

**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**

**CASSIANO BROWN DA ROCHA**

**EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS DO RESÍDUO DO PROCESSAMENTO**  
**DO SUCO DE UVA POR MICRO-ONDAS E ULTRASSOM E SEU POSTERIOR**  
**ENCAPSULAMENTO**

**Porto Alegre**

**2018**

CASSIANO BROWN DA ROCHA

**EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS DO RESÍDUO DO PROCESSAMENTO  
DO SUCO DE UVA POR MICRO-ONDAS E ULTRASSOM E SEU POSTERIOR  
ENCAPSULAMENTO**

Dissertação de Mestrado apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos, pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS.

Orientador: Professor Dr. Caciono Pelayo Zapata Noreña

Porto Alegre

2018

### CIP - Catalogação na Publicação

da Rocha, Cassiano Brown

Extração de compostos bioativos do resíduo do processamento do suco de uva por micro-ondas e ultrassom e seu posterior encapsulamento / Cassiano Brown da Rocha. -- 2018.

103 f.

Orientador: Caciono 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, 2018.

1. bagaço do suco de uva. 2. extração assistida por micro-ondas. 3. compostos fenólicos. 4. microencapsulamento. 5. estabilidade. I. Noreña, Caciono Pelayo Zapata, orient. II. Título.

CASSIANO BROWN DA ROCHA

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS DO RESÍDUO DO PROCESSAMENTO DO  
SUCO DE UVA POR MICRO-ONDAS E ULTRASSOM E SEU POSTERIOR  
ENCAPSULAMENTO

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)

Aprovado em \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_\_

---

Caciano Pelayo Zapata Noreña (Orient.)

Doutor em Engenharia de Alimentos

ICTA / UFRGS

---

Roberta Cruz Silveira Thys

Doutora em Engenharia Química

ICTA / UFRGS

---

Carolina Pereira Kechinski

Doutora em Engenharia Química

UFCSPA

---

Adriano Brandelli (Coord. PPGCTA)

Doutor em Ciências Químicas

ICTA / UFRGS

---

Paula Rossini Augusti

Doutora em Ciências Biológicas

ICTA / UFRGS

---

Vitor Manfroi (Dir. ICTA)

Doutor em Ciência e Tecnologia Agroindustrial

ICTA / UFRGS

*A minha querida família que sempre deu o apoio necessário  
e aos amigos que sempre estiveram comigo.*

## AGRADECIMENTOS

*Todos que de alguma forma colaboram com este trabalho e com minha trajetória durante esse período, agradeço imensamente!*

*Minha família e amigos que compreenderam os períodos de ausência. Obrigado por estarem presentes nesse período, pelos “bom dia” e “boa noite” nos grupos do telefone celular, deixam todos mais perto, mesmo que eu possa esquecer de responder as mensagens. Obrigado pela compreensão de todos em minhas irritações, ausências, esquecimentos e aparições.*

*Meus queridos amigos e colegas que estiveram comigo durante o percurso. No início, amigos da época de graduação, Nicole e Alisson, que desde o início me incentivaram. Aos recém amigos, mas com muito mais em comum do que podíamos imaginar: Liliana, Mariane, Luana, Loleny e Fernanda, responsáveis por tornar esse período muito mais agradável e possível. Aos colegas que anteriormente fizeram parte do grupo de pesquisa que deixaram seu trabalho e seus contatos, principalmente, das perspectivas de trabalhos futuros da Dr<sup>a</sup>. Luiza onde o meu trabalho foi baseado. Aos amigos e colegas de outros laboratórios que colaboraram com o trabalho em algum momento: Ana Baú, Carolina, Cristian e Rubi.*

*Durante o trabalho em laboratório não conseguiríamos nada sem a participação dos bolsistas de iniciação científica, Júlia, Ana Paula e Carol Zorzi pelos ensinamentos e pelo companheirismo no laboratório e pela hora do intervalo e lanche. Agradeço, também, ao trabalho da Duélen e Rafaela no auxílio das análises. Em nome dos bolsistas dos outros laboratórios, a Camila, no auxílio das análises no Lapfa. Por último, mas não menos importante, Camille e Eduarda que auxiliaram muito nas análises e teste finais e se dispuseram em lavar muita vidraria, além de acompanharem as angústias finais, muito obrigado!*

*Aos colaboradores da UFRGS um grande agradecimento, em especial nesse período difícil que passamos com poucos investimentos na educação e na pesquisa científica, que mantiveram a universidade em pleno funcionamento fazendo com que o conhecimento estivesse disponível e para que pudesse ser distribuído a todos. Aos colaboradores do ICTA, o pessoal da higienização, secretaria, informática, biblioteca, em especial a manutenção, Edgar e Diogo, e os técnicos dos laboratórios, Ana e Michele do Lapfa, que sempre estiveram prontas para nos atenderem.*

*Aos professores que de alguma forma contribuíram para o sucesso dessa pesquisa, em especial os professores Adriano Brandelli, Plinho Hertz, Juliane Welke e Paula Augusti, e Eliseu Rodrigues. Meus agradecimentos em especial ao meu orientador, professor Dr. Caciano P. Z. Noreña, meu xará, que sempre demonstrou acreditar no potencial de todos os alunos,*

*profissionalismo e ética, pela oportunidade de fazer parte do grupo de pesquisa, pela paciência na orientação e, principalmente, nas horas de conversa e boa convivência com ou sem cafezinho e comentários futebolísticos. Muito obrigado pela ótima orientação durante esse período.*

*Agradeço pela parceria da Eng<sup>a</sup> Luciane Fante com o professor Dr. Caciano Noreña, que proporcionou a matéria-prima da pesquisa que foi cedida pela Fante Industria de Bebidas Ltda.*

*Aos professores que se dispuseram em participar da banca examinadora, professoras Dr<sup>a</sup>. Roberta Cruz Silveira Thys (UFRGS), Dr<sup>a</sup>. Paula Rossini Augusti (UFRGS) e Dr<sup>a</sup>. Carolina Pereira Kechinski (UFCSPA). Muito obrigado pela disponibilidade.*

*À 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 por possibilitarem a realização deste trabalho e a disponibilidade de estrutura física e de conhecimento para a pesquisa. À CAPES, CNPQ e FAPERGS pelo apoio financeiro e pela oportunidade de trilhar este caminho.*

*Muito obrigado!*

*“A imaginação é mais importante que a ciência, porque a ciência é limitada, ao passo que a imaginação abrange o mundo inteiro”.*

***Albert Einstein***



## RESUMO

No Brasil, o estado do Rio Grande do Sul se destaca pela grande produtividade e comercialização de uva e derivados. O consumo de derivados da uva vem crescendo a cada ano, muitas vezes associado às suas propriedades funcionais. Como consequência desse crescimento, eleva-se também a geração de resíduos, produzindo o bagaço que constitui cerca de 20 % do peso de uvas processadas. O bagaço é uma fonte de compostos bioativos, que se aproveitado corretamente teria um alto potencial de valor agregado. Sendo assim, o presente trabalho visou realizar a extração aquosa acidificada a 2 % de ácido cítrico do bagaço do suco de uva por extração assistida por ultrassom (EAU) e por micro-ondas (EAM) e o posterior encapsulamento por atomização e liofilização utilizando como materiais de parede a proteína isolada do soro de leite (WPI), goma arábica (GA) e pectina (Pec). Para EAU utilizou-se potências de 250, 350 e 450 W e tempos de 5, 10 e 15 min, e para EAM empregou-se potências de 600, 800 e 1000 W e tempos de 5, 7 e 10 min. A melhor condição de extração correspondeu a extração assistida por micro-ondas (1000 W × 10 min), com teores de  $6,68 \pm 0,05 \text{ mg}_{\text{EAG}} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{ms}}$ ,  $1,32 \pm 0,03 \text{ mg}_{\text{malvidina-3,5-diglicosido}} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{ms}}$ ,  $23,84 \pm 0,57 \mu\text{mol}_{\text{ET}} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{ms}}$  e  $33,27 \pm 2,00 \mu\text{mol}_{\text{ET}} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{ms}}$ , para compostos fenólicos totais, antocianinas monoméricas totais, atividade antioxidante por ABTS e por DPPH, respectivamente. Quando comparado à extração exaustiva com solução de metanol 80 % (v/v) acidificado com 1 % de HCl, as recuperações de compostos fenólicos, antocianinas, e atividade antioxidante por ABTS e DPPH foram de 21, 45, 23 e 36 %, respectivamente. Esse mesmo extrato (1000 W × 10 min) foi encapsulado por atomização (160 °C) e liofilização (-57 °C) utilizando-se dispersões com misturas de WPI, GA e Pec como materiais de parede nas proporções de 3:1 (WPI-GA) e de 3:1:1 (WPI-GA-Pec). Os pós obtidos por atomização e liofilização contendo misturas de WPI-GA apresentaram as maiores retenções de compostos fenólicos (2,66 e 2,42  $\text{mg}_{\text{EAG}} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{ms}}$ ), antocianinas monoméricas totais (0,346 e 0,353  $\text{mg}_{\text{malvidina-3,5-diglicosido}} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{ms}}$ ), atividade antioxidante por ABTS (8,23 e 8,32  $\mu\text{mol}_{\text{ET}} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{ms}}$ ) e DPPH (12,64 e 10,92  $\mu\text{mol}_{\text{ET}} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{ms}}$ ). Entretanto os testes acelerados de armazenamento conduzidos indicaram que os pós contendo pectina foram os mais estáveis com valores de 76 e 73 % de retenção de antocianinas para o pó atomizado e liofilizado, respectivamente, nas condições de 35 °C e 75 % de umidade relativa aos 28 dias de estocagem. Na simulação digestiva *in vitro* os pós contendo WPI-GA obtiveram as maiores liberações de antocianinas na fase intestinal.

**Palavras-chave:** bagaço de suco de uva, extração assistida por ultrassom, extração assistida por micro-ondas, antocianinas, microencapsulamento, estabilidade.

## ABSTRACT

The Rio Grande do Sul, a Brazilian state, stands out for the great productivity and commercialization of grapes and their products. The consumption of grape products has been growing every year, often associated with its functional properties. A consequence of this growth, the generation of waste is also increasing, producing pomace that constitutes about 20 % of the weight of grapes processed. The grape pomace is a source of bioactive compounds, which if properly utilized would have a high potential for added value. Therefore, the present work aimed to carry out the acidified aqueous extraction to 2 % of citric acid of the pomace of grape juice by ultrasonic assisted extraction (UAE) and by microwave assisted extraction (MAE) and the subsequent encapsulation by spray-drying and freeze-drying using as wall materials to whey protein isolate (WPI), gum arabic (GA) and pectin (Pec). Using UAE at 250, 350 and 450 W of power, and times of 5, 10 and 15 min, and when using MAE at 600, 800 and 1000 W power, and times of 5, 7 and 10 min. The best extraction condition corresponded to microwave assisted extraction (1000 W × 10 min), with contents of  $6.68 \pm 0.05 \text{ mg}_{\text{GAE}} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{db}}$ ,  $1.32 \pm 0.03 \text{ mg}_{\text{malvidin-3,5-diglucoside}} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{db}}$ ,  $23.84 \pm 0.57 \text{ } \mu\text{mol}_{\text{TE}} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{db}}$  e  $33.27 \pm 2.00 \text{ } \mu\text{mol}_{\text{TE}} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{db}}$ , for total phenolic compounds, total monomeric anthocyanins, antioxidant activity by ABTS and by DPPH, respectively. When compared to the exhaustive extraction with methanol solution 80 % (v / v) acidified with 1 % HCl, the recoveries of phenolic compounds, anthocyanins, and antioxidant activity by ABTS and by DPPH were 21, 45, 23 and 36 %, respectively. This same extract (1000 W × 10 min) was encapsulated by spray-drying (160 °C) and freeze-drying (-57 °C) using dispersions with mixtures of WPI, GA and Pec as wall materials in the proportions of 3: 1 (WPI-GA) and of 3: 1: 1 (WPI-GA-Pec). The WPI-GA powders obtained by spray-drying and freeze-drying showed the highest retention of phenolic compounds ( $2.66$  e  $2.42 \text{ mg}_{\text{GAE}} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{db}}$ ), total monomeric anthocyanins ( $0.346$  and  $0.353 \text{ mg}_{\text{malvidin-3,5-diglucoside}} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{db}}$ ), antioxidant activity by ABTS ( $8.23$  and  $8.32 \text{ } \mu\text{mol}_{\text{TE}} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{db}}$ ) and DPPH ( $12.64$  and  $10.92 \text{ } \mu\text{mol}_{\text{TE}} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{db}}$ ). However, the accelerated storage tests conducted indicated that powders pectin-containing were the most stable with values of 76 and 73 % anthocyanin retention for the spray and freeze-dried powder, respectively, at 35 °C and 75 % relative humidity during to 28 days of storage. In the *in vitro* digestive simulation, the WPI-GA powders obtained the highest releases of anthocyanins in the intestinal phase.

