viscosidade do solvente de extração, resultando em uma maior liberação e dissolução dos compostos de interesse.

A temperatura neste estudo não foi caracterizada como um fator a ser estudado nas extrações, devido à dificuldade de controle deste parâmetro durante a extração. No entanto, a

temperatura foi monitorada no tempo inicial ($T_0 = 0\text{ }^\circ\text{C}$) e tempo final (com T_f que variou de 74 a 95 $^\circ\text{C}$ entre todos os tratamentos por EAM). Sabe-se que no final da extração do tratamento T9 obteve-se a temperatura mais elevada. Por conseguinte, acredita-se que este fator possa ter sido fundamental para os resultados satisfatórios obtidos nesta condição de extração. Todavia, maiores tempos de exposição e potência, poderiam conduzir à degradação de estruturas químicas termolábeis dos compostos fenólicos, devido à exposição com temperaturas mais elevadas. Desta forma, é preciso que se atinja um equilíbrio entre o tempo de exposição, a potência e a temperatura alcançada com a extração, visando bons rendimentos de extração sem a degradação dos compostos (Pimentel-Moral et al., 2018).

Hemwimon et al. (2007) também relatam que o aumento da recuperação de compostos pela ação das micro-ondas pode ser atribuído ao efeito de aquecimento, pois o solvente aquece quando suas moléculas polares tentam alinhar-se com rapidez suficiente ao campo elétrico de alta frequência do micro-ondas, fazendo com que essas moléculas dissipem energia absorvida na forma de calor, e com isso aumentam a solubilidade e difusividade dos compostos.

Rhazi et al. (2015) utilizaram cascas de *Acacia molissima* para EAM de taninos condensados e hidrolisados com metanol a 20 % e metanol a 80 % como solventes, encontrando maiores rendimentos com a diminuição do uso do solvente orgânico.

Na Figura 2 são apresentados os dados obtidos pela EAM e extração exaustiva para a atividade antioxidante pelos métodos de ABTS e DPPH.

Para o ensaio de eliminação de radicais de ABTS, é gerado um cromóforo $\text{ABTS}^{\bullet+}$ (azul esverdeado) através da reação de ABTS com persulfato de potássio (Zarin et al., 2016), monitorando-se a redução do radical, que ocorre pela adição de antioxidantes ao meio (Koehnlein et al., 2012). Na atividade antioxidante por ABTS (Figura 2A), entre os tratamentos referentes a EAM, o T9 apresentou valor significativamente maior que os demais, no entanto, para esta análise a extração exaustiva apresentou resultado superior ($p < 0,05$) em relação a EAM.

Os compostos fenólicos possuem a capacidade de doação de elétrons, que podem ser avaliadas, por exemplo, pelo clareamento da solução de cor roxa produzida pelo radical DPPH, pois o grau de mudança de cor é proporcional à concentração dos antioxidantes adicionados ao radical (Zarin et al., 2016). O DPPH é um dos radicais sintéticos mais utilizados para avaliação da atividade antioxidante de compostos bioativos. É mais estável do que radicais hidroxil e superóxido, e não é afetado por reações colaterais como quelação de íons metálicos e inibição enzimática (Koehnlein et al., 2012). Para o método de DPPH (Figura 2B) não houveram diferenças significativas entre os tratamentos T9 (1000 W; 20 min), T8 (1000 W; 15 min) e T2

(700W; 15 min), sendo estes maiores ($p < 0,05$) que os demais, inclusive em relação ao resultado obtido para a extração exaustiva.

Em geral, a alta atividade antioxidante de um extrato vegetal é atribuída aos teores de compostos fenólicos encontrados no mesmo (Saeed et al., 2012; Pilerood e Prakash, 2014; Souza et al., 2014).

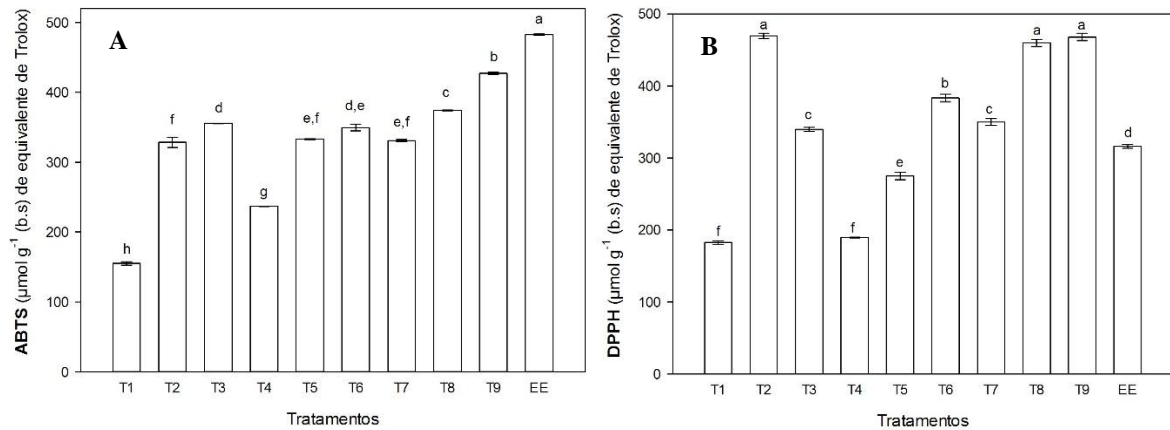


Figura 2 – Atividade antioxidante por ABTS (A) e por DPPH (B), dos extratos de brácteas de *Araucaria angustifolia* obtidos na extração assistida por micro-ondas e extração exaustiva. (T1: 700 W, 10 min; T2: 700 W, 15 min; T3: 700 W, 20 min; T4: 800 W, 10 min; T5: 800 W, 15 min; T6: 800 W, 20 min; T7: 1000 W, 10 min; T8: 1000 W, 15 min; T9: 1000 W, 20 min; EE: extração exaustiva). Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).

Diferentes estudos avaliaram o efeito da temperatura sobre a atividade antioxidante nas cascas de pinhões durante a cocção das sementes em água quente. Sant’Anna et al. (2016), por exemplo, avaliaram os teores de compostos fenólicos que migraram da casca para o pinhão (parte comestível) após o cozimento, concluindo que a cocção afetou positivamente a extração e não houve degradação dos compostos com capacidade de redução do radical ABTS, mesmo sob altas temperaturas, uma vez que o cozimento foi realizado em autoclave a 121 °C por 15 min. De Freitas et al. (2018) avaliaram a atividade antioxidante (DPPH, ABTS, FRAP) da água de cozimento de pinhões, obtendo altos valores nesta água devido à migração de compostos antioxidantes da casca para água. Souza et al. (2014), realizaram a extração de brácteas com a utilização de água destilada como solvente sob refluxo a 100 °C por 15 min e relataram importante atividade sequestradora de radicais livres medida pelo método de DPPH, indicando que o extrato é capaz de eliminar o ânion superóxido e o peróxido de hidrogênio, duas espécies reativas do oxigênio que podem danificar células. O estudo reportou valores para CFT de 1586 mg 100 g⁻¹ EAG.

Com os resultados apresentados neste estudo verifica-se que a EAM teve êxito na recuperação de compostos fenólicos, taninos e atividade antioxidante. A eficiência da EAM pode ser influenciada por diversos fatores, entre eles a potência de operação, tempo de exposição, tipo de solvente, relação matéria-prima/solvente, tamanho de partícula da amostra, ciclos de extração, entre outros (Hayat et al., 2009). Por conseguinte, diferentes combinações entre estes fatores podem servir de novos estudos de otimização da extração de compostos das brácteas de araucária.

Como vantagens da EAM, podem ser citadas o tempo de extração que comparado com outros processos é notavelmente mais curto, e a menor quantidade de solventes orgânico se for comparado, por exemplo, à extração convencional sólido-líquido (Pan et al., 2008; Hayat et al., 2009; Piñeiro et al., 2017; Hoyos-Martinez et al., 2019).

A Tabela 2 apresenta os parâmetros colorimétricos dos extratos obtidos pela EAM das brácteas de araucária.

Tabela 2 – Parâmetros colorimétricos dos extratos de brácteas de *Araucaria angustifolia* obtidos por extração assistida por micro-ondas.

	L^*	a^*	b^*	Hue (°)	Chroma	ΔE
T1	59,17±0,01 ^a	4,50±0,01 ^h	23,10±0,01 ^h	78,97±0,01 ^b	23,53±0,01 ⁱ	32,05±0,01 ^a
T2	57,30±0,04 ^c	5,58±0,02 ^g	27,92±0,01 ^e	78,70±0,01 ^c	28,47±0,01 ^g	31,26±0,04 ^b
T3	53,21±0,01 ^f	9,98±0,02 ^d	30,56±0,01 ^b	71,91±0,01 ^f	32,15±0,01 ^c	28,22±0,01 ^e
T4	58,78±0,01 ^b	4,51±0,02 ^h	25,12±0,02 ^g	79,83±0,01 ^a	25,52±0,02 ^h	32,07±0,01 ^a
T5	55,00±0,01 ^d	7,40±0,02 ^f	29,61±0,02 ^d	75,96±0,01 ^d	30,52±0,02 ^f	29,54±0,01 ^c
T6	51,03±0,01 ^h	11,70±0,06 ^b	31,14±0,02 ^a	69,31±0,01 ^h	33,28±0,01 ^a	26,64±0,01 ^g
T7	54,44±0,01 ^e	8,36±0,03 ^e	30,28±0,02 ^c	74,56±0,01 ^e	31,41±0,01 ^d	29,24±0,02 ^d
T8	52,09±0,01 ^g	10,60±0,01 ^c	31,10±0,01 ^a	71,16±0,01 ^g	32,86±0,01 ^b	27,49±0,01 ^f
T9	47,62±0,01 ⁱ	14,50±0,02 ^a	27,62±0,02 ^f	62,28±0,01 ⁱ	31,20±0,01 ^e	22,40±0,02 ^h

Letras diferentes dentro da mesma coluna indicam diferenças significativas ($p < 0,05$). (T1: 700W, 10 min; T2: 700 W, 15 min; T3: 700 W, 20 min; T4: 800 W, 10 min; T5: 800 W, 15 min; T6: 800 W, 20 min; T7: 1000 W, 10 min; T8: 1000 W, 15 min; T9: 1000 W, 20 min).

A luminosidade, representada por L^* (valores de 0 (preto) a 100 (branco)), indica valores significativamente diferentes em todos os tratamentos. Quanto menor a potência e o tempo, maiores são os valores de L^* , ou seja, extratos mais claros. Os extratos mais escuros podem estar relacionados a um teor maior de compostos extraídos, visto que na potência mais alta e nos maiores tempos os teores de CFT foram mais elevados. Estes resultados corroboram com

aqueles encontrados por Figueiredo-González et al. (2013) que analisaram a relação deste parâmetro com o teor de compostos fenólicos totais em vinhos tintos, concluindo que menores valores de L^* indicaram maiores teores de fenólicos.

Do mesmo modo Montes et al. (2005) correlacionaram os valores de antocianinas extraídas de jabuticabas com o valor obtido de L^* , indicando que valores elevados deste parâmetro estão relacionados com baixos rendimentos dos compostos de interesse.

Para os parâmetros de a^* (vermelho a verde) e b^* (amarelo ao azul), com valores de -60 a +60, todos os tratamentos apresentaram valores positivos, tanto para a^* quanto para b^* , indicando o espectro do vermelho ao amarelo referente ao primeiro quadrante do círculo cromático.

Com referência ao ângulo *Hue*, que expressa a tonalidade, todas as amostras obtidas com os diferentes tratamentos apresentaram valores de 62 a 79°, confirmando-se que as cores se situam no primeiro quadrante (0 a 90°) do círculo cromático, predominando desta forma uma tonalidade mais próxima ao amarelo referente ao eixo do parâmetro b^* .

Para a saturação da cor, indicada pelo *Chroma*, os tratamentos obtidos, indicaram que as amostras que apresentaram maior saturação são provenientes de maiores tempos de exposição ou das potências mais elevadas. Yang e Zhai (2010) evidenciam em seu estudo que altos valores de *Chroma* podem ser relacionados aos maiores teores de antocianinas recuperadas no milho roxo por EAM.

A diferença de cor (ΔE) entre os tratamentos realizados por EAM em relação às brácteas mostraram que a potência de 1000 W com tempo de 20 min (T9) apresentou a menor diferença de cor, sendo este tratamento significativamente diferente dos demais. No entanto, valores acima de 3,0 indicam que as diferenças existentes entre a amostra e o extrato são bastante perceptíveis ao olho humano (Cserhalmi et al., 2006), assim sendo, nenhum extrato obtido com os tratamentos propostos por EAM possuem cor similar às brácteas.

Valores de ΔE menores que 3,0 são esperados quando se deseja a manutenção da cor inicial, neste caso a cor das brácteas. No entanto, apesar da diferença de cor encontrado com o T9 ser superior a 3,0, o extrato obtido apresentou uma coloração escura, o que pode ser útil para aplicações em formulações alimentícias.

3.3 Extração assistida por ultrassom

Os teores de CFT, TT e TC obtidos na EAU, podem ser visualizados na Figura 3, onde encontram-se também os teores de compostos para a extração exaustiva (EE) utilizada. Os resultados indicam que na EAU o tratamento T9 (maior potência 450 W e tempo de exposição

20 min), apesar de exibir maiores teores em todas as análises, apresentou diferenças significativas apenas em relação ao tratamento T5 para CFT (Figura 3A) e TT (Figura 3B), e aos tratamentos T2, T5 e T7 para TC (Figura 3C).

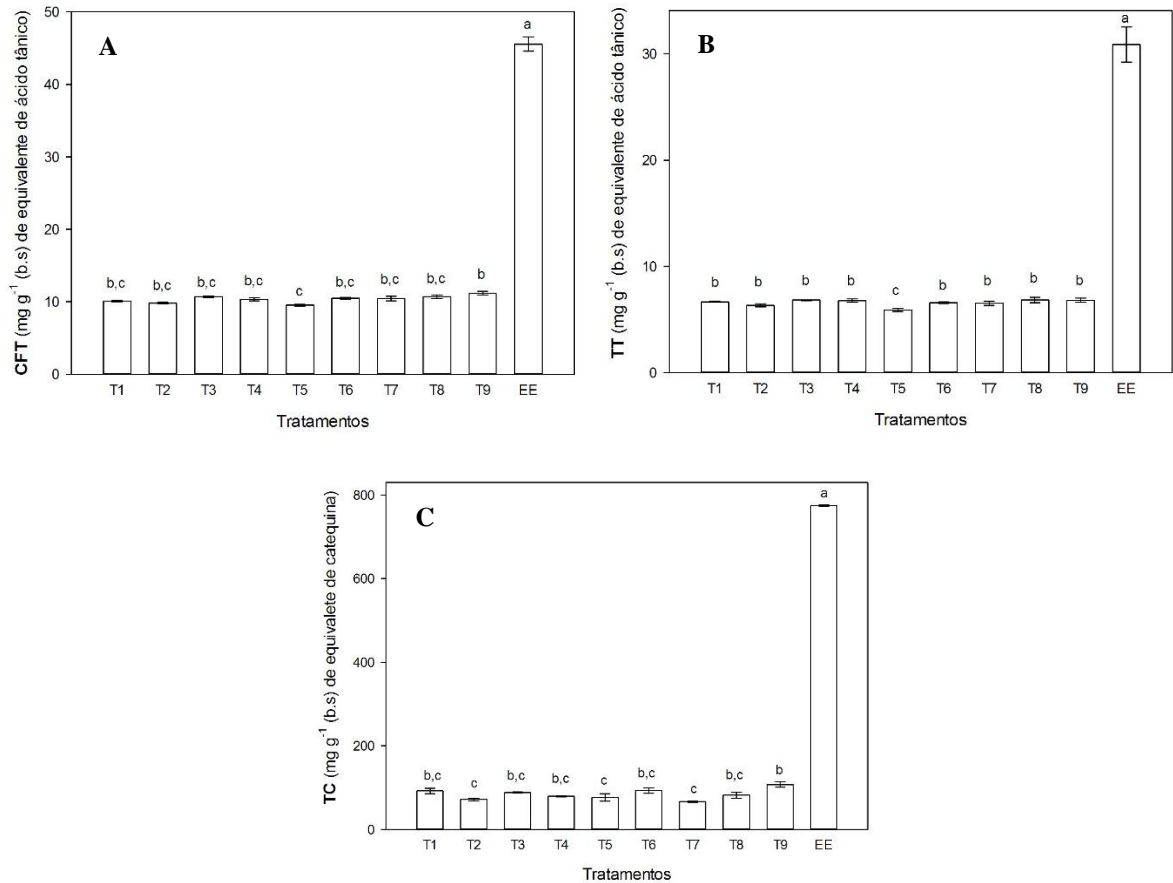


Figura 3 – Teor de compostos fenólicos totais (CFT) (A), taninos totais (TT) (B), taninos condensados (TC) (C), dos extratos de brácteas de *Araucaria angustifolia* obtidos na extração assistida por ultrassom e extração exaustiva. (T1: 250W, 10 min; T2: 250 W, 15 min; T3: 250 W, 20 min; T4: 350 W, 10 min; T5: 350 W, 15 min; T6: 350 W, 20 min; T7: 450 W, 10 min; T8: 450 W, 15 min; T9: 450 W, 20 min; EE: extração exaustiva). Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).

Com o objetivo de analisar a efetividade da extração por ultrassom e micro-ondas, estabeleceu-se as mesmas condições iniciais de temperatura, para isso previamente foi realizado o resfriamento da suspensão aquosa das brácteas a 0 °C antes da exposição a potência e tempo de estudo. Essa adequação teve como propósito permitir que a amostra quando exposta às ondas não atingissem altas temperaturas em um curto espaço de tempo, que podem levar a degradação dos compostos bioativos.

Todavia, durante as extrações não foi controlada a temperatura, apenas monitorada no início e término dos processos extrativos, constatando-se que ao final de todos os tratamentos

da EAU as temperaturas não ultrapassaram 25 °C, sendo este o maior diferencial observado em relação a EAM. Dessa forma, foi verificado que as taxas de aquecimento pelas micro-ondas foram maiores do que no ultrassom, sendo que o efeito da temperatura resultante da ação das ondas são muito importantes, pois com altas temperaturas a solubilidade e as taxas de transferência de calor e massa se elevam, da mesma forma que a viscosidade do solvente diminui.

A Figura 4 apresenta os resultados da atividade antioxidante de todos os tratamentos da EAU e EE. Na avaliação da atividade antioxidante pelos métodos de ABTS e DPPH os melhores resultados da EAU equivalem apenas a aproximadamente 23 % (T7) e 22 % (T9) do rendimento proporcionado pela melhor condição de extração por EAM, respectivamente.

No processo de EAU, dois fatores desempenham funções principais, o efeito de cavitação e o efeito térmico. Bonfigli et al. (2017) ressaltam que a variação dos rendimentos na EAU está relacionada com a associação destes fatores. O efeito de cavitação funciona através da implosão de bolhas e o efeito térmico pelo inchamento e soltura da estrutura da célula, o que aumenta a solubilidade e a difusividade do soluto, facilitando a extração, obtendo-se assim incrementos nas recuperações de compostos e por consequência maiores atividades antioxidantes (M'hiri et al., 2015; Poodi et al., 2018).

Cai et al. (2016), relacionaram a temperatura como o fator de maior significância para a extração de compostos bioativos de batata doce roxa pela EAU, seguido pela concentração do solvente e potência, enquanto o tempo não teve influência nos resultados.

Com base nos resultados encontrados nas análises de CFT, TT, TC e atividade antioxidante por ABTS e DPPH, percebe-se que todos os valores obtidos para a EAU foram significativamente menores quando comparados com a EE empregada e conseqüentemente aos resultados apresentados anteriormente para a EAM. Assim constata-se que apenas o efeito da cavitação pode não ser suficiente para a eficácia da extração na matriz em estudo. Martinez-Guerra e Gude (2014) relatam que tanto a EAM quanto a EAU produzem resultados superiores comparados a métodos convencionais, principalmente pelos efeitos térmicos induzidos por estas técnicas, porém, as micro-ondas especificamente, fornecem um aquecimento mais rápido, enquanto o ultrassom não induz altas temperaturas.

Ghitescu et al. (2015) otimizaram a EAU de compostos fenólicos de casca de uma conífera da família *pinaceae*. Os pesquisadores utilizaram no estudo temperaturas que variaram de 40 a 60 °C, obtendo maiores rendimentos de extração à 54 °C. Os melhores rendimentos obtidos a uma temperatura mais alta é justificado pelos autores, pelo aumento da difusividade

do solvente e do número de bolhas de cavitação formadas e com isso o aumento da solubilidade dos compostos fenólicos.

Tendo em vista estas considerações podemos concluir que o fato de ter diminuído a temperatura da suspensão, antes da extração, para 0 °C não é recomendável para a EAU. Devido a isso, a temperatura inicial da solução se constitui como um fator a mais a ser considerado em estudos futuros para a extração por ultrassom, devido as taxas de aquecimento para este método serem menores do que as proporcionadas pelas micro-ondas no presente estudo.

Apesar da importância da temperatura no processo extrativo, este fator deve sempre ser utilizado com ponderação, pois altas temperaturas promovem a reação oxidativa de compostos fenólicos resultando em degradações dos mesmos (Pingret et al., 2013; Bonfigli et al., 2017).

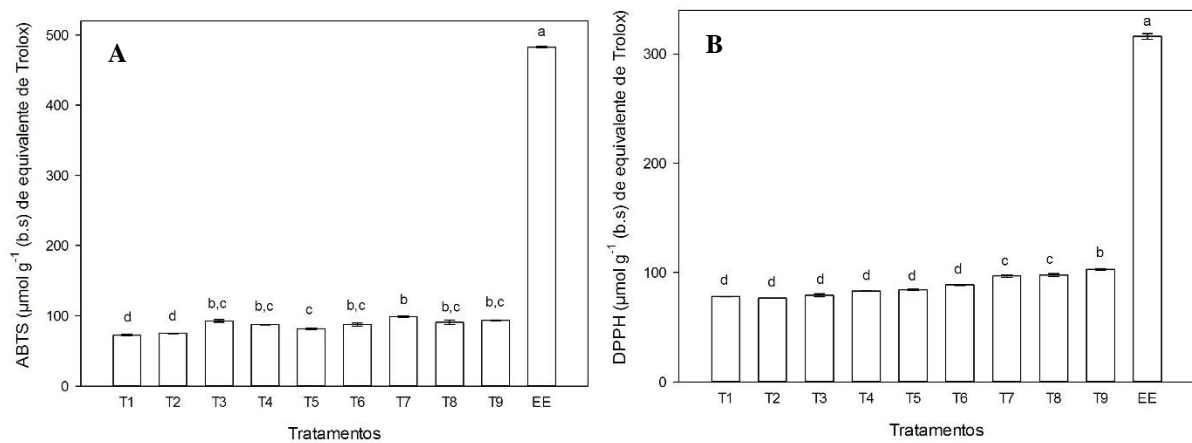


Figura 4 – Atividade antioxidante por ABTS (A) e DPPH (B) dos extratos de brácteas de *Araucaria angustifolia* obtidos na extração assistida por ultrassom e extração exaustiva. (T1: 250W, 10 min; T2: 250 W, 15 min; T3: 250 W, 20 min; T4: 350 W, 10 min; T5: 350 W, 15 min; T6: 350 W, 20 min; T7: 450 W, 10 min; T8: 450 W, 15 min; T9: 450 W, 20 min; EE: extração exaustiva). Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).

A Tabela 3 apresenta os parâmetros colorimétricos dos extratos obtidos pelo método de EAU das brácteas de araucária. Para a luminosidade (L^*) indicou valores entre 61,8 e 65,3 o que indica que os extratos obtidos são claros, se diferenciando dos extratos provenientes da EAM que obtiveram valores entre 47,6 e 59,2.

Nour et al. (2015) avaliaram as extrações de antocianinas de mirtilo, e relacionaram valores mais altos de L^* com o menor conteúdo de antocianinas nos extratos. Assim sendo, os valores encontrados para L^* podem estar relacionados com o baixo rendimento de extração dos compostos fenólicos pela EAU.

Os valores positivos encontrados para os parâmetros a^* e b^* indicam que os tratamentos estão dentro do espectro do vermelho ao amarelo.

O ângulo *Hue*, que representa a tonalidade, encontra-se no primeiro quadrante para todos os extratos provenientes da EAU. Analisando os ângulos, 84,13° a 88,19°, pode-se dizer que a tonalidade encontra-se bem próxima ao eixo que indica o amarelo.

Quanto à saturação, não foi possível obter uma relação com o rendimento de extração dos compostos e os fatores potência e tempo, visto que os valores de *Chroma* não mantiveram uma tendência como apresentada por Montes et al. (2005), que relacionou o maior rendimento dos compostos com maiores valores de *Chroma*. Contudo, analisando-se os valores encontrados nota-se que os extratos possuem baixa saturação quando comparamos com os tratamentos realizados na EAM mostrados na Tabela 2.

Tabela 3 – Parâmetros colorimétricos dos extratos de brácteas de *Araucaria angustifolia* obtidos por extração assistida por ultrassom

	L^*	a^*	b^*	<i>Hue</i> (°)	<i>Chroma</i>	ΔE
T1	63,98±0,01 ^f	1,03±0,03 ^c	14,81±0,01 ^c	86,01±0,01 ^d	14,85±0,01 ^c	37,16±0,01 ^f
T2	64,62±0,01 ^e	0,65±0,03 ^c	12,42±0,01 ^e	86,99±0,01 ^c	12,44±0,01 ^e	38,15±0,01 ^e
T3	65,35±0,01 ^a	0,32±0,01 ^g	10,00±0,01 ^h	88,19±0,01 ^a	10,01±0,01 ⁱ	39,34±0,01 ^a
T4	61,80±0,01 ^h	1,94±0,02 ^a	18,78±0,02 ^a	84,10±0,01 ^d	18,88±0,01 ^a	34,73±0,01 ⁱ
T5	65,03±0,01 ^c	0,47±0,01 ^f	11,17±0,04 ^g	87,61±0,01 ^b	11,18±0,04 ^g	38,79±0,01 ^c
T6	61,92±0,01 ^h	1,88±0,02 ^b	18,27±0,02 ^b	84,13±0,01 ^f	18,36±0,01 ^b	34,84±0,01 ^h
T7	65,08±0,01 ^b	0,35±0,01 ^g	11,07±0,01 ^g	88,19±0,01 ^a	11,08±0,01 ^h	38,87±0,01 ^b
T8	64,72±0,01 ^d	0,60±0,01 ^e	11,78±0,01 ^f	87,08±0,01 ^c	11,79±0,01 ^f	38,35±0,01 ^d
T9	63,80±0,01 ^g	0,91±0,01 ^d	13,95±0,03 ^d	86,28±0,01 ^d	13,98±0,01 ^d	37,11±0,01 ^f

Letras diferentes dentro da mesma coluna indicam diferenças significativas ($p < 0,05$). (T1: 250W, 10 min; T2: 250 W, 15 min; T3: 250 W, 20 min; T4: 350 W, 10 min; T5: 350 W, 15 min; T6: 350 W, 20 min; T7: 450 W, 10 min; T8: 450 W, 15 min; T9: 450 W, 20 min).

O ΔE , que indica a diferença total de cor entre extratos e brácteas para todos os tratamentos, apontou que nenhum extrato possui semelhança de cor com as brácteas, pois todos os valores foram superiores a 3,0, que de acordo com Cserhalmi et al. (2006) indica que existem diferenças de cor visualmente.

3.4 Comparativo entre a melhor condição extrativa obtida e a extração exaustiva

A melhor condição de extração das brácteas de *Araucaria angustifolia* pelos métodos propostos de EAM e EAU no presente estudo, foi obtida pelo método de EAM com o tratamento T9, na potência de 1000 W com o tempo de 20 min, apresentando para CFT, TT, TC, atividade antioxidante por ABTS e DPPH teores de $47,61 \pm 0,21 \text{ mg g}^{-1}$ (b.s)_{EAT}, $27,09 \pm 0,45 \text{ mg g}^{-1}$ (b.s)_{EAT}, $779,95 \pm 3,47 \text{ mg g}^{-1}$ (b.s)_{ECAT}, $427,28 \pm 1,72 \text{ } \mu\text{mol g}^{-1}$ (b.s)_{ET}, $467,79 \pm 4,90 \text{ } \mu\text{mol g}^{-1}$ (b.s)_{ET}, respectivamente.