**Keywords:** grape juice pomace, ultrasonic assisted extraction, microwave assisted extraction, anthocyanins, microencapsulation, stability.

## LISTA DE FIGURAS

<b>FIGURA 1</b>	Compostos fenólicos totais (CFT) dos tratamentos com extração assistida por ultrassom (EAU), com extração assistida por micro-ondas (EAM) e com extração aquosa (EA). .....	<b>40</b>
<b>FIGURA 2</b>	Antocianinas monoméricas totais (AMT) dos tratamentos com extração assistida por ultrassom (EAU), com extração assistida por micro-ondas (EAM) e com extração aquosa (EA). .....	<b>42</b>
<b>FIGURA 3</b>	Atividade antioxidante pelo método do ABTS (A) e pelo método do DPPH (B) dos tratamentos com extração assistida por ultrassom (EAU) e com extração assistida por micro-ondas (EAM) e com extração aquosa (EA). .....	<b>44</b>
<b>FIGURA 4</b>	Diferença total de cor ( $\Delta E$ ) dos tratamentos com extração assistida por ultrassom (EAU), com extração assistida por micro-ondas (EAM) e com extração aquosa (EA) com valores de referência do bagaço de suco de uva (BSU). .....	<b>47</b>
<b>FIGURA 5</b>	Diferença total de cor ( $\Delta E$ ) do extrato aquoso do bagaço do suco de uva microencapsulado com proteína isolada do soro de leite (WPI), goma arábica (GA) e pectina (Pec) por atomização e liofilização, com relação ao extrato. ....	<b>63</b>
<b>FIGURA 6</b>	Análise termogravimétrica do extrato aquoso do bagaço do suco de uva microencapsulado com proteína isolada do soro de leite (WPI), goma arábica (GA) e pectina (Pec), por atomização e liofilização. ....	<b>64</b>
<b>FIGURA 7</b>	Microscopia eletrônica de varredura do extrato aquoso do bagaço do suco de uva microencapsulado com proteína isolada do soro de leite (WPI), goma arábica (GA) e pectina (Pec), por atomização e liofilização. ....	<b>66</b>
<b>FIGURA 8</b>	Espectroscopia no infravermelho com transformada de <i>Fourier</i> (FTIR) dos materiais de parede, do extrato aquoso do bagaço do suco de uva e de seus pós microencapsulados, por atomização e liofilização. ....	<b>67</b>
<b>FIGURA 9</b>	Efeito da temperatura e umidade relativa dos teores de compostos fenólicos totais (CFT) do extrato aquoso do bagaço do suco de uva microencapsulado por atomização em umidade relativa de 75 % (a) e de 90 % (b), e por liofilização em umidade relativa de 75 % (c) e de 90 % (d). ....	<b>71</b>
<b>FIGURA 10</b>	Efeito da temperatura e umidade relativa dos teores de antocianinas monoméricas totais (AMT) do extrato aquoso do bagaço do suco de uva microencapsulado por atomização em umidade relativa de 75 % (a) e de 90 % (b), e por liofilização em umidade relativa de 75 % (c) e de 90 % (d). ....	<b>73</b>
<b>FIGURA 11</b>	Efeito da temperatura e umidade relativa na atividade antioxidante por ABTS do extrato aquoso do bagaço do suco de uva microencapsulado por atomização em umidade relativa de 75 % (a) e de 90 % (b), e por liofilização em umidade relativa de 75 % (c) e de 90 % (d). ....	<b>75</b>

<b>FIGURA 12</b>	Efeito da temperatura e umidade relativa na atividade antioxidante por DPPH do extrato aquoso do bagaço do suco de uva microencapsulado por atomização em umidade relativa de 75 % (a) e de 90 % (b), e por liofilização em umidade relativa de 75 % (c) e de 90 % (d). .....	<b>76</b>
<b>FIGURA 13</b>	Percentual de liberação de antocianinas monoméricas totais (AMT) durante a simulação digestiva <i>in vitro</i> dos pós microencapsulados, onde a primeira e segunda hora correspondem a fase gástrica (boca e estômago) e a terceira e quarta hora correspondem a fase intestinal (intestino delgado). .....	<b>78</b>

## LISTA DE TABELAS

<b>TABELA 1</b>	Composição centesimal do bagaço do suco de uva (BSU). .....	<b>39</b>
<b>TABELA 2</b>	Parâmetros colorimétricos ( <i>L*</i> , <i>a*</i> , <i>b*</i> , <i>Hue</i> , <i>Chroma</i> ) dos extratos obtidos a partir do bagaço do suco de uva (BSU). .....	<b>46</b>
<b>TABELA 3</b>	Valores de umidade, atividade de água, solubilidade, higroscopicidade do bagaço do suco de uva microencapsulado com proteína isolada do soro de leite (WPI), goma arábica (GA) e pectina (Pec) por atomização e liofilização. ....	<b>61</b>
<b>TABELA 4</b>	Parâmetros colorimétricos ( <i>L*</i> , <i>a*</i> , <i>b*</i> , <i>Hue</i> , <i>Chroma</i> ) do extrato aquoso do bagaço do suco de uva microencapsulado com proteína isolada do soro de leite (WPI), goma arábica (GA) e pectina (Pec) por atomização e liofilização. ....	<b>62</b>
<b>TABELA 5</b>	Compostos fenólicos totais (CFT), antocianinas monoméricas totais (AMT) e atividade antioxidante (ABTS e DPPH) do extrato aquoso do bagaço do suco de uva microencapsulado com proteína isolada do soro de leite (WPI), goma arábica (GA) e pectina (Pec) por atomização e liofilização. ....	<b>69</b>
<b>TABELA 6</b>	Teores de compostos fenólicos totais (CFT), antocianinas monoméricas totais (AMT) e atividade antioxidante por ABTS e DPPH dos extratos obtidos a partir do bagaço do suco de uva (BSU). .....	<b>85</b>
<b>TABELA S1</b>	ANOVA para os fatores potência e tempo para as extrações assistida por ultrassom (EAU) (a) e por micro-ondas (EAM) (b) em relação a variável resposta de compostos fenólicos totais (CFT). .....	<b>100</b>
<b>TABELA S2</b>	ANOVA para os fatores potência e tempo para as extrações assistida por ultrassom (EAU) (a) e por micro-ondas (EAM) (b) em relação a variável resposta de antocianinas monoméricas totais (AMT). .....	<b>101</b>
<b>TABELA S3</b>	ANOVA para os fatores potência e tempo para as extrações assistida por ultrassom (EAU) (a) e por micro-ondas (EAM) (b) em relação a variável resposta de atividade antioxidante ABTS. ....	<b>102</b>
<b>TABELA S4</b>	ANOVA para os fatores potência e tempo para as extrações assistida por ultrassom (EAU) (a) e por micro-ondas (EAM) (b) em relação a variável resposta de atividade antioxidante DPPH. ....	<b>103</b>

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>16</b>
<b>1.1 Objetivos .....</b>	<b>18</b>
1.1.1 Objetivo geral .....	18
1.1.2 Objetivos específicos .....	18
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>20</b>
<b>2.1 Matéria-prima .....</b>	<b>20</b>
2.1.1 Uva .....	20
2.1.2 Resíduo do suco de uva .....	21
<b>2.2 Compostos bioativos .....</b>	<b>22</b>
2.2.1 Compostos fenólicos .....	22
2.2.2 Antocianinas .....	23
2.2.3 Atividade antioxidante .....	23
<b>2.3 Processos de extração .....</b>	<b>25</b>
2.3.1 Micro-ondas .....	25
2.3.2 Ultrassom .....	25
<b>2.4 Encapsulamento .....</b>	<b>26</b>
2.4.1 Material de parede .....	27
2.4.1.1 <i>Proteína isolada do soro de leite</i> .....	28
2.4.1.2 <i>Goma arábica</i> .....	28
2.4.1.3 <i>Pectina</i> .....	29
2.4.2 Atomização .....	30
2.4.3 Liofilização .....	30
<b>3 Artigo 01 – Extração assistida por micro-ondas e ultrassom de compostos bioativos do resíduo do processamento do suco de uva .....</b>	<b>32</b>
<b>RESUMO .....</b>	<b>32</b>
<b>3.1 Introdução .....</b>	<b>33</b>
<b>3.2 Material e métodos .....</b>	<b>35</b>
3.2.1 Matéria-prima .....	35
3.2.2 Caracterização do bagaço.....	35
3.2.3 Extração .....	36
3.2.4 Compostos fenólicos totais .....	36

3.2.5 Antocianinas monoméricas totais .....	36
3.2.6 Atividade antioxidante .....	37
3.2.7 Análise colorimétrica .....	38
3.2.8 Análise estatística .....	38
<b>3.3 Resultados e discussão .....</b>	<b>38</b>
3.3.1 Bagaço .....	38
3.3.2 Processo de extração .....	40
<b>3.4 Conclusão .....</b>	<b>48</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>49</b>
<b>4 Artigo 02 – Encapsulamento de compostos bioativos provenientes do resíduo do processamento do suco de uva com extração assistida por micro-ondas .....</b>	<b>52</b>
<b>RESUMO .....</b>	<b>52</b>
<b>4.1 Introdução .....</b>	<b>53</b>
<b>4.2 Materiais e métodos .....</b>	<b>54</b>
4.2.1 Materiais .....	54
4.2.2 Extração assistida por micro-ondas .....	55
4.2.3 Preparação dos pós microencapsulados .....	55
4.2.4 Análises químicas .....	56
4.2.5 Caracterização das micropartículas .....	57
4.2.5.1 Umidade e atividade de água ( $a_w$ ) .....	57
4.2.5.2 Solubilidade .....	57
4.2.5.3 Higroscopicidade .....	57
4.2.5.4 Rendimento de encapsulamento (RE) .....	58
4.2.5.5 Análise colorimétrica .....	58
4.2.5.6 Análise termogravimétrica (TGA) .....	58
4.2.5.7 Microscopia eletrônica de varredura (MEV) .....	59
4.2.5.8 Espectroscopia infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) .....	59
4.2.6 Estabilidade em condições aceleradas de armazenamento .....	59
4.2.7 Simulação digestiva <i>in vitro</i> .....	59
4.2.8 Análise estatística .....	60
<b>4.3 Resultados e discussão .....</b>	<b>60</b>
4.3.1 Caracterização das micropartículas .....	60
4.3.2 Análise colorimétrica .....	62

4.3.3 Análise termogravimétrica (TGA) .....	63
4.3.4 Microscopia eletrônica de varredura (MEV) .....	65
4.3.5 Espectroscopia de infravermelho com transformada de <i>Fourier</i> (FTIR) .....	66
4.3.6 Estabilidade dos compostos fenólicos em condições aceleradas durante o armazenamento .....	69
4.3.7 Simulação digestiva <i>in vitro</i> .....	77
<b>4.4 Conclusão .....</b>	<b>78</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>80</b>
<b>5 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>84</b>
<b>5.1 Discussão geral .....</b>	<b>84</b>
<b>5.2 Conclusão .....</b>	<b>88</b>
<b>5.3 Perspectivas .....</b>	<b>89</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>90</b>
<b>APÊNDICE A – TABELAS SUPLEMENTARES .....</b>	<b>100</b>



## 1 INTRODUÇÃO

No mundo, uma das culturas de frutas mais cultivadas é a uva com uma produção estimada em 77 milhões de toneladas por ano, que são consumidas *in natura* e, principalmente, utilizadas na produção de bebidas, tais como, vinhos, sucos e seus subprodutos (Faostat, 2016; Barba et al., 2016). No Brasil, a região sul se destaca pela grande produtividade e comercialização de uva e derivados, sendo o estado do Rio Grande do Sul responsável por cerca de 90 % da produção nacional de vinhos e, ainda, segundo dados do Instituto Brasileiro do Vinho (IBRAVIN) com uma safra de uvas onde foram colhidas cerca de 753 mil toneladas no ano de 2017. A cada ano vem crescendo o consumo de derivados da uva, muitas vezes por estar associado às suas propriedades funcionais, visto que possuem grande quantidade de compostos bioativos com alto teor de antioxidantes (Teixeira et al., 2014; Barba et al., 2016). Como consequência desse crescimento, eleva-se também a geração de resíduos, destacando-se os provenientes de vinícolas, uma vez que cerca de 60 % da produção de uvas é destinada à vitinificação gerando um resíduo de bagaço de cerca de 20 % do peso de uvas processadas do vinho total produzido (Lafka et al., 2007; Teixeira et al., 2014; Muhlack et al., 2018). Da mesma forma, os resíduos também podem ser fontes de compostos bioativos com alto potencial de valor agregado (Aliakbarian et al., 2012; Beres et al., 2017).