Os resultados apresentados para a melhor condição de extração (T9; EAM) quando comparados aos dados obtidos na extração exaustiva, não apresentaram diferenças significativas aos teores de CFT, TT, TC. Para a atividade antioxidante por DPPH o extrato exaustivo apresentou valores superiores ($p < 0,05$), enquanto que para o método ABTS o T9 obteve teores significativamente maiores.

Os taninos condensados e hidrolisáveis, apresentam-se como antioxidantes efetivos com maior atividade que os fenóis simples (Hagerman et al., 1998). Anéis fenólicos presentes em suas estruturas conferem aos taninos a capacidade de atuar como captadores de radicais livres (Hoyos-Martinez et al., 2019). Estas características podem estar relacionadas com os resultados satisfatórios encontrados, pois valores significativamente maiores para DPPH podem ter relação com os compostos que foram extraídos por EAM possuírem maior atividade antioxidante em comparação à exaustiva.

A EAM utilizando água destilada como solvente foi efetiva na extração de compostos das brácteas de *Araucaria angustifolia*, sendo uma alternativa vantajosa em relação a extração exaustiva, pois esta exige o uso de solventes orgânicos e requer um tempo maior de execução, exigindo que o processo seja executado em três etapas até a total exaustão dos compostos, tendo como duração aproximadamente 2 h.

Resultados similares foram descritos no estudo desenvolvido por Chupin et al. (2015), que obtiveram quantidades de taninos condensados, açúcares e flavonoides, 3,5, 9,6 e 1,8 vezes maiores, respectivamente, para a EAM por 3 min em comparação a uma extração em água quente por 2 h. Bouras et al. (2015), também obtiveram resultados satisfatórios com o emprego de EAM, pois este método mostrou ser eficiente na extração de compostos que possuem capacidades antioxidantes em comparação ao método convencional empregado, apresentando, por exemplo, aumento no conteúdo de catequinas e epicatequina, nos extratos provenientes de cascas de carvalho-vermelho.

Para a recuperação de teores de compostos fenólicos totais, taninos totais e atividade antioxidante de cascas de *Pinus radiata*, Aspé e Fernández (2011), também obtiveram melhores

resultados para EAM quando avaliaram quatro diferentes técnicas de extração (maceração convencional, extração *Soxhlet*, EAU, EAM). Naima et al. (2015), também relataram maiores rendimentos de compostos fenólicos totais e taninos condensados e hidrolisáveis de casca de *Acacia molissima* pela técnica de EAM em comparação à técnica de maceração à temperatura ambiente.

4 Conclusão

Os resultados obtidos no presente estudo indicaram que as brácteas de *Araucaria angustifolia* apresentam quantidades consideráveis de compostos fenólicos, em destaque para os taninos condensados, compostos estes com alta atividade antioxidante. Os valores obtidos demonstram que estes compostos bioativos podem ser recuperados utilizando-se a extração assistida por micro-ondas empregando água destilada como solvente, diminuindo consideravelmente o tempo de extração e a substituição de solventes orgânicos. No caso da extração assistida por ultrassom, não foram encontrados resultados satisfatórios, possivelmente devido a temperatura inicial da extração ter sido ajustada à 0 °C, indicando-se que para a EAU, a temperatura inicial é uma variável importante no processo.

A melhor condição de extração foi conseguida com EAM, com o tratamento de 1000 W de potência e tempo de 20 min, com teores de 47,61 mg g⁻¹ (b.s) EAT, 27,09 mg g⁻¹ (b.s) EAT, 779,95 mg g⁻¹ (b.s) ECAT, 427,28 μmol g⁻¹ (b.s) ET, 467,79 μmol g⁻¹ (b.s) ET para compostos fenólicos totais, taninos totais, taninos condensados, e atividade antioxidante por ABTS e DPPH, respectivamente. Os resultados obtidos quando comparados com a extração exaustiva mostraram-se satisfatórios e com redução do tempo extrativo de 83 %.

REFERÊNCIAS

- ALCÂNTARA, M. A.; POLARI, I. de L. B.; MEIRELES, B. R. L. de A.; LIMA, A. E. A. de; JUNIOR, J. C. DA S.; VIEIRA, É. DE A.; SANTOS, N. A. DOS; CORDEIRO, A. M. T. de M. Effect of the solvent composition on the profile of phenolic compounds extracted from chia seeds. **Food Chemistry**, v. 275, p. 489-496, 2019.
- ASPÉ, E., FERNÁNDEZ, K. The effect of different extraction techniques on extraction yield, total phenolic, and anti-radical capacity of extracts from *Pinus radiata* Bark. **Industrial Crops and Products**, 34, 838-844, 2011.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). **Official methods of analysis of AOAC International**. 19th ed. Gaithersburg, MD: AOAC, 2012. 2v
- AZMIR, J., ZAIDUL, I. S. M., RAHMAN, M. M., SHARIF, K. M., MOHAMED, A., SAHENA, F., JAHURUL, M. A., GHAFOR, K., NORULAINI, N. A. N., OMAR, A. K. M. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: a review. **Journal of Food Engineering**, v. 117, p. 426-36, 2013.
- BARBA, F. J.; ZHU, Z.; KOUBAA, M.; SANT'ANA, A. S.; ORLIEN, V. Green alternative methods for the extraction of antioxidant bioactive compounds from winery wastes and by-products: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 49, p. 96-109, 2016.
- BARRALES, F. M.; SILVEIRA, P.; BARBOSA, P. DE P. M.; RUVIARO, A. R.; PAULINO, B. N.; PASTORE, G. M.; MACEDO, G. A.; MARTINEZ, J. Recovery of phenolic compounds from citrus by-products using pressurized liquids — An application to orange peel. **Food and Bioprocess Processing**, v. 112, p. 9-21, 2018.
- BITTENCOURT, J. V. M.; SEBBENN, A. M. Patterns of pollen and seed dispersal in a small, fragmented population of the wind-pollinated tree *Araucaria angustifolia* in southern Brazil. **Heredity**, v. 99, p. 580-591, 2007.
- BONFIGLI, M.; GODOY, E.; REINHEIMER, M. A.; SCENNA, N. J. Comparison between conventional and ultrasound-assisted techniques for extraction of anthocyanins from grape pomace. Experimental results and mathematical modeling. **Journal of Food Engineering**, v. 207, p. 56-72, 2017.
- BOURAS, M.; CHADNI, M.; BARBA, F. J.; GRIMI, N.; BALS, O.; VOROBIEV, E. Optimization of microwave-assisted extraction of polyphenols from *Quercus* bark. **Industrial Crops and Products**, v. 77, p. 590-601, 2015.
- BRANCO, C. S.; LIMA, E. D.; RODRIGUES, T. S.; SCHEFFEL, T. B.; SCOLA, G.; LAURINO, C. C. F. C.; MOURA S.; SALVADOR, M. Mitochondria and redox homeostasis as chemotherapeutic targets of *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Kuntze in human larynx HEP-2 cancer Cells. **Chemico-Biological Interactions**, v. 231, p. 108-118, 2015.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. L. W. T. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.
- BRDE - Banco Regional de Desenvolvimento do Extremo Sul. **Cultivo da *Araucaria angustifolia*: viabilidade econômico-financeira e alternativas de incentivo**. Florianópolis: BRDE, 2005. 53p.
- CAI, Z.; QU Z.; LAN, Y.; ZHAO, S.; MA, X.; WAN, Q.; JING, P.; LI, P. Conventional, ultrasound-assisted, and accelerated-solvent extractions of anthocyanins from purple sweet potatoes. **Food Chemistry**, v. 197, p. 266-272, 2016.

CHAN, C.; YUSOFF, R.; NGOH, G. Modeling and kinetics study of conventional and assisted batch solvent extraction. **Chemical Engineering Research and Design**, v. 92, p. 1169-1186, 2014.

CHEMAT, F.; HUMA, Z.; KHAN, M. K. Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 18, p. 813-835, 2011.

CHUPIN, L.; MAUNU, S.L.; REYNAUD, S.; PIZZI, A.; CHARRIER, B.; BOUHTOURY, F. C.-EL. Microwave assisted extraction of maritime pine (*Pinus pinaster*) bark: Impact of particle size and characterization. **Industrial Crops and Products**, v. 65, p. 142-149, 2015.

CIE - Commission Internationale de l'Eclairage. *CIE 15.3:2004*; 2004.

CORDENUNSI, B. R., MENEZES, E. W, GENOVESE, M. I., COLLI, C., SOUZA, A. G.; LAJOLO, F. M. Chemical composition and glycemic index of Brazilian Pine (*Araucaria angustifolia*) seeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 3412-3416, 2004.

CSERHALMI, Z.; SASS-KISS, A.; TÓTH-MARKUS, M.; LECHNER, N. Study of pulsed electric field treated citrus juices. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 7, p. 49-54, 2006.

DAHMOUNE, F.; NAYAK, B.; MOUSSI, K.; REMINI, H.; MADANI, K. Optimization of microwave-assisted extraction of polyphenols from *Myrtus communis* L. leaves. **Food Chemistry**, v.166, p. 585-595, 2015.

DE FREITAS, T. B.; SANTOS, C. H. K.; SILVA, M. V. DA.; SHIRAI, M. A.; DIAS, M. I.; BARROS, L.; BARREIRO, M. F.; FERREIRA, I. C. F. R.; GONÇALVES, O. H.; LEIMANN, F. V. Antioxidants extraction from *Pinhão (Araucaria angustifolia (Bertol.) Kuntze)* coats and application to zein films. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 15, p. 28-34, 2018.

DHANANI, T.; SHAH, S.; GAJBHIYE, N. A.; KUMAR, S. Effect of extraction methods on yield, phytochemical constituents and antioxidant activity of *Withania somnifera*. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 10, p. 1193-1199, 2010.

DORĐEVIĆ, V.; BALANČ, B.; BELŠČAK-CVITANOVIĆ, A.; LEVIĆ, S.; TRIFKOVIĆ, K.; KALUŠEVIĆ, A.; KOSTIC, I.; KOMES, D.; BUGARSKI, B.; NEDOVIĆ, V. Trends in encapsulation technologies for delivery of food bioactive compounds. **Food Engineering Reviews**, v. 7, n. 4, p. 452-490, 2015.

FELLOWS, P. **Food Processing Technology: Principles and Practice**. 1 st Edition. Cambridge [England]: Woodhead Pub: CRC Press, 2000. 575 p.

FIGUEIREDO-GONZÁLEZ, M; CANCHO-GRANDE, B; SIMAL-GÁNDARA, J. Garnacha Tintorera-based sweet wines: Chromatic properties and global phenolic composition by means of UV-Vis spectrophotometry. **Food Chemistry**, v. 140, p. 217-224, 2013.

GALAN, A. M.; CALINESCU, I.; TRIFAN, A.; WINKWORTH-SMITH, C.; CALVO-CARRASCAL, M.; DODDS, C.; BINNER, E. New insights into the role of selective and volumetric heating during microwave extraction: Investigation of the extraction of polyphenolic compounds from sea buckthorn leaves using microwave-assisted extraction and conventional solvent extraction. **Chemical Engineering and Processing**, v. 116, p. 29-39, 2017.

GHITESCU, R.-E.; VOLF, I.; CARAUSU, C.; BÜHLMANN, A. M.; GILCA, I. A.; POPA, V. I. Optimization of ultrasound-assisted extraction of polyphenols from spruce wood bark. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 22, p. 535-541, 2015.

GUERRA, M. P.; SILVEIRA, V.; REIS, M. S.; SCHNEIDER, L. Exploração, manejo e conservação da araucária (*Araucaria angustifolia*). In: SIMÕES, L. L.; LINO, C. F. (Org.). **Sustentável Mata Atlântica: a exploração de seus recursos florestais**. São Paulo: SENAC São Paulo, 2002, p. 85-101.

HAGERMAN, A. E.; RIEDL, K. M.; JONES, G. A.; SOVIK, K. N.; RITCHARD, N. T.; HARTZFELD, P. W.; RIECHEL, T. L. High Molecular Weight Plant Polyphenolics (Tannins) as Biological. Antioxidants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, p. 1887-1892, 1998.

HAYAT, K.; HUSSAIN, S.; ABBAS, S.; FAROOQ, U.; DING, B.; XIA, S.; JIA, C.; ZHANG, X.; XIA, W. Optimized microwave-assisted extraction of phenolic acids from citrus mandarin peels and evaluation of antioxidant activity *in vitro*. **Separation and Purification Technology**, v. 70, p. 63-70, 2009.

HEMWIMON, S.; PAVASANT, P.; SHOTIPRUK, A. Microwave-assisted extraction of antioxidative anthraquinones from roots of *Morinda citrifolia*. **Separation and Purification Technology**, v. 54, p. 44-50, 2007.

HOYOS-MARTINEZ, P. L. DE; MERLE, J.; LABIDI, J.; CHARRIER-EL BOUHTOURY, F. Tannins extraction: A key point for their valorization and cleaner production. **Journal of Cleaner Production**, v. 206, p. 1138-1155, 2019.

IRAKLI, M.; CHATZOPOULOU, P.; EKATERINIADOU, L. Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds: Oleuropein, phenolic acids, phenolic alcohols and flavonoids from olive leaves and evaluation of its antioxidant activities. **Industrial Crops & Products**, v. 124, p. 382-388, 2018.

KARABEGOVIĆ, I. T.; STOJIČEVIĆ, S. S.; VELIČKOVIĆ, D. T.; NIKOLIĆ, N. Č.; LAZIĆ, M. L. Optimization of microwave-assisted extraction and characterization of phenolic compounds in cherry laurel (*Prunus laurocerasus*) leaves. **Separation and Purification Technology**, v. 120, p. 429-436, 2013.

KOEHNLEIN, E. A.; CARVAJAL, A. E. S.; KOEHNLEIN, E. M.; COELHO-MOREIRA, J. S.; INÁCIO, F. D.; CASTOLDI, R.; BRACHT, A.; PERALTA, R. M. Antioxidant Activities and Phenolic Compounds of Raw and Cooked Brazilian Pinhao (*Araucaria angustifolia*) Seeds. **African Journal of Food Science**, v. 6, n. 21, p. 512-518, 2012.

LIU, Y.; QI, Y.; CHEN, X.; HE, H.; LIU, Z.; ZHANG, Z.; REN, Y.; REN, X. Phenolic compounds and antioxidant activity in red- and in green-fleshed kiwifruits. **Food Research International**, v. 116, p. 291-301, 2019.

MAKKAR, H. P. S. Quantification of Tannins in Tree and Shrub Foliage: **A Laboratory Manual**. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, 2003.

MARTINEZ-GUERRA, E; GUDE, V. G. Synergistic effect of simultaneous microwave and ultrasound irradiations on transesterification of waste vegetable oil. **Fuel**, v. 137, p. 100-108, 2014.

M'HIRI, N.; IOANNOU, I.; BOUDHRIOUA, N. M.; GHOUL, M. Effect of different operating conditions on the extraction of phenolic compounds in orange peel. **Food and Bioprocess Technology**, v. 96, p. 161-170, 2015.

MICHELON, F.; BRANCO, C. S.; CALLONI, C.; GIAZZON, I.; AGOSTINI, F.; SPADA, P. K. W.; SALVADOR, M. *Araucaria angustifolia*: A potential nutraceutical with antioxidant and antimutagenic activities. **Current Nutrition & Food Science**, v. 8, p.155-159, 2012.

MONTES, C.; VICARIO, I. M.; RAYMUNDO, M.; FETT, R.; HEREDIA, F. J. Application of tristimulus colorimetry to optimize the extraction of anthocyanins from Jaboticaba (*Myrcia Jaboticaba* Berg.). **Food Research International**, v. 38, p. 983-988, 2005.

MOTA, G. S. T. da; ARANTES, A. B.; SACCHETTI, G.; SPAGNOLETTI, A.; ZIOSI, P.; SCALAMBRA, E.; VERTUANI, SILVIA.; MANFREDINI, S. Antioxidant activity of cosmetic formulations based on novel extracts from seeds of brazilian *Araucaria angustifolia* (Bertoll) Kuntze. **Journal of Cosmetics, Dermatological Sciences and Applications**, v. 4, p. 190-202, 2014.

NAIMA, R.; OUMAM, M.; HANNACHE, H.; SESBOU, A.; CHARRIER, B.; PIZZI, A.; CHARRIER – EL BOUHTOURY, F. Comparison of the impact of different extraction methods on polyphenols yields and tannins extracted from Moroccan *Acacia mollissima* barks. **Industrial Crops and Products**, v. 70, p. 245-252, 2015.

NANDAKUMAR, V.; SINGH, T.; KATIYAR, S. K. Multi-targeted prevention and therapy of cancer by proanthocyanidins. **Cancer Letters**, v. 269, 378-387, 2008.

NOUR, V.; TRANDAFIR I.; COSMULESCU, S. Central composite design applied to optimize the hydroalcoholic extraction of bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) fruits. **Journal of Food Biochemistry**, v. 39, p. 179-188, 2015.

PAN, Y.; WANG, K.; HUANG, S.; WANG, H.; MU, X.; HE, C.; JI, X.; ZHANG, J.; HUANG, F. Antioxidant activity of microwave-assisted extract of longan (*Dimocarpus Longan* Lour.) peel. **Food Chemistry**, v. 106, p. 1264-1270, 2008.

PERALTA, R. M.; KOEHNLEIN, E.A.; OLIVEIRA, R. F.; CORREA, V. G.; CORRÊA, R. C. G.; BERTONHA L.; BRACHT, A.; FERREIRA, I. C.F.R. Biological activities and chemical constituents of *Araucaria angustifolia*: An effort to recover a species threatened by extinction. **Trends in Food Science & Technology**, v. 54, p. 85-93, 2016.

PILEROOD, S. A.; PRAKASH, J. Evaluation of nutritional composition and antioxidant activity of Borage (*Echium amoenum*) and Valerian (*Valerian officinalis*). **Journal of Food Science and Technology**, v. 51, n. 5, p. 845-854, 2014.

PIMENTEL-MORAL, S.; BORRÁS-LINARES, I.; LOZANO-SÁNCHEZ, J.; ARRÁEZ-ROMÁN, D.; MARTÍNEZ-FÉREZ, A.; SEGURA-CARRETERO, A. Microwave-assisted extraction for *Hibiscus sabdariffa* bioactive compounds. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 156, p. 313-322, 2018.

PIÑEIRO, Z.; MARRUFO-CURTIDO, A.; VELA, C.; PALMA, M. Microwave-assisted extraction of stilbenes from woody vine material. **Food and Bioproducts Processing**, v. 103, p. 18-26, 2017.

PINGRET, D.; FABIANO-TIXIER, A.-S.; CHEMAT, F. Degradation during application of ultrasound in food processing: A review. **Food Control**, v. 31, p. 593-606, 2013.

POODI, Y.; BIMAKR, M.; GANJLOO, A.; ZARRINGHALAMI, S.; Intensification of bioactive compounds extraction from Feijoa (*Feijoa sellowiana* Berg.) leaves using ultrasonic waves. **Food and Bioproducts Processing**, v. 108, p. 37-50, 2018.

RAO, S.; SANTHAKUMAR, A. B.; CHINKWO, K. A.; WU, G.; JOHNSON, S. K.; BLANCHARD, C. L. Characterization of phenolic compounds and antioxidant activity in sorghum grains. **Journal of Cereal Science**, v. 84, p. 103-111, 2018.

- RAZA, W.; LEE, J.; RAZA, N.; LUO, Y.; KIM, K.-H.; YANG, J. Removal of phenolic compounds from industrial waste water based on membrane-based technologies. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 71, p. 1-18, 2019.
- RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 26, n. 9/10, p. 1231-1237, 1999.
- RHAZI, N.; HANNACHE, H.; OUMAM, M.; SESBOU, A. CHARRIER, B. PIZZI, A. CHARRIER-EL BOUHTOURY, F. Green extraction process of tannins obtained from Moroccan *Acacia mollissima* barks by microwave: Modeling and optimization of the process using the response surface methodology RSM. **Arabian Journal of Chemistry**, p. 1-17, 2015.
- SAHREEN, S.; KHAN, M. R.; KHAN R. A. Evaluation of antioxidant activities of various solvent extracts of *Carissa opaca* fruits. **Food Chemistry**, v. 122, p. 1205-1211, 2010.
- SAEED, N.; KHAN, M. R.; SHABBIR, M. Antioxidant activity, total phenolic and total flavonoid contents of whole plant extracts *Torilis leptophylla* L. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 12, p. 221-233, 2012.
- SANT'ANNA, V.; SFOGLIA, N. M.; MERCALI, G.D.; CORRÊA, A. P. F.; BRANDELLI, A. Effect of cooking on polyphenols and antioxidant activity of *Araucaria angustifolia* seed coat and evaluation of phytochemical and microbiological stability over storage. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 51, 1932-1936, 2016.
- SANTOS, A. J.; CORSO, N. M.; MARTINS, G.; BITTENCOURT, E. Aspectos produtivos e comerciais do pinhão no estado do Paraná. **Floresta**, v. 32, n. 2, p. 163-169, 2002.
- SANTOS-BUELGA, C.; SCALBERT, A. Review: Proanthocyanidins and tannin-like compounds – nature, occurrence, dietary intake and effects on nutrition and health. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 80, p. 1094-1117, 2000.
- SILVA, S. M.; KOEHNLEIN, E. A.; BRACHT, A.; CASTOLDI, R.; DE MORAIS, G. R.; BAESSO, M. L.; PERALTA, R. A.; DE SOUZA, C. G. M.; DE SÁ-NAKANISHI, A. B.; PERALTA, R. M. Inhibition of salivary and pancreatic α -amylases by a *pinhão* coat (*Araucaria angustifolia*) extract rich in condensed tannin. **Food Research International**, v. 56, p. 1-8, 2014.
- SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolis with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **About American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, p. 144-158, 1965.
- SOUZA, M. O.; BRANCO, C. S.; SENE, J.; DALLAGNOL, R.; AGOSTINI, F.; MOURA, S.; SALVADOR, M. Antioxidant and antigenotoxic activities of the brazilian pine *Araucaria angustifolia* (bert.) O. Kuntze. **Antioxidants**, v. 3, n.1, p. 24-37, 2014.
- VEGGI, P. C.; MARTINEZ, J.; MEIRELES, M. A. A. Fundamentals of microwave extraction. F. CHEMAT and G. CRAVOTTO (eds.), Microwave-assisted Extraction for Bioactive Compounds: Theory and Practice, **Food Engineering Series**, v. 4, p. 15-52, 2013.
- WANG, L.; WELLER, C. L. Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. **Trends in Food Science & Technology**, v. 17, p. 300-312, 2006.
- YANG, L.; SUN, X.; YANG, F.; ZHAO, C.; ZHANG, L.; ZU, Y. Application of ionic liquids in the microwave-assisted extraction of proanthocyanidins from *Larix gmelini* bark. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 13, n. 4, p. 5163-5178, 2012.

YANG, Z.; ZHAI, W. Optimization of microwave-assisted extraction of anthocyanins from purple corn (*Zea mays* L.) cob and identification with HPLC–MS. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 11, p. 470-476, 2010.

ZARIN, M. A.; WAN, H. Y.; ISHA, A.; ARMANIA, N. Antioxidant, antimicrobial and cytotoxic potential of condensed tannins from *Leucaena leucocephala* hybrid-Rendang. **Food Science and Human Wellness**, v. 5, p. 65-75, 2016.

CAPÍTULO 3

ENCAPSULAMENTO DO EXTRATO OBTIDO POR EXTRAÇÃO ASSISTIDA POR MICRO-ONDAS DAS BRÁCTEAS DA *Araucaria angustifolia*

Mariane Santos Dorneles, Caciano Pelayo Zapata Noreña *

* Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos (ICTA), Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Av. Bento Gonçalves, 9500, Prédio 43.212 Campus do Vale, CEP 91501-970 Porto Alegre, RS, Brasil

Resumo

O extrato de brácteas de *Araucaria angustifolia* obtidos por extração assistida por micro-ondas a 1000 W de potência e 20 min de tempo de exposição foi encapsulado por atomização e liofilização a partir de duas dispersões de pectina/colágeno hidrolisado e polidextrose/goma guar parcialmente hidrolisada, adicionadas ao extrato nas proporções de 0,25:0,75:9 e 0,5:0,5:9 (m/m/m), respectivamente. Os pós obtidos foram avaliados quanto aos teores de compostos fenólicos totais, taninos totais, taninos condensados, atividade antioxidante por ABTS e DPPH, parâmetros colorimétricos, umidade, atividade de água (a_w), solubilidade, higroscopicidade, análises térmicas, microestrutura dos pós, espectroscopia de infravermelho com transformada de *Fourier* (FTIR) e a estabilidade de armazenamento. Os pós encapsulados com a mistura de polidextrose e goma guar parcialmente hidrolisada, por atomização e liofilização, apresentaram as maiores retenções para compostos fenólicos totais e solubilidade com 80,57 e 89,94 %, e 98,00 e 97,69 %, respectivamente. As partículas atomizadas apresentaram formas mais esféricas, enquanto as liofilizadas exibiram formas irregulares. Os resultados obtidos por FTIR, indicaram que o encapsulamento aconteceu em todas as amostras por interações físicas, enquanto a análise termogravimétrica mostrou que na segunda fase de aquecimento os pós constituídos de PEC-CH apresentaram uma maior estabilidade térmica. A avaliação do armazenamento em condições aceleradas (temperaturas de 35 e 55 °C com 75 e 90 % de umidade relativa durante 35 dias) indicou que nos pós não ocorreram perdas de compostos fenólicos e taninos totais durante a estocagem, havendo, em algumas condições o aumento destes teores em relação à concentração inicial, sendo os pós encapsulados com pectina e colágeno hidrolisado os que exibiram maiores aumentos com 70,7 e 101,9 % para compostos fenólicos totais e 81,0 e 116,0 % para taninos totais, atomizados e liofilizados, respectivamente.

Palavras-chave: Brácteas de *Araucaria angustifolia*. Encapsulamento. Taninos condensados.

1 Introdução

Araucaria angustifolia é uma conífera nativa que ocorre no sul e sudeste do Brasil, no nordeste da Argentina e no leste do Paraguai (Bittencourt, 2007; Souza et al., 2014). A exploração de sua madeira, assim como suas sementes comestíveis, os pinhões, tornou-a uma espécie atrativa e simbólica do sul do Brasil (Bittencourt, 2007), porém ameaçada de extinção, sendo que atualmente é protegida pela resolução nº 278 do Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA (2001), que suspende o seu corte em áreas nativas, limitando a exploração da espécie (Silva et al., 2009).

Muitos subprodutos agrícolas e agroindustriais são reconhecidamente fonte de nutrientes e de compostos bioativos, porém os mesmos não são adequadamente empregados. Isto ocorre com as cascas dos pinhões e brácteas (sementes estéreis) da araucária, sendo este último também considerado um subproduto da produção de pinhões. Estudos demonstram que estes subprodutos são fontes consideráveis de compostos fenólicos (Koehnlein et al., 2012; Michelon et al., 2012; Souza et al., 2014), no entanto, as cascas dos pinhões, que acabam sendo retiradas após o cozimento das sementes, e as brácteas, que não possuem nenhuma utilidade comercial, são descartadas no ambiente, sem reaproveitamento (Brasil et al., 2006; Souza et al., 2014).

O principal grupo dos compostos fenólicos presentes nas cascas e brácteas da araucária são os taninos, principalmente os condensados de alta massa molecular, compostos estes que possuem maior atividade antioxidante que os compostos fenólicos simples (Cordenunsi et al., 2004; Koehnlein et al., 2012). Os taninos estão presentes em uma ampla gama de plantas, e podem ser classificados em taninos condensados, que são polímeros de monômeros de flavan-3-ols, e os taninos hidrolisados, que são ésteres de glicose de ácidos gálico e ácido elágico (Reid et al., 2013).

Diferentes estudos relatam os efeitos benéficos à saúde através da ingestão de compostos fenólicos, relacionando-os com a prevenção de doenças degenerativas crônicas, associadas ao estresse oxidativo, bem como diferentes tipos de câncer (Anantharaju et al., 2016). Estes efeitos têm sido atribuídos ao alto potencial antioxidante que estes compostos possuem, uma vez que podem proteger os constituintes celulares do estresse oxidativo produzido pelos radicais livres (Rossi et al., 2018).

Em consequência disso, os compostos fenólicos podem ter utilidades nas mais diferentes áreas, como indústrias farmacêuticas, cosméticas e alimentícias. Mas a aplicação destes compostos sofre limitações, pois, em geral, apresentam baixa solubilidade em água e são instáveis em condições ambientais, como a exposição a luz, oxigênio, temperaturas elevadas e

atividades enzimáticas (Paini et al., 2015), dificultando a separação e aplicação de tais compostos.

Em função destas características, o desenvolvimento de técnicas não-convencionais como a extração assistida por micro-ondas (EAM), têm interessado as indústrias alimentícias, pois além de proporcionar redução no gasto energético em relação a métodos que utilizam fontes de aquecimentos por longos períodos, esta técnica pode aumentar o rendimento na extração dos compostos de interesse e diminuir o uso de solventes orgânicos (Chemat et al., 2011; Chan et al., 2014; Barba et al., 2016).

Por outro lado, o encapsulamento surge como uma alternativa de se fazer uso dos compostos bioativos extraídos, garantindo maior estabilidade na sua aplicação. O encapsulamento consiste no revestimento de partículas, utilizando materiais de parede que forneçam uma barreira física entre o composto principal e outros componentes de uma formulação e/ou meio ambiente, de forma a proteger a funcionalidade destes compostos e a estender a vida útil destes produtos (Gharsallaoui et al., 2007; Nunes et al., 2015; Edris et al., 2016).

Para o encapsulamento de compostos bioativos na indústria de alimentos a secagem por atomização é um dos métodos que são amplamente empregados atualmente, em virtude do baixo custo, simplicidade e flexibilidade, pois permite operações contínuas e facilita a manipulação dos produtos obtidos, uma vez que, reduz o volume e garante a estabilidade durante o armazenamento (Fang e Bhandari, 2011; Rocha et al., 2019). A atomização é um método pelo qual um produto líquido é pulverizado em uma atmosfera aquecida por uma corrente de ar seco quente, havendo a remoção da umidade e conversão quase que instantaneamente em pó (Gharsallaoui et al., 2007; Anandharamakrishnan e Ishwarya, 2015; Labuschagne, 2018).

Rendimentos satisfatórios e produtos com características sensoriais, funcionais e nutricionais desejáveis são um desafio para o processo de atomização, pois as propriedades físico-químicas dos pós obtidos são dependente de variáveis do processo, incluindo a viscosidade, tamanho de partículas, vazão, assim como, o ar de secagem, sendo a temperatura e a pressão fatores fundamentais (Tonon et al., 2008). Devem ser considerados também fatores como a solubilidade e a sensibilidade ao calor dos compostos a serem expostos ao encapsulamento, assim como a estrutura química e natureza dos materiais de parede, presença de outros componentes como açúcares e proteínas, além dos aspectos econômicos (Ozkan et al., 2019). Consequentemente a análise criteriosa destes fatores é de fundamental importância em uma atomização adequada e eficiente.

A liofilização, processo que se fundamenta na sublimação da água do produto, é outro método de encapsulamento, que é empregado quando se quer obter uma alta capacidade de preservação das características sensoriais e nutricionais quando comparado a produtos resultantes de outros processos de desidratação (Martínez-Navarrete et al., 2019). Para o uso da liofilização, o material a ser encapsulado é previamente congelado e em seguida reduz-se a pressão a valores menores que 0,006 bar de forma a que gelo no material sublime (Fang e Bhandari, 2010). A liofilização apresenta custos operacionais mais elevados que a atomização, em consequência da utilização do frio, do alto vácuo e dos longos tempos de operação, porém, é indicada para materiais muito sensíveis ao calor (Cano-Higueta et al., 2015).

Os materiais de parede são importantes para um bom encapsulamento. É fundamental que estes sejam de qualidade alimentar, além de serem de fácil manuseio, baixa higroscopicidade, boa biodegradabilidade, propriedades emulsificantes, resistentes ao trato gastrointestinal, baixa viscosidade e serem viáveis economicamente (Rocha-Parra et al., 2016; Rocha et al., 2019). Com isso, estes materiais exercem grande influência na qualidade e eficiência dos compostos encapsulados, e nos sistemas de liberação controlada (Dias et al., 2017).

Os encapsulantes podem além de conferir a proteção desejada, gerar benefícios quando consumidos, principalmente quando são utilizados materiais com funções prebióticas como é o caso das fibras dietéticas. Entre os materiais que podem ser utilizados como encapsulantes estão o colágeno, a pectina, a polidextrose e a goma guar parcialmente hidrolisada. O colágeno é uma proteína de origem animal, cuja função é contribuir com a integridade estrutural dos tecidos, apresenta baixa viscosidade em solução aquosa, odor e sabor neutro, além de outras características que permite sua utilização em uma ampla variedade de produtos (Denis et al., 2008). A pectina, considerada uma fibra dietética, possui efeito prebiótico e sua ingestão vem demonstrando uma redução nos níveis séricos de colesterol e triglicérides (Nazzaro et al., 2012; Hur et al., 2013; Gómez et al., 2016). A polidextrose, que apresenta baixo valor calórico e é também considerada um prebiótico, estimulando o crescimento de lactobacilos e bifidobactérias (Jie et al., 2000); e a goma guar parcialmente hidrolisada, que é um polissacarídeo solúvel em água, e é comumente utilizada na indústria alimentícia, como um agente espessante e estabilizante em uma grande variedade de produtos (Slavin e Greenberg, 2003), além disso, estudos demonstram que sua utilização melhora moderadamente o crescimento de diversas cepas de bactérias apresentando atividade prebiótica (Okubo et al., 1994).

Este estudo teve como objetivo avaliar os métodos de atomização e liofilização para o encapsulamento do extrato de brácteas de araucária obtido por extração assistida por micro-ondas, utilizando colágeno, pectina, polidextrose e goma guar parcialmente hidrolisada como materiais de parede, avaliando as características físicas, químicas e morfológicas dos pós obtidos. Do ponto de vista ecológico e de conservação da *Araucaria angustifolia*, esta pesquisa busca o aproveitamento integral e adição de valor agregado à espécie, usando as brácteas como fonte de compostos fenólicos, que estimulará a cadeia produtiva deste produto e a conservação da espécie ameaçada de extinção.

2 Materiais e métodos

Esta pesquisa foi realizada nos Laboratórios de Engenharia de Processos em Alimentos e de Desidratação do Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos (ICTA) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).

2.1 Materiais

As brácteas de *Araucaria angustifolia* foram coletadas em uma propriedade rural do município de Brochier, RS, Brasil e transportadas ao Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (ICTA/UFRGS). As brácteas foram selecionadas, considerando-se a ausência de injúrias visuais e após serem lavadas em água corrente, desidratadas a $50\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ e moídas, foram acondicionadas em embalagens de polietileno e armazenadas a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ em *freezer* convencional até o momento da realização das análises. Os reagentes utilizados foram de grau analítico. A polidextrose foi adquirida da MasterSense Ing Alim Ltda. (Brasil), a goma guar parcialmente hidrolisada da Taiyo Lucid Pvt. Ltd. (Estados Unidos), o colágeno hidrolisado do Laboratório Tiaraju Ltda (Brasil) e a pectina da Importadora Química Delaware Ltda (Brasil).

2.2 Extração

As brácteas desidratadas e moídas foram previamente descongeladas. A seguir, adicionou-se às brácteas água destilada na proporção 1:20 (m/m). Esta suspensão foi submetida à agitação mecânica (Ika, RW 20) durante 10 min e resfriada até $0\text{ }^{\circ}\text{C}$, para posteriormente ser realizado o processo de extração assistida por micro-ondas (Electrolux, MEF41) à frequência de 2450 MHz, potência de 1000 W durante 20 min. Estes parâmetros de extração foram obtidos a partir de provas preliminares.

2.3 Encapsulamento

Para o encapsulamento do extrato obtido foram empregados como materiais de parede pectina (PEC), colágeno hidrolisado (CH), povidona (PD) e goma guar parcialmente hidrolisada (GGPH). Duas dispersões foram preparadas resultantes de misturas de PEC-CH e PD-GGPH que foram adicionadas aos extratos nas proporções de 0,25:0,75:9 e 0,5:0,5:9 (m/m/m), respectivamente. A seguir, as dispersões foram misturadas por Ultra-turrax (Ika, T25) a 6500 rpm por 5 min, e após encapsuladas por atomização e liofilização, totalizando quatro tratamentos.

Para a liofilização as dispersões obtidas foram previamente congeladas em ultra *freezer* (Liotop, UFR30) a -68 °C durante 24 h, sendo na sequência encapsuladas utilizando-se um liofilizador (Liobras, LIOTOP L101) a -57 °C e uma pressão de vácuo inferior a 200 µmHg por aproximadamente 72 h. As amostras foram posteriormente moídas em gral e pistilo (Kuck e Noreña, 2016).

Na atomização foi utilizado um atomizador (Labmaq, MDS 1.0), sendo necessárias as seguintes condições operacionais de secagem: pressão de atomização de 2 a 4 kgf cm⁻²; vazão do ar de secagem de 40,5 L h⁻¹; vazão média de alimentação de 0,60 L h⁻¹; e temperatura do ar de secagem de 160 °C (Kuck e Noreña, 2016).

As micropartículas depois de obtidas foram acondicionadas em embalagens de polietileno e armazenadas em dessecadores sob o abrigo da luz à temperatura ambiente até o momento das análises. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

2.4 Reologia das dispersões

As dispersões tiveram suas propriedades reológicas medidas em um reômetro (Thermo Scientific, HAAKE MARS 40/60) com uma geometria cilíndrica (26 mm de diâmetro e abertura de 1,9 mm). Para a determinação da viscosidade foi utilizada uma taxa de cisalhamento de 0,1 a 100 s⁻¹. Os dados experimentais foram ajustados de acordo com a lei de potência (modelo de *Ostwald-de Waele*), em que foram determinados os parâmetros reológicos (K e n) das dispersões de acordo com a equação 1.

$$\tau = K \times \dot{\gamma}^n \quad (1)$$

Onde:

τ é a tensão de cisalhamento (Pa)

$\dot{\gamma}$ é a taxa de cisalhamento (s⁻¹)

K é o índice de consistência

n é o índice de comportamento do fluxo

As propriedades viscoelásticas das dispersões foram determinadas por teste oscilatório de pequena amplitude a 20 °C. Inicialmente foram aplicadas varreduras de amplitude (10–1000 Pa) sob uma frequência angular constante (1 Hz) para determinar a região viscoelástica linear. A varredura de frequência foi determinada na região viscoelástica linear (tensão de 100 Pa) variando a frequência de 0,01 a 10 Hz. Os parâmetros reológicos oscilatórios G' (módulo elástico) e G'' (módulo viscoso) foram registrados em função da frequência.

2.5 Análises físico-químicas das micropartículas

As micropartículas foram avaliadas quanto à atividade de água pelo medidor de a_w (Aqualab, 3TE-Decagon) conforme método da AOAC (2012) n° 978.18 a temperatura de 25 °C, e a umidade foi determinada por diferença de peso das amostras antes e depois da secagem em estufa, de acordo com o método da AOAC (2012) n° 984.25.

A solubilidade das micropartículas foi determinada conforme o método descrito por Eastman e Moore (1984) modificado por Cano-Chauca et al. (2005). Para esta determinação foi adicionado em um béquer 1 g de amostra e 100 mL de água destilada, sob alta agitação magnética por 5 min, seguida por centrifugação a 3000×g, por 5 min. Uma alíquota de 25 mL do sobrenadante foi transferida para placas de Petri e levada à estufa a 105 °C, até peso constante, e a solubilidade foi calculada pela diferença de peso e expressa em %.

Para a determinação da higroscopicidade, foi utilizado o método proposto por Cai e Corke (2000) modificado por Tonon et al. (2009), que consistiu em colocar 1 g de cada amostra em um recipiente hermético contendo uma solução saturada de NaCl (umidade relativa de 75 %) e incubada a 25 °C em uma câmara (FDP Ethik Technology, 411). Após uma semana de incubação, as amostras começaram a ser pesadas até atingirem o equilíbrio. A higroscopicidade foi expressa em porcentagem (%).

2.6 Análises espectrofotométricas

Com o objetivo de romper o material de revestimento das micropartículas para a liberação dos compostos de interesse a serem analisados, utilizou-se uma solução metanol:ácido acético:água (50:8:42, v/v/v). Alíquotas de 10 mL desta solução foram adicionadas a 1 g das micropartículas, e agitados por 3 min em vortex (Quimis, Q920A2). Após, esta mistura foi

centrifugada (Sigma, 4K15) a $3000\times g$ por 10 min, e o sobrenadante recolhido. Esse procedimento foi repetido três vezes para cada amostra.

As medidas de absorvâncias foram lidas em espectrofotômetro UV-visível (Thermo Scientific, Genesys S10).

2.6.1 *Compostos fenólicos totais*

Os teores de compostos fenólicos totais (CFT) foram analisados utilizando-se o método de *Folin-Ciocalteu*. As absorvâncias foram medidas em comprimento de onda de 765 nm de acordo com Singleton e Rossi (1965). Foi elaborada uma curva padrão de ácido tânico e os resultados foram expressos em mg de equivalente de ácido tânico por g em base seca. O ácido tânico é um tanino hidrolisável, comumente utilizado para a elaboração de curvas padrão para determinação de compostos fenólicos totais e taninos totais.

2.6.2 *Taninos totais*

Para a análise de taninos totais (TT) foi empregada a metodologia proposta por Makkar (2003) que consistiu em adicionar 100 mg de polivinilpolipirrolidona (PVPP) em um tubo de ensaio contendo 1,0 mL de água destilada e 1,0 mL da amostra (preparada conforme descrito no item 2.6) sob agitação em vortex (Quimis, Q920A2). A reação foi mantida a 4 °C durante 15 min. A seguir, a solução foi centrifugada a $3000\times g$ a 4 °C por 10 min. O teor de compostos fenólicos contidos no sobrenadante foi quantificado conforme Singleton e Rossi (1965) com leitura a 765 nm. O teor de taninos totais foi determinado pela diferença dos teores de compostos fenólicos totais contidos no extrato (analisados anteriormente) e do sobrenadante. O resultado foi expresso como mg de equivalente de ácido tânico (EAT) por g em base seca.

2.6.3 *Taninos condensados*

Os taninos condensados (TC) foram determinados pelo método descrito por Makkar (2003), que consistiu em misturar em um tubo de ensaio 0,5 mL da amostra (preparada conforme descrito no item 2.6) com 3 mL da solução de butanol/HCl (95:5, v/v) e 0,1 mL de solução de sulfato férrico em HCl (2 N) (2 %, m/v). A solução foi agitada em vortex (Quimis, Q920A2) e aquecida em banho-maria a 100 °C por 60 min. Após arrefecimento, a absorvância foi lida a 550 nm. Um branco de cada amostra foi preparado nas mesmas condições mencionadas, porém sem o aquecimento. As catequinas são as principais unidades monoméricas presentes nos taninos condensados (Shadkami et al., 2009), desta forma, foi

elaborado uma curva padrão deste composto para que os teores de taninos condensados fossem expressos como mg de equivalentes de catequina por g em base seca.

2.6.4 Atividade antioxidante

O método de ABTS (2,2'-azino-bis (ácido 3-etilbenzotiazolino-6-sulfônico)), descrito por Re et al. (1999), foi utilizado para estimar a atividade antioxidante das amostras. Uma alíquota de 300 µL da amostra (preparada conforme descrito no item 2.6) foi adicionada a 2,7 mL de solução de radical ABTS e lida a 734 nm após 6 min no espectrofotômetro. Nesta análise é medido a capacidade dos antioxidantes eliminarem o radical estável ABTS^{•+} presente nas amostras.

A atividade antioxidante das amostras também foi estimada pelo método de DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) descrito por Brand-Williams et al. (1995), baseado na captura do radical DPPH[•] por antioxidantes, produzindo o decréscimo da absorbância. A absorbância foi medida em espectrofotômetro com um comprimento de onda de 515 nm após 1 h de reação em repouso ao abrigo de luz.

Para expressar os resultados como µmol de equivalentes de Trolox (ácido 6-hidróxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxílico) por g em base seca, foi elaborada uma curva padrão de Trolox utilizada para os métodos de ABTS e DPPH.

2.7 Rendimento da encapsulação (RE)

O rendimento da encapsulação foi determinado pelo quociente do teor de compostos fenólicos totais obtido nos pós microencapsulados (CFP) e o do extrato (CFE) (Paini et al., 2015), calculado de acordo com a equação (2)

$$RE = \frac{CFP}{CFE} \times 100 \quad (2)$$

2.8 Análise colorimétrica

As medidas colorimétricas, foram determinadas por um colorímetro (Minolta, CR400/410) de acordo com o sistema CIEL*a*b*, onde L* indica a luminosidade e a* e b*, são as coordenadas cromáticas. Estes parâmetros foram necessários para calcular os valores de Chroma, ângulo Hue e a diferença total de cor (ΔE) em relação ao extrato das brácteas, de acordo com as equações (3), (4), (5) (CIE, 2004).

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

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

$$\Delta E = \sqrt{(L_0^* - L^*)^2 + (a_0^* - a^*)^2 + (b_0^* - b^*)^2} \quad (5)$$

Onde: a^* ; b^* ; L^* : referem-se aos dados dos pós obtidos.

a_0^* ; b_0^* ; L_0^* : referem-se aos dados das brácteas desidratadas e moídas.

2.9 Análise termogravimétrica (TGA) e calorimetria de varredura diferencial (DSC)

A análise termogravimétrica (TGA) dos pós obtidos por atomização e liofilização foram determinadas através do TGA Discovery (TA Instruments), onde aproximadamente 8 mg de amostras foram adicionadas a uma panelinha de platina que foi aquecido de 25 a 800 °C, com uma taxa de aquecimento de 10 °C cm⁻¹, em atmosfera de gás nitrogênio de 25 mL min⁻¹.

A varredura diferencial de calorimetria (DSC) foi realizada em equipamento Perkin Elmer DSC 8500. Aproximadamente 6 mg de amostra foram pesadas em panelinhas herméticas de alumínio e realizou-se as medições em corridas de temperaturas de -20 a 250 °C, com taxa de aquecimento de 10 °C cm⁻¹, sob uma atmosfera de nitrogênio.

2.10 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Para analisar os grupos químicos e a disposição de ligação dos constituintes presentes no extrato obtido (após liofilização), assim como nos materiais de parede utilizados e pós atomizados e liofilizados, foi utilizado um espectrofotômetro FTIR (Jasco 4010). Pastilhas de brometo de potássio (KBr) contendo as amostras foram confeccionadas com o auxílio de prensa manual. Os espectros de FTIR foram obtidos na faixa de 4000 a 400 cm⁻¹ e a resolução foi ajustada em 4 cm⁻¹.

2.11 Microscopia eletrônica de varredura

As estruturas das micropartículas foram avaliadas através da microscopia eletrônica de varredura – MEV (Jeol, JSM 6060). Para visualização, as amostras foram fixadas em *stubs* utilizando fita adesiva dupla face de carbono. A superfície das amostras foi metalizada utilizando ouro, e após examinadas no microscópio, operando a tensão de 5 kV e empregando

uma ampliação de 300 vezes para os pós liofilizados e 2000 vezes para os pós atomizados (Kuck e Noreña, 2016).

2.12 Estabilidade de armazenamento e liberação em condições aceleradas

As micropartículas foram armazenadas em frascos herméticos em uma câmara de incubação (FDP Ethik Technology, 411), onde foram mantidos nas temperaturas de 35 e 55 °C e nas umidades relativas de 75 % (solução saturada de cloreto de sódio) e 90 % (solução saturada de cloreto de bário), em um período de 35 dias. As análises de compostos fenólicos totais (CFT), taninos totais (TT) e atividade antioxidante por ABTS e DPPH foram realizadas a cada 7 dias (Kuck et al, 2017).

2.13 Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas através de análise de variância (ANOVA) e a comparação entre os tratamentos foi feita através de provas e comparações múltiplas de médias através do teste de *Tukey* ($p < 0,05$), com o emprego do software estatístico SAS, versão 9.3.

3. Resultados e discussão

3.1 Reologia das dispersões

Na Figura 1 estão representadas as curvas de viscosidade das dispersões em função da taxa de cisalhamento. Ambas as dispersões, PEC-CH e PD-GGPH, apresentaram um comportamento característico de fluídos não-Newtonianos com propriedades pseudoplásticas, que indicam que a viscosidade aparente diminui quando a taxa de cisalhamento é aumentada (Marcotte et al., 2001; Mohammadzadeh et al., 2013). Observa-se que a viscosidade diminuiu com o aumento da taxa de cisalhamento até valores próximos a 20 s^{-1} , evidenciando o comportamento pseudoplástico, o que indica que estes fluidos tornaram-se menos viscoso com taxas crescentes de cisalhamento (Yang et al., 2018; Li et al., 2019b). A partir deste valor a viscosidade manteve-se constante independentemente da taxa de cisalhamento aplicada.

O modelo de Ostwald-de Waele (lei da potência), é um modelo simples que descreve o comportamento do fluxo em termos do índice de comportamento de fluxo (n) e do índice de consistência (K) (Yang et al., 2018). Ambos os dados experimentais de tensão de cisalhamento em função de taxa de cisalhamento foram bem ajustados pelo modelo de Ostwald-de Waele, resultando em coeficiente de determinação (R^2) superiores a 0,98 (Tabela 1), indicando

comportamento pseudoplástico pois valores de n são inferiores a 1 (Koocheki et al., 2009; Quek et al., 2013).

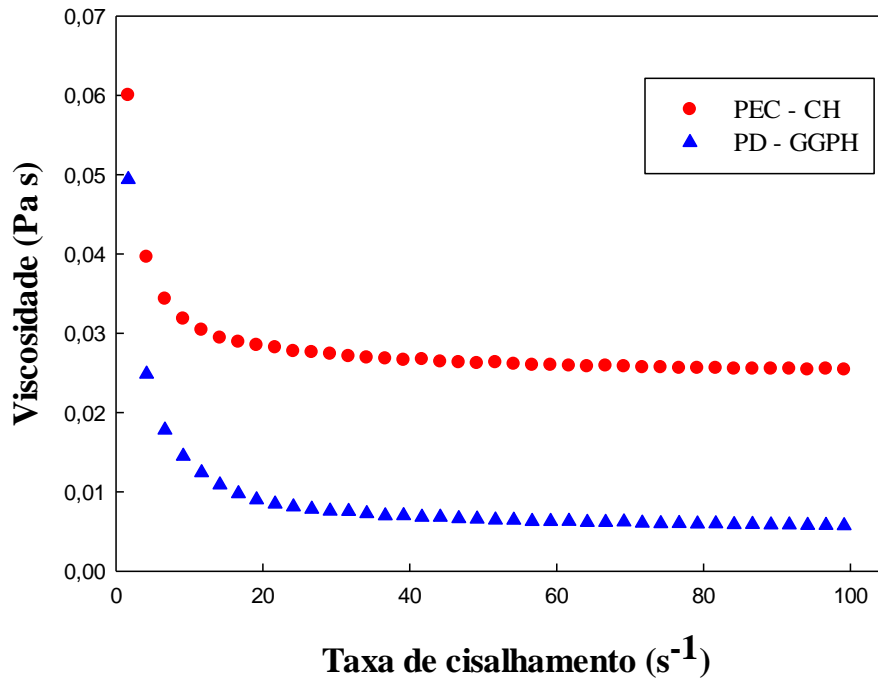


Figura 1 – Curvas de fluxo de ambas dispersões: pectina (PEC) - colágeno hidrolisado (CH) e polidextrose (PD) - goma guar parcialmente hidrolisada (GGPH).

Tabela 1 – Parâmetros reológicos obtidos pelo modelo da lei de potência de Ostwald-de Waele para ambas as dispersões: pectina (PEC) - colágeno hidrolisado (CH) e polidextrose (PD) - goma guar parcialmente hidrolisada (GGPH).

Dispersões	Lei da potência		
	K (Pa s)	n	R^2
PEC-CH	$0,034 \pm 0,001^a$	$0,935 \pm 0,008^a$	0,999
PD-GGPH	$0,021 \pm 0,003^a$	$0,714 \pm 0,037^b$	0,986

K = índice de consistência

n = índice de comportamento do fluxo

Letras diferentes em uma mesma coluna indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).

O índice de consistência (K), é um indicador da natureza viscosa de um sistema, e foi maior para PEC-CH, sugerindo maiores viscosidades, como demonstrado na Figura 1. No

entanto, apesar de PEC-CH ter características mais viscosas, de acordo com a Figura 1, seu valor de índice (n) também foi maior, devido essencialmente ao seu comportamento não-Newtoniano verificado até uma taxa de cisalhamento de 10 s^{-1} , enquanto que para PD-GGPH este comportamento foi observado até taxa de 20 s^{-1} , como verificado na Figura 1.

O comportamento viscoelástico, expressos pelo módulo elástico (G') e módulo viscoso (G'') em função da frequência (Hz) das duas dispersões está mostrado na Figura 2. Os valores dos dois módulos aumentaram com o incremento da frequência.

O G'' em ambas amostras indicaram valores maiores ao G' em toda faixa de frequência estudada, indicando comportamento mais viscoso que elástico. Estes resultados sugerem um comportamento viscoelástico predominantemente líquido, sem formação de gel (Medina-Torres et al., 2000; Espinosa-Andrews et al., 2010; Garcia-Cruz et al., 2013). Estas características indicam que nas dispersões as interações moleculares são fracas formando uma rede estrutural mais frágil.

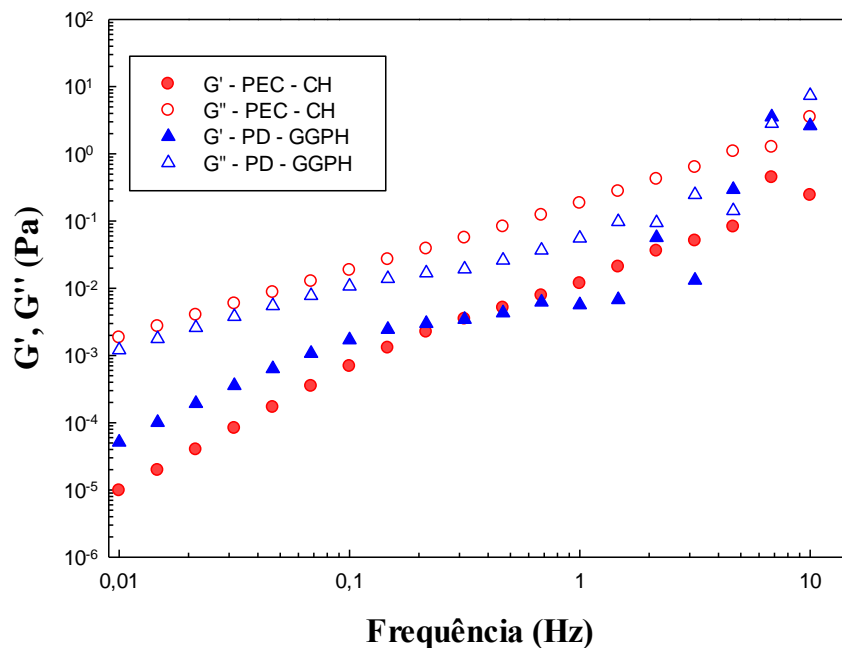


Figura 2 – Curvas reológicas oscilatórias dinâmicas para ambas as dispersões: pectina (PEC) - colágeno hidrolisado (CH) e polidextrose (PD) - goma guar parcialmente hidrolisada (GGPH). G' – módulo elástico; G'' – módulo viscoso.

3.2 Análise físico-químicas

As propriedades como atividade de água, umidade e higroscopicidade são fundamentais para a estabilidade e armazenamento dos pós obtidos por atomização e liofilização, enquanto a

solubilidade está relacionada com a reconstituição deste pó para suas mais diversas aplicações (Tonon et al., 2009).

Os valores para a atividade de água (a_w), umidade, solubilidade, higroscopicidade e rendimento do encapsulamento do extrato de brácteas de araucária com PEC-CH e PD-GGPH são apresentados na Tabela 2, conforme os diferentes tratamentos obtidos.