Dentre os compostos bioativos de maior interesse na uva e seus derivados, se destacam as antocianinas, que são um subgrupo dos compostos fenólicos, cujas moléculas são abundantes no meio vegetal e relativamente simples, as quais possuem um ou mais anéis aromáticos ligados a um ou mais grupos oxidrílicos chamados grupos fenólicos (Acosta-Estrada et al., 2014; Sri Harsha et al., 2014; Tournour et al., 2015). Muitas vezes as antocianinas podem estar glicosiladas a açúcares ou fibras junto a matriz celular, assim como podem estar de forma livre no citoplasma e/ou nos vacúolos das células vegetais (Fraga, 2009). Esses compostos são importantes antioxidantes para o organismo humano, pois agem como sequestradores de radicais livres, diminuindo o estresse oxidativo no organismo, e consequentemente podendo retardar o envelhecimento precoce e o aparecimento de algumas doenças crônicas, inflamatórias e neoplasias malignas (Acosta-Estrada et al., 2014). Entretanto, as antocianinas, quando extraídas de suas matrizes naturais, são altamente instáveis frente às condições presentes nos processamentos de alimentos, como altas temperaturas, presença de luz, oxigênio e enzimas oxidativas (Santos, 2003; Fernandes et al., 2014).

Com o intuito de diminuir a degradação das antocianinas durante a extração pelo efeito do uso do calor, podem ser utilizados métodos de extração alternativos aos convencionais que

tenham potencial de serem eficientes e sustentáveis tanto do ponto de vista econômico quanto ambiental (Cai et al., 2016; Barba et al., 2016). Métodos de extração convencional utilizam diferentes tipos de solventes orgânicos, altas temperaturas e longos períodos, ocasionando altos custos de produção (Barba et al., 2016; Bonfigli et al., 2017). O interesse na extração assistida por micro-ondas e ultrassom tem aumentado nos últimos anos para separação de compostos fenólicos e, em especial, as antocianinas que, por serem hidrossolúveis, podem também ser extraídas em meio aquoso (Pietta, 2000; Acosta-Estrada et al., 2014). Essas tecnologias de extração assistida se baseiam na penetração de ondas na matriz celular, levando a ruptura celular e a consequente liberação dos compostos fitoquímicos (Liazid et al., 2011; Mane et al., 2015; Rodrigues et al., 2015). A ação das micro-ondas, que são ondas eletromagnéticas, ocorrem com a penetração na matriz dos alimentos provocando uma intensa rotação molecular de dipolos como a água, polarização de íons, fazendo com que haja uma condução iônica e assim, o aquecimento do alimento pela transferência de calor (Barba et al., 2016; Khan et al., 2018). No caso das ondas de ultrassom, as ondas mecânicas se propagam pelo alimento e provocam o fenômeno de cavitação, onde picos de compressão seguidos de picos de expansão formam bolhas que ao entrarem em colapso produzem energia capaz de romper a matriz celular aumentando a difusividade mássica e melhorando a penetração do solvente extrator através do efeito de sonocapilares (Pingret et al., 2013; Sharmila et al., 2016). Estudos ressaltam que com o uso desses métodos, os tempos de extração e a exposição às altas temperaturas podem ser significativamente reduzidos e otimizados, economizando tempo e energia, quando comparado a tecnologias convencionais de separação. Com um menor tempo de exposição ao calor e a altas temperaturas os compostos bioativos, em especial as antocianinas, são mais facilmente preservados visto que são espécies químicas termossensíveis (Fernandes et al., 2014).

Contudo, após a extração dos compostos bioativos, um dos métodos usados para o isolamento e proteção das antocianinas é a microencapsulação, onde os compostos de interesse são envoltos em materiais de parede apropriados. Há diferentes métodos de encapsulamento, dentre os quais estão a atomização e a liofilização. Em relação aos materiais de parede empregados, existem diversos tipos de agentes encapsulantes que para serem aplicados em alimentos, deve-se levar em consideração as propriedades físicas e químicas do encapsulado, da aplicação pretendida, do método utilizado para formar as partículas e a importância do sistema de liberação (Schaffazick et al., 2003; De Souza et al., 2015). Além das propriedades inerentes ao sistema das micropartículas, os encapsulantes empregados podem contemplar propriedades benéficas à saúde humana, ou seja, que agregue valor funcional ao alimento, podendo-se utilizar para esse fim proteínas com alto valor nutricional, assim como, fibras

solúveis com características prebióticas (Aizpurua-Olaizola et al., 2016). As proteínas isoladas do soro de leite (WPI, da sigla em inglês *whey protein isolate*) possuem frações peptídicas como fonte de aminoácidos essenciais que estimulam a síntese proteica no metabolismo humano (Flores et al., 2014b). A utilização da WPI como material de parede auxilia a estabilização estrutural das micropartículas devido a sua estrutura globular, e sua característica catiônica em pH ácido facilita as ligações com polissacarídeos com características aniônicas, tais como, a goma arábica e a pectina, formando assim um material de parede com complexas ligações proteína-polissacarídeo favorecendo o microencapsulamento (Gharsallaoui et al., 2007; Eratte et al., 2014; Flores et al., 2014b; Chung et al., 2015).

Sendo assim, torna-se importante avaliar a extração de compostos bioativos provenientes do resíduo do processamento do suco de uva com métodos que priorizem a preservação dos compostos termolábeis e a minimização do impacto ambiental que é gerado pela utilização de solventes orgânicos. As tecnologias não convencionais para extração dos compostos bioativos serão a de micro-ondas e a de ultrassom. Para aumentar a estabilidade dos compostos utilizar-se-á o método de encapsulamento por técnica de atomização e de liofilização empregando como agentes encapsulantes a proteína isolada do soro de leite, goma arábica e pectina.

## 1.1 Objetivos

### 1.1.1 Objetivo geral

Avaliar a extração dos compostos bioativos, provenientes do bagaço da produção de suco de uva separados por extração assistida por micro-ondas (EAM) e ultrassom (EAU) e o encapsulamento por atomização e liofilização dos mesmos, utilizando diferentes materiais de parede.

### 1.1.2 Objetivos específicos

- quantificar os compostos bioativos extraídos do bagaço da indústria de suco de uva empregando solvente aquoso acidificado;
- realizar extrações por EAM nas potências de 600, 800 e 1000 W, durante os tempos de 5, 7 e 10 min;

- realizar extrações por EAU nas potências de 250, 350 e 450 W, durante os tempos de 5, 10 e 15 min;
- definir as melhores condições de extração dentre os tratamentos de EAM e EAU;
- obter pós microencapsulados através da atomização, a 160 °C, e da liofilização, a -57 °C, mediante uso da proteína isolada do soro de leite (WPI), da goma arábica (GA) e da pectina (Pec) como materiais de parede nas proporções de 3:1 (WPI-GA) e 3:1:1 (WPI-GA-Pec);
- avaliar as características físico-químicas e estruturais dos pós microencapsulados, assim como sua estabilidade em condições aceleradas de armazenamento, sob temperatura de 35 e 55 °C e umidade relativa de 75 e 90 % durante 4 semanas;
- avaliar os pós microencapsulados sob efeito da simulação digestiva *in vitro*.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Matéria-prima

#### 2.1.1 Uva

A uva é uma fruta não-climatérica que apresenta baixas taxas respiratórias no pós-colheita e normalmente possui forma ovalada ou esférica com tamanhos variados conforme o grau de maturação (Yamashita et al., 2000). As condições geográficas e climáticas e o período de colheita exercem forte influência sobre o fruto, principalmente no teor de açúcares (Makris et al., 2007). Outros fatores extrínsecos como o manejo, os tipos de solo, entre outros, também afetam a composição dos frutos.

No mundo, a uva é uma das culturas de frutas mais cultivadas com uma produção estimada em 77 milhões de toneladas por ano, que são consumidas *in natura* e, principalmente, utilizadas na produção de bebidas, tais como, vinhos, sucos e seus subprodutos (Faostat, 2016; Barba et al., 2016). As primeiras variedades de uva do tipo *Vitis vinifera* foram introduzidas no Brasil pelos portugueses, no século XVI; essas uvas eram utilizadas para fabricação de vinhos finos oriundas da Europa. No sul do Brasil as primeiras videiras foram trazidas e cultivadas pelos jesuítas na região das Missões, porém, o início da produção em grande escala se dá com a chegada dos imigrantes italianos em 1875 no Rio Grande do Sul (Ibravin, 2016). Diferentes espécies, *V. labrusca*, *V. rotundifolia*, *V. riparia* e *V. aestivalis*, são utilizadas como uvas para consumo *in natura* assim como na produção de sucos, geleias, vinhos, espumantes, vinagres, passas, dentre outros. O estado do Rio Grande do Sul é responsável por cerca de 90 % da produção nacional de vinhos e, ainda, segundo dados do Instituto Brasileiro do Vinho (IBRAVIN) na safra de uvas em 2017 foram colhidas cerca de 753 mil toneladas no ano.

O agradável sabor impulsiona o consumo de uva e seus subprodutos no mundo e, da mesma forma, os benefícios à saúde ao qual está relacionada vêm sendo comprovado por inúmeras pesquisas científicas (Shrikhande, 2000; Aliakbarian et al., 2012; Maragkoudakis et al., 2013; Stafussa et al., 2016). As propriedades funcionais as quais a uva e seus derivados estão relacionados se deve a presença de inúmeros compostos bioativos, tais como os compostos fenólicos que exercem papel antioxidante no metabolismo humano (Acosta-Estrada et al., 2014). Na polpa são encontrados açúcares fermentescíveis, tais como, a glicose e frutose, ácidos orgânicos, dentre os quais os ácidos tartárico, málico e cítrico, além de minerais, aminoácidos essenciais, vitaminas e compostos fenólicos. Enquanto na casca, semente e engaço

se concentram ácidos graxos, pectina, fibras e uma parte dos compostos fenólicos principalmente por estarem muito associados à matriz das paredes celulares (Monagas et al., 2005; Rizzon e Meneguzzo, 2007; Acosta-Estrada et al., 2014).

O conteúdo de compostos fenólicos dos frutos está condicionado normalmente a sua concentração e biodisponibilidade que estão diretamente ligadas à genética do vegetal, com as condições edáfico-climáticas do cultivo, e com as adversidades em que a atividade agrícola está exposta (Poser e Mentz, 2003).

### 2.1.2 Resíduo do suco de uva

A produção de suco de uva pode gerar, assim como na produção de vinho, aproximadamente 20 % em bagaço, semente e engaço (Teixeira et al., 2014). Os frutos são separados do engaço e prensados com o intuito de romper as cascas e liberar o líquido contido no interior da fruta sem que haja a fermentação (Teixeira et al., 2014; Barba et al., 2016). Da mesma forma que a uva, os resíduos têm valor de alimento funcional, pelo alto conteúdo de compostos bioativos, podendo ser considerados como fontes secundárias de compostos funcionais de alto valor agregado (Sri Harsha et al., 2014).

Na fabricação de suco de uva integral os frutos são separados do engaço no recebimento da matéria-prima, em seguida, transportadas por um sistema de rosca sem fim para um equipamento onde os frutos serão esmagados (Rizzon e Meneguzzo, 2007; Teixeira et al., 2014; Barba et al., 2016). Com o auxílio da elevação da temperatura, em uma faixa de 65 °C a 90 °C, haverá a extração do mosto em um termo-macerador. Assim que há o rebaixamento da temperatura para uma faixa de 55 a 60 °C, a adição de enzimas pectinolíticas em um tanque enzimático durante uma a duas horas se faz necessário para que haja uma melhor extração, uma intensificação na cor e haja, ainda, uma diminuição da viscosidade do mosto. Após a retenção, o mosto é transportado para um separador dinâmico onde o suco é separado por gravidade da parte sólida. O suco seguirá no processo de clarificação com uma despectinização, filtração e uma estabilização tartárica, pasteurização e engarrafamento. Enquanto a parte sólida do mosto, o bagaço, será transportado para uma prensa descontínua e descartado como resíduo, muitas vezes, sendo utilizado como adubo ou simplesmente descartado de maneira inadequada (Rizzon e Meneguzzo, 2007).

## 2.2 Compostos bioativos

### 2.2.1 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos possuem em comum um ou mais anéis aromáticos ligados diretamente com um ou mais grupos oxidrílicos (Acosta-Estrada et al., 2014); são considerados metabólitos secundários produzidos pelos vegetais durante seu desenvolvimento natural que podem estar agindo como agentes protetores às ações adversas do ambiente ou ainda auxiliam na fixação e reserva de micronutrientes (Naczk e Shahidi, 2004).

Os polifenóis são substâncias que pertencem a um grupo muito diversificado de fitoquímicos derivados de fenilalanina e tirosina, que englobam tanto moléculas simples como complexas com alto grau de polimerização (Sahidi et al., 1992; Naczk e Shahidi, 2004). Em plantas, compostos fenólicos atuam normalmente como fitoalexinas, antifedantes, atrativos para polinizadores, pigmentação das plantas, antioxidantes, agentes de proteção contra radiação solar, entre outros (Sahidi et al., 1992). Estão presentes nas células vegetais na forma livre armazenados nos vacúolos, assim como complexados à matriz das paredes celulares (Acosta-Estrada et al., 2014; Fernandes et al., 2014).

Nos alimentos, as substâncias fenólicas são responsáveis pela cor, sabor adstringente, aroma e estabilidade oxidativa dos mesmos. Também agem como antioxidantes, pois são estabilizadores de radicais livres, apresentando eficiência na prevenção da auto-oxidação, ainda incluindo ações benéficas auxiliando na prevenção de doenças associadas ao estresse oxidativo (Kaur e Kapoor, 2001; Naczk e Shahidi, 2004; Acosta-Estrada et al., 2014; Fernandes et al., 2014).

Os fenóis podem ser classificados em não-flavonoides, dentre eles os ácidos fenólicos, os estilbenos, as cumarinas e os taninos; e os flavonoides que pode ser subdividido em seis subclasses: flavonois, flavonas, flavan-3-óis, flavononas, isoflavonoides e antocianidinas (Fraga, 2009; Acosta-Estrada et al., 2014). Na uva, os polifenóis mais comumente encontrados de não-flavonoides são os estilbenos, principalmente o resveratrol; ácidos fenólicos e ácidos hidroxicinâmicos, principalmente o ácido *p*-cumárico e ácido cafeico. Dentre os flavonoides mais encontrados na uva estão as antocianinas malvidina, cianidina, petunidina, peonidina e delfinidina; flavan-3-óis catequinas monoméricas, proantocianidinas; e flavonois miricetina, quercetina, kaempferol, isoramnetina (Monagas et al., 2005; Obreque-Slier et al., 2010)

### 2.2.2 Antocianinas

São moléculas com ordem de tamanho de nanopartículas que variam de 1 nm a 100 nm (Schaffazick et al., 2003). Dentre os compostos fenólicos, as antocianinas são responsáveis pela coloração, que passa pelo espectro do vermelho ao violeta característico das uvas. As antocianinas são compostos hidrossolúveis com capacidade antioxidante originárias do metabolismo secundário dos vegetais e normalmente a sua concentração e biodisponibilidade estão diretamente ligadas à característica do vegetal e ao meio no qual é cultivada (Poser e Mentz, 2003; Santos, 2003).

São pigmentos hidrossolúveis armazenados naturalmente nos vacúolos celulares e as principais funções em frutos e flores são atrair polinizadores, assim como, proteger os tecidos de reações oxidativas em diferentes etapas do ciclo de vida da planta (Sies, 2007; Fernandes et al., 2014). Quando extraídas, a estabilidade das moléculas de antocianinas pode ser facilmente debilitada por diferentes fatores, tais como, a exposição à luz e ao oxigênio, altas temperaturas, íons metálicos, mudanças de pH, entre outros (Giusti e Wrolstad, 2003).

As antocianinas apresentam seis formas comumente encontradas em frutas: cianidina, delphinidina, malvidina, pelargonidina, peonidina e petunidina; naturalmente apresentam-se na forma glicosilada a grupo de açúcares e ácidos orgânicos alifáticos (Fernandes et al., 2014). Geralmente os carboidratos presentes nas antocianinas são a glicose, frutose, ramnose, galactose, arabinose e xilose (Zhang e Hamazu, 2004; Fernandes et al., 2014). Nas uvas, as antocianinas são as principais responsáveis pela coloração, encontrando-se em maior concentração nas cascas como monoglicosídeos de malvidina, cianidinas, petunidinas, peonidinas e delphinidinas (Monagas et al., 2005; Obreque-Slier et al., 2010; Fernandes et al., 2014).

### 2.2.3 Atividade antioxidante

Antioxidantes são quaisquer substâncias presentes em baixas concentrações em relação aos substratos oxidáveis, que possuem a habilidade de retardar parcialmente ou completamente oxidação dos mesmos (Bianchi e Antunes, 1999). Os antioxidantes neutralizam as espécies reativas de oxigênio doando um de seus próprios elétrons, findando a ação de oxidação. No entanto, os antioxidantes não se tornam radicais livres, pois são moléculas mais estáveis em ambas as formas (Kaur e Kapoor, 2001).



O conjunto dos antioxidantes é heterogêneo, contém compostos de diferentes grupos, como as vitaminas, proteínas e peptídeos, carotenoides, flavonoides e outros compostos fenólicos, terpenos e tocoferóis (Kaur e Kapoor, 2001; Martínez-Valverde et al., 2002; Acosta-Estrada et al., 2014).

Antioxidante como aditivo alimentar é a substância que retarda o aparecimento de alterações oxidativas nos alimentos. São substâncias usadas para preservar alimentos por retardar a rancificação, deterioração ou descoloração causada pela oxidação (Coultate, 2016). Em geral, assim como os antioxidantes naturais, os sintéticos são classificados como antioxidantes primários, sinérgicos e secundários; e necessitam ser inócuos, ativos em baixas concentrações e podem ser lipossolúveis para acumular-se em camadas lipídicas (Belitz, 1992; Madhavi e Salunkhe, 1995).

Diferentes técnicas são utilizadas para mensurar a atividade antioxidante de alimentos. A concepção dessas análises originalmente é especificamente da área química que, mais tarde, passou a fazer parte da biologia, medicina, epidemiologia e nutrição (Floegel et al., 2011). Existem diferentes métodos para avaliar a atividade antioxidante, e uma das estratégias mais adotadas consiste em determinar a atividade de antioxidante frente a descoloração de substâncias radicalares (Brand-Williams et al., 1995; Re et al., 1999; Prieto et al., 1999; Kim et al., 2002). No entanto, as determinações de atividade antioxidante *in vitro* são apenas aproximações do que ocorre em situações complexas *in vivo* (Kukoski et al., 2005).

Diversos compostos cromógenos são utilizados para determinação da capacidade antioxidante dos alimentos, tais como, o ABTS, 2,2'-azino-bis(ácido 3-etilbenzotiazolína-6-sulfônico), que tem uma coloração verde-azulada no comprimento de onda de 734 nm (Re et al. 1999; Kim et al., 2002; Floegel et al., 2011), o DPPH, 2,2-difenil-1-picrihidrazil, com sua forma radicalar absorvendo em um comprimento de onda de 515 com uma coloração lilás (Brand-Williams et al., 1995), entre outros. Kukoski et al. (2005) afirma que a capacidade antioxidante de uma amostra vai depender da natureza de seus compostos bioativos, uma vez que, os compostos podem interagir sinérgicamente ou inibitoriamente tanto como antioxidantes quanto como pró-oxidantes. Se considerarmos os diferentes tipos de extração com os diferentes tipos de sensibilidade de radicais, as análises de capacidade antioxidante são bastante desafiadoras do ponto de vista da padronização de técnicas (Thaipong et al., 2006; Acosta-Estrada et al., 2014).

## 2.3 Processos de extração

### 2.3.1 Micro-ondas

As micro-ondas são ondas eletromagnéticas com uma faixa de frequência entre 300 MHz a 300 GHz. A extração assistida por micro-ondas (EAM) está baseada na transferência de calor pela polarização molecular que gera a condução iônica e a rotação molecular (Kappe et al., 2009; Barba et al., 2016).

Os princípios envolvidos no aquecimento por micro-ondas fazem referência a alguns conceitos físicos e químicos, tais como temperatura, ligação química, estrutura molecular, momento de dipolo, polarização, capacidade calorífica e constante dielétrica (Rosini et al., 2004). Muitas moléculas polares, assim como a água, que possuem cargas parciais positivas e negativas em extremidades opostas, rotacionam à medida que há a incidência das micro-ondas na tentativa de alinhar-se ao campo elétrico formado pelas mesmas (Vallejo et al., 2003; Inglett et al., 2010). A movimentação a nível molecular e o atrito entre as moléculas faz com que haja a transformação da energia das ondas eletromagnéticas em energia térmica, aumentando a temperatura da matriz. Com o aumento da temperatura, há um aumento da pressão interna da solução, resultando no aumento da difusão e transferência do solvente através da matriz celular, e com a conseqüente dissolução dos solutos da matriz no solvente (Watanabe et al., 1998; Barba et al., 2008; Barba et al., 2016).

Dessa forma, o uso das micro-ondas, ocasiona a aceleração e um alto rendimento de extração (Chemat e Esveld, 2001). Além disso, na extração convencional o calor é transferido de um fluido quente para o interior da amostra, já na extração por micro-ondas, o calor é dissipado volumetricamente no interior do meio irradiado (Wu et al., 2012).

### 2.3.2 Ultrassom

O ultrassom é uma onda mecânica, estabelecida a partir de 20 kHz, que se propaga em um meio físico pelo processo de compressão e expansão (Piyasena et al., 2003). Um dos fenômenos produzidos na propagação do ultrassom em líquidos é o fenômeno de cavitação (Esclapez et al., 2011; Barba et al., 2016). A cavitação ocasiona a formação de cavidades, para onde os gases dissolvidos no sistema migram, formando microbolhas, que aumentam e diminuem de tamanho, gerando ciclos de expansão e compressão até que as bolhas entrem em

colapso e se rompem, liberando grande quantidade de energia em forma de calor e exercendo um elevado aumento de pressão (Chen et al., 2015; Rodrigues et al., 2015).

Devido à turbulência gerada pelo fenômeno de cavitação, ocorrem colisões moleculares no meio de propagação fazendo com que células vegetais sejam rompidas, facilitando a difusão do solvente extrator para o interior da matriz através de canais e poros formados (Mane et al., 2015; Chemat et al., 2017). Além disso, o calor liberado na cavitação aumenta a solubilidade dos analitos, favorecendo o aumento da eficiência de extração (Rodrigues et al., 2015; Barba et al., 2016).

A cavitação também pode ser influenciada por fatores como a intensidade da aplicação da potência do ultrassom, presença de gases, tamanho de partículas presentes na solução, pressão externa aplicada, viscosidade, tensão superficial e pressão de vapor do solvente (Cárcel et al., 2012). A extração assistida por ultrassom não interage diretamente com as moléculas para induzir a transformação química pois seu comprimento de onda é longo em comparação com a frequência das moléculas. Ao invés disso, a energia liberada pela cavitação gera extremos de temperatura e pressão na solução onde as reações químicas podem ocorrer (Chemat et al., 2011; Mane et al., 2015; Pradal et al., 2016). O ultrassom também pode romper camadas de material inerte aumentando a superfície de contato e as reações podem ocorrer mais facilmente (Wang et al., 2008; Wu et al., 2015).

A extração assistida por ultrassom (EAU) pode ser considerada um método não-convencional que vem demonstrando eficiência na extração de compostos bioativos. As vantagens da EAU podem ser o menor consumo de reagentes e menores tempos de extração minimizando, assim, o gasto energético frente aos métodos de extração convencionais (Chemat et al., 2011; Ahmad-Qasem et al., 2013; Wu et al., 2015; Barba et al., 2016; Chemat et al., 2017).

## **2.4 Encapsulamento**

Quando compostos bioativos são extraídos de células vegetais, a estabilidade dessas moléculas pode ser facilmente debilitada por diferentes fatores, tais como, a exposição à luz e ao oxigênio, altas temperaturas, íons metálicos, mudanças de pH, entre outros fatores extrínsecos que estarão expostas (Giusti e Wrolstad, 2003). Um dos métodos usados para proteção dos compostos bioativos é a microencapsulação, onde os compostos de interesse são envoltos como material de núcleo por materiais de parede que atuam de maneira protetiva às adversidades ambientais, tais como, efeitos de degradação pela luz, umidade e oxigênio, com o

intuito de entregá-los ao consumidor final com mínima degradação (Schaffazick et al., 2003; Garofulić et al., 2017).