Os resultados para a_w nos tratamentos realizados neste estudo, estiveram na faixa de 0,19 a 0,35, sendo todos os tratamentos diferentes significativamente entre si, com os menores valores encontrados nos pós liofilizados. Pós com alta a_w indicam a presença de água livre disponível para reações bioquímicas e, com isso, uma menor vida útil dos produtos (Nunes et al., 2015; Yamashita et al., 2017). Valores baixos para a_w são desejáveis, pois proporcionam uma maior estabilidade ao produto, evitando a multiplicação de microrganismos e reações, como o escurecimento enzimático e não-enzimático (Rocha et al., 2019). Piovesana e Noreña (2018) encontraram valores similares, 0,137 a 0,339, no encapsulamento de extrato de hibisco por atomização e liofilização, utilizando povidona e goma guar parcialmente hidrolisada como materiais de parede, indicando que estes valores proporcionam uma boa estabilidade aos pós.

Tabela 2 – Atividade de água, umidade, higroscopicidade solubilidade e rendimento do extrato de brácteas de *Araucaria angustifolia* encapsulado com pectina (PEC) - colágeno hidrolisado (CH) e povidona (PD) - goma guar parcialmente hidrolisada (GGPH) por atomização e liofilização.

Tratamentos	a_w	Umidade (%)	Higroscopicidade (%)	Solubilidade (%)	Rendimento (%)
Atomização					
PEC-CH	0,35 ± 0,00 ^a	3,48 ± 0,05 ^a	43,30 ± 0,05 ^a	84,55 ± 0,92 ^c	62,28 ± 0,17 ^c
PD-GGPH	0,33 ± 0,00 ^b	1,52 ± 0,02 ^c	45,27 ± 1,34 ^a	98,00 ± 0,01 ^a	80,57 ± 0,21 ^b
Liofilização					
PEC-CH	0,19 ± 0,00 ^d	2,04 ± 0,25 ^{b,c}	30,68 ± 0,09 ^c	91,91 ± 0,23 ^b	60,37 ± 1,75 ^c
PD-GGPH	0,28 ± 0,00 ^c	2,56 ± 0,02 ^b	39,10 ± 0,35 ^b	97,69 ± 0,46 ^a	89,94 ± 1,05 ^a

Letras diferentes em uma mesma coluna indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).

Como pode ser observado na Tabela 2, os teores de umidade dos pós variaram de 1,52 a 3,48 % em base seca, com a menor umidade apresentada no tratamento encapsulado com PD e GGPH por atomização. Kuck e Noreña (2016) relatam valores de umidade menores em amostra atomizadas em comparação com as liofilizadas, encontrando valores de 2,41 a 2,57 %,

em pós obtidos de extratos de casca de uva utilizando PD e GGPH como materiais de revestimento. Fazaeli et al. (2012), destacam que as temperaturas altas utilizadas na entrada do processo de atomização, faz com que a transferência de calor para a partícula seja elevada, fornecendo maior força motriz para a evaporação da umidade

Quanto a higroscopicidade, os pós obtidos por atomização, apresentaram valores maiores em relação aos tratamentos liofilizados, apresentando valores de 43,30 e 45,27 % para os pós atomizados com PEC-CH e PD-GGPH, respectivamente. A higroscopicidade é uma propriedade importante na avaliação do comportamento do produto durante seu armazenamento, pois para valores altos, a capacidade dos pós adsorverem umidade do ambiente é também alta (Rocha et al., 2019) provocando a aglomeração e pegajosidade dos pós. De acordo com Schuck et al. (2012), pós com higroscopicidade acima de 25 g 100 g⁻¹ (quando determinado a 75 % de umidade relativa) são considerados extremamente higroscópicos.

A solubilidade é uma propriedade importante dos pós, pois refere-se ao comportamento do produto quando é submetido a reidratação quando usado em uma formulação alimentícia (Mahdavi et al., 2016; Sarabandi et al., 2018). Quanto a este parâmetro houveram diferenças significativas entre os materiais de parede utilizados, apresentando valores maiores nos pós encapsulados com PD-GGPH tanto por atomização quanto por liofilização, com 98,0 e 97,69 %, respectivamente. Para os pós encapsulados com PEC-CH a maior solubilidade foi no pó liofilizado. A solubilidade em água dos pós é influenciada por diversos fatores, entre eles a composição dos materiais encapsulantes e o tamanho das partículas (Rezende et al., 2018). Kuck e Noreña (2016), ressaltam que quanto menor o tamanho da partícula, maior é a área disponível para hidratação.

O rendimento da encapsulação dos pós é um parâmetro útil para avaliar a degradação de compostos fenólicos totais durante os processos de encapsulamento (Paini et al., 2015). Neste estudo os rendimentos da encapsulação variaram de 60,37 a 89,94 %, com maior rendimento no pó PD-GGPH por liofilização. Na atomização as perdas estão relacionadas com as altas temperaturas do ar de entrada e a presença de ar que favorece as degradações oxidativas (Cano-Higuita et al., 2015); enquanto que na liofilização, a sublimação pode causar poros nas partículas, que levam a liberação precoce dos compostos encapsulados, resultando em degradações (Rezende et al., 2018). Entretanto, os maiores rendimentos nas amostras liofilizadas podem estar relacionadas ao emprego de temperaturas mais amenas e à ausência de oxigênio durante a secagem.

3.3 Análise colorimétrica

Os resultados da análise colorimétrica são apresentados na Tabela 3. Para o parâmetro L^* , que indica luminosidade, todos os pós apresentaram diferenças significativas entre si, tendo como pós mais claros os tratamentos atomizados, com valores de 80,25 e 75,60, respectivamente. Saikia et al. (2015), também obtiveram pós mais claros na atomização com relação a liofilização, atribuindo esta condição, a possível destruição de alguns pigmentos, devido ao emprego de maiores temperaturas. Kuck e Noreña (2016) e Piovesana e Noreña (2018), obtiveram pós mais escuros com a utilização da liofilização em relação a atomização, podendo este comportamento estar relacionado com a estrutura dos pós obtidos por esta técnica, que devido ao congelamento pode haver a formação de cristais de gelo, gerando poros, o que pode tornar a superfície destas partículas mais escuras devido às propriedades de dispersão de luz dos espaços vazios após a sublimação (Kuck e Noreña, 2016).

Os parâmetros a^* (vermelho ao verde) e b^* (amarelo ao azul) em todos os pós apresentaram valores positivos, indicando coloração do vermelho ao amarelo encontrada no primeiro quadrante do círculo cromático. Corroborando com este resultados, o ângulo *Hue*, evidencia uma tonalidade mais próxima do amarelo, pois apresentou valores de 66,14 a 77,80°, que situam-se no primeiro quadrante (0 a 90°).

Tabela 3 – Parâmetros colorimétricos do extrato de brácteas de *Araucaria angustifolia* encapsulado com pectina (PEC) - colágeno hidrolisado (CH) e povidexose (PD) - goma guar parcialmente hidrolisada (GGPH) por atomização e liofilização.

Tratamentos	L^*	a^*	b^*	<i>Hue</i> (°)	<i>Chroma</i>	ΔE
Atomização						
PEC-CH	80,25 ± 0,19 ^a	3,14 ± 0,02 ^d	14,51 ± 0,03 ^d	77,80 ± 0,05 ^a	14,84 ± 0,03 ^d	58,96 ± 0,19 ^a
PD-GGPH	75,60 ± 0,01 ^b	4,32 ± 0,02 ^c	17,10 ± 0,01 ^c	75,81 ± 0,08 ^b	17,64 ± 0,00 ^c	54,44 ± 0,01 ^b
Liofilização						
PEC-CH	64,43 ± 0,00 ^c	7,75 ± 0,02 ^b	18,73 ± 0,01 ^b	67,53 ± 0,05 ^c	20,27 ± 0,00 ^b	43,22 ± 0,01 ^c
PD-GGPH	56,99 ± 0,01 ^d	8,63 ± 0,02 ^a	19,52 ± 0,00 ^a	66,14 ± 0,04 ^d	21,34 ± 0,01 ^a	36,10 ± 0,01 ^d

Letras diferentes em uma mesma coluna indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).

Para a saturação de cor, representada pelo *Chroma*, valores significativamente superior foram encontrados nos dois pós liofilizados, indicando para estas amostras uma maior

saturação. Piovesana e Noreña (2018) também encontraram valores de saturação mais elevados para as amostras liofilizadas em comparação a atomização.

A diferença de cor (ΔE) dos pós obtidos em relação as brácteas desidratadas e moídas, apresentaram diferenças perceptíveis visualmente, com valores que variaram de 36,10 a 58,96. Conforme Obón et al. (2009), diferença de cor de 0 a 1,5 são considerada pequena e quase idêntica para a observação visual, já na faixa de 1,5 a 5 a diferença já pode ser percebida visualmente.

3.4 Análise termogravimétrica (TGA) e calorimetria de varredura diferencial (DSC)

Os resultados da análise termogravimétrica (TGA) (Figura 3) indicam que na primeira etapa de aquecimento até 220 °C os pós encapsulados com PD-GGPH apresentaram menores taxas de perdas, com apenas 5 % de redução do peso total, em comparação aos pós com PEC-CH que perderam nesta etapa 15 % de seu peso. Esta perda inicial está relacionada com a água ligada e a compostos voláteis que podem não ter sido devidamente encapsulados (Paini et al., 2015; Tavares e Noreña, 2019; Pinilla et al., 2019).

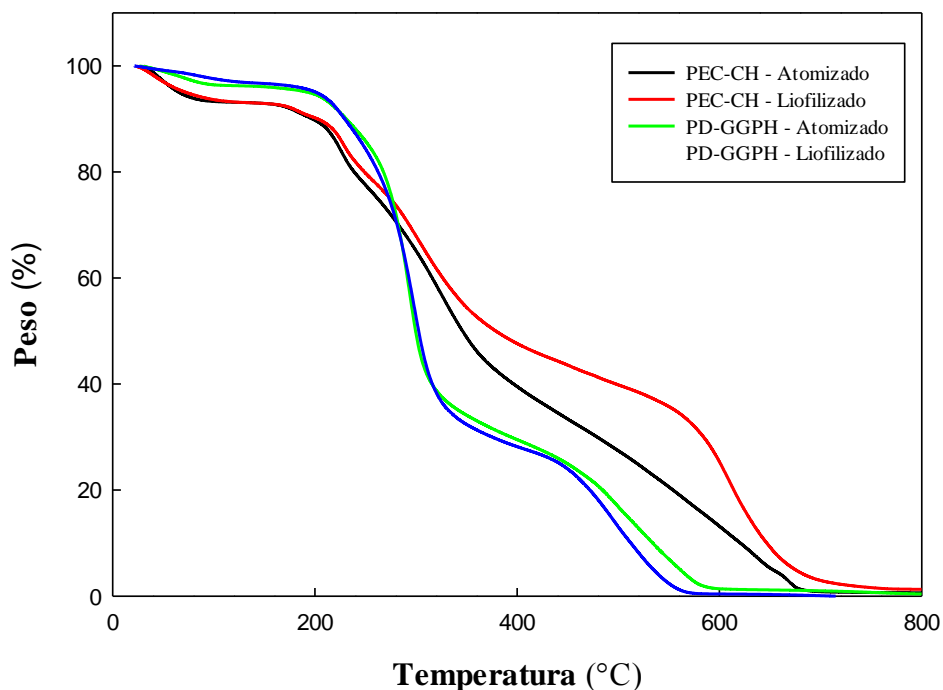


Figura 3 – Análise termogravimétrica do extrato de brácteas de *Araucaria angustifolia* encapsulado com pectina (PEC) - colágeno hidrolisado (CH) e povidona (PD) - goma guar parcialmente hidrolisada (GGPH) por atomização e liofilização.

Em uma segunda etapa de aquecimento, entre 220 e 450 °C ocorrem taxas de perda mais acentuadas, de 60 a 70 % de peso total, em consequência da decomposição e despolimerização das ramificações dos polissacarídeos, pois em geral, estas reações ocorrem em temperaturas acima de 200 °C (Silva et al., 2018). As desestruturações ocorridas nos materiais de parede resultam na exposição dos compostos encapsulados iniciando sua degradação. Neste estágio, observa-se que os pós de PEC-CH apresentam um taxa de perda menos acentuada que no PD-GGPH, revelando uma maior estabilidade térmica.

No último estágio, a partir dos 450 °C continua ocorrendo a degradação dos encapsulantes, devido a decomposição química dos polímeros (Ballesteros et al., 2017), associada a degradação oxidativa dos resíduos de carbono que foram formados na segunda fase de degradação, ocorrendo a partir dos 500 °C (Azevedo et al., 2015).

Nas análises de DSC (Figura 4) os pós obtidos apresentaram picos endotérmicos, com valores de entalpia (ΔH) de 17,1193 J g⁻¹ a 90,3413 J g⁻¹ e temperaturas de fusão de 75,48 °C a 102,52 °C. Os picos endotérmicos presentes nas amostras de PEC-CH, são característicos da desnaturação proteica que ocorre na estrutura da tripla hélice do colágeno (Perumal et al., 2018; Bam et al., 2019). Na desnaturação ocorre a dissociação de ligações intramoleculares, ocasionando um processo endotérmico (Fitzsimons et al., 2008). Os picos endotérmicos encontrados nos pós de PD-GGPH são devidos a evaporação da umidade presente nestas amostras (Nayak e Singh, 2001).

A presença de interações intermoleculares entre os componentes de uma mistura aumenta a entalpia de fusão (Sin et al., 2010). Neste sentido, o pó constituído de PD-GGPH por liofilização, mostrou maior interação entre seus compostos, visto a maior entalpia de fusão (90,3413 J g⁻¹) e temperatura de fusão (102,52 °C) apresentadas, indicando uma estrutura com maior estabilidade térmica (Tavares e Noreña, 2019).

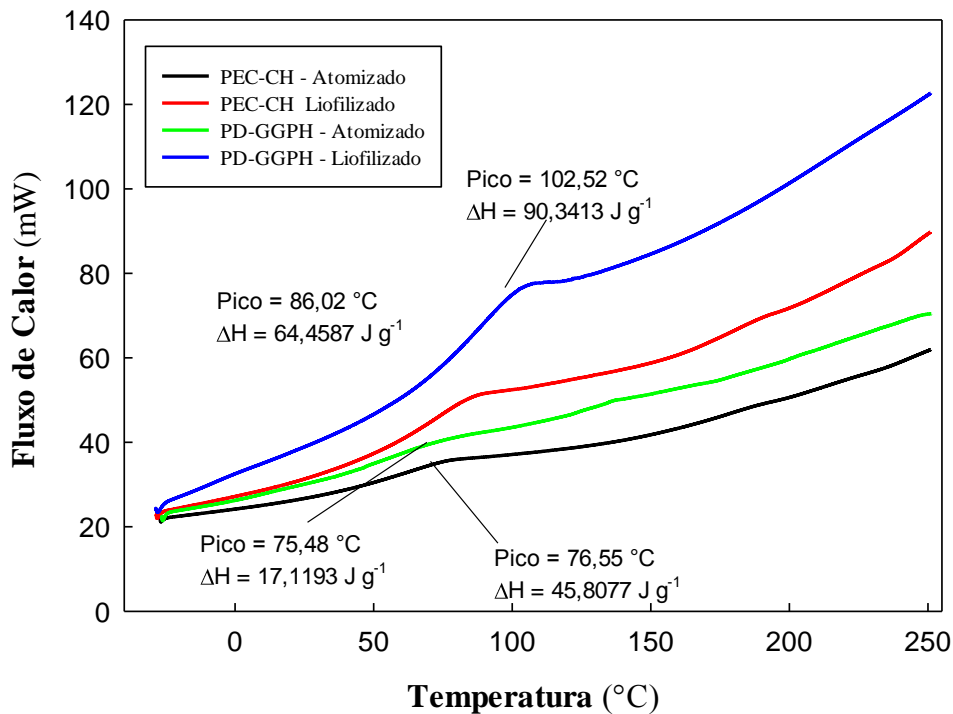


Figura 4 – Termogramas de calorimetria exploratória diferencial (DSC) do extrato de brácteas de *Araucaria angustifolia* encapsulado com pectina (PEC) - colágeno hidrolisado (CH) e polidextrose (PD) - goma guar parcialmente hidrolisada (GGPH) por atomização e liofilização.

3.5 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros de infravermelho dos materiais de parede são apresentados na Figura 5, e os espectros do extrato e dos pós encapsulados na Figura 6.

Para a PEC (Figura 5) observa-se que o espectro apresentou bandas de absorção típicas dos polissacarídeos, como a vibração de estiramento do grupo O-H correspondente à faixa situada entre 3700 e 3000 cm^{-1} e a vibração de estiramento do grupo C-H, na faixa de 3000 e 2800 cm^{-1} . O pico em 1747 cm^{-1} está relacionado ao estiramento da carbonila do grupo metil éster ($-\text{COOCH}_3$) e do ácido carboxílico ($-\text{COOH}$) não dissociado, enquanto a banda a 1647 cm^{-1} diz respeito ao estiramento assimétrico da carbonila do íon carboxilato ($-\text{COO}^-$) (Maciel et al., 2015; Slavutsky e Bertuzzi, 2019). O pico em 1400 cm^{-1} corresponde ao estiramento simétrico do íon carboxilato (Slavutsky e Bertuzzi, 2019).

As ligações químicas observadas para a PD (Figura 5) apresentaram vibração de estiramento de hidroxila (3439 cm^{-1}), banda de estiramento C-H (2931 cm^{-1}) e estiramento do grupo carbonila (1643 cm^{-1}). O pico a 1029 cm^{-1} foi atribuído ao estiramento da ligação glicosídica C-O-C, visto que este normalmente se encontra na faixa entre 1180 e 930 cm^{-1}

(Okuro et al., 2013; Wang et al., 2014). O pico em 1406 cm^{-1} pode indicar a deformação angular da ligação O-H ou C-H.

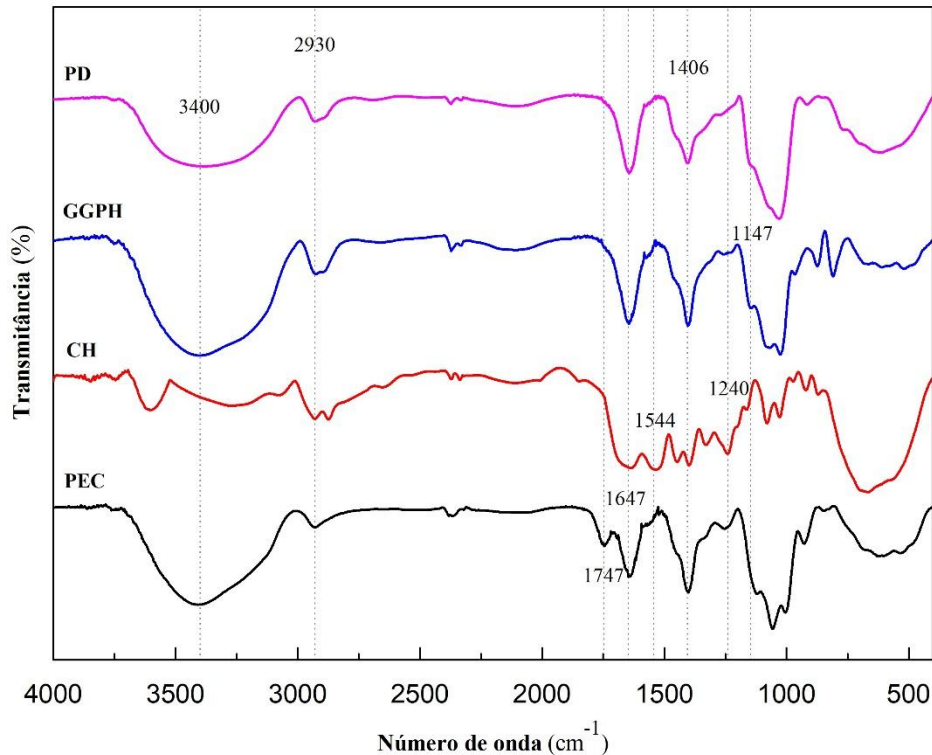


Figura 5 – Espectroscopia no infravermelho com transformada de *Fourier* (FTIR) dos materiais de parede utilizados no encapsulamento do extrato de brácteas de *Araucaria angustifolia*. (PD) polidextrose; (GGPH) goma guar parcialmente hidrolisada; (CH) colágeno hidrolisado; (PEC) pectina.

A GGPH, também apresentou vibração de estiramento para o grupo O-H e vibração de estiramento C-H, encontradas nas faixas de 3419 e 2933 cm^{-1} (Dodi et al., 2011; Bosio, 2014). A banda intensa a 1643 cm^{-1} é atribuída à água ligada, característica da GGPH, que mostra um aumento na associação com as moléculas de água, o que poderia justificar sua maior solubilidade em comparação com a goma guar natural (Mudgil et al., 2012; Li et al., 2017). O pico de absorção a 1147 cm^{-1} pode ser relacionado com o estiramento da ligação glicosídica (Mohammadi et al., 2019).

O espectro de FTIR do CH apresentou bandas de amida A (3383 cm^{-1}), amida B (3087 cm^{-1}), amida I na região de 1660 cm^{-1} (estiramento C=O), amida II na faixa de 1544 cm^{-1} (dobramento de N-H e deformação de C-N) e amida III em 1240 cm^{-1} (deformação C-N) (Duan et al., 2016; Kozłowska e Kaczmarkiewicz, 2019; Li et al., 2019a).

Na Figura 6 observa-se que o espectro do extrato das brácteas indica banda de absorção a 3400 cm^{-1} que corresponde ao estiramento O-H não livre, associado a moléculas de água. O pico intenso observado a 1629 cm^{-1} foi atribuído ao estiramento C=C dos compostos aromáticos, podendo indicar a presença de taninos no extrato de brácteas. O pico a 1082 cm^{-1} pode estar relacionado com o estiramento C-O-C (do Carmo et al., 2017).

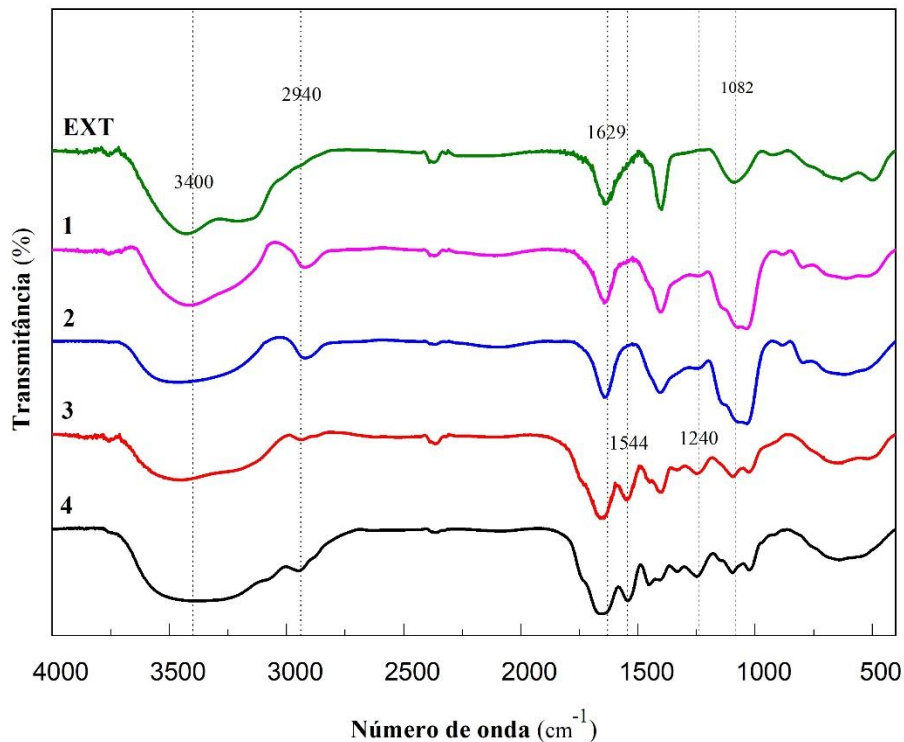


Figura 6 – Espectroscopia no infravermelho com transformada de *Fourier* (FTIR) do extrato das brácteas de *Araucaria angustifolia* e dos pós encapsulados por atomização e liofilização. EXT (Extrato), 1 (Liofilizado, PD-GGPH); 2 (Atomizado, PD-GGPH); 3 (Liofilizado, PEC-CH); 4 (Atomizado, PEC-CH).

Os pós atomizados apresentaram espectros similares aos pós liofilizados quando se refere aos mesmos materiais de parede empregados, demonstrando que ambos métodos de secagem tiveram comportamentos similares no encapsulamento. Percebe-se que as bandas encontradas tanto no extrato de brácteas, quanto nos materiais de parede, se fazem presentes nos pós obtidos de acordo com a composição de cada tratamento.

Em todos os pós é possível observar a vibração de estiramento para o grupo O-H e vibrações de estiramento C-H, ambas encontradas nas faixas de 3440 e 2940 cm^{-1} , que já se faziam presente em todos materiais de parede. Para os pós encapsulados com PEC-CH é possível observar as bandas de amida II na faixa de 1544 cm^{-1} e também a banda de amida III na faixa de 1240 cm^{-1} . Na região entre 1700 e 1600 cm^{-1} todas as amostra apresentam picos,

podendo esses estarem relacionados à amida I, nos casos de pós encapsulados com CH ou com às vibrações das ligações C=C, características da presença de compostos aromáticos que estavam presentes no extrato.

De modo geral, os espectros de FTIR dos pós obtidos apresentaram apenas as bandas presentes nos materiais de parede e no extrato das brácteas, sugerindo, desta forma, que as estruturas moleculares dos materiais de parede e dos compostos encapsulados não foram alteradas (Meng et al., 2017). Com isso, não houve o aparecimento de novas bandas devido à não formação de novas ligações químicas provenientes de reações entre os grupos funcionais dos materiais de parede e os grupos ativos dos compostos presentes no extrato de brácteas. Interações intermoleculares de caráter mais fraco, que não causaram a modificação da estrutura química dos produtos obtidos, entre elas as ligações de hidrogênio entre os grupo OH e o oxigênio presente nos polímeros, e/ou as interações de Van der Waals entre as partes apolares das cadeias podem ter ocorrido. Assim sendo, pode-se dizer que o encapsulamento foi proporcionado por interações físicas entre os encapsulantes e os compostos de interesse (Pinilla et al., 2017; Tavares e Noreña, 2019).

3.6 Microscopia eletrônica de varredura

A morfologia das partículas estão apresentadas na Figura 7, onde percebe-se que os pós atomizados (Figura 7A e 7B) apresentam-se com tamanhos diferentes, aparentemente sem fissuras e rachaduras sendo, em geral, estas características dos pós obtidos por este método de secagem (Kuck e Noreña, 2016; Abrahão et al., 2019). A ausência de fissuras é um aspecto essencial que assegura uma proteção adequada, garantindo a retenção do composto encapsulado e uma menor permeabilidade aos gases (Rocha et al., 2012; Jansen-Alves et al., 2019).

Formas predominantemente esféricas são típicas de materiais produzidos por atomização (Tonon et al., 2009), e foram constatadas nos pós obtidos, porém, o pó encapsulado com PEC-CH (Figura 7A) exibiu uma estrutura esférica bastante irregular e com a ocorrência de concavidades e rugosidades, diferindo-se do pó constituído de PD-GGPH (Figura 7B) que apresentou morfologia esférica e com a ausência de rugosidades.

As rugosidades presentes geralmente são atribuídas a retração que ocorre após a rápida evaporação da água durante o processo de secagem no atomizador, com o posterior resfriamento das partículas (Jansen-Alves et al., 2019). Além disso, esta característica é exibida em pós secos por atomização quando encapsulados com proteínas (Fäldt e Bergenståhl, 1994), o que pode ser evidenciado pela morfologia apresentada pelo pó constituído com colágeno hidrolisado

(Figura 7A), possivelmente devido a presenças de estruturas poliméricas caracterizadas como fibras colágenas (Valencia et al., 2019).