Assim, o encapsulamento contribui para prolongar a vida útil do produto protegendo os compostos bioativos contra degradação durante o armazenamento e mantendo sua funcionalidade e suas qualidades organolépticas (Garofulić et al., 2017). Diferentes métodos de encapsulamento e materiais de parede podem ser empregados para aplicação em alimentos, levando-se em consideração as propriedades físicas e químicas do encapsulado, da aplicação pretendida, do método utilizado para formar as partículas e a importância do sistema de liberação (Schaffazick et al., 2003; De Souza et al., 2015). Desta forma, o encapsulamento pode aumentar a eficácia de compostos funcionais que normalmente possuem menor estabilidade em comparação a ingredientes sintéticos similares (Aizpurua-Olaizola et al., 2016; Garofulić et al., 2017).

#### 2.4.1 Material de parede

O material encapsulante é selecionado em função das propriedades físicas e químicas do agente ativo, da aplicação pretendida e do método utilizado para formar as partículas (Costa et al., 2012). Características físico-químicas do polímero de parede, como a solubilidade, massa molar, transição vítrea, cristalinidade, viscosidade, higroscopicidade, solubilidade e difusividade, são parâmetros importantes na escolha de um polímero como material de parede desejado (Desai e Park, 2005; Gharsallaoui et al., 2007). A partícula formada deve apresentar algumas propriedades, como flexibilidade, resistência, impermeabilidade, estabilidade, e promover a liberação controlada do material encapsulado (Venkatesan et al., 2009; García-Saldaña et al., 2016).

Os materiais mais utilizados como encapsulantes compreendem os carboidratos (amidos, dextrinas, xarope de milho, sacarose, pectina), celuloses (carboximetilcelulose, etil, metil, acetil e nitrocelulose), gomas (arábica, guar, alginato de sódio, carragena), lipídeos (cera, parafina, triestearina, ácido esteárico, mono e diglicerídeos, óleos e gorduras hidrogenadas) e proteínas (glúten, caseína, isolado proteico do soro de leite, gelatina, albumina e quitosana) (Shahidi e Han, 1993; Souza et al., 2012; Mahdavi et al., 2016). Os agentes de encapsulação podem ser utilizados sozinhos ou em combinação e a composição ideal é definida para cada processo de microencapsulação particularmente (Fernandes et al., 2012). Segundo García-Saldaña et al. (2016), a encapsulação com uma mistura de polímeros deve-se levar em

consideração as cargas polares no solvente da solução, como a dispersão é preparada, o agente encapsulado e a estabilidade da micropartícula.

#### 2.4.1.1 Proteína isolada do soro de leite

O soro de leite é o principal resíduo gerado na indústria de laticínios obtido no processo de coagulação do leite. O resíduo representa cerca de 85 % do leite e detém aproximadamente 50 % dos nutrientes presente no volume de leite (Brandelli et al., 2015). O soro é constituído de lactose, proteínas solúveis, sais minerais e vitaminas hidrossolúveis. A proteína isolada do soro de leite (WPI, da sigla em inglês *whey protein isolate*) representa cerca de 20 % das proteínas totais do leite e são constituídas principalmente, por  $\beta$ -lactoglobulina e  $\alpha$ -lactoalbumina, e ainda por menores proporções de albumina do soro bovino, imunoglobulinas glicomacropéptido e sub frações, como lactoferrina, lisozima, lactoperoxidase, entre outras (Brandelli et al., 2015).

A WPI apresenta uma conformação globular contendo aminoácidos sulfurados capazes de formar ligações de pontes de dissulfeto auxiliando na estabilidade estrutural das moléculas. Quando expostas a altas temperaturas e pressões são suscetíveis à desnaturação e agregação, também possui boa solubilidade em diferentes pH (Brandelli et al., 2015). Sendo utilizado em larga escala industrial como ingrediente que confere propriedades técnico-funcionais aos produtos alimentícios devido ao seu alto valor funcional e nutritivo, e capacidade de formação de géis e emulsões, proporcionando melhores ligações entre compostos bioativos, tais como, os compostos fenólicos (Eratte et al., 2014).

As dispersões e géis formados para o encapsulamento com WPI podem sofrer hidrólise se expostos em diferentes temperaturas e pH, auxiliando a liberação controlada de substâncias bioativas ligadas às proteínas, assim como, a geração de peptídeos que por si só tem funcionalidade no organismo humano (Flores et al., 2014b; Brandelli et al., 2015; Chung et al., 2015).

#### 2.4.1.2 Goma arábica

A goma arábica ou goma acácia provém da exsudação do tronco da árvore acácia, *Acacia senegal* e *Acacia seyal*, das quais comumente encontradas em regiões tropicais e subtropicais, sendo originária da região subsaariana (García-Saldaña et al., 2016). Trata-se de um polissacarídeo altamente ramificado, arabinogalactanas ácidas com composições variadas

de D-galactose, L-arabinose, ácido D-galacturônico, L-ramnose, ácido 4-O-metil-D-glucurônico. Contendo cadeias unidas por ligações  $\beta(1\rightarrow3)$  e ramificações  $\beta(1\rightarrow6)$ , podendo ainda conter frações de glicoproteínas junto às suas ramificações com ligações glicosídicas e peptídicas (Ali et al., 2013; Damodaran et al., 2008).

De modo geral, são utilizadas como agentes espessantes substitutos para o amido e, também, com frequência podem ser utilizados como auxiliadores na estabilização de dispersões. Possui boa solubilidade em água possuindo baixa viscosidade quando em soluções (García-Saldaña et al., 2016; Damodaran et al., 2008). A goma arábica pode ser caracterizada como fibra alimentar tendo efeitos benéficos para saúde no organismo humano (Glover et al., 2009; Kuck e Noreña, 2016). O efeito emulsificante faz com que a goma traga benefícios ao sistema digestório com ação hipocolesterolêmica, hipoglicêmica e bifidogênica, pois favorece a qualidade da microbiota e, além disso, a capacidade de retenção de água melhora a qualidade das fezes do indivíduo (Glover et al., 2009).

#### 2.4.1.3 Pectina

As pectinas são polissacarídeos constituídos por ácidos poligalacturônicos com conteúdo variado de ésteres metílicos. São constituintes das paredes celulares e da lamela média dos tecidos vegetais. A estrutura principal da pectina se caracteriza por longas cadeias lineares com ligações  $\alpha(1\rightarrow4)$  e pelo alto ou baixo grau de metoxilação devido aos grupos carboxilas esterificados com metanol e por ligações glicosídicas com açúcares neutros como L-ramnose, D-glicose, D-galactose, L-arabinose e D-xilose (Souza et al., 2012; Damodaran et al., 2008).

Possui boas características de formação de géis em pH ácidos e presença de açúcares, onde a formação de zonas de junção que inúmeras ligações de pontes de hidrogênio são formadas atuando cooperativamente para formação de uma estrutura cristalina estável (Coultrate, 2016; García-Saldaña et al., 2016). A pectina pode aumentar a estabilidade durante o encapsulamento das antocianinas pela interação molecular de ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas auxiliando a preservação da cor (Chung et al., 2015) A pectina tem funcionalidade de fibras dietéticas, visto que pode passar pelo sistema digestório tendo um efeito hipocolesterolêmico e hipoglicêmico (Souza et al., 2012; Damodaran et al., 2008).

#### 2.4.2 Atomização

O método de encapsulação por atomização ou *spray-drying*, consiste em aspergir a solução na forma de gotículas ao mesmo tempo que há uma circulação forçada de ar quente para que a solução seja desidratada quase que instantaneamente (Vos et al., 2010; Shishir e Chen, 2017). Na indústria é comumente utilizado para secagem e microencapsulação de alimentos (Murúa-Pagola et al., 2009; Ahmed et al., 2010), principalmente pelas inúmeras vantagens que apresenta, como o baixo custo de produção, as variedades de materiais encapsulantes, a boa retenção de compostos voláteis, a boa estabilidade dos encapsulados e a produção em larga escala em modo contínuo (Desobry e Debeaufort, 2011; Shishir e Chen, 2017).

Os parâmetros de atomização, tais como as vazões de alimentação de ar e da amostra assim como as temperaturas de entrada e saída da corrente de ar, influenciam importantes propriedades do material seco como a densidade, o formato, a distribuição de tamanho, a quantidade de ar ocluso e o teor final de umidade (Silveira et al., 2013). Além desses parâmetros, dois fatores devem ser levados em consideração indicativos de qualidade e estabilidade dos produtos em pó que são a temperatura de transição vítrea e a geração de cargas eletrostáticas durante a secagem (Shishir e Chen, 2017). Esses fatores são uma mudança abrupta de viscosidade do material disperso em soluções aquosas ocasionadas pela mudança de temperatura ou da concentração de solvente, fazendo com que a adesividade do produto seja causadora de baixos rendimentos do processo e gerar problemas com a higroscopicidade e baixa solubilidade dos pós (Tonon et al., 2008; Fazaeli et al., 2012; Shishir e Chen, 2017).

Dessa forma, as funções básicas da atomização são proporcionar uma elevada taxa de secagem e produzir partículas com formato, tamanho e densidade com magnitudes controladas e desejadas (Schuck et al., 2012).

#### 2.4.3 Liofilização

A liofilização ou *freeze-drying* consiste em um processo de secagem de um produto previamente congelado no qual a maior parte do solvente é removido por sublimação (Ballesteros et al., 2017). Este processo envolve duas etapas, primeiramente há um congelamento rápido do produto para favorecer a formação de pequenos cristais de gelo e em uma segunda etapa o gelo sublima e as moléculas de água ligada são removidas do material por dessorção (Neves et al., 2002; Ballesteros et al., 2017; Bora et al., 2018).

Normalmente este método é utilizado para conservação de alimentos que possuem constituintes sensíveis ao calor, gerando produtos de melhor qualidade devido a utilização de baixas temperaturas durante o processo de secagem (Ratti, 2001; Gurak et al., 2013; Ramírez et al., 2015). Com isso a estabilidade do produto aumenta mesmo durante a estocagem, além de que o material poderá ser armazenado e transportado à temperatura ambiente previamente embalados (Gurak et al., 2013). Outra vantagem é que as modificações físico-químicas são inibidas pela baixa atividade de água, minimizando-se a perda de constituintes voláteis ou de atividade biológica (Ford e Dawson, 1994). O produto liofilizado ainda possui uma textura porosa, sendo prontamente reconstituído (Fang e Bhandari, 2010; Mujumdar et al., 2016).



### 3 Artigo 01 – Extração assistida por micro-ondas e ultrassom de compostos bioativos do resíduo do processamento do suco de uva

Cassiano Brown da Rocha<sup>1</sup>, Caciano Pelayo Zapata Noreña<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos (ICTA/UFRGS), Avenida Bento Gonçalves, 9500, Prédio 43212, Campus do Vale, CEP 91501-970, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.

#### RESUMO

O resíduo do processamento industrial do suco de uva pode ser utilizado como fonte de compostos bioativos promotores de funcionalidade com alto potencial de valor agregado. Neste trabalho foi proposto a separação dos compostos fenólicos do bagaço do suco de uva, utilizando uma solução aquosa acidificada com 2 % de ácido cítrico, como solvente, para a extração assistida por ultrassom com potências de 250, 350 e 450 W e tempos de 5, 10 e 15 min, e por micro-ondas utilizando potências de 600, 800 e 1000 W e tempos de 5, 7 e 10 min. A melhor condição de extração correspondeu ao de micro-ondas (1000 W × 10 min), com teores de  $6,68 \pm 0,05 \text{ mg}_{\text{EAG}} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{ms}}$ ,  $1,32 \pm 0,03 \text{ mg}_{\text{malvidina-3,5-diglicosídeo}} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{ms}}$ ,  $23,84 \pm 0,57 \text{ } \mu\text{mol}_{\text{ET}} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{ms}}$  e  $33,27 \pm 2,00 \text{ } \mu\text{mol}_{\text{ET}} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{ms}}$ , para, compostos fenólicos totais, antocianinas monoméricas totais, atividade antioxidante por ABTS e por DPPH, respectivamente. Quando comparado à extração exaustiva com solução de metanol 80 % (v/v) acidificado com 1 % de HCl, as recuperações de compostos fenólicos, antocianinas, e atividade antioxidante por ABTS e DPPH foram de 21, 45, 23 e 36 %, respectivamente.

**Palavras-chave:** bagaço; uva; antocianinas; ultrassom; micro-ondas.

### 3.1 Introdução

A uva (*Vitis vinifera* L.) é uma fruta não-climatérica e dependendo das espécies podem apresentar intensa coloração roxo-avermelhada devido a grande concentração de antocianinas (Yamashita et al., 2000). No Brasil, a região sul se destaca pela grande produtividade e comercialização de uva e derivados, sendo o estado do Rio Grande do Sul responsável por cerca de 90% da produção nacional de vinhos e, ainda, segundo dados do Instituto Brasileiro do Vinho (IBRAVIN) em 2017 foram colhidas cerca de 753 mil toneladas na safra de uvas.

O processamento da uva gera grandes quantidades de resíduos, na produção do suco de uva, assim como na produção de vinho, cerca de 20 % do peso de uvas processadas são resíduos compostos principalmente do bagaço, sementes e engaço (Teixeira et al., 2014; De Souza et al., 2015; Muhlack et al., 2018). Na produção de suco de uva faz-se a extração da parte líquida do mosto para a produção do suco, enquanto a parte prensada sólida, o bagaço, é descartado para utilização como adubo ou simplesmente disposto de maneira inadequada no meio ambiente. No entanto, o bagaço também pode ser utilizado como fonte de compostos bioativos com alto potencial de valor agregado (Makris et al., 2007; Aliakbarian et al., 2012; Beres et al., 2017).

Dentre os compostos fenólicos, as antocianinas são importantes pigmentos hidrossolúveis com capacidade antioxidante, originárias do metabolismo secundário dos vegetais presente no sistema vascular e em organelas celulares das plantas (Poser e Mentz, 2003; De Souza et al., 2015). Apesar de serem moléculas facilmente incorporadas em sistemas aquosos devido às suas características catiônicas, quando extraídas podem ter sua estabilidade facilmente afetada por diferentes fatores, tais como a exposição a luz e oxigênio, altas temperaturas de armazenamento, íons metálicos, entre outros (Giusti e Wrolstad, 2003; De Souza et al., 2015). Paralelamente aos seus atributos de cor, as moléculas de antocianinas estão sendo associadas a efeitos benéficos à saúde principalmente pela sua capacidade antioxidante associada ao compartilhamento de elétrons, que auxilia a prevenção de doenças ligadas ao estresse oxidativo, e, ainda, podendo ser utilizado como corante alternativo aos sintéticos (Giusti e Wrolstad, 2003; Barba et al., 2016; He et al., 2016).

O grande interesse nas características antioxidantes das antocianinas gerou o aumento da demanda, e sua comercialização na sua forma purificada ou como extrato, faz com que os métodos de separação a serem empregados devam ser mais reprodutíveis e cada vez em maior escala para utilização nas indústrias de alimentos. A extração dos compostos bioativos faz com que haja uma busca por métodos de extração mais eficientes e mais sustentáveis, para que os

custos de produção possam ser minimizados e, ainda, tendo um aproveitamento integral dos resíduos industriais a fim de transformar despesas com tratamento de resíduos em produtos com um maior valor agregado (Cai et al., 2016; He et al., 2016; Ongkowijoyo et al., 2018). Métodos convencionais de extração que usam solventes orgânicos podem expor as antocianinas e outros compostos fenólicos a elevados tempos de exposição a altas temperaturas, utilizando muitas vezes imersões sob agitação envolvendo refluxos térmicos que resultam na degradação por oxidação e termólises. Para suprir a necessidade de reduzir o uso desses solventes, diminuindo o impacto ambiental, aumentar o rendimento de extração e, ainda, diminuir o custo energético com o menor tempo de exposição à altas temperaturas é recomendável o uso de tecnologias não-convencionais tais como a extração assistida por micro-ondas (EAM) e a extração assistida por ultrassom (EAU), que estão sendo utilizadas cada vez mais na separação de compostos fenólicos (Barba et al., 2016; Sharmila et al., 2016; Zeković et al., 2017; Ongkowijoyo et al., 2018).

As micro-ondas são ondas eletromagnéticas que penetram na matriz alimentar fazendo com que as moléculas de água se polarizem e haja, a partir disso, uma movimentação rotacional dipolo-dipolo intensa que aumenta o atrito entre elas, conseqüentemente, há uma elevação da energia cinética, gerando o aquecimento do alimento (Barba et al., 2016; Khan et al., 2018). No caso da EAU, as ondas mecânicas sonoras se propagam pelo alimento e provocam a cavitação, onde ciclos de pressão formam bolhas que oscilam com frequência não-linear, que ao atingirem picos de compressão e expansão entram em colapso, produzindo a sonoporação onde há o rompimento da matriz celular (Barba et al., 2016; Chemat et al., 2017). O conseqüente aumento da permeabilidade das membranas celulares contribui para o aumento da difusividade mássica, melhorando a penetração do solvente extrator com efeito de sonocapilares, ou seja, forma-se pequenas correntes onde há fluidez do solvente (Pingret et al., 2013; Barba et al., 2016; Sharmila et al., 2016).

A possibilidade de utilizar tecnologias de processamento que aliam a diminuição de uso de solventes orgânicos com exposição da matéria-prima por curtos períodos, faz com que diferentes estudos de extração assistida por micro-ondas (EAM) e por ultrassom (EAU) observem bons rendimentos de polifenóis e antocianinas, e ainda, sucessivas extrações por micro-ondas e ultrassom e/ou combinadas podem ser alternativas na redução do custo energético pelo menor tempo de exposição e com um incremento no rendimento dos extratos (Liazid et al., 2011; He et al., 2016; Álvarez et al., 2017; Farzaneh e Carvalho, 2017; Fonteles et al., 2017; Khan et al., 2018; Ongkowijoyo et al., 2018).

O presente trabalho visa estudar a extração aquosa acidificada dos compostos bioativos provenientes do resíduo do processamento do suco de uva com métodos de EAM e EAU a fim de priorizar a preservação dos compostos termolábeis e minimizar o impacto ambiental, não utilizando solventes orgânicos.

## 3.2 Material e métodos

### 3.2.1 Matéria-prima

O bagaço do suco de uva (BSU) foi cedido pela *Fante* Industria de Bebidas Ltda. da região da Serra Gaúcha, Rio Grande do Sul, Brasil. A coleta das amostras proveio do bagaço de cultivares de uva na proporção de 70 % Isabel, 15 % Bordô, 10 % Carmem e 5 % Niágara. As amostras de BSU, cerca de 32 kg, foram coletadas em 2 lotes, resfriadas e transportadas em caixas térmicas até o Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (ICTA/UFRGS), onde foram homogeneizadas (homogeneizador, Fabbe), e acondicionadas em embalagens plásticas de polietileno de baixa densidade de 500 g, congeladas e armazenadas a -18 °C para serem utilizadas posteriormente.

### 3.2.2 Caracterização do bagaço

Para caracterização do BSU determinou-se o teor de umidade (AOAC 984.25, 2012), lipídios (AOAC 920.39, 2012), proteínas (AOAC 960.52, 2012), fibra (AOAC 991.43, 2012), cinzas (AOAC 923.03, 2012) e carboidratos (AOAC 984.25, 2012). A atividade de água (AOAC 978.18, 2012) determinou-se por medida direta (Aqualab, 3TE-Decagon), o potencial hidrogeniônico (Quimis, Q400M1) determinou-se pelo método oficial da AOAC 973.41 (2012). Realizou-se uma extração exaustiva do BSU conforme a metodologia de Sánchez-Alonso et al. (2008) com algumas modificações (Rodrigues et al., 2013), que consistiram em misturar 1 g de BSU com 10 g de solução de metanol 80 % (v/v) acidificado com 1 % de HCl em vortex (Quimis, Q920-A2) durante 10 min. A solução foi centrifugada (Sigma, 4K15) 3000×g durante 10 min, sendo o sobrenadante filtrado com papel de filtro *Whatman* n°1 e reservado em balão volumétrico de 50 mL, o retido foi submetido a mais quatro extrações. Os sobrenadantes tiveram o volume final ajustado com a mesma solução metanólica e o retido final foi descartado.

### 3.2.3 Extração

O BSU previamente descongelado até temperatura de refrigeração (4 °C) foi misturado com solução de água destilada acidificada com 2 % (m/v) de ácido cítrico na proporção de 3:1 (m/m), usando agitador mecânico (Ika, RW20) com velocidade de 200 rpm por 10 min e em seguida foi resfriado a 0 °C para imediata extração assistida por ultrassom e por micro-ondas. Utilizou-se o fatorial 3<sup>2</sup> com três repetições para avaliação dos fatores potência e tempo tanto no ultrassom quanto no micro-ondas.

Para a extração assistida por ultrassom (EAU), foi usado um sonicador de ponteira (Eco-Sonics, QR750), sendo avaliado o efeito da potência de amplitude das ondas a 250, 350 e 450 W, e com tempos de 5, 10 e 15 min. Na extração assistida por micro-ondas (EAM) foi utilizado um forno micro-ondas (Eletrolux, MEF41) sendo estudado o efeito da potência, com três níveis de 600, 800 e 1000 W, e tempos de 5, 7 e 10 min. Para efeito de comparação realizou-se um terceiro método de extração aquosa (EA) baseado em Kuck et al. (2017) que consistiu em deixar a amostra em repouso durante 24 h ao abrigo de luz a temperatura ambiente.

Após as extrações, as amostras foram imediatamente resfriadas a temperatura ambiente (20 °C), centrifugadas com velocidade de 3000×g durante 10 min, filtradas à vácuo com papel de filtro *Whatman* n°1 onde o filtrado foi armazenado a -20 °C e o retido descartado. As variáveis-resposta para os extratos foram as análises de compostos fenólicos totais (CFT), antocianinas monoméricas totais (AMT), atividade antioxidante pelo método do ABTS e DPPH e cor. Todos os procedimentos foram executados sob o abrigo da luz.

### 3.2.4 Compostos fenólicos totais

O teor dos compostos fenólicos totais (CFT) foi determinado utilizando o método colorimétrico de *Folin-Ciocalteu* com modificações (Singleton e Rossi, 1965) no comprimento de onda a 765 nm. As leituras foram feitas em espectrofotômetro UV-visível (Thermo Scientific, Genesys S10), com os resultados expressos em miligrama de equivalente de ácido gálico (EAG) por grama de massa seca (ms).

### 3.2.5 Antocianinas monoméricas totais

Para a análise de antocianinas monoméricas totais (AMT), alíquotas dos extratos foram adicionadas em soluções tampão de cloreto de potássio e de acetato de sódio conforme

metodologia de Lee et al. (2005). As leituras foram realizadas em espectrofotômetro UV-visível, a 520 nm e a 700 nm e os resultados calculados de acordo com a equação (1), e expressos em miligrama de malvidina-3,5-diglicosídeo por grama de massa seca (ms).

$$AMT = \frac{[(Abs_{520nm} - Abs_{700nm})_{pH1,0} - (Abs_{520nm} - Abs_{700nm})_{pH4,5}] \times M \times DF \times 100}{\epsilon \times l} \quad (1)$$

Onde:

$M$  = massa molar de equivalente de malvidina-3,5-diglicosídeo ( $724,5 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$ );

$DF$  = fator de diluição;

$\epsilon$  = coeficiente molar de extinção ( $37000 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ );

$l$  = caminho óptico da cubeta (1 cm).

### 3.2.6 Atividade antioxidante

A atividade antioxidante foi avaliada por dois métodos espectrofotométricos. O primeiro método (ABTS) conforme Re et al., (1999) utilizou-se radical ABTS (2,2'-azino-bis (ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico)) formado pela mistura da solução estoque de  $ABTS^{\cdot+}$  7 mM com a solução de persulfato de potássio 140 mM a temperatura ambiente por 16 h. O radical diluído com etanol, absorvância de  $0,700 \pm 0,050$  em 734 nm, foi utilizado como controle, e 2,8 mL deste foi misturado com uma alíquota de 30  $\mu\text{L}$  de amostra de extrato e após 6 min de reação, foram lidos no mesmo comprimento de onda, usando como branco de etanol. O segundo método, o de radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), foi realizado de acordo com Brand-Williams et al. (1995). A solução de radical DPPH $\cdot$  0,06 mM foi preparada com metanol no mesmo dia de análise. Uma alíquota de 0,1 mL de amostra de extrato reagiu com 3,9 mL de solução de radical durante 1 h, após esse período fez-se a leitura em comprimento de onda de 515 nm. Para controle utilizou-se 0,1 mL de metanol com 3,9 mL de radical e um branco com metanol. Para ambos os métodos de atividade antioxidante ABTS e DPPH utilizaram-se espectrofotômetro UV-visível e os resultados foram expressos como micromol ( $\mu\text{mol}$ ) de equivalente de Trolox, ácido 6-hidróxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxílico, (ET) por grama de massa seca (ms).