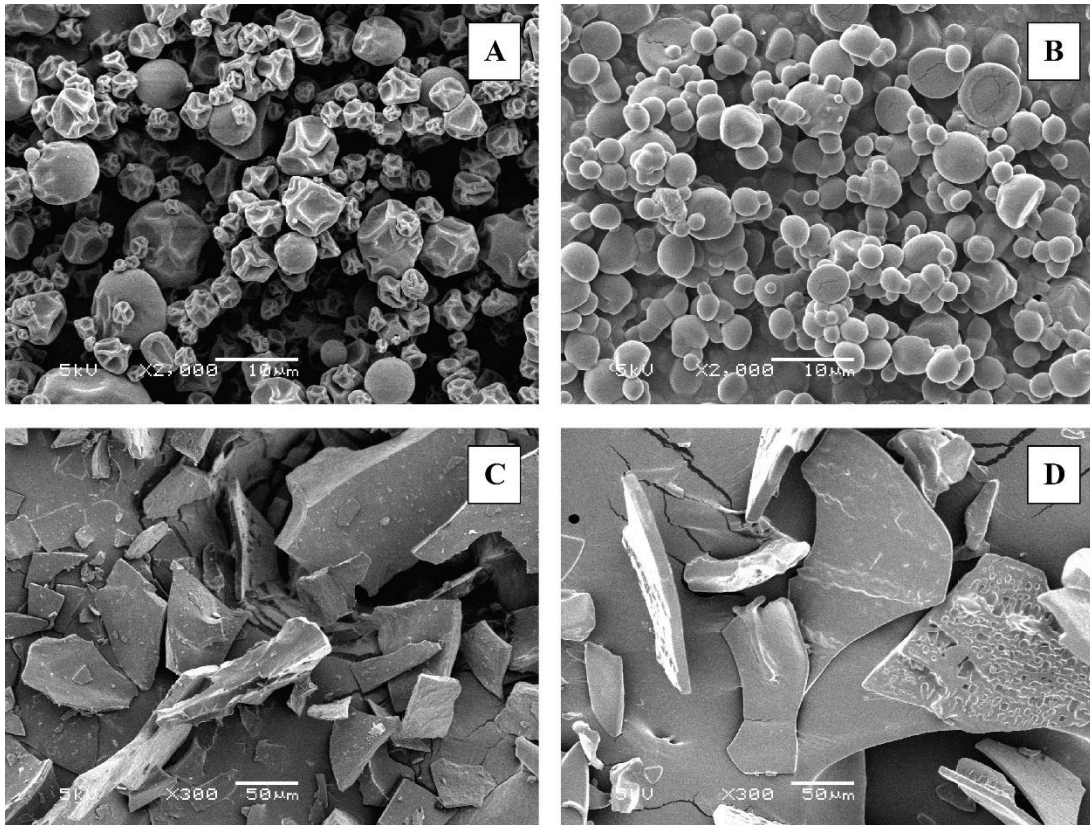


Figura 7 – Microscopia eletrônica de varredura do extrato das brácteas de *Araucaria angustifolia* encapsulados com pectina (PEC) - colágeno hidrolisado (CH) e polidextrose (PD) - goma guar parcialmente hidrolisada (GGPH) por atomização e liofilização. (A, C: PEC-CH, atomizado e liofilizado; B, D: PD-GGPH, atomizado e liofilizado).

Partículas com formato esférico também foram encontradas por Kuck e Noreña (2016), no encapsulamento de extrato de cascas de uva com a utilização de PD e GGPH como encapsulantes.

Para os pós elaborados por liofilização, nota-se a falta de controle sobre o tamanho das partículas, devido à forma como o material foi moído, como já descrito por Cano-Higuita et al. (2015) e Ozkan et al. (2019). Além do tamanho, estes pós apresentam formas irregulares, com aspecto semelhante a estilhaços de vidro, formato este também encontrado por Kuck e Noreña (2016) no encapsulamento de extrato de casca de uvas e por Piovesana e Noreña (2018) na obtenção de pós de extrato de hibisco. Ambos os estudos utilizaram a liofilização e goma guar parcialmente hidrolisada, polidextrose e goma arábica como materiais de parede.

3.7 Teores de compostos fenólicos totais, taninos totais, taninos condensados e atividade antioxidante nos pós encapsulados

Os teores de CFT, TT, TC e atividade antioxidante medidos pelos métodos de DPPH e ABTS presentes no extrato das brácteas de *Araucaria angustifolia* e de seus pós encapsulados com PEC-CH e PD-GGPH são apresentados na Tabela 4.

Observa-se que os teores de CFT foram significativamente menores em todos os pós em relação ao extrato. A maior retenção de CFT foi no pó liofilizado com PD-GGPH, com 89,95 %, enquanto que as menores retenções foram nos pós encapsulados com PEC-CH, obtendo-se percentuais de 62,29 e 60,37 % para atomizados e liofilizados, respectivamente. As perdas de compostos fenólicos por atomização estão relacionadas com a utilização de altas temperaturas e a exposição ao oxigênio, o que leva a degradação e a polimerização dos compostos presentes nos pós (Gharsallaoui et al., 2007; Kuck e Noreña, 2016).

Para os teores de TT observa-se que nos pós elaborados com PD-GGPH apresentaram valores maiores ao encontrado no extrato das brácteas. Estudos mostram que a GGPH possui taninos em sua composição (Nidhina e Muthukumar, 2015; Hamdani e Wani, 2017) que podem ter contribuído nesse aumento.

Tabela 4 – Compostos fenólicos totais (CFT), taninos totais (TT), taninos condensados (TC) e atividade antioxidante (ABTS e DPPH) do extrato das brácteas de *Araucaria angustifolia* e de seus pós encapsulados com pectina (PEC) - colágeno hidrolisado (CH) e polidextrose (PD) - goma guar parcialmente hidrolisada (GGPH) por atomização e liofilização.

Tratamentos	CFT (mg g ⁻¹ (b.s) EAT)	TT (mg g ⁻¹ (b.s) EAT)	TC (mg g ⁻¹ (b.s) ECAT)	ABTS (μmol g ⁻¹ (b.s) ET)	DPPH (μmol g ⁻¹ (b.s) ET)
Extrato	52,74 ± 0,91 ^a	33,72 ± 1,16 ^b	781,27 ± 5,66 ^a	436,42 ± 3,93 ^a	466,31 ± 3,41 ^a
Atomização					
PEC-CH	32,85 ± 0,09 ^d	25,85 ± 0,06 ^c	88,14 ± 1,88 ^e	109,15 ± 0,15 ^c	69,10 ± 3,69 ^d
PD-GGPH	42,50 ± 0,11 ^c	36,88 ± 0,12 ^b	498,46 ± 5,05 ^c	264,97 ± 2,08 ^b	139,78 ± 0,08 ^c
Liofilização					
PEC-CH	31,84 ± 0,92 ^d	24,93 ± 0,96 ^c	125,55 ± 3,59 ^d	120,60 ± 1,42 ^c	74,27 ± 2,02 ^d
PD-GGPH	47,44 ± 0,55 ^b	40,91 ± 0,47 ^a	669,58 ± 4,89 ^b	267,24 ± 1,27 ^b	157,83 ± 0,23 ^b

Letras diferentes em uma mesma coluna indicam diferenças significativas (p < 0,05).

Para taninos condensados (TC) houve uma diminuição significativa dos teores nos pós em relação ao extrato. O pó liofilizado com PD-GGPH foi o que apresentou maior retenção de

TC (85,70 %), enquanto o tratamento do pó obtido por atomização de PEC-CH apenas teve 11,28 % de retenção. Para as atividades antioxidantes, os pós contendo PD-GGPH apresentaram maiores valores.

Dessa forma, os resultados indicam que os pós encapsulados com PD-GGPH por atomização e liofilização, exibiram maiores teores para CFT, TT, TC e de atividade antioxidante. Kuck et al. (2017) afirmam que a capacidade de formação de ligações de hidrogênio entre os compostos fenólicos e os grupos de hidroxilas da PD e da GGPH resultam em uma forte interação entre eles e que pode ter sido fundamental para os resultados satisfatórios encontrados nos pós encapsulados com estes materiais de parede.

3.8 Estabilidade de armazenamento e liberação em condições aceleradas

O efeito das condições de armazenamento em condições aceleradas de armazenamento, (35 dias a temperaturas de 35 e 55 °C e umidades relativas de 75 e 90 %), são observados para os teores de CFT (Figura 8), TT (Figura 9), e atividade antioxidante por ABTS (Figura 10) e DPPH (Figura 11).

Os pós apresentaram comportamentos similares para as análises de CFT (Figura 8) e TT (Figura 9) durante o armazenamento, sendo que na condição de 35 °C e 75 % de UR, não houveram alterações significativas quanto aos teores de CFT e TT nos pós obtidos por atomização e liofilização com a utilização de PEC-CH (Figuras 8A e 9A), assim como no pó com PD-GGPH atomizado (Figuras 8C e 9C), sendo que este último também manteve a estabilidade para a condição de 55 °C e 75 % de UR.

Para todos os demais tratamentos houveram aumentos significativos nos teores de compostos fenólicos totais e taninos totais durante o período de armazenamento. Nos pós constituídos com PEC-CH (atomizado e liofilizado) nas condições de 55 °C e 90 % foram evidenciadas as maiores recuperações dos compostos, com 70,7 e 101,9 % para CFT e 81,0 e 116,0 % para TT, atomizados e liofilizados, respectivamente.

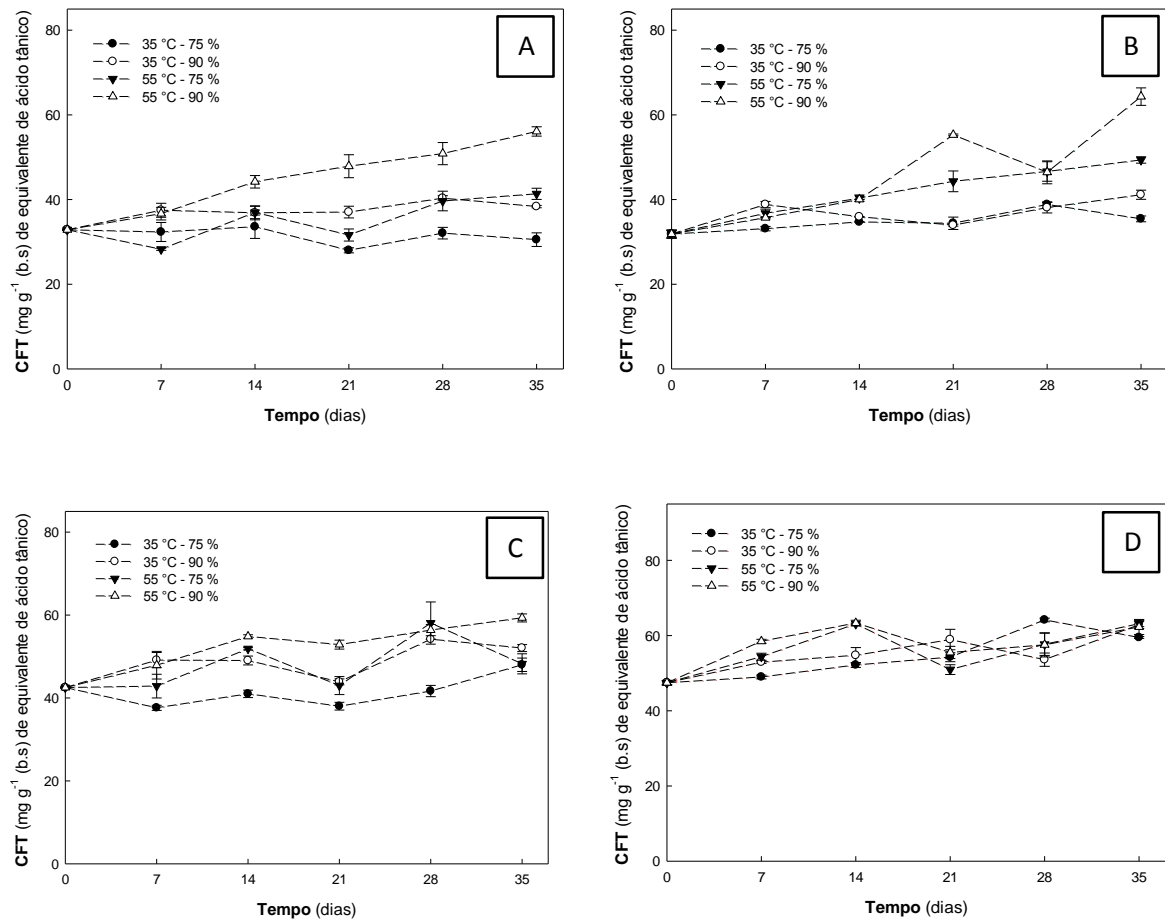


Figura 8 – Efeito da temperatura e umidade relativa nos teores de compostos fenólicos totais (CFT) do extrato de brácteas de *Araucaria angustifolia* encapsulado com pectina (PEC) - colágeno hidrolisado (CH) e polidextrose (PD) - goma guar parcialmente hidrolisada (GGPH) por atomização e liofilização. (A, B: PEC-CH, atomizado e liofilizado; C, D: PD-GGPH, atomizado e liofilizado).

Este aumento nos teores, pode estar associado a hidrólise de compostos fenólicos conjugados que pode ocorrer durante o tempo de armazenagem (Robert et al., 2010; Tsali et al., 2018), e a polimerização devido as temperaturas empregadas (Kuck et al., 2017). Outro fator que deve ser considerado, é a possível formação de melanoidinas, compostos escuros de baixo peso molecular formados pelas reações de *Maillard*, que podem ser induzidas pela temperatura, contribuindo para o aumento da capacidade redutora da amostra, resultando em uma superestimação dos composto fenólicos através do método de *Folin-Ciocalteu* (Abrahão et al., 2019).

Diferentes estudos demonstraram resultados similares aos encontrados, havendo durante o armazenamento aumento dos teores de compostos fenólicos totais. Robert et al.

(2010), reportaram aumentos significativos de compostos fenólicos durante os 35 primeiros dias de armazenamento a 60 °C, nos extratos de romã (*Punica granatum*) encapsulados com maltodextrinas e proteína isolada de soja. Saézn et al. (2009) também obtiveram aumento nos teores de compostos fenólicos quando avaliaram extratos provenientes de Figueira da Índia (*Opuntia ficus-indica*) encapsulados com maltodextrinas e inulina, em condições de armazenamento a 60 °C durante 44 dias.

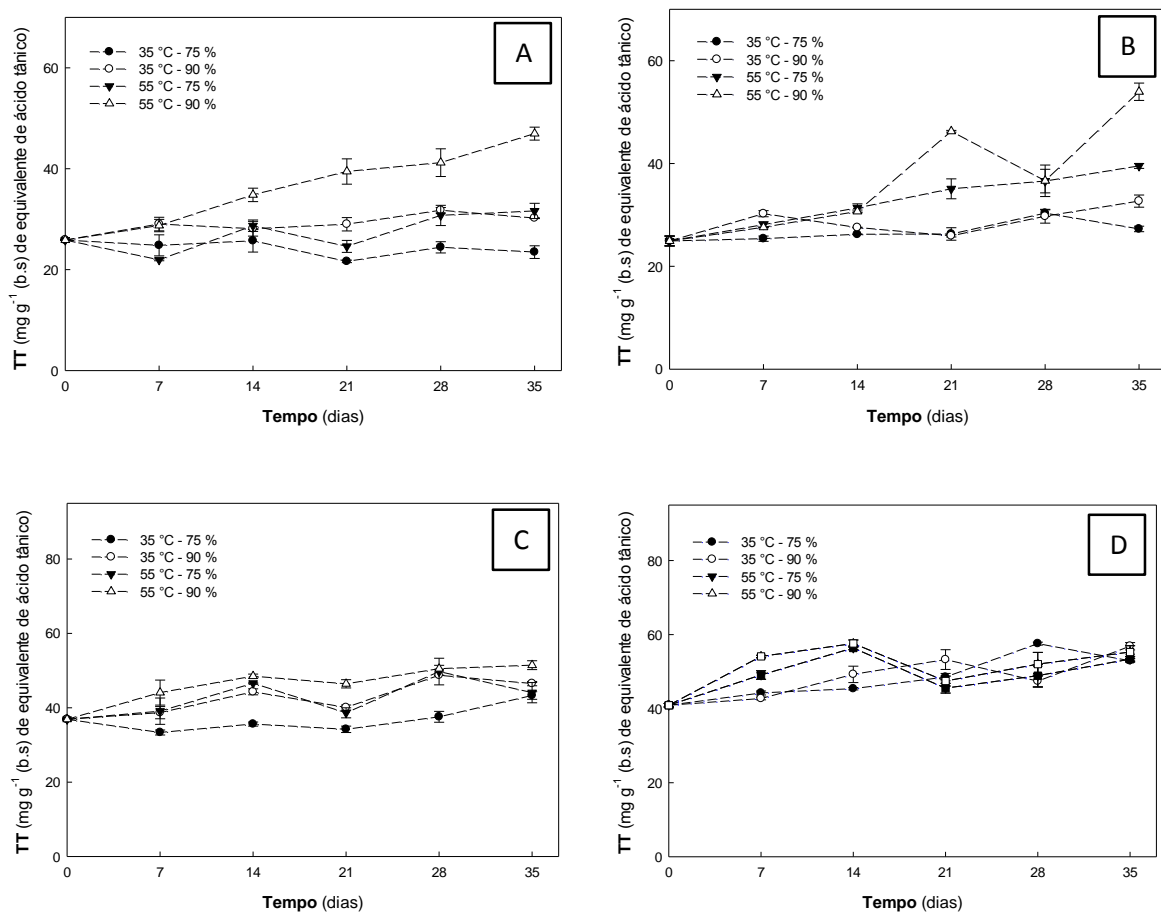


Figura 9 – Efeito da temperatura e umidade relativa nos teores de tanino totais (TT) do extrato de brácteas de *Araucaria angustifolia* encapsulado com pectina (PEC) - colágeno hidrolisado (CH) e polidextrose (PD) - goma guar parcialmente hidrolisada (GGPH) por atomização e liofilização. (A, B: PEC-CH, atomizado e liofilizado; C, D: PD-GGPH, atomizado e liofilizado).

Estudos de estabilidade com armazenamento em temperaturas de refrigeração também obtiveram aumentos de compostos fenólicos totais. Nunes et al. (2015), por exemplo, avaliaram a estabilidade de erva mate (*Ilex paraguariensis*) encapsulada com maltodextrina, por um período de armazenamento de 45 dias a 4 °C, obtendo aumento nos teores. Já no encapsulamento de extrato de groselha preta, Bakowska-Barczaka e Kolodziejczyk (2011)

avaliaram a estabilidade das micropartículas armazenadas a 8 °C por 12 meses e obtiveram aumentos de compostos fenólicos durante os 6 primeiros meses em pós encapsulados por maltodextrinas, e durante os 12 meses para os encapsulados com inulina. Çam et al. (2014), não obtiveram diferenças significativa nos teores de compostos fenólicos nos pós obtidos de extratos de cascas de romã (*Punica granatum* L.) encapsulados com maltodextrinas e armazenados por 90 dias a 4 °C.

Os resultado para a atividade antioxidante por ABTS (Figura 10), indicam que todos os pós tiveram perdas significativas ao final da armazenagem, exceto nos pós de PEC-CH, atomizado e liofilizado (Figuras 10A e 10B), nas condições de 55 °C e 90 % de UR, que apresentaram aumento da atividade antioxidante em 33,0 e 11,0 %, respectivamente. Cabe ressaltar que estes mesmos pós, já haviam apresentado aumento nos teores de CFT e TT, podendo estes resultados, para a atividade antioxidante, serem atribuídos aos novos compostos formados durante as condições aceleradas de armazenamento.

Para o método do DPPH (Figura 11), nas condições de armazenagem a 35 °C e 75 % de UR todos os pós reduziram significativamente a atividade antioxidante. Nesta mesma temperatura, porém na condição de 90 % de UR, os pós com PEC-CH exibiram este mesmo comportamento decrescente, enquanto os pós com PD-GGPH não apresentaram diferenças significativas durante o período de estocagem. Com relação a 55 °C e 75 % de UR, os pós também não apresentaram diferenças significativas ao término dos 35 dias, enquanto que a 90 % de UR em todos os pós houve um aumento nos teores de atividade antioxidante, sendo que o maior valor foi exibido pelo pó atomizado com PEC-CH com aumento de 51 % em relação a atividade antioxidante inicial.

De forma geral, a redução da atividade antioxidante está relacionada com a degradação dos compostos fenólicos (Kuck et al., 2017). Em contrapartida, atividades antioxidantes com o comportamento crescente, podem estar associadas aos compostos fenólicos que poderiam estar sendo formados em decorrência das hidrólises e polimerizações durante a armazenagem, e que apresentem atividades antioxidantes compensatórias (Moser et al., 2017).

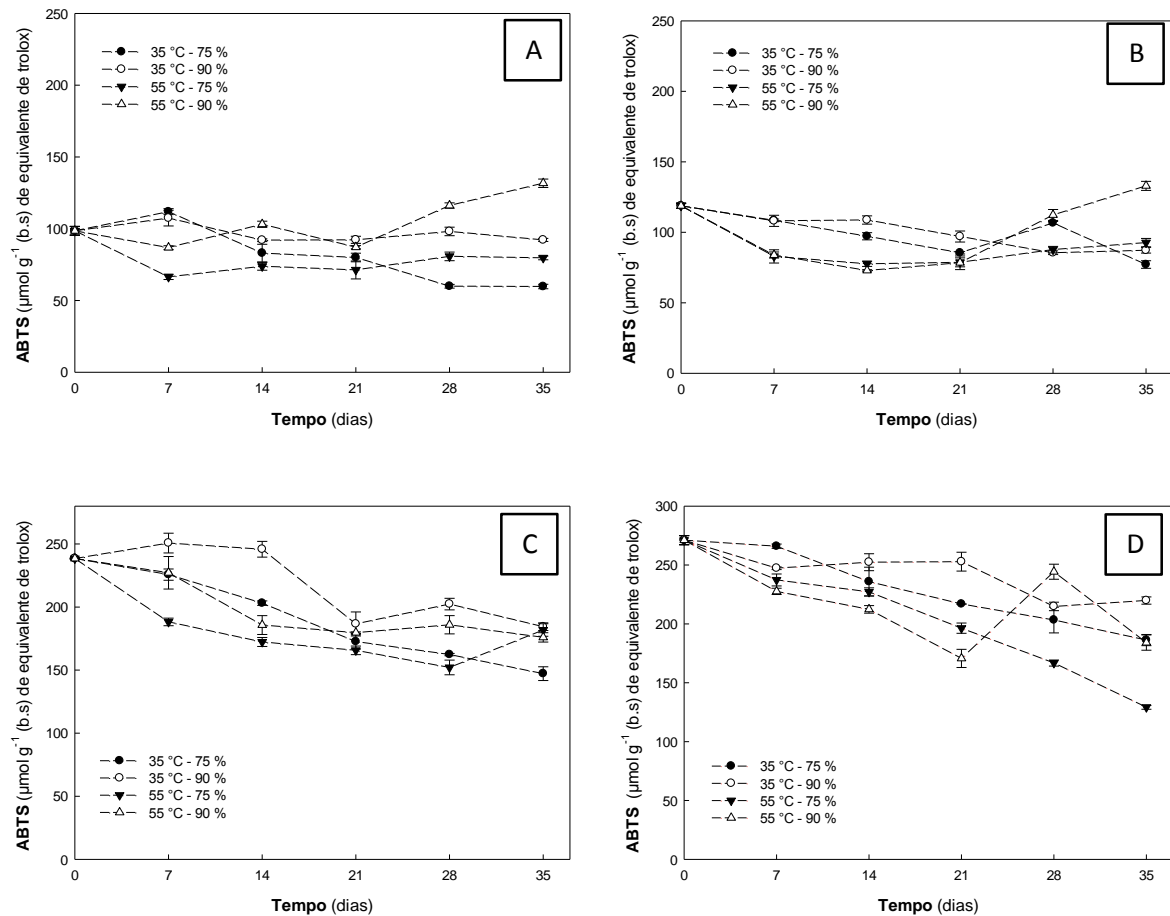


Figura 10 – Efeito da temperatura e umidade relativa na atividade antioxidante (ABTS) do extrato de brácteas de *Araucaria angustifolia* encapsulado com pectina (PEC) - colágeno hidrolisado (CH) e polidextrose (PD) - goma guar parcialmente hidrolisada (GGPH) por atomização e liofilização. (A, B: PEC-CH, atomizado e liofilizado; C, D: PD-GGPH, atomizado e liofilizado).

Porém, como os resultados obtidos para os CFT (Figura 7) e TT (Figura 8) não apresentaram reduções em seus teores, pelo contrário, em alguns casos houve aumento dos níveis, a perda da atividade antioxidante apresentada por alguns pós em algumas condições de armazenagem, pode estar relacionada com a formação de novos compostos fenólicos que não apresentam a mesma atividade antioxidante daquelas moléculas que outrora sofreram hidrólise ou polimerização durante a estocagem (Kuck et al., 2017).

Corroborando com os resultados encontrados neste estudo, Flores et al. (2014) observaram que após o armazenamento em temperaturas de 22, 37 e 45 °C, a concentração total de fenólicos de extrato de mirtilo encapsulado, aumentou aproximadamente duas vezes em todas as condições propostas, enquanto a capacidade antioxidante aumentou ligeiramente, indicando com isso, que não houve um aumento na mesma proporção entre o CFT e a atividade

antioxidante, podendo este fato ser relacionado com a formação de novos compostos fenólicos com capacidade antioxidante reduzida quando comparada com os compostos presentes no início do armazenamento.

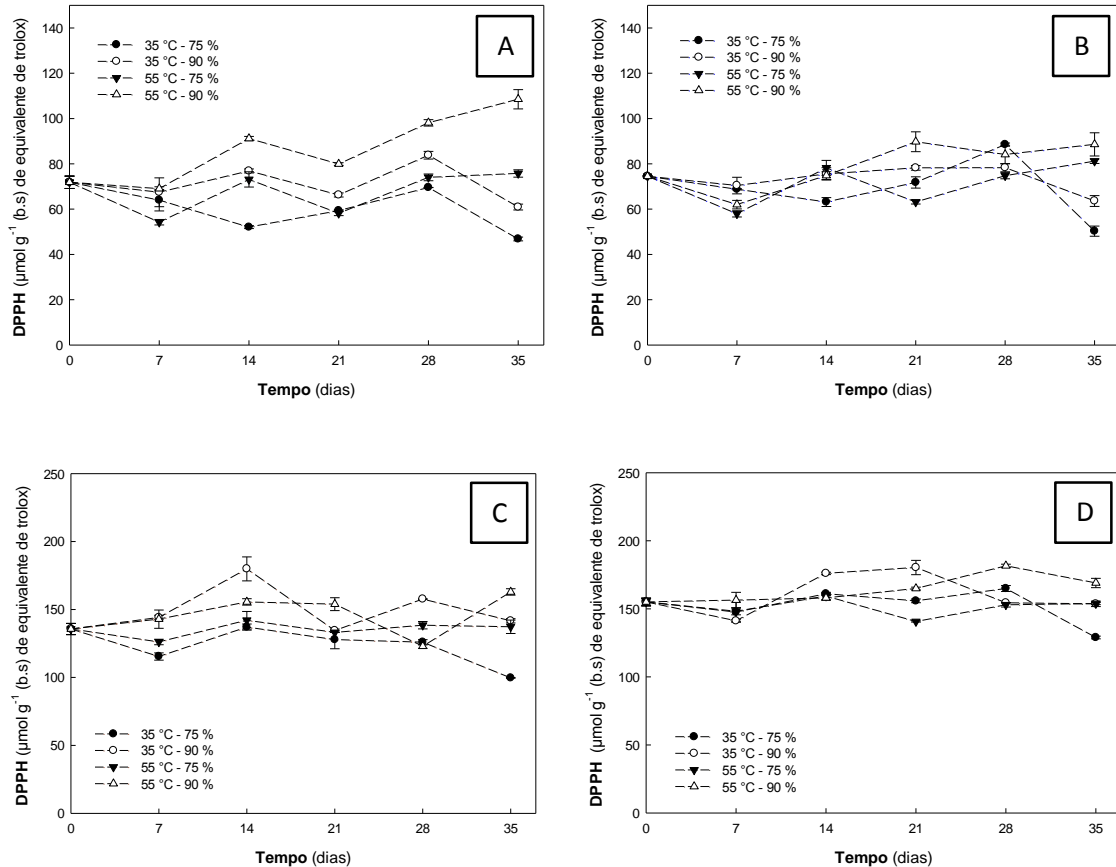


Figura 11 – Efeito da temperatura e umidade relativa na atividade antioxidante (DPPH) do extrato de brácteas de *Araucaria angustifolia* encapsulado com pectina (PEC) - colágeno hidrolisado (CH) e polidextrose (PD) - goma guar parcialmente hidrolisada (GGPH) por atomização e liofilização. (A, B: PEC-CH, atomizado e liofilizado; C, D: PD-GGPH, atomizado e liofilizado)

4 Conclusão

A utilização de pectina, colágeno hidrolisado, polidextrose e goma guar parcialmente hidrolisada, como materiais encapsulantes, através das técnicas de atomização e liofilização, mostraram-se como alternativas no encapsulamento do extrato de brácteas de *Araucaria angustifolia*, pois os pós obtidos apresentam boas retenções de compostos fenólicos e atividade antioxidante. Entretanto, os pós atomizados e liofilizados com polidextrose e goma guar parcialmente hidrolisada como materiais de parede, foram os que apresentaram os maiores teores de compostos fenólicos totais, taninos totais, taninos condensados e atividade antioxidante por ABTS e DPPH.