### 3.2.7 Análise colorimétrica

A medição da cor foi realizada por um colorímetro (Minolta, CR400/410), com o sistema tridimensional CIEL\*a\*b\*. Os parâmetros *Chroma* (saturação da cor), ângulo *Hue* (tonalidade da cor) e a diferença total de cor ( $\Delta E$ ) foram calculados das medidas das coordenadas referentes a luminosidade ( $L^*$ , onde a escala indicativa vai de 0 a 100, da cor preta até a cor branca),  $a^*$  e  $b^*$  que indicam um eixo com valores entre -60 a +60, vão da coloração verde ao vermelho e do azul ao amarelo, respectivamente, de acordo com as equações (2), (3) e (4) descritas por Palou et al. (1999) e Gordilho et al. (2015).

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

$$Hue = tg^{-1} \left( \frac{b^*}{a^*} \right) \quad (3)$$

$$\Delta E = \sqrt{(L_o^* - L^*)^2 + (a_o^* - a^*)^2 + (b_o^* - b^*)^2} \quad (4)$$

Onde:

$L^*, a^*, b^* \rightarrow$  coordenadas obtidas da amostra;

$L_o^*, a_o^*, b_o^* \rightarrow$  coordenadas obtidas da amostra de referência, o bagaço;

### 3.2.8 Análise estatística

Para análise dos efeitos principais e de interação, os resultados obtidos foram submetidos à análises de variância (ANOVA). O teste de *Tukey* foi usado para a comparação múltipla de médias, com significância de 5 %. Os cálculos foram realizados através do software estatístico SAS (*Statistical Analysis System*, versão 9.3).

## 3.3 Resultados e discussão

### 3.3.1 Bagaço

Durante a obtenção industrial do suco de uva integral, as uvas são separadas das ráquis e passam por etapas de termo-maceração e de tratamento enzimático, transformando-a em uma

única massa, denominada de mosto, e após passar por um esgotador dinâmico seguido de uma prensa descontínua separa-se a parte líquida, o suco, da parte sólida, o bagaço (Rizzon e Meneguzzo, 2007; Teixeira et al., 2014; Barba et al., 2016). Na Tabela 1, se apresenta a composição centesimal do bagaço do suco de uva (BSU). O baixo valor de umidade obtido de  $3,81 \text{ g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ , quando comparados aos frutos *in natura*,  $5,37 \text{ g}\cdot 100\text{g}^{-1}$  de umidade em base seca para diferentes cultivares reportados por Dhekney (2016), se deve à separação da parte líquida (suco) do bagaço, fazendo com que neste tenha uma maior concentração de matérias sólidas. O mesmo ocorre com o teor de carboidratos do BSU, pois os oligômeros de carboidratos por serem açúcares redutores, altamente solúveis e fáceis de serem extraídos por estarem presentes, principalmente, de forma livre no citosol e em organelas celulares, como os vacúolos, são facilmente extravasados pelo rompimento das células durante a maceração das uvas (Barba et al., 2016). Esse material também se caracteriza por possuir um alto conteúdo de lipídios e fibras, devido principalmente à presença dos engaços, das cascas e das sementes que foram juntamente maceradas para extração do suco e formação do bagaço. Com respeito ao teor de proteínas, além do já mencionado, também deve-se destacar à presença de enzimas pectinolíticas que foram propositalmente adicionadas durante o esmagamento das bagas. As enzimas são adicionadas em um tanque de retenção onde possui função de aumentar o rendimento da extração atuando nas fibras constituintes das paredes celulares para maior liberação de água, açúcares e compostos fenólicos que ajudarão na intensificação da cor e, ainda, para que haja uma diminuição da viscosidade do mosto (Rizzon e Meneguzzo, 2007; Barba et al., 2016).

**TABELA 1** Composição centesimal do bagaço do suco de uva (BSU).

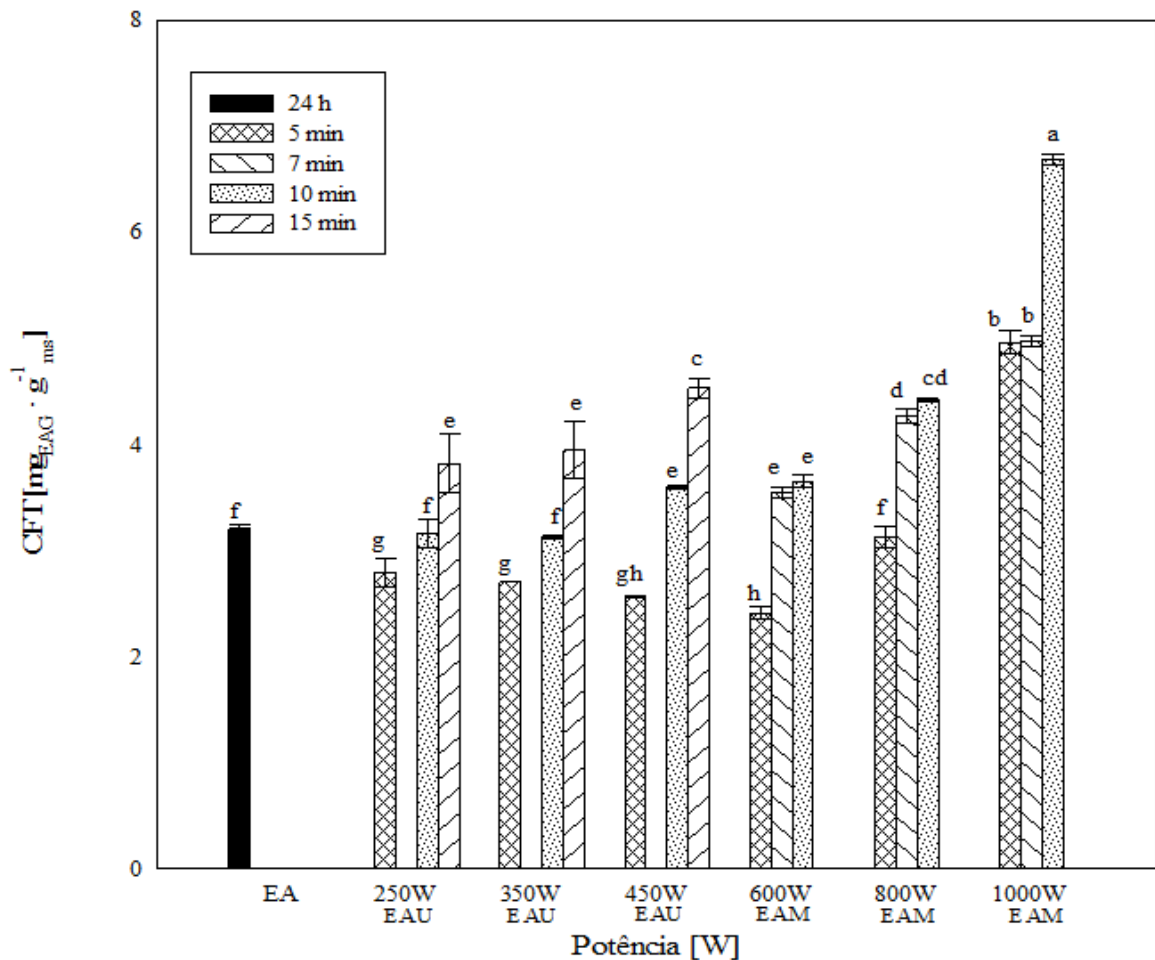
	BSU
Umidade	$3,81 \pm 0,2$
$a_w$	$0,978 \pm 0,003$
pH	$3,41 \pm 0,02$
Proteínas	$31,1 \pm 0,0$
Lipídios	$5,4 \pm 0,1$
Fibras	$12,9 \pm 0,4$
Carboidratos	$47,6 \pm 0,0$
Cinzas	$3,0 \pm 0,0$

A unidade de medida é grama de constituinte por 100 gramas de BSU ( $\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ ) em base seca com exceção da atividade de água ( $a_w$ ) e do pH que são adimensionais.



### 3.3.2 Processo de extração

As concentrações de compostos fenólicos totais (CFT) obtidas nos diferentes tratamentos de extração podem ser visualizadas na Figura 1. A ANOVA (Tabela S1 – Apêndice A), indica que os fatores principais de potência e tempo de exposição, assim como a interação potência-tempo foram estatisticamente significativos tanto para EAU quanto para EAM. A Figura 1 mostra que os teores de CFT nas EAM para potência de 1000 W com os tempos de 5, 7 e 10 min foram significativamente maiores do que nos outros tratamentos, obtendo-se em 10 min a maior separação ( $p < 0,05$ ). Em relação aos tratamentos de EAU, a maior separação foi obtida a  $450 \text{ W} \times 15 \text{ min}$ . Todas as outras condições de separação, inclusive a EA que teve duração de 24 h, apresentaram rendimentos poucos satisfatórios.



**FIGURA 1** Compostos fenólicos totais (CFT) dos tratamentos com extração assistida por ultrassom (EAU), com extração assistida por micro-ondas (EAM) e com extração aquosa (EA). Diferentes letras indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ).

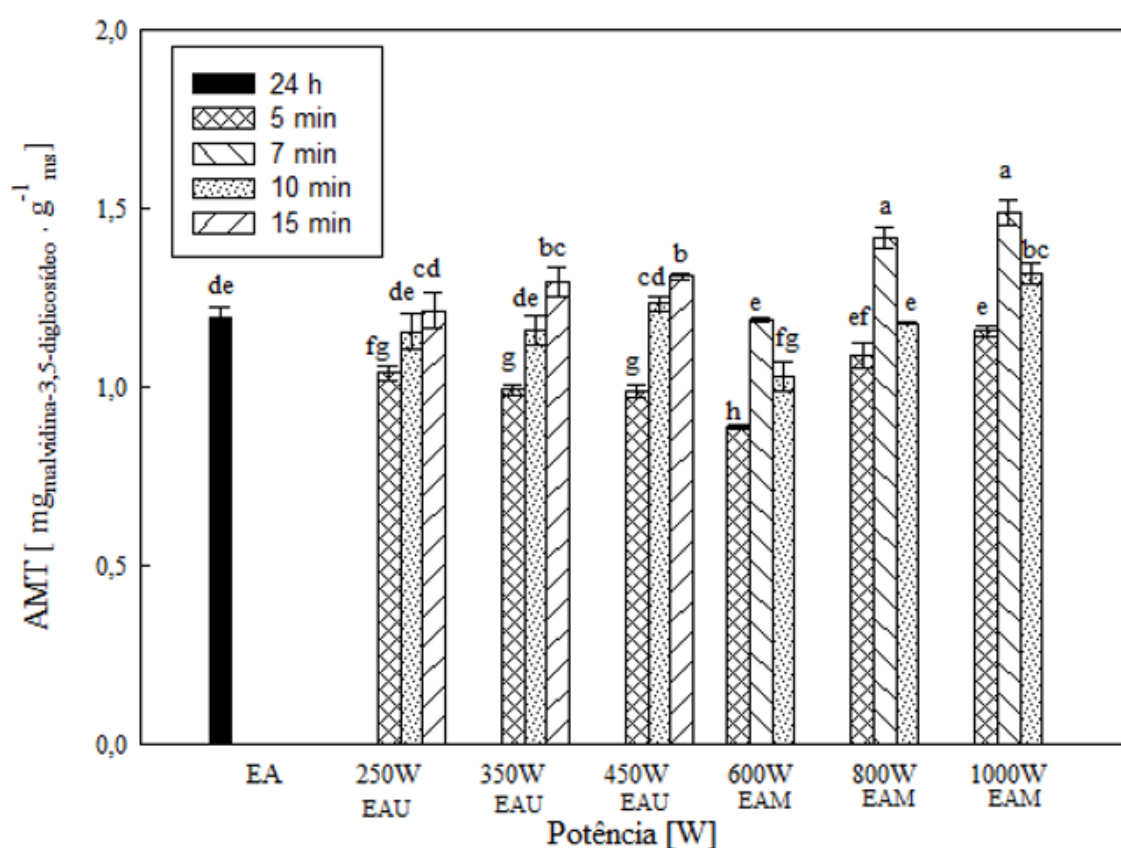
Liazid et al. (2011) no estudo conduzido por EAM para extração de compostos fenólicos de cascas de uva, observaram que nas condições ótimas de separação de 500 W, a 100 °C em metanol 40 % (v/v), o tempo empregado foi de 5 min, bem menor do que as 5 h empregado na extração convencional com metanol:ácido fórmico (95:5) sob o abrigo de luz e sob refrigeração (7 °C). A ação das ondas eletromagnéticas das micro-ondas na matriz alimentícia do BSU tem maior efetividade na transformação energética, fazendo com que um tempo menor de residência do solvente seja suficiente para que junto com a elevação das temperaturas aumentem os coeficientes cinéticos de difusão e reduzam a resistência à transferência de massa, para que haja maior difusão do solvente através do alimento (Liazid et al., 2011).