Quanto às características físico-químicas todos os pós obtidos apresentaram baixa atividade de água e umidade, enquanto altos valores foram encontrados para a higroscopicidade em todos os pós, indicando, a capacidade dos mesmos adsorverem umidade do ambiente, podendo este fato estar relacionado com a constituição polimérica da pectina, goma guar parcialmente hidrolisada e polidextrose. Os maiores valores de solubilidade foram encontrados nos pós constituídos de polidextrose e goma guar parcialmente hidrolisada. As análises de FTIR, indicaram que o encapsulamento aconteceu em todas as amostras por interações físicas e a análise termogravimétrica indicou que os pós constituídos de PEC-CH apresentam maior estabilidade térmica. A avaliação do armazenamento em condições aceleradas indicou que nos pós não ocorreram perdas de compostos fenólicos e taninos totais durante a estocagem, havendo, em algumas condições o aumento destes teores em relação à concentração inicial.

Desta forma, com os resultados obtidos, considera-se que o extrato obtido das brácteas encapsulados são fontes de compostos bioativos que podem ser incorporados em formulações alimentícias.

REFERÊNCIAS

ABRAHÃO, F. R.; ROCHA, L. C. R.; SANTOS, T. A.; CARMO, E. L. DO; PEREIRA, L. A. S.; BORGES, S. V.; PEREIRA, R. G. F. A.; BOTREL, D. A. Microencapsulation of bioactive compounds from espresso spent coffee by spray drying. **LWT - Food Science and Technology**, v. 103, p. 116-124, 2019.

ANANDHARAMAKRISHNAN, C.; ISHWARYA, S. P. Spray drying techniques for food ingredient encapsulation. Wiley-Blackwell, 2015.

ANANTHARAJU, P. G.; GOWDA, P. C.; VIMALAMBIKE, M. G.; MADHUNAPANTULA, S. V. An overview on the role of dietary phenolics for the treatment of cancers. **Nutrition Journal**, v. 15, n. 99, p. 1-16, 2016.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). **Official methods of analysis of AOAC International**. 19th ed. Gaithersburg, MD: AOAC, 2012. 2v

AZEVEDO, V. M.; SILVA, E. K.; PEREIRA, C. F. G.; COSTA, J. M. G. DA; BORGES, S. V. Whey protein isolate biodegradable films: Influence of the citric acid and montmorillonite clay nanoparticles on the physical properties. **Food Hydrocolloids**, v. 43, p. 252-258, 2015.

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

BALLESTEROS, L. F., RAMIREZ, M. J., ORREGO, C. E., TEIXEIRA, J. A., MUSSATTO, S. I. Encapsulation of antioxidant phenolic compounds extracted from spent coffee grounds by freeze-drying and spray-drying using different coating materials. **Food Chemistry**, v. 237, p. 623-631, 2017.

BAM, P.; BHATTA, A.; KRISHNAMOORTHY, G. Design of biostable scaffold based on collagen crosslinked by dialdehyde chitosan with presence of gallic acid. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 130, p. 836-844, 2019.

BARBA, F. J.; ZHU, Z.; KOUBAA, M.; SANT'ANA, A. S.; ORLIEN, V. Green alternative methods for the extraction of antioxidant bioactive compounds from winery wastes and by-products: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 49, p. 96-109, 2016.

BITTENCOURT J. V. M. *Araucaria angustifolia* - its geography and ecology. **Geography**, p. 1-15, 2007.

BOSIO, V. E.; BASU, S.; ABDULLHA, F.; VILLALBA, M. E. C.; GÜIDA, J. A.; MUKHERJEE, A.; CASTRO, G. R. Encapsulation of Congo Red in carboxymethyl guar gum–alginate gel Microspheres. **Reactive & Functional Polymers**, v. 82, p. 103-110, 2014.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. L. W. T. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.

BRASIL, J. L.; EV, R. R.; MILCHAREK, C. D.; MARTINS, L. C.; PAVAN, F. A.; SANTOS JUNIOR, A. A.; DIAS, S. L. P.; DUPONT, J.; NOREÑA, C. P. Z.; LIMA, E. C. Statistical design of experiments as a tool for optimizing the batch conditions to Cr(VI) biosorption on *Araucaria angustifolia* wastes. **Journal of Hazardous Materials**, v. 133, p. 143-153, 2006.

ÇAM, M.; İÇYER, N. C.; ERDOĞAN, F. Pomegranate peel phenolics: Microencapsulation, storage stability and potential ingredient for functional food development. **LWT - Food Science and Technology**, v. 55, p. 117-123, 2014.

CANO-CHAUCA, M.; STRINGHETA, P. C.; RAMOS, A. M.; CAL-VIDAL, J. Effect of the carriers on the microstructure of mango powder obtained by spray drying and its functional characterization. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 6, p. 420-428, 2005.

CANO-HIGUITA, D. M.; MALACRIDA, C. R.; TELIS, V. R. N. Stability of curcumin microencapsulated by spray and freeze drying in binary and ternary matrices of maltodextrin, gum arabic and modified starch. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 39, p. 2049-2060, 2015.

CHAN, C.; YUSOFF, R.; NGOH, G. Modeling and kinetics study of conventional and assisted batch solvent extraction. **Chemical Engineering Research and Design**, v. 92, p. 1169-1186, 2014.

CHEMAT, F.; HUMA, Z.; KHAN, M. K. Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 18, p. 813-835, 2011.

CIE - Commission Internationale de l'Eclairage. *CIE 15.3:2004*; 2004.

CORDENUNSI, B. R., MENEZES, E. W, GENOVESE, M. I., COLLI, C., SOUZA, A. G.; LAJOLO, F. M. Chemical composition and glycemic index of Brazilian Pine (*Araucaria angustifolia*) seeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 3412-3416, 2004.

DENIS, A.; BRAMBATI, N.; DESSAUVAGES, B.; GUEDJ, S.; RIDOUX, C.; MEFFRE, N.; AUTIER C. Molecular weight determination of hydrolyzed collagens. **Food Hydrocolloids**, v. 22, p. 989-994, 2008.

DIAS, D. R.; BOTREL, D. A.; FERNANDES, R. V. B.; BORGES, S. V. Encapsulation as a tool for bioprocessing of functional foods. **Current Opinion in Food Science**, v. 13, p. 31-37, 2017.

DO CARMO, S. N.; MERIB, J.; DIAS, A. N.; STOLBERG, J.; BUDZIAK, D.; CARASEK, E. A low-cost biosorbent-based coating for the highly sensitivedetermination of organochlorine pesticides by solid-phase microextraction and gas chromatography-electron capture detection. **Journal of Chromatography A**, v. 1525, p. 23-31, 2017.

DODI, G.; HRITCU, D.; POPA, M. I. Carboxymethylation of guar gum: synthesis and characterization. **Cellulose Chemistry and Technology**, v. 45, p. 171-176, 2011.

DUAN, L.; YUAN, J.; YANG, X.; CHENG, X.; LI, J. Interaction study of collagen and sericin in blending solution. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 93, p. 468-475, 2016.

EDRIS, A. E; KALEMBA, D; ADAMIEC, J.; PIATKOWSKI, M. Microencapsulation of *Nigella sativa* oleoresin by spray drying for food and nutraceutical applications. **Food Chemistry**, v. 204, p. 326-333, 2016.

ESPINOSA-ANDREWS, H.; SANDOVAL-CASTILLA, O.; VÁZQUEZ-TORRES, H.; VERNON-CARTER, E. J.; LOBATO-CALLEROS, C. Determination of the gum Arabic–chitosan interactions by Fourier Transform Infrared Spectroscopy and characterization of the microstructure and rheological features of their coacervates. **Carbohydrate Polymers**, v. 79, p. 541-546, 2010.

FÄLDT, P.; BERGENSTÅHL, B. The surface composition of spray-dried protein-lactose powders **Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 90, p. 183-190, 1994.

FANG, Z.; BHANDARI, B. Encapsulation of polyphenols – a review. **Tends in Food Science & Technology**, v. 21, n. 10, p. 510-523, 2010.

FAZAEI, M.; EMAM-DJOMEH, Z.; ASHTARI, A. K.; OMID M. Effect of spray drying conditions and feed composition on the physical properties of black mulberry juice powder. **Food and Bioproducts Processing**, v. 90, p. 667-675, 2012.

FITZSIMONS, S. M.; MULVIHILL, D. M.; MORRIS, E. R. Large enhancements in thermogelation of whey protein isolate by incorporation of very low concentrations of guar gum. **Food Hydrocolloids**, v. 22, n. 4, p. 576-586, 2008.

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

GARCIA-CRUZ, E. E.; RODRIGUEZ-RAMIREZ, J.; MENDEZ LAGUNAS, L. L.; MEDINA-TORRES, L. Rheological and physical properties of spray-dried mucilage obtained from *Hylocereus undatus* cladodes. **Carbohydrate Polymers**, v. 91, p. 394-402, 2013.

GHARSALLAOUI, A.; ROUDAUT, G.; CHAMBIN, O.; VOILLEY, A.; SAUREL, R. Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. **Food Research International**, v. 40, p. 1107-1121, 2007.

GÓMEZ, B.; GULLÓN, B.; YÁÑEZ, R.; SCHOLS, H.; ALONSO J. L. Prebiotic potential of pectins and pectic oligosaccharides derived from lemon peel wastes and sugar beet pulp: A comparative evaluation. **Journal of Functional Foods**, v. 20, p. 108-121, 2016.

HAMDANI, A. M.; WANI, I. A. Guar and Locust bean gum: Composition, total phenolic content, antioxidant and antinutritional characterization. **Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre**, v. 11, p. 53-59, 2017.

HUR, S. J.; KIM, Y. C.; CHOI, I.; LEE, S. K. The effects of biopolymer encapsulation on total lipids and cholesterol in egg yolk during in vitro human digestion. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 14, n. 8, p. 16333-16347, 2013.

JANSEN-ALVES, C.; MAIA, D. S.V.; KRUMREICH, F. D.; CRIZEL-CARDOSO, M. M.; FIORAVANTE, J. B.; SILVA, W. P. DA; BORGES, C. D.; ZAMBIAZI, R. C. Propolis microparticles produced with pea protein: Characterization and evaluation of antioxidant and antimicrobial activities. **Food Hydrocolloids**, v. 87, p. 703-711, 2019.

JIE, Z.; BANG-YAO, L., MING-JIE, X.; HAI-WEI, L.; ZU-KANG, Z.; TING-SONG, W.; CRAIG, S. A. Studies on the effects on the povidone intake on physiologic functions on Chinese people. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 72, n. 6, p. 1503-1509, 2000.

KOEHNLEIN, E. A.; CARVAJAL, A. E. S.; KOEHNLEIN, E. M.; COELHO-MOREIRA, J. S.; INÁCIO, F. D.; CASTOLDI, R.; BRACHT, A.; PERALTA, R. M. Antioxidant Activities and Phenolic Compounds of Raw and Cooked Brazilian Pinhao (*Araucaria angustifolia*) Seeds. **African Journal of Food Science**, v. 6, n. 21, p. 512-518, 2012.

KOOCHKEI, A.; MORTAZAVI, S. A.; SHAHIDI, F.; RAZAVI, S. M. A.; TAHERIAN, A. R. Rheological properties of mucilage extracted from *Alyssum homolocarpum* seed as a new source of thickening agent. **Journal of Food Engineering**, v. 91, p. 490-496, 2009.

KOZLOWSKA, J.; KACZMARKIEWICZ, A. Collagen matrices containing poly(vinyl alcohol) microcapsules with retinyl palmitate – Structure, stability, mechanical and swelling properties. **Polymer Degradation and Stability**, v. 161, p. 108-113, 2019.

KUCK, L. S.; WESOŁOWSKI, J. L.; NOREÑA, C. P. Z. Effect of temperature and relative humidity on stability following simulated gastro-intestinal digestion of microcapsules of Bordo grape skin phenolic extract produced with different carrier agents. **Food Chemistry**, v. 230, p. 257-264, 2017.

KUCK, L. S.; NOREÑA, C. P. Z. Microencapsulation of grape (*Vitis labrusca* var. Bordo) skin phenolic extract using gum Arabic, polydextrose, and partially hydrolyzed guar gum as encapsulating agents. **Food Chemistry**, v. 194, p. 569-576, 2016.

LABUSCHAGNE, P. Impact of wall material physicochemical characteristics on the stability of encapsulated phytochemicals: A review. **Food Research International**, v. 107, p. 227-247, 2018.

LI, M.; HAN, M.; SUN, Y.; HUA, Y.; CHEN, G.; ZHANG, L. Oligoarginine mediated collagen/chitosan gel composite for cutaneous wound healing. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 122, p. 1120-1127, 2019a.

LI, X.; FENG, Y.; TING, S.; JIANG, J.; LIU, Y. Correlating emulsion properties to microencapsulation efficacy and nutrients retention in mixed proteins system. **Food Research International**, v. 115, p. 44-53, 2019b.

LI, Y.; YI, P.; WANG, N.; LIU, J.; LIU, X.; YAN, Q.; JIANG, Z. High level expression of β -mannanase (*RmMan5A*) in *Pichia pastoris* for partially hydrolyzed guar gum production. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 105, p. 1171-1179, 2017.

MACIEL, V. B. V.; YOSHIDA, C. M. P.; FRANCO, T. T. Chitosan/pectin polyelectrolyte complex as a pH indicator. **Carbohydrate Polymers**, v. 132, p. 537-545, 2015.

MAHDAVI, S. A.; JAFARI, S. M.; ASSADPOOR, E.; DEHNAD, D. Microencapsulation optimization of natural anthocyanins with maltodextrin, gum Arabic and gelatin. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 85, p. 379-385, 2016.

MAKKAR, H.P.S. Quantification of Tannins in Tree and Shrub Foliage: **A Laboratory Manual**. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, 2003.

MARCOTTE, M.; TAHERIAN, A. R.; TRIGUI, M.; RAMASWAMY, H. S.; Evaluation of rheological properties of selected salt enriched food hydrocolloids. **Journal of Food Engineering**, v. 48, p. 157-167, 2001.

MARTÍNEZ-NAVARRETE, N.; SALVADOR, A.; OLIVA, C.; CAMACHO, M. M. Influence of biopolymers and freeze-drying shelf temperature on the quality of a mandarin snack. **LWT - Food Science and Technology**, v. 99, p. 57-61, 2019.

MEDINA-TORRES, L.; FUENTE, E. B.-D. L.; TORRESTIANA-SANCHEZ, B.; KATTHAIN, R. Rheological properties of the mucilage gum (*Opuntia ficus indica*). **Food Hydrocolloids**, v. 14, p. 417-424, 2000.

MENG, D.; ZHANG, P.; ZHANG, L.; WANG, H.; HO, C.; LI, S.; SHAHIDI, F.; ZHAO, H. Detection of cellular redox reactions and antioxidant activity assays. **Journal of Functional Foods**, v. 37, p. 467-479, 2017.

MICHELON, F.; BRANCO, C. S.; CALLONI, C.; GIAZZON, I.; AGOSTINI, F.; SPADA, P. K. W.; SALVADOR, M. *Araucaria angustifolia*: A potential nutraceutical with antioxidant and antimutagenic activities. **Current Nutrition & Food Science**, v. 8, p. 155-159, 2012.

MOHAMMADI, M. A.; RAMAZANI, S.; ROSTAMI, M.; RAEISI, M.; TABIBIAZAR, M.; GHORBANI, M. Fabrication of food-grade nanofibers of whey protein Isolate–Guar gum using the electrospinning method. **Food Hydrocolloids**, v. 90, p. 99-104, 2019.

MOHAMMADZADEH, H.; KOOCHEKI, A.; KADKHODAEI, R.; RAZAVI, S. M. A. Physical and flow properties of D-limonene-in-water emulsions stabilized with whey protein concentrate and wild sage (*Salvia macrosiphon*) seed gum. **Food Research International**, v. 53, p. 312-318, 2013.

MOSER, P.; TELIS, V. R. N.; NEVES, N. DE A.; GARCÍA-ROMERO, E.; GÓMEZ-ALONSO, S.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I. Storage stability of phenolic compounds in powdered BRS Violeta grape juice microencapsulated with protein and maltodextrin blends. **Food Chemistry**, v. 214, p. 308-318, 2017.

MUDGIL, D.; BARAK, S.; KHATKAR, B.S. X-ray diffraction, IR spectroscopy and thermal characterization of partially hydrolyzed guar gum. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 50, p. 1035-1039, 2012.

NAYAK, B. R.; SINGH, R. P. Synthesis and characterization of grafted hydroxypropyl guar gum by ceric ion induced initiation. **European Polymer Journal**, v. 37, n. 8, p. 1655-1666, 2001.

NAZZARO, F.; FRATIANNI, F.; ORLANDO, P.; COPPOLA, R. Biochemical Traits, Survival and Biological Properties of the Probiotic *Lactobacillus plantarum* Grown in the Presence of Prebiotic Inulin and Pectin as Energy Source. **Pharmaceuticals**, v. 5, n. 5, p. 481-492, 2012.

NIDHINA, N.; MUTHUKUMAR, S. P. Antinutritional factors and functionality of protein-rich fractions of industrial guar meal as affected by heat processing. **Food Chemistry**, v. 173, p. 920-926, 2015.

NUNES, G. L.; BOAVENTURA, B. C. B.; PINTO, S. S.; VERRUCK, S.; MURAKAMI, F. S.; PRUDÊNCIO, E. S.; AMBONI, R. D. de M. C. Microencapsulation of freeze concentrated *Ilex paraguariensis* extract by spray drying. **Journal of Food Engineering**, v. 151, p. 60-68, 2015.

OBÓN, J. M.; CASTELLAR, M. R.; ALACID, M.; FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J. A. Production of a red-purple food colorant from *Opuntia stricta* fruits by spray drying and its application in food model systems. **Journal of Food Engineering**, v. 90, p. 471-479, 2009.

OKUBO, T.; ISHIHARA, N.; TAKAHASHI, H.; FUJISAWA, T.; KIM, M.; YAMAMOTO, T.; MITSUOKA, T. Effects of partially hydrolyzed guar gum intake on human intestinal microflora and its metabolism. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 58, n. 8, p.1364-1369, 1994.

OKURO, P. K.; THOMAZINI, M.; BALIEIRO, J. C. C.; LIBERAL, R. D. C. O.; FÁVARO-TRINDADE, C. S. Co- encapsulation of *Lactobacillus acidophilus* with inulin or polydextrose in solid lipid microparticles provides protection and improves stability. **Food Research International**, v. 53, p. 96-103, 2013.

OZKAN, G.; FRANCO, P.; DE MARCOB I., XIAO, J.; CAPANOGLU, E. A review of microencapsulation methods for food antioxidants: Principles, advantages, drawbacks and applications. **Food Chemistry**, v. 272, p. 494-506, 2019.

PAINI, M.; ALIAKBARIAN, B.; CASAZZA, A. A.; LAGAZZO, A.; BOTTER, R.; PEREGO, P. Microencapsulation of phenolic compounds from olive pomace using spray drying: A study of operative parameters. **LWT - Food Science and Technology**, v. 62, p. 177-186, 2015.

PERUMAL, R. K.; PERUMAL, S.; THANGAM, R.; GOPINATH, A.; RAMADASS, S. K.; MADHAN, B.; SIVASUBRAMANIAN, S. Collagen-fucoidan blend film with the potential to induce fibroblast proliferation for regenerative applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 106, p. 1032-1040, 2018.

PINILLA, C. M. B.; NOREÑA, C. P. Z.; BRANDELLI, A. Development and characterization of phosphatidylcholine nanovesicles, containing garlic extract, with antilisterial activity in milk. **Food Chemistry**, v. 220, p. 470-476, 2017.

PINILLA, C. M. B., THYS, R. C. S.; BRANDELLI, A. Antifungal properties of phosphatidylcholine-oleic acid liposomes encapsulating garlic against environmental fungal in wheat bread. **International Journal of Food Microbiology**, v. 293, p. 72-78, 2019.

PIOVESANA, A., NOREÑA, C. P. Z. Microencapsulation of Bioactive Compounds from Hibiscus Calyces Using Different Encapsulating Materials. **International Journal of Food Engineering**, v. 14, n. 1, p. 1-9, 2018.

QUEK, M. C.; CHIN, N. L.; YUSOF, Y. A. Modelling of rheological behaviour of soursop juice concentrates using shear rate-temperature-concentration superposition. **Journal of Food Engineering**, v. 118, p. 380-386, 2013.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 26, n. 9/10, p. 1231-1237, 1999.

REID, D. G.; BONNET, S. L.; KEMP, G.; WESTHUIZEN, J. H. V. Analysis of commercial proanthocyanidins. Part 4: Solid state ¹³C NMR as a tool for *in situ* analysis of proanthocyanidin tannins, in heartwood and bark of quebracho and acacia, and related species. **Phytochemistry**, v. 94, p. 243-248, 2013.

- REZENDE, Y. R. R. S.; NOGUEIRA, J. P.; NARAIN, N. Microencapsulation of extracts of bioactive compounds obtained from acerola (*Malpighia emarginata* DC) pulp and residue by spray and freeze. **Food Chemistry**, v. 254, p. 281-291, 2018.
- ROBERT, P.; GORENA, T.; ROMERO, N.; SEPULVEDA, E.; CHAVEZ, J.; SAENZ, C.; Encapsulation of polyphenols and anthocyanins from pomegranate (*Punica granatum*) by spray drying. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 45, p. 1386-1394, 2010.
- ROCHA, G. A.; FÁVARO-TRINDADE, C. S.; GROSSO, C. R. F. Microencapsulation of lycopene by spray drying: Characterization, stability and application of microcapsules. **Food and Bioproducts Processing**, v. 90, p. 37-42, 2012.
- ROCHA, J. DE C. G.; BARROS, F. A. R. DE; PERRONE, Í. T.; VIANA, K. W. C. TAVARES, G. M.; STEPHANI, R.; STRINGHETA, P. C. Microencapsulation by atomization of the mixture of phenolic extracts. **Powder Technology**, v. 343, p. 317-325, 2019.
- ROCHA-PARRA, D. F.; LANARI, M. C.; ZAMORA, M. C.; CHIRIFE, J. "Influence of storage conditions on phenolic compounds stability, antioxidant capacity and colour of freeze-dried encapsulated red wine". **LWT - Food Science and Technology**, v. 70, p. 162-170, 2016.
- ROSSI, M. C.; BASSETT, M. N.; SAMMÁN, N. C. Dietary nutritional profile and phenolic compounds consumption in school children of highlands of Argentine Northwest. **Food Chemistry**, v. 238, p. 111-116, 2018.
- SAÉNZ, C.; TAPIA, S.; CHÁVEZ, J.; ROBERT, P. Microencapsulation by spray drying of bioactive compounds from cactus pear (*Opuntia ficus-indica*). **Food Chemistry**, v. 114, p. 616-622, 2009.
- SAIKIA, S.; MAHNOT, N. K.; MAHANTA, C. L. Optimisation of phenolic extraction from *Averrhoa carambola* pomace by response surface methodology and its microencapsulation by spray and freeze drying. **Food Chemistry**, v. 171, p. 144-152, 2015.
- SARABANDI, K.; MAHOONAK, A. S.; HAMISHEKAR, H.; GHORBANI, M.; JAFARI, S. M. Microencapsulation of casein hydrolysates: Physicochemical, antioxidant and microstructure properties. **Journal of Food Engineering**, v. 237, p. 86-95, 2018.
- SCHUCK, P.; DOLIVET, A.; JEANTET, R. **Analytical methods for food and dairy powders**. West Sussex: Wiley, 2012.
- SILVA, C. V.; MIGUEL, L. A.; REIS, M. S. A comercialização do pinhão de *Araucaria angustifolia* no Distrito de Taquara Verde, município de Caçador-SC. **Revista Brasileira e Agroecologia**, v. 4, n. 2, p. 841-844, 2009.
- SILVA, F.; TORRES, L.; SILVA, L.; FIGUEIREDO, R.; GARRUTI, D.; ARAÚJO, T.; DUARTE, A.; BRITO, D.; RICARDO, N. Cashew gum and maltodextrin particles for green tea (*Camellia sinensis* var *Assamica*) extract encapsulation. **Food Chemistry**, v. 261, p. 169-175, 2018.
- SIN, L. T.; RAHMAN, W. A. W. A.; RAHMAT, A. R.; KHAN, M. I. Detection of synergistic interactions of polyvinyl alcohol-cassava starch blends through DSC. **Carbohydrate Polymers**, v. 79, n. 1, p. 224-226, 2010.
- SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolis with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **Journal of American Chemical Society**, v. 87, p. 1561-1565, 1965.

SLAVIN, J. L.; GREENBER, N. A. Partially hydrolyzed guar gum: clinical nutrition uses. **Nutrition**, v. 19, p. 549-552, 2003.

SLAVUTSKY, A. M.; BERTUZZI, M. A. Formulation and characterization of hydrogel based on pectin and brea gum. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 123, p. 784-791, 2019.

SOUZA, M. O.; BRANCO, C. S.; SENE, J.; DALLAGNOL, R.; AGOSTINI, F.; MOURA, S.; SALVADOR M. Antioxidant and antigenotoxic activities of the brazilian pine *Araucaria angustifolia* (bert.) O. Kuntze. **Antioxidants**, v. 3, n.1, p. 24-37, 2014.

TAVARES, L.; NOREÑA, C. P. Z. Encapsulation of garlic extract using complex coacervation with whey protein isolate and chitosan as wall materials followed by spray drying. **Food Hydrocolloids**, v. 89, p. 360-369, 2019.

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

TONON, R. V.; BRABET, C.; PALLET, D.; BRAT, P.; HUBINGER, M. D. Physicochemical and morphological characterization of açai (*Euterpe oleraceae* Mart.) powder produced with different carrier agents. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 44, p. 1950-1958, 2009.

TSALI, A.; GOULA, A.M. Valorization of grape pomace: Encapsulation and storage stability of its phenolic extract. **Powder Technology**, v. 340, p. 194-207, 2018.

VALENCIA, G. A.; LUCIANO, C. G.; LOURENÇO, R. V.; BITTANTE, A. M. Q. B.; DO AMARAL SOBRAL, P. J. Morphological and physical properties of nano-biocomposite films based on collagen loaded with laponite®. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 19, p. 24-30, 2019.

WANG, H.; SHI, Y.; LE, G. Rapid microwave-assisted synthesis of polydextrose and identification of structure and function. **Carbohydrate Polymers**, v. 113, p. 225-230, 2014.

YAMASHITA, C.; CHUNG, M. M. S.; SANTOS, C. DOS; MAYER, C. R. M.; MORAES, I. C. F.; BRANCO, I. G. Microencapsulation of an anthocyanin-rich blackberry (*Rubus* spp.) by-product extract by freeze-drying. **LWT - Food Science and Technology**, v. 84, p. 256-262, 2017.

YANG, H.; DUAN, L.; LI, Q.; TIAN, Z.; LI, G. Experimental and modeling investigation on the rheological behavior of collagen solution as a function of acetic acid concentration. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, v. 77, p. 125-134, 2018.

CAPÍTULO 4

DISCUSSÃO GERAL

O presente estudo teve como objetivo a extração de compostos bioativos de brácteas de *Araucaria angustifolia* através das extrações assistidas por micro-ondas (EAM) e ultrassom (EAU) e o posterior encapsulamento do extrato obtido pelo tratamento que resultou no maior rendimento para a extração dos compostos. Os resultados encontrados foram apresentados na forma de dois artigos científicos. Desta forma, a primeira parte do estudo, correspondente ao artigo 1 (Capítulo 2), foi baseada na avaliação da EAM e EAU e com a obtenção da melhor condição de extração, passou-se a segunda parte, artigo 2 (Capítulo 3), que consistiu no encapsulamento do extrato através das técnicas de atomização e liofilização com a utilização de pectina, colágeno hidrolisado, povidexose e goma guar parcialmente hidrolisada como materiais de parede.

No capítulo 2, uma suspensão aquosa constituída de brácteas e água 1:20 (m/m) foi submetida às extrações assistidas. Para cada método foram avaliados 2 fatores (potência e tempo) com 3 níveis cada. Na EAM foram utilizada as potências de 700, 800 e 1000 W, com tempos de 10, 15 e 20 min., enquanto que para a EAU foram estabelecidas as potências de 250, 350 e 450 W e tempos de 10, 15 e 20 min. Uma extração exaustiva com a utilização de uma solução de acetona:água (70:30; v/v) (Makkar et al., 2003) também foi realizada com a finalidade de comparação aos métodos propostos.

A melhor condição de extração para a EAM foi obtida no tratamento de 1000 W de potência por 20 min, que resultou em teores de 47,61 mg g⁻¹ (b.s) EAT, 27,09 mg g⁻¹ (b.s) EAT, 779,95 mg g⁻¹ (b.s) ECAT, 427,28 μmol g⁻¹ (b.s) ET, 467,79 μmol g⁻¹ (b.s) ET, para compostos fenólicos totais, taninos totais, taninos condensados, e atividade antioxidante por ABTS e DPPH, respectivamente. Este resultado está relacionado ao emprego de alta potência das micro-ondas e ao tempo mais longo de exposição, que conseqüentemente levaram a uma rápida elevação da temperatura, resultado das altas taxas de aquecimento, fazendo com que houvesse o aumento da solubilidade e dos coeficientes de difusão dos compostos fenólicos, diminuindo a viscosidade do solvente de extração e desta forma aumentando a dissolução dos compostos no solvente (Dahmoune et al., 2015).

Os tratamentos da EAU apresentaram valores significativamente menores para todas as variáveis de respostas analisadas, quando comparados com a EAM. Martinez-Guerra e Gude (2014) ressaltam que as micro-ondas fornecem taxas de aquecimento maiores que o ultrassom,

o que foi verificado no presente trabalho, visto que as amostras foram previamente refrigeradas antes das extrações para os dois métodos, e ao final de cada processo extrativo, obtiveram-se temperaturas mais baixas nas extrações com o uso de ultrassom. Desta forma, fica em evidência que no caso da EAU, teve importância à temperatura inicial, indicando a necessidade de estudos onde a temperatura inicial da dispersão seja outro fator a ser avaliado.

Quando se fez a comparação do melhor extrato obtido (EAM; 1000 W; 20 min), com o extrato obtido pela extração exaustiva (Tabela 4; capítulo 2), observou-se que não apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$) em relação aos teores de CFT, TT, TC, sendo a atividade antioxidante por DPPH significativamente maior.

Estudos mostram que a EAM oferece como vantagens, o uso de menores quantidades de solventes orgânicos e de tempos de extração (Pan et al., 2008; Hayat et al., 2009; Piñeiro et al., 2017; Hoyos-Martinez et al., 2019). Neste trabalho a utilização de uma suspensão aquosa para a EAM foi efetiva, eliminando o uso de solventes orgânicos. Além disso, houve uma redução em 83 % do tempo de extração, quando comparado à extração exaustiva empregada no estudo.

Apesar das inúmeras vantagens oferecidas pelas EAM para a separação de compostos de matrizes vegetais, a eficiência da extração está relacionada a vários fatores, como potência, tempo, tipo de solvente, relação matéria-prima/solvente, tamanho de partícula da amostra, ciclos de extração, entre outros (Hayat et al., 2009), por isso, poderiam ser desenvolvidos novos estudos que visem o aprimoramento da EAM na obtenção de compostos provenientes das brácteas de araucária.

Com a melhor condição extrativa desenvolvida na primeira parte do estudo (1000 W; 20 min), passou-se a elaboração de pós encapsulados por atomização e liofilização do referido extrato. Para isso utilizou-se misturas de PEC-CH e PD-GGPH, adicionadas ao extrato nas proporções de (0,25:0,75:9; m/m/m) e (0,5:0,5:9; m/m/m), respectivamente. A atomização foi realizada a 160 °C e a liofilização a -57 °C (72 h), obtendo-se quatro tratamentos diferentes, dois atomizados e dois liofilizados.

O estudo reológico das dispersões (Figura 1; Capítulo 3), revelou que ambas dispersões (PEC-CH e PD-GGPH) apresentaram um comportamento não-Newtoniano, com propriedades pseudoplásticas, que indicam que a viscosidade aparente diminui quando aumenta-se a taxa de cisalhamento (Marcotte et al., 2001; Mohammadzadeh et al., 2013). Este comportamento foi confirmado pela aplicação da lei de potência (modelo de Ostwald-de Waele), pois valores de n foram menores a 1, indicando características pseudoplásticas das dispersões (Koocheki et al., 2009; Quek et al., 2013).

Após a obtenção dos pós foram realizadas as análises físico-químicas (Tabela 2; Capítulo 3), sendo que a a_w das amostras apresentaram valores de 0,19 a 0,35, indicando que possuem boa estabilidade, pois com esses valores evita-se o crescimento de microrganismos e as taxas de deterioração química são baixas (Yamashita et al., 2017; Rocha et al., 2019). Os pós possuem teores de umidades recomendáveis para um bom armazenamento, visto que os valores encontrados estão na faixa de 1,52 a 3,48 %. Entretanto, os valores de higroscopicidade dos pós foram altos, de 30,68 a 45,27 %, indicando que durante a estocagem será necessário o uso embalagens que garantam a impermeabilidade ao vapor de água, pois a capacidade desses pós adsorverem a água do ambiente é alta (Rocha et al., 2019) provocando a aglomeração, empedramento e pegajosidade dos pós. A solubilidade foi alta, com valores acima de 84 % em todos os pós obtidos, sendo que os pós constituídos de PD-GGPH foram os que apresentaram valores estatisticamente maiores de 98,00 e 97,69 %, para atomizado e liofilizado, respectivamente, indicando a viabilidade de utilização destes pós em formulações alimentícias.

A análise do rendimento é necessária para avaliar a degradação dos compostos durante o encapsulamento (Paini et al., 2015). Os rendimentos dos pós, quanto a retenção de composto fenólicos, variaram de 60,37 a 89,94 %, apresentando retenções estatisticamente maiores no pó obtido com PD e GGPH por liofilização. Pós liofilizados podem sofrer menos perdas devido a utilização de temperaturas mais amenas e a ausência de oxigênio durante o processo de secagem (Cano-Higuita et al., 2015).

A análise colorimétrica dos pós indicou uma maior luminosidade (L^*), para os tratamentos atomizados, sendo estas amostras mais claras que as demais. Este fator pode estar relacionado ao uso de altas temperaturas na secagem, que podem levar a destruição de alguns pigmentos. Para os parâmetros de a^* e b^* todos os pós apresentaram valores positivos, indicando coloração do vermelho ao amarelo, encontrada no primeiro quadrante do círculo cromático. O ângulo *Hue* confirma a tonalidade próxima ao amarelo, pois os valores encontrados de 66,14 a 77,80° situam-se no primeiro quadrante (0 a 90°). Os pós liofilizados apresentaram valores maiores de *Chroma*, indicando uma maior saturação de cor para estas amostras. Para a diferença de cor (ΔE) dos pós obtidos em relação as brácteas desidratadas e moídas, todos os tratamentos apresentaram diferenças perceptíveis visualmente.

Quando se analisa as características físico-químicas das partículas, em geral, os pós obtidos com polidextrose e goma guar parcialmente hidrolisada apresentaram melhores resultados, principalmente no que diz respeito ao rendimentos de encapsulação e a solubilidade, requisitos necessários para aplicação destes pós em formulações.

Através da análise termogravimétrica (TGA) foi avaliada a perda de massa das amostras em relação ao tempo e da temperatura na faixa de 25 a 800 °C, (Figura 3; Capítulo 3). Na primeira faixa de aquecimento até 220 °C, os pós constituídos de PD-GGPH tiveram taxas de perda de 5 % de peso total, enquanto os pós com PEC-CH perderam cerca de 15 %. Estas perdas, em geral, estão relacionadas à eliminação de umidade residual e compostos voláteis (Paini et al., 2015; Tavares e Noreña, 2019). Entre 220 e 450 °C, começou a ocorrer a decomposição e despolimerização das ramificações dos polissacarídeos (Silva et al., 2018), levando a perdas de peso entre 60 e 70 %. Esta desestruturação dos materiais encapsulantes resulta na exposição e conseqüentemente degradação dos compostos encapsulados. Nesta etapa, os pós PEC-CH apresentaram taxas de perda menos acentuadas, indicando uma maior estabilidade térmica.

A análise de espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) avalia as interações que ocorreram entre o extrato e os materiais de parede utilizados no encapsulamento. Quando se observam os espectros obtidos para os encapsulantes (Figura 5; Capítulo 3) e os espectros do extrato e dos pós (Figura 6; Capítulo 3), percebe-se que os picos presentes isoladamente em cada um dos materiais, também são encontrados nos pós encapsulados, de acordo com a composição de cada, sugerindo que as estruturas moleculares tanto de encapsulantes como do extrato de brácteas não sofreram alterações químicas durante o processo de encapsulamento (Meng et al., 2017). Além disso, não houve a formação de novas bandas, conseqüência da inexistência de reações químicas entre os polímeros e os grupos ativos dos compostos a serem encapsulados, indicando que o encapsulamento foi obtido através de interações físicas (Pinilla et al., 2017; Tavares e Noreña, 2019), possivelmente com a ocorrência das interações intermoleculares de caráter mais fraco, que não causaram a modificação da estrutura química dos produtos obtidos, entre elas as ligações de hidrogênio entre os grupos OH e o oxigênio presente nos polímeros, e/ou as interações de Van der Waals entre as partes apolares das cadeias.

A morfologia das partículas foi analisada por microscopia eletrônica de varredura (MEV) (Figura 7; Capítulo 3). As imagens obtidas, mostraram pós atomizados aparentemente sem fissuras e rachaduras. Formas esféricas regulares foram encontradas nos pós constituídos de PD-GGPH, enquanto que formatos mais irregulares, com presença de rugosidades foram encontrados nos pós com PEC-CH. Essas rugosidades podem ser atribuídas à presença de proteína na constituição da partícula (Fäldt e Bergenståhl, 1994). Como os pós liofilizados foram moídos com o auxílio de grau e pistilo, a forma das partículas foi bastante irregular,

similar a estilhaços de vidro como relatado por Cano-Higueta et al. (2015), Dag et al. (2017) e Ozkan et al. (2019).

A Tabela 4 do Capítulo 3, apresenta as análises de compostos fenólicos totais, taninos totais, taninos condensados e atividade antioxidante por ABTS e DPPH realizadas no extrato das brácteas de *Araucaria angustifolia* e de seus pós encapsulados com PEC-CH e PD-GGPH. Estes dados indicaram que o pó liofilizado constituído por PD-GGPH, apresentou maiores teores de compostos fenólicos totais ($47,44 \text{ mg g}^{-1}$ (b.s.)_{EAT}), taninos totais ($40,91 \text{ mg g}^{-1}$ (b.s.)_{EAT}), taninos condensados ($669,58 \text{ mg g}^{-1}$ (b.s.)_{ECAT}) e atividade antioxidante por ABTS ($267,24 \text{ } \mu\text{mol g}^{-1}$ (b.s.)_{ET}) e DPPH ($157,83 \text{ } \mu\text{mol g}^{-1}$ (b.s.)_{ET}). Uma forte associação entre PD e GGPH acontece pela capacidade de formação de ligações de hidrogênio entre compostos fenólicos e o grupo de hidroxila presentes nestes polímeros foi evidenciada por Kuck et al. (2017).

Os resultados dos efeitos da estabilidade em condições aceleradas de armazenamento durante 35 dias em temperatura de 35 e 55 °C e umidades relativa de 75 e 90 % são mostradas nas Figuras 8 a 11 do Capítulo 3, para os teores de CFT, TT, e atividade antioxidante por ABTS e DPPH, respectivamente.

Para compostos fenólicos totais e taninos totais nenhuma amostra apresentou perdas significativas durante o armazenamento, sendo que para algumas condições os pós encapsulados apresentaram aumento destes compostos no período de estocagem. Os pós encapsulados com PEC-CH foram os que exibiram maiores aumentos em relação aos teores encontrados no início do armazenamento, com 70,7 e 101,9 % para CFT e 81,0 e 116,0 % para TT, atomizados e liofilizados, respectivamente, na condição de 55 °C a 90 % de UR.

Esses aumentos podem estar relacionados com a hidrólise de compostos fenólicos que pode ocorrer durante o armazenamento (Tsali e Goula, 2018), ou com a polimerização, devido as temperaturas empregadas (Kuck et al. 2017). Além disso, a possível formação de melanoidinas, compostos escuros de baixo peso molecular (formados pela reação de *Maillard*) podem superestimar os valores dos compostos fenólicos através do método de *Folin-Ciocalteu* (Abrahão et al., 2019).

Os pós obtidos com PEC-CH nas condições de 55 °C e 90 % foram os únicos, entre todas as amostras, que não sofreram perdas significativas para a atividade antioxidante por ABTS durante a armazenagem em condição acelerada. Inclusive nesta condição, verificou-se aumentos nos teores entre o início e o término da estocagem, de 33 % para o pó atomizado e 11 % para o liofilizado. Estes mesmos pós também apresentaram este comportamento para os teores de CFT e TT, relacionando o aumento de compostos fenólicos com a maior atividade antioxidante (Moser et al., 2017).

Comportamentos diferentes foram encontrados no método do DPPH, que apresentaram perdas significativas da atividade antioxidante para todos os pós nas condições de 35 °C a 75 % de UR. A 90 % de UR nesta mesma temperatura, os pós constituídos de PEC-CH (atomizados e liofilizados) também exibiram perdas, enquanto os pós com PD-GGPH provenientes dos dois métodos de secagem, não apresentaram diferenças significativas durante o período de armazenagem.

Com relação a 55 °C e 75 % de UR, em todas as amostras não houve diferenças significativas quanto a atividade antioxidante por DPPH ao término do período avaliado, enquanto que a 90 % de UR em todos os tratamentos houve um aumento da atividade, sendo que o maior valor foi exibido pelo pó atomizado com PEC-CH com 51 % de aumento em relação a atividade antioxidante inicial.

A redução da atividade antioxidante, em geral, está relacionada à degradação dos compostos fenólicos (Kuck et al., 2017). Entretanto, no presente estudo não houve diminuição dos fenóis em nenhuma condição avaliada, pelo contrário, em alguns casos ocorreu aumentos nos teores de fenólicos. Assim, o que pode ter contribuído com as reduções encontradas para a atividade antioxidante, foi a formação de compostos, que não possuíam a mesma capacidade antioxidante dos compostos que estavam presentes no início da armazenagem.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com os resultados apresentados no presente estudo, evidencia-se que as brácteas de *Araucaria angustifolia* são fontes consideráveis de compostos fenólicos com alta atividade antioxidante, podendo tornar este subproduto da araucária, até então sem valor comercial, em mais uma fonte de renda aos produtores de tal conífera. A extração assistida por micro-ondas empregando água destilada como solvente é uma alternativa a ser empregada na obtenção destes compostos, diminuindo consideravelmente o tempo de processo e o uso de solventes orgânicos.

O encapsulamento dos compostos extraídos das brácteas foi possível pelas técnicas de atomização e liofilização, com o emprego de pectina, colágeno hidrolisado, polidextrose e goma guar parcialmente hidrolisada, como materiais encapsulantes, apresentando boas retenções de compostos fenólicos e atividade antioxidante. Considerando-se as análises realizadas para as partículas, pode-se indicar que os pós obtidos com polidextrose e goma guar parcialmente hidrolisada (atomizado e liofilizado) foram os melhores tratamentos, pois obtiveram maiores retenções do compostos fenólicos totais, taninos e atividade antioxidantes, maiores solubilidades, menores higroscopicidades, além de apresentarem baixas atividade de água e umidade.

PERSPECTIVAS

O presente trabalho apresentou contribuições no campo da ciência e tecnologia de alimentos, com o estudo de um subproduto da *Araucaria angustifolia* que até o momento não possui nenhuma utilidade comercial. Porém, trabalhos futuros podem ser desenvolvidos com o objetivo de promover a otimização de extrações e do encapsulamentos dos compostos obtidos de brácteas. A seguir sugere-se algumas linhas de trabalho que podem ser exploradas:

- Realizar a identificação e quantificação dos compostos presentes nas brácteas através do HPLC-DAD-MS;
- Investigar a utilização de diferentes temperaturas iniciais para a extração assistida por ultrassom;
- Realizar estudos *in vivo* para medir a atividade antioxidante dos extratos e pós obtidos;
- Realizar a aplicação dos pós encapsulados em formulações alimentícias.

REFERÊNCIAS

- ABRAHÃO, F. R.; ROCHA, L. C. R.; SANTOS, T. A.; CARMO, E. L. DO; PEREIRA, L. A. S.; BORGES, S. V.; PEREIRA, R. G. F. A.; BOTREL, D. A. Microencapsulation of bioactive compounds from espresso spent coffee by spray drying. **LWT - Food Science and Technology**, v. 103, p. 116-124, 2019.
- ALENISAN, M. A.; ALQATTAN, H. H.; TOLBAH, L. S.; SHORI, A. B. Antioxidant properties of dairy products fortified with natural additives: A review. **Journal of the Association of Arab Universities for Basic and Applied Sciences**, v. 24, 101-106, 2017.
- ALEXE, P.; DIMA, C. Microencapsulation in food products. **AgroLife Scientific Journal**, v.3, n.1, p. 9-14, 2014.
- ALUPULUI, A.; CĂLINESCU, I.; LAVRIC, V. Microwave extraction of active principles from medicinal plants. **U.P.B.Science Bulletin**, v. 74, p. 129-142, 2012.
- ANANDHARAMAKRISHNAN, C.; ISHWARYA, S. P. Spray drying techniques for food ingredient encapsulation. Wiley-Blackwell, 2015.
- ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. **Revisão do Instituto Adolfo Lutz**, v, 66, n. 1, p. 1-9, 2007.
- ASPÉ, E., FERNÁNDEZ, K. The effect of different extraction techniques on extraction yield, total phenolic, and anti-radical capacity of extracts from *Pinus radiata* Bark. **Industrial Crops and Products**, 34, 838-844, 2011.
- AUGUSTIN, M. A.; HEMAR, Y. Nano- and micro-structured assemblies for encapsulation of food ingredients. **Chemical Society Reviews**, v.38, p. 902-912, 2009.
- AULER, N. M. F.; REIS, M. S.; GUERRA, M. P.; NODARI, R. O. The genetics and conservation of *Araucaria angustifolia*: I. Genetic structure and diversity of natural populations by means of non-adaptive variation in the state of Santa Catarina, Brazil. **Genetics and Molecular Biology**, v. 25, n. 3, p.329-338, 2002.
- AZMIR, J., ZAIDUL, I. S. M., RAHMAN, M. M., SHARIF, K. M., MOHAMED, A., SAHENA, F., JAHURUL, M. A., GHAFOR, K., NORULAINI, N. A. N., OMAR, A. K. M. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: a review. **Journal of Food Engineering**, v. 117, p. 426-36, 2013.
- BALLESTEROS, L. F., RAMIREZ, M. J., ORREGO, C. E., TEIXEIRA, J. A., MUSSATTO, S. I. Encapsulation of antioxidant phenolic compounds extracted from spent coffee grounds by freeze-drying and spray-drying using different coating materials. **Food Chemistry**, v. 237, p. 623-631, 2017.
- BARBA, F. J.; ZHU, Z.; KOUBAA, M.; SANT'ANA, A. S.; ORLIEN, V. Green alternative methods for the extraction of antioxidant bioactive compounds from winery wastes and by-products: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 49, p. 96-109, 2016.

BLADÉ, C., AROLA, L.; SALVADO, M.-J. Hypolipidemic effects of proanthocyanidins and their underlying biochemical and molecular mechanisms. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 54, p. 37-59, 2010.

BOSIO, V. E.; BASU, S.; ABDULLHA, F.; VILLALBA, M. E. C.; GÜIDA, J. A.; MUKHERJEE, A.; CASTRO, G. R. Encapsulation of Congo Red in carboxymethyl guar gum-alginate gel Microspheres. **Reactive & Functional Polymers**, v. 82, p. 103-110, 2014.

BOURAS, M.; CHADNI, M.; BARBA, F. J.; GRIMI, N.; BALS, O.; VOROBIEV, E. Optimization of microwave-assisted extraction of polyphenols from *Quercus* bark. **Industrial Crops and Products**, v. 77, p. 590-601, 2015.

BRANCO, C. S.; LIMA, E. D.; RODRIGUES, T. S.; SCHEFFEL, T. B.; SCOLA, G.; LAURINO, C. C. F. C.; MOURA S.; SALVADOR, M. Mitochondria and redox homeostasis as chemotherapeutic targets of *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Kuntze in human larynx HEp-2 cancer Cells. **Chemico-Biological Interactions**, v. 231, p. 108-118, 2015.

BRASIL, J. L.; EV, R. R.; MILCHAREK, C. D.; MARTINS, L. C.; PAVAN, F. A.; SANTOS JUNIOR, A. A.; DIAS, S. L.P.; DUPONT, J.; NOREÑA, C. P. Z.; LIMA, E. C. Statistical design of experiments as a tool for optimizing the batch conditions to Cr(VI) biosorption on *Araucaria angustifolia* wastes. **Journal of Hazardous Materials**, v. 133, p. 143-153, 2006.

BRDE - Banco Regional de Desenvolvimento do Extremo Sul. **Cultivo da *Araucaria angustifolia*: viabilidade econômico-financeira e alternativas de incentivo**. Florianópolis: BRDE, 2005. 53p.

CAI, Z.; QU Z.; LAN, Y.; ZHAO, S.; MA, X.; WAN, Q.; JING, P.; LI, P. Conventional, ultrasound-assisted, and accelerated-solvent extractions of anthocyanins from purple sweet potatoes. **Food Chemistry**, v. 197, p. 266-272, 2016.

ÇAM, M.; İÇYER, N. C.; ERDOĞAN, F. Pomegranate peel phenolics: Microencapsulation, storage stability and potential ingredient for functional food development. **LWT - Food Science and Technology**, v. 55, p. 117-123, 2014.

CANO-HIGUITA, D. M.; MALACRIDA, C.R.; TELIS, V. R. N. Stability of curcumin microencapsulated by spray and freeze drying in binary and ternary matrices of maltodextrin, gum arabic and modified starch. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 39, p. 2049-2060, 2015.

CARMO, M. M. R. DO; WALKER, J. C. L.; NOVELLO, D; CASELATO, V. M.; SGARBIERI, V. C.; OUWEHAND, A. C.; ANDREOLLO, N. A.; HIANE, P. A.; SANTOS, E. F. DOS. Polydextrose: Physiological Function, and Effects on Health. **Nutrients**, v. 8, p. 553-566, 2016.

CAROCHO, M.; MORALES, P.; FERREIRA, I. C. F. R. Antioxidants: Reviewing the chemistry, food applications, legislation and role as preservatives. **Trends in Food Science & Technology**, v. 71 p. 107-120, 2018.

CARRATÙ, B.; SANZINI, E. Sostanze biologicamente attive presenti negli alimenti di origine vegetale. **Annali Istituto Superiore Sanità**, v. 41, n. 1, p. 7-16, 2005.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e usos da madeira.** Colombo: EMBRAPA-CNPQ/Brasília: EMBRAPA-SPI, 2004.

CEBALLOS, A. M.; GIRALDO, G. I.; ORREGO, C. E. Effect of freezing rate on quality parameters of freeze dried soursop fruit pulp. **Journal of Food Engineering**, v. 111, p. 360-365, 2012.

CHAMPAGNE, C. P.; FUSTIER, P. Microencapsulation for the improved delivery of bioactive compounds into foods. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 18, p. 184-190, 2007.

CHAN, C.; YUSOFF, R.; NGOH, G. Modeling and kinetics study of conventional and assisted batch solvent extraction. **Chemical Engineering Research and Design**, v. 92, p. 1169-1186, 2014.

CHAN, S. Y.; CHOO, W. S.; YOUNG, D. J.; LOH, X. J. Pectin as a rheology modifier: Origin, structure, commercial production and rheology. **Carbohydrate Polymers**, v. 161 p. 118-139, 2017.

CHEMAT, F.; HUMA, Z.; KHAN, M. K. Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 18, p. 813-835, 2011.

CHUPIN, L.; MAUNU, S.L.; REYNAUD, S.; PIZZI, A.; CHARRIER, B.; BOUHTOURY, F. C.-EL. Microwave assisted extraction of maritime pine (*Pinus pinaster*) bark: Impact of particle size and characterization. **Industrial Crops and Products**, v. 65, p. 142-149, 2015.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. **Conjuntura Especial: Pinhão (Semente).** 2014.

CORDENUNSI, B. R., MENEZES, E. W, GENOVESE, M. I., COLLI, C., SOUZA, A. G.; LAJOLO, F. M. Chemical composition and glycemic index of Brazilian Pine (*Araucaria angustifolia*) seeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 3412-3416, 2004.

CORNEJO, F. E. P.; NOGUEIRA, R. I.; CARVALHO, C. W. P.; GODOY, R. C. B.; OLIVEIRA, A. H.; SANTOS, L. F. C.; BARRETO, A. G.; FREITAS, S. P.; **Descascamento e Secagem de Pinhão (*Araucaria angustifolia*) para a Obtenção de Farinha.** Rio de Janeiro: Embrapa Agroindústria de Alimentos, 2014. (Comunicado Técnico 206).

CRAFT, B. D.; KERRIHARD, A. L.; AMAROWICZ, R.; PEGG, R. B. Phenol-based antioxidants and the *in vitro* methods used for their assessment. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 11, p. 148-173, 2012.

CRAVOTTO G.; BOFFA, L.; MANTEGNA, S.; PEREGO, P.; AVOGADRO, M.; CINTAS, P. Improved extraction of vegetable oils under high-intensity ultrasound and/or microwaves. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 15, p. 898-902, 2008.

DAG, D.; KILERCIOGLU, M.; OZTOP, M. H. Physical and chemical characteristics of encapsulated goldenberry (*Physalis peruviana* L.) juice powder. **LWT - Food Science and Technology**, v. 83, p. 86-94, 2017.

DAHMOUNE, F.; NAYAK, B.; MOUSSI, K.; REMINI, H.; MADANI, K. Optimization of microwave-assisted extraction of polyphenols from *Myrtus communis* L. leaves. **Food Chemistry**, v.166, p. 585-595, 2015.

DAI, J.; MUMPER, R. J. Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. **Molecules**, v. 15, p. 7316-7352, 2010

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de alimentos de Fennema**. Porto Alegre: Artmed, 2010, 900p.

DAUDT, R. M.; KÜLKAMP-GUERREIRO, I. C., CLADERA-OLIVERA, F., THYS, R. C. S.; MARCZAK, L. D. F. Determination of properties of *pinhão* starch: Analysis of its applicability as pharmaceutical excipient. **Industrial Crops and Products**, v. 52, p. 420-429, 2014.

DEL RIO, D.; RODRIGUEZ-MATEOS, A.; SPENCER, J. P. E.; TOGNOLINI, M.; BORGES, G.; CROZIER, A. Dietary (poly) phenolics in human health: structures, bioavailability, and evidence of protective effects against chronic diseases. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 18, n. 14, p. 1818-1992, 2013.

DENIS, A.; BRAMBATI, N.; DESSAUVAGES, B.; GUEDJ, S.; RIDOUX, C.; MEFFRE, N.; AUTIER C. Molecular weight determination of hydrolyzed collagens. **Food Hydrocolloids**, v. 22, p. 989-994, 2008.

DIAS, D. R.; BOTREL, D. A.; FERNANDES, R. V. B.; BORGES, S. V. Encapsulation as a tool for bioprocessing of functional foods. **Current Opinion in Food Science**, v. 13, p. 31-37, 2017.

DIXON, R. A., XIE, D.-Y., SHARMA, S. B. Proanthocyanidins – a final frontier in flavonoid research? **New Phytologist**, v. 165, p. 9-28, 2005.

DONG, J.; LIU, Y.; LIANG, Z.; WANG, W. Investigation on ultrasound-assisted extraction of salvianolic acid B from *Salvia miltiorrhiza* root. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 17, p. 61-65, 2010.

DORĐEVIĆ, V.; BALANČ, B.; BELŠČAK-CVITANOVIĆ, A.; LEVIĆ, S.; TRIFKOVIĆ, K.; KALUŠEVIĆ, A.; KOSTIC, I.; KOMES, D.; BUGARSKI, B.; NEDOVIĆ, V. Trends in encapsulation technologies for delivery of food bioactive compounds. **Food Engineering Reviews**, v. 7, n. 4, p. 452-490, 2015.

FÄLDT, P.; BERGENSTÅHL B. The surface composition of spray-dried protein-lactose powders. **Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 90, p. 183-190, 1994.

FANG, Z.; BHANDARI, B. Encapsulation of polyphenols – a review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 21, n. 10, p. 510-523, 2010.

FATHI, M.; MARTÍN, A.; MCCLEMENTS, D. J. Nanoencapsulation of food ingredients using carbohydrate based delivery systems. **Trends in Food Science & Technology**, v.39, p.18-39, 2014.

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

FERNANDES, L. R.; XISTO, M. D.; PENNA, M. G.; MATOSINHOS, I. M.; LEAL, M. C.; PORTUGAL, L. R.; LEITE, J. I. A. Efeito da goma guar parcialmente hidrolisada no metabolismo de lipídios e na aterogênese de camundongos. **Revista Nutrição**, v.19, n.5, p. 563-571, 2006.

FERRARO, V.; ANTON, M.; SANTÉ-LHOUTELLIER, V. The “sisters” α -helices of collagen, elastin and keratin recovered from animal by-products: Functionality, bioactivity and trends of application. **Trends in Food Science & Technology**, v. 51, p. 65-75, 2016.

FERRAZZANO, G. F.; AMATO, I.; INGENITO, A.; ZARRELLI, A.; PINTO, G.; POLLIO, A. Plant polyphenols and their anti-cariogenic properties: a review. **Molecules**, v. 16, p. 1486-1507, 2011.

FIGUEIREDO FILHO, A.; ORELLANA, E.; NASCIMENTO, F.; DIAS, A. N.; INOUE, M. T. Produção de sementes de *Araucaria angustifolia* em plantio e em floresta natural no centro-sul do estado do Paraná. **Floresta**, v. 41, n. 1, p. 153-160, 2011.

FLOOD, M. T., AUERBACH, M. H., CRAIG, S. A. S. A review of clinical toleration studies of polydextrose in food. **Food and Chemical Toxicology**, v. 42, p. 1431-1542, 2004.

FLORES, F. P.; SINGH, R. K.; KERR, W. L.; PEGG, R. B.; KONG, F. Total phenolics content and antioxidant capacities of microencapsulated blueberry anthocyanins during *in vitro* digestion. **Food Chemistry**, v. 153, p. 272-278, 2014.

FREITAS, A. M.; ALMEIDA, M. T. R.; ANDRIGHETTI-FRÖHNER, C.R.; CARDOZO, F.T.G.S.; BARARDI, C.R.M.; FARIAS, M.R.; SIMÕES, C.M.O. Antiviral activity-guided fractionation from *Araucaria angustifolia* leaves extract. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 126, p. 512-517, 2009.

GAETE-GARRETÓN, L.; VARGAS-HERNÁNDEZ, Y.; CARES-PACHECO, M.G.; SAINZ, J.; ALARCÓN, J. Ultrasonically enhanced extraction of bioactive principles from Quillaja Saponaria Molina. **Ultrasonics**, v. 51, p. 581-585, 2011.

GALAN, A. M.; CALINESCU, I.; TRIFAN, A.; WINKWORTH-SMITH, C.; CALVO-CARRASCAL, M.; DODDS, C.; BINNER E. New insights into the role of selective and volumetric heating during microwave extraction: Investigation of the extraction of polyphenolic compounds from sea buckthorn leaves using microwave-assisted extraction and conventional solvent extraction. **Chemical Engineering and Processing**, v. 116, p. 29-39, 2017.

GARCIA-SALAS, P.; MORALES-SOTO, A.; SEGURA-CARRETERO, A.; FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ, A. Phenolic-compound-extraction systems for fruit and vegetable samples. **Molecules**, v. 15, p. 8813-8826, 2010.

GHARSALLAOUI, A.; ROUDAUT, G.; CHAMBIN, O.; VOILLEY, A.; SAUREL, R. Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. **Food Research International**, v. 40, p. 1107-1121, 2007.

GOMES, C. R.; VISSOTTO, F. Z.; FADINI, A. L.; FARIA, E. V.; LUIZ, A. M. Influência de diferentes agentes de corpo nas características reológicas e sensoriais de chocolates diet em sacarose e light em calorias. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 3, p. 614-623, 2007.

GÓMEZ-GUILLÉN, M. C.; GIMÉNEZ, B.; LÓPEZ-CABALLERO, M. E.; MONTERO, M. P. Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: A review. **Food Hydrocolloids**, v. 25, p. 1813-1827, 2011.

GONZÁLEZ, E.; GÓMEZ-CARAVACA, A. M.; GIMÉNEZ, B.; CEBRIÁN, R.; MAQUEDA, M.; MARTÍNEZ-FÉREZ, A.; SEGURA-CARRETERO, A.; ROBERT, P. Evolution of the phenolic compounds profile of olive leaf extract encapsulated by spray-drying during *in vitro* gastrointestinal digestion. **Food Chemistry**, v. 279, p. 40-48, 2019.

GUÇLU, K.; ALTUN, M.; OZYUREK, M.; KARADEMIR, S. E.; APAK R. Antioxidant capacity of fresh, sun-and sulphited-dried Malatya apricot (*Prunus armeniaca*) assayed by CUPRAC, ABTS/TEAC and folin methods. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 41, (Supplement 1), p. 76-85, 2006.

GUERRA, M. P.; SILVEIRA, V.; REIS, M. S.; SCHNEIDER, L. Exploração, manejo e conservação da araucária (*Araucaria angustifolia*). In: SIMÕES, L. L.; LINO, C. F. (Org.). **Sustentável Mata Atlântica: a exploração de seus recursos florestais**. São Paulo: SENAC São Paulo, 2002, p. 85-101.

HAYAT, K.; HUSSAIN, S.; ABBAS, S.; FAROOQ, U.; DING, B.; XIA, S.; JIA, C.; ZHANG, X.; XIA, W. Optimized microwave-assisted extraction of phenolic acids from citrus mandarin peels and evaluation of antioxidant activity *in vitro*. **Separation and Purification Technology**, v. 70, p. 63-70, 2009.

HORST, M. A.; LAJOLO, F. M. **Biodisponibilidade de compostos bioativos de alimentos**. In: COZZOLINO, S. M. F. Biodisponibilidade de nutrientes. 3. ed. São Paulo: Manole, 2009.

HOYOS-MARTÍNEZ, P. L. DE; MERLE, J.; LABIDI, J.; CHARRIER-EL BOUHTOURY, F. Tannins extraction: A key point for their valorization and cleaner production. **Journal of Cleaner Production**, v. 206, p. 1138-1155, 2019.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção da Extração Vegetal e Silvicultura 2015**. Rio de Janeiro: IBGE, 2016.

IRAKLI, M.; CHATZOPOULOU, P.; EKATERINIADOU, L. Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds: Oleuropein, phenolic acids, phenolic alcohols and flavonoids from olive leaves and evaluation of its antioxidant activities. **Industrial Crops & Products**, v. 124, p. 382-388, 2018.

JIE, Z.; BANG-YAO, L.; MING-JIE, X.; HAI-WEI, L.; ZU-KANG, Z.; TING-SONG, W.; CRAIG, S. A. Studies on the effects on the polidextrose intake on physiologic functions on Chinese people. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 72, n. 6, p. 1503-1509, 2000.

KADERIDES, K.; GOULA, A. M.; ADAMOPOULOS, K. G. A process for turning pomegranate peels into a valuable food ingredient using ultrasound-assisted extraction and encapsulation. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 31, p. 204-215, 2015.

KARABEGOVIĆ, I. T.; STOJIČEVIĆ, S. S.; VELIČKOVIĆ, D. T.; NIKOLIĆ, N. Č.; LAZIĆ, M. L. Optimization of microwave-assisted extraction and characterization of phenolic compounds in cherry laurel (*Prunus laurocerasus*) leaves. **Separation and Purification Technology**, v. 120, p. 429-436, 2013.

KAUR, C.; KAPOOR, H. Antioxidants in fruits and vegetables – the millennium's health. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 36, p. 703-725, 2001.

KOOCHEKI, A.; MORTAZAVI, S. A.; SHAHIDI, F.; RAZAVI, S. M. A.; TAHERIAN, A. R. Rheological properties of mucilage extracted from *Alyssum homolocarpum* seed as a new source of thickening agent. **Journal of Food Engineering**, v. 91, p. 490-496, 2009.

KOEHNLEIN, E. A.; CARVAJAL, A. E. S.; KOEHNLEIN, E. M.; COELHO-MOREIRA, J. S.; INÁCIO, F. D.; CASTOLDI, R.; BRACHT, A.; PERALTA, R. M. Antioxidant Activities and Phenolic Compounds of Raw and Cooked Brazilian *Pinhao* (*Araucaria angustifolia*) Seeds. **African Journal of Food Science**, v. 6, n. 21, p. 512-518, 2012.

KUCK, L. S.; WESOLOWSKI, J. L.; NOREÑA, C. P. Z. Effect of temperature and relative humidity on stability following simulated gastro-intestinal digestion of microcapsules of Bordo grape skin phenolic extract produced with different carrier agents. **Food Chemistry**, v. 230, p. 257-264, 2017.

KUCK, L. S.; NOREÑA, C. P. Z. Microencapsulation of grape (*Vitis labrusca* var. Bordo) skin phenolic extract using gum Arabic, polydextrose, and partially hydrolyzed guar gum as encapsulating agents. **Food Chemistry**, v. 194, p. 569-576, 2016.

KY, I.; FLOCH, A. L.; ZENG, L.; PECHAMAT, L.; JOURDES, M.; TEISSEDE, P.-L. Tannins. **Encyclopedia of Food and Health**. p. 247-255, 2016.

LABUSCHAGNE, P. Impact of wall material physicochemical characteristics on the stability of encapsulated phytochemicals: A review. **Food Research International**, v. 107, p. 227-247, 2018.

LI, J.; ZU, Y.; FU, Y.; YANG, Y.; LI, S.; LI, Z.; WINK, M. Optimization of microwave-assisted extraction of triterpene saponins from defatted residue of yellow horn (*Xanthoceras sorbifolia* Bunge.) kernel and evaluation of its antioxidant activity. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 11, p. 637-643, 2010.

LIMA, E. C.; ROYER, B.; VAGHETTI, J. C. P.; BRASIL, J. L.; SIMON, N. M.; SANTOS JUNIOR, A. A. DOS; PAVAN, F. A.; DIAS, S. L. P.; BENVENUTTI, E. V.; DA SILVA, E. A. Adsorption of Cu(II) on *Araucaria angustifolia* wastes: Determination of the optimal conditions by statistic design of experiments. **Journal of Hazardous Materials**, v. 140, p. 211-220, 2007.

LIU, L.; FISHMAN, M. L.; KOST, J.; HICKS, K. B.; Pectin-based systems for colon-specific drug delivery via oral route. **Biomaterials**, v. 24, p. 3333-3343, 2003.

MADENE, A.; JACQUOT, M.; SCHER J.; DESOBRY, S. Flavour encapsulation and controlled release – a review. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 41, p. 1-21, 2006.

MAKKAR, H. P. S. Quantification of Tannins in Tree and Shrub Foliage: **A Laboratory Manual**. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, 2003.

MANACH, C.; SCALBERT, A.; MORAND, C.; RÉMÉSY, C.; JIMENEZ L. Polyphenols: food sources and bioavailability. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 79, p. 727-747, 2004.

MARCOTTE, M.; TAHERIAN, A. R.; TRIGUI, M.; RAMASWAMY, H. S.; Evaluation of rheological properties of selected salt enriched food hydrocolloids. **Journal of Food Engineering**, v. 48, p. 157-167, 2001.

MARTINEZ-GUERRA, E; GUDE, V. G. Synergistic effect of simultaneous microwave and ultrasound irradiations on transesterification of waste vegetable oil. **Fuel**, v. 137, p. 100-108, 2014.

MAXWELL, E. G.; BELSHAW, N. J.; WALDRON, K. W.; MORRIS, V. J. Pectin e An emerging new bioactive food polysaccharide. **Trends in Food Science & Technology**, v. 24, p. 64-73, 2012.

MENG, D.; ZHANG, P.; ZHANG, L.; WANG, H.; HO, C.; LI, S.; SHAHIDI, F.; ZHAO, H. Detection of cellular redox reactions and antioxidant activity assays. **Journal of Functional Foods**, v. 37, p. 467-479, 2017.

MICHELON, F.; BRANCO, C. S.; CALLONI, C.; GIAZZON, I.; AGOSTINI, F.; SPADA, P. K.W.; SALVADOR, M. *Araucaria angustifolia*: A potential nutraceutical with antioxidant and antimutagenic activities. **Current Nutrition & Food Science**, v. 8, p. 155-159, 2012.

MOHAMMADZADEH, H.; KOOCHEKI, A.; KADKHODAEI, R.; RAZAVI, S. M. A. Physical and flow properties of D-limonene-in-water emulsions stabilized with whey protein concentrate and wild sage (*Salvia macrosiphon*) seed gum. **Food Research International**, v. 53 p. 312-318, 2013.

MONTENEGRO, F. M.; GOMES-RUFFI, C. R.; VICENTE, C. A.; COLLARES-QUEIROZ, F. P.; STEEL, C. J. Biscoitos de polvilho azedo enriquecidos com fibras solúveis e insolúveis. **Food Science and Technology**, v. 28, p. 184-191, 2008.

MORAIS, A. R. V.; ALENCAR, É. N.; XAVIER JÚNIOR, F. H.; OLIVEIRA, C. M.; MARCELINO, H. R.; BARRATT, G.; FESSI, H.; EGITO, E. S. T.; ELAISSARI, A. Freeze-drying of emulsified systems: A review. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 503, p. 102-114, 2016.

MORENO, T.; COCERO, M. J.; RODRÍGUEZ-ROJO, S. Storage stability and simulated gastrointestinal release of spray dried grape marc phenolics. **Food and Bioproducts Processing**, v. 112, p. 96-107, 2018.

MOSER, P.; TELIS, V. R. N.; NEVES, N. DE A.; GARCÍA-ROMERO, E.; GÓMEZ-ALONSO, S.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I. Storage stability of phenolic compounds in powdered BRS Violeta grape juice microencapsulated with protein and maltodextrin blends. **Food Chemistry**, v. 214, p. 308-318, 2017.

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

OKUBO, T.; ISHIHARA, N.; TAKAHASHI, H.; FUJISAWA, T.; KIM, M.; YAMAMOTO, T.; MITSUOKA, T. Effects of partially hydrolyzed guar gum intake on human intestinal microflora and its metabolism. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 58, n. 8, p.1364-1369, 1994.

OZKAN, G.; FRANCO, P.; DE MARCOB I., XIAO, J.; CAPANOGLU, E. A review of microencapsulation methods for food antioxidants: Principles, advantages, drawbacks and applications. **Food Chemistry**, v. 272, p. 494-506, 2019.

PAN, Y.; WANG, K.; HUANG, S.; WANG, H.; MU, X.; HE, C.; JI, X.; ZHANG, J.; HUANG, F. Antioxidant activity of microwave-assisted extract of longan (*Dimocarpus Longan* Lour.) peel. **Food Chemistry**, v. 106, p. 1264-1270, 2008.

PARISI, G.; BOTTONA, E.; CARRARA, M.; CARDIN, F.; FAEDO, A.; GOLDIN, D.; MARINO, M.; PANTALENA, M.; TAFNER, G.; VERDIANELI, G.; ZILLI, M.; LEANDRO, G. Treatment effects of partially hydrolyzed guar gum on symptoms and quality of life of patients with irritable bowel syndrome. A multicenter randomized open trial. **Digestive Disiases and Sciences**, v. 50, n. 6, p. 1107-1112, 2005.

PAINI, M.; ALIAKBARIAN, B.; CASAZZA, A. A.; LAGAZZO, A.; BOTTER, R.; PEREGO, P. Microencapsulation of phenolic compounds from olive pomace using spray drying: A study of operative parameters. **LWT - Food Science and Technology**, v. 62, p. 177-186, 2015.

PANDEY, K. B.; RIZVI, S. I. Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2, n. 5, p. 270-278, 2009.

PERALTA, R. M.; KOEHNLEIN, E.A.; OLIVEIRA, R. F.; CORREA, V. G.; CORRÊA, R. C. G.; BERTONHA L.; BRACHT, A.; FERREIRA, I. C.F.R. Biological activities and chemical constituents of *Araucaria angustifolia*: An effort to recover a species threatened by extinction. **Trends in Food Science & Technology**, v. 54, p. 85-93, 2016.

PETKOWICZ, C. L. O.; VRIESMANN, L. C.; WILLIAMS, P. A. Pectins from food waste: Extraction, characterization and properties of watermelon rind pectin. **Food Hydrocolloids**, v. 65, p. 57-67, 2017

PIÑEIRO, Z.; MARRUFO-CURTIDO, A.; VELA, C.; PALMA, M. Microwave-assisted extraction of stilbenes from woody vine material. **Food and Bioproducts Processing**, v. 103, p. 18-26, 2017.

PINILLA, C. M. B.; NOREÑA, C. P. Z.; BRANDELLI, A. Development and characterization of phosphatidylcholine nanovesicles, containing garlic extract, with antilisterial activity in milk. **Food Chemistry**, v. 220, p. 470-476, 2017.

PIOVESANA, A., NOREÑA, C. P. Z. Microencapsulation of Bioactive Compounds from Hibiscus Calyces Using Different Encapsulating Materials. **International Journal of Food Engineering**, v. 14, n. 1, p. 1-9, 2018.

PRAJAPATI, V. D.; JANI, G. K.; MORADIYA, N. G.; RANDERIA, N. P.; NAGAR, B. J.; NAIKWADI, N. N.; VARIYA, B. C. Galactomannan: A versatile biodegradable seed polysaccharide. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 60, p. 83-92, 2013.

QUEK, M. C.; CHIN, N. L.; YUSOF, Y. A. Modelling of rheological behaviour of soursop juice concentrates using shear rate–temperature–concentration superposition. **Journal of Food Engineering**, v. 118, p. 380-386, 2013.

RASTOGI, N. K. Opportunities and challenges in application of ultrasound in food processing. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 51, p. 705-722, 2011.

REZENDE, Y. R. R. S.; NOGUEIRA, J. P.; NARAIN, N. Microencapsulation of extracts of bioactive compounds obtained from acerola (*Malpighia emarginata* DC) pulp and residue by spray and freeze. **Food Chemistry**, v. 254 p. 281-291, 2018.

ROCHA, J. DE C. G.; BARROS, F. A. R. DE; PERRONE, Í. T.; VIANA, K. W. C. TAVARES, G. M.; STEPHANI, R.; STRINGHETA, P. C. Microencapsulation by atomization of the mixture of phenolic extracts. **Powder Technology**, v. 343, p. 317-325, 2019.

ROSELLÓ-SOTO, E.; GALANAKIS, C. M.; BRNCIC, M.; ORLIEN, V.; TRUJILLO, F. J.; MAWSON, R.; KNOERZER, K.; TIWARI, B. K.; BARBA, F. J. Clean recovery of antioxidante compounds from plant foods, byproducts and algae assisted by ultrasounds processing. Modeling approaches to optimize processing conditions. **Trends in Food Science & Technology**, v. 42, p. 134-149, 2015.

SAHIN, S.; DEMIR C.; MALYER, H. Determination of total phenolic content of *Prunella* L. by immobilized enzyme bioreactor. **Analytical Methods**, v. 3, p. 944-950, 2011.

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

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

SANT'ANNA, V.; SFOGLIA, N. M.; MERCALI, G.D.; CORRÊA, A. P. F.; BRANDELLI, A. Effect of cooking on polyphenols and antioxidant activity of *Araucaria angustifolia* seed coat

and evaluation of phytochemical and microbiological stability over storage. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 51, 1932-1936, 2016.

SANTOS, A. J.; CORSO, N. M.; MARTINS, G.; BITTENCOURT, E. Aspectos produtivos e comerciais do pinhão no estado do Paraná. **Floresta**, v. 32, n. 2, p. 163-169, 2002.

SANTOS-BUELGA, C.; SCALBERT, A. Review: Proanthocyanidins and tannin-like compounds – nature, occurrence, dietary intake and effects on nutrition and health. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 80, p. 1094-1117, 2000.

SANTOS, S. S.; RODRIGUES, L. M.; COSTA, S. C.; MADRONA, G. S. SANTOS, S. S. et al. Antioxidant compounds from blackberry (*Rubus fruticosus*) pomace: Microencapsulation by spray-dryer and pH stability evaluation. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 20, p. 1-6, 2019.

SCALBERT, A.; WILLIAMSON, G. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. **Journal of Nutrition**, v. 130, n. 8, p. 2073S-2085S, 2000.

SHAHIDI, F.; ZHONG, Y. Measurement of antioxidant activity. **Journal of Functional Foods**, v. 18, p. 757-781, 2015.

SILVA, C. V.; MIGUEL, L. A.; REIS, M. S. A comercialização do pinhão de *Araucaria angustifolia* no Distrito de Taquara Verde, município de Caçador-SC. **Revista Brasileira e Agroecologia**, v. 4, n. 2, p. 841-844, 2009.

SILVA, F.; TORRES, L.; SILVA, L.; FIGUEIREDO, R.; GARRUTI, D.; ARAÚJO, T.; DUARTE, A.; BRITO, D.; RICARDO, N. Cashew gum and maltodextrin particles for green tea (*Camellia sinensis* var *Assamica*) extract encapsulation. **Food Chemistry**, v. 261, p. 169-175, 2018.

SILVA, S. M.; KOEHNLEIN, E. A.; BRACHT, A.; CASTOLDI, R.; DE MORAIS, G. R.; BAESSO, M. L.; PERALTA, R. A.; DE SOUZA, C. G. M.; DE SÁ-NAKANISHI, A. B.; PERALTA, R. M. Inhibition of salivary and pancreatic α -amylases by a pinhão coat (*Araucaria angustifolia*) extract rich in condensed tannin. **Food Research International**, v. 56, p. 1-8, 2014.

SLAVIN, J. L.; GREENBER, N. A. Partially hydrolyzed guar gum: clinical nutrition uses. **Nutrition**, v. 19, p. 549-552, 2003.

SMITH, R. M. Before the injection—modern methods of sample preparation for separation techniques. **Journal of Chromatography A**, v. 1000, p. 3-27, 2003.

SOUSA, S. C.; FRAGOSO, S. P.; PENNA, C. R. A.; ARCANJO, N. M. O.; SILVA, F. A. P.; FERREIRA, V. C. S.; BARRETO, M. D. S.; ARAÚJO, I. B. S. Quality parameters of frankfurter-type sausages with partial replacement of fat by hydrolyzed collagen. **LWT - Food Science and Technology**, v. 76, p. 320-325, 2017.

SOUZA, A. C. P.; GURAK, P. D.; MARCZAK, L. D. F. Maltodextrin, pectin and soy protein isolate as carrier agents in the encapsulation of anthocyanins-rich extract from jaboticaba pomace. **Food and Bioproducts Processing**, v. 102, p. 186-194, 2017.

SOUZA, M. O.; BRANCO, C. S.; SENE, J.; DALLAGNOL, R.; AGOSTINI, F.; MOURA, S.; SALVADOR M. Antioxidant and antigenotoxic activities of the brazilian pine *Araucaria angustifolia* (bert.) O. Kuntze. **Antioxidants**, v. 3, n.1, p. 24-37, 2014.

SPADA, J. C.; NOREÑA, C. P. Z.; MARCZAK, L. D. F.; TESSARO, I. C. Study on the stability of β -carotene microencapsulated with pinhão (*Araucaria angustifolia* seeds) starch, **Carbohydrate Polymers**, v. 89, p. 1166-1173, 2012.

SUN, X.; CAMERON, R. G.; BAI, J. Microencapsulation and antimicrobial activity of carvacrol in a pectinalginat Matrix. **Food Hydrocolloids**, v. 92, p. 69-73, 2019.

SUTIVISEDSEK, N.; CHENG, H.N.; WILLETT, J.L.; LESCH, W.C.; TANGSRUD, R.R.; BISWAS, A. Microwave-assisted extraction of phenolics from bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Food Research International**, v. 43 p. 516-519, 2010.

TAVARES, L.; NOREÑA, C. P. Z. Encapsulation of garlic extract using complex coacervation with whey protein isolate and chitosan as wall materials followed by spray drying. **Food Hydrocolloids**, v. 89, p. 360-369, 2019.

THYS, R. C. S.; NOREÑA, C.P. Z.; MARCZAK, L. D. F.; AIRES, A. G.; CLADERA-OLIVERA, F. Adsorption isotherms of pinhão (*Araucaria angustifolia* seeds) starch and thermodynamic analysis. **Journal of Food Engineering**, v. 100, p. 468-473, 2010.

TROSZYNSKA, A.; CISKA, E. Phenolic compounds of seed coats of white and coloured varieties of pea (*Pisum sativum* L.) and their total antioxidant activity. **Czech Journal of Food Sciences**, v. 20, n. 1, p. 15-22, 2002.

TSALI, A.; GOULA, A. M. Valorization of grape pomace: Encapsulation and storage stability of its phenolic extract. **Powder Technology**, v. 340, p. 194-207, 2018.

TYAGI, V. V.; KAUSHIK, S. C.; TYAGI, S. K.; AKIYAMA, T. Development of phase change materials based microencapsulated technology for buildings: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 15. p. 1373-1391, 2011.

VIGNAULT, A. GONZÁLEZ-CENTENO, M. R.; PASCUAL, O.; GOMBAU, J.; JOURDES, M.; MOINED, V.; ITURMENDI, N.; CANALS, J. M.; ZAMORAC, F.; TEISSEDRE, P.-L. Chemical characterization, antioxidant properties and oxygen consumption rate of 36 commercial oenological tannins in a model wine solution. **Food Chemistry**, v. 268, p. 210-219, 2018.

WALRAND, S.; CHIOTELLI, E.; NOIRT, F.; MWEWA, S.; LASSEL, T. Consumption of a Functional Fermented Milk Containing Collagen Hydrolysate Improves the Concentration of Collagen-Specific Amino Acids in Plasma. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 7790-7795, 2008.

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

YAMASHITA, C.; CHUNG, M. M. S.; SANTOS, C. DOS; MAYER, C. R. M.; MORAES, I. C. F.; BRANCO, I. G. Microencapsulation of an anthocyanin-rich blackberry (*Rubus* spp.) by-

product extract by freeze-drying. **LWT - Food Science and Technology**, v. 84, p. 256-262, 2017.

YOON, S. J.; CHU, D. C.; JUNEJA, L. R. Chemical and Physical Properties, Safety and Application of Partially Hydrolyzed Guar Gum as Dietary Fiber. **Journal of Clinical Biochemistry Nutrition**, v. 42, p. 1-7, 2008.

ZARIN, M. A.; WAN, H. Y.; ISHA, A.; ARMANIA, N. Antioxidant, antimicrobial and cytotoxic potential of condensed tannins from *Leucaena leucocephala* hybrid-Rendang. **Food Science and Human Wellness**, v. 5, p. 65-75, 2016.

ŽIVKOVIĆ, J.; ŠAVIKIN, K.; JANKOVIĆ, T.; ČUJIĆ, N.; MENKOVIĆ, N. Optimization of ultrasound-assisted extraction of polyphenolic compounds from pomegranate peel using response surface methodology. **Separation and Purification Technology**, v. 194, p. 40-47, 2018.