Para cada potência, seja de ultrassom ou de micro-ondas, observa-se que com o tempo de exposição o rendimento de extração de compostos fenólicos aumenta. Goula et al. (2016) durante a EAU de compostos fenólicos do bagaço de uva usando um sonicador com potência de 130 W, tempos de 4 a 60 min, com diferentes concentrações de etanol e metanol e diferentes proporções entre solvente-bagaço, observaram que os rendimentos de compostos fenólicos nas extrações aumentaram com o tempo, sendo o tempo de 10 min o mais eficiente. O mesmo estudo constatou que as ondas de ultrassom agem nos primeiros momentos de extração, onde os efeitos cavitacionais no solvente próximo aos materiais vegetais fazem com que microcanais sejam formados em direção da matriz do alimento, resultando numa maior penetração do solvente, porém, com o passar do tempo, há uma maior ação das ondas no rompimento das estruturas celulares fazendo com que haja o extravasamento de constituintes extraídos que podem afetar a capacidade de transferência de massa e, ainda, dessa forma diminuir a permeabilidade do solvente nas estruturas celulares.

Zeković et al. (2017) reportaram para a separação de compostos fenólicos na *Salvia officinalis* L., com solvente de etanol 60 %, condições ótimas de extração de 80 min, potência de 42,54 W·L<sup>-1</sup> e temperatura de 75,4 °C para EAU; e de 18,7 min por 600 W para EAM. No mesmo estudo constataram rendimentos significativamente maiores de compostos fenólicos totais e flavonoides totais tanto para EAU quanto para EAM em relação a uma extração convencional sólido-líquido com solventes orgânicos durante 24 h sob agitação.

As elevações das temperaturas observadas nas separações por EAM e EAU, estão em relação direta com o aumento de potência e tempo empregados, e em ambos os casos a elevação da temperatura tende a aumentar os coeficientes de difusão de solvente através da matriz celular, aumentando o rendimento (Khan et al., 2018). Esse aumento da temperatura, no caso do ultrassom, deve-se ao efeito de cavitação no sistema líquido-sólido ocasionada pelo colapso

das bolhas formadas, e no caso das micro-ondas, à energia liberada pela rotação dipolar da água e o atrito entre as moléculas do meio (Barba et al., 2016; Chemat et al., 2017). Nos nossos experimentos, os gradientes de temperatura (diferença das temperaturas final e inicial) nos diversos tratamentos estiveram na faixa de  $35,6 \pm 3,0$  °C até  $88,1 \pm 1,8$  °C no EAU, sendo maiores para potências e tempos mais elevados. No caso de EAM os gradientes de temperaturas foram de  $35,0 \pm 1,8$  °C até  $93,5 \pm 4,9$  °C. Assim, o uso de EAU e EAM são capazes de acelerar a solubilização de analitos aumentando o rendimento provocado pelo aumento de temperatura, em menores tempos de extração quando comparado a extrações convencionais (Hayat et al., 2010; Dias et al., 2015; Khan et al., 2018).



**FIGURA 2** Antocianinas monoméricas totais (AMT) dos tratamentos com extração assistida por ultrassom (EAU), com extração assistida por micro-ondas (EAM) e com extração aquosa (EA). Diferentes letras indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ).

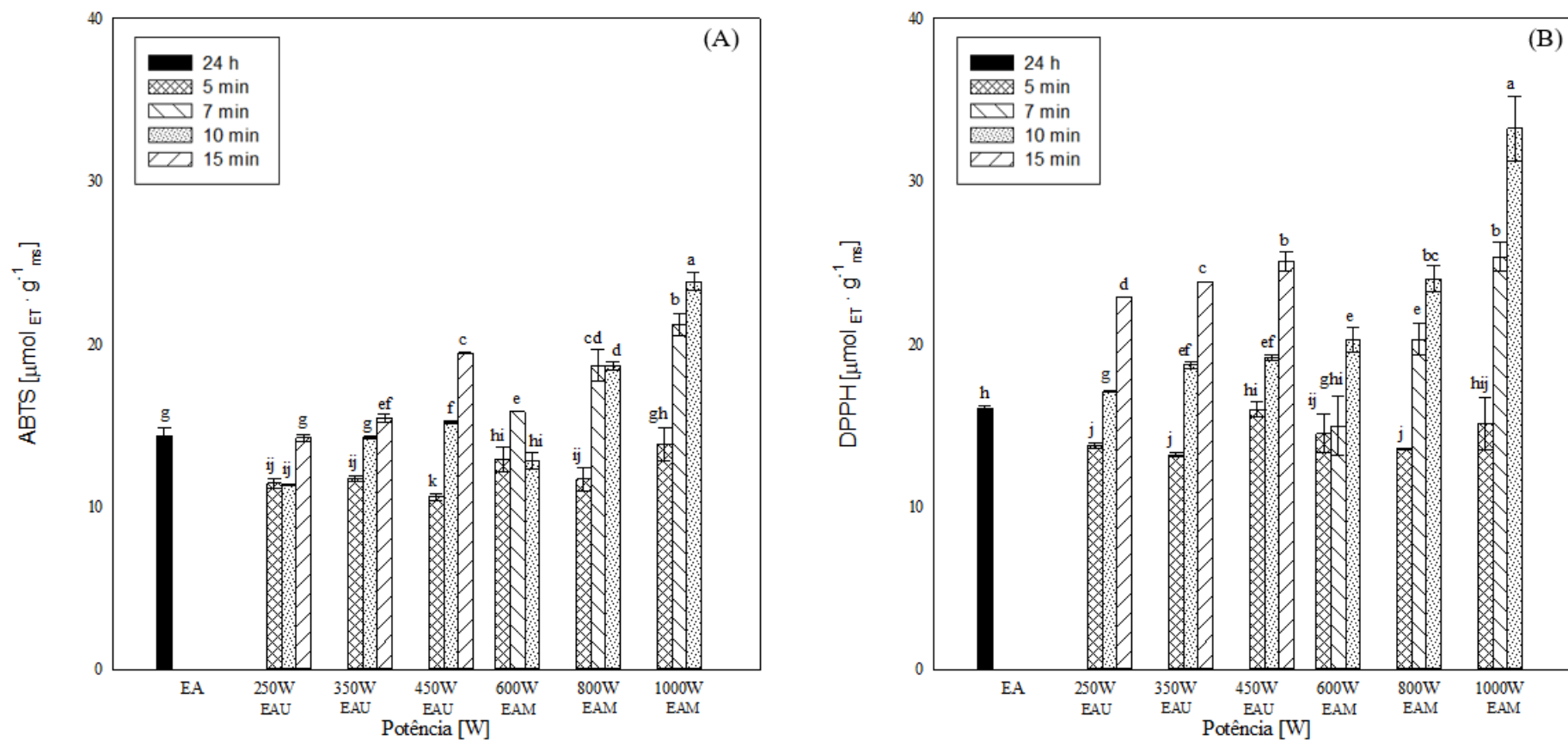
Na Figura 2, pode-se observar os teores de antocianinas monoméricas totais (AMT) obtidas nas diferentes condições de separação. As maiores extrações foram obtidas por EAM para potências de 800 e 1000 W por 7 min ( $p < 0,05$ ), e quando houve o aumento do tempo para 10 min os teores diminuíram significativamente. Avaliando-se a ANOVA (Tabela S2 –

Apêndice A), mostra que a potência, o tempo e a interação potência-tempo impactam significativamente nos resultados obtidos para AMT nas extrações com micro-ondas. Benmeziane et al. (2016) observaram que com o aumento do tempo de exposição e às altas temperaturas produzidas, alguns compostos fenólicos que possuem interações moleculares fracas junto a glicosídeos, incluindo monômeros de antocianinas, diminuíram significativamente suas concentrações. Lee et al. (2005) mencionam que devido ao tempo de exposição e ao aquecimento das extrações pode haver degradação de compostos fenólicos, dentre eles, as antocianinas, podendo ocorrer, ainda, reações entre os próprios compostos entre si, reações óxi-redox e hidrólises que podem mudar a natureza dos compostos, ou reações de polimerização formando compostos fenólicos com maior ou menor atividade antioxidante. Sendo que os novos compostos formados podem não ser quantificados pelo método analítico que é específico para monômeros antocianínicos presentes nas amostras.

A ANOVA (Tabela S2 – Apêndice A) indicou que no ultrassom, a potência não foi significativa, possivelmente devido ao fato de que as potências dos ultrassons utilizados não foram suficientemente eficazes para o rompimento da matriz celular do alimento quando avaliadas isoladamente. Da mesma forma, a interação potência-tempo também não foi significativa, sendo somente o tempo de exposição significativo no teor de AMT. Com isso as melhores EAU obtidas foram com as potências de 350 e 450 W no maior tempo aplicado de 15 min, mostrando que com maiores tempos obtém-se maiores rendimentos de AMT. Em ambos métodos, EAU e EAM, para tempos menores do que 7 min foram obtidos os piores rendimentos.

Quanto à atividade antioxidante pelos métodos do ABTS e do DPPH, o ANOVA das Tabelas S3 e S4 – Apêndice A, respectivamente, indicam que os fatores potência, tempo, e sua interação foram estatisticamente significativos ( $p < 0,05$ ) tanto para os métodos de separação por ultrassom quanto com micro-ondas.

Na Figura 3 (A), se observa que para ABTS, a EAM para a condição de 1000 W e 10 min, foi significativamente maior em comparação com os outros tratamentos. A atividade antioxidante dos extratos está diretamente relacionada ao comportamento do teor de compostos fenólicos presentes nas amostras, pois o conjunto dos antioxidantes é formado por diferentes compostos, tendo em vista que os antioxidantes neutralizam as espécies radicalares doando um de seus próprios elétrons para torná-las moléculas estáveis (Kaur e Kapoor, 2001).



**FIGURA 3** Atividade antioxidante pelo método do ABTS (A) e pelo método do DPPH (B) dos tratamentos com extração assistida por ultrassom (EAU) e com extração assistida por micro-ondas (EAM) e com extração aquosa (EA).

Diferentes letras indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ).

Na atividade antioxidante por DPPH, Figura 3 (B), da mesma forma, o tratamento de extração a  $1000\text{ W} \times 10\text{ min}$  por EAM foi significativamente maior em relação aos outros tratamentos. Os tratamentos por ultrassom ( $450\text{ W} \times 15\text{ min}$ ) e por micro-ondas de  $800\text{ W} \times 10\text{ min}$  e  $1000\text{ W} \times 7\text{ min}$ , também se destacaram significativamente dos demais, e quando comparado a EA obtiveram rendimentos de no mínimo 40 % maiores. As tecnologias de extração por ultrassom e micro-ondas trazem um incremento no rendimento de compostos bioativos em menores tempos de residência do solvente extrator em relação a processos convencionais, sendo que a ação das ondas sonoras e de micro-ondas podem gerar radicais livres hidroxil, peroxil, entre outros precursores de reações em cadeia ligadas ao estresse oxidativo, provenientes dos momentos onde há o rompimento de estruturas poliméricas das matrizes do alimento (Pingret et al., 2013; Dias et al., 2015; Baljeet et al., 2016).

Os parâmetros de cor dos extratos obtidos estão apresentados na Tabela 2, onde pode-se observar que o parâmetro da luminosidade ( $L^*$ , onde a escala indica vai de 0 a 100, da cor preta a cor branca) para EAM, com os menores tempos se obtiveram amostras mais escuras, enquanto que para EAU, as amostras mais escuras foram obtidas com o maior tempo de exposição. Para os parâmetros de cor  $a^*$  e  $b^*$ , que indicam um eixo com valores entre -60 a +60, vão da coloração verde ao vermelho e do azul ao amarelo, respectivamente, todos os tratamentos apresentaram valores positivos indicando o espectro do amarelo ao do vermelho.

O ângulo *Hue* indica o matiz ou tonalidade, sendo que todos os tratamentos apresentaram valores no primeiro quadrante e no primeiro quarto ( $0^\circ$  a  $22,5^\circ$ ) indicando o tom avermelhado dos extratos. A saturação da cor é dada pelo parâmetro *Chroma* e os tratamentos, de forma geral, com EAM obtiveram cores significativamente mais saturadas (40,4 a 53,0) do que os tratamentos de EAU (35,9 a 42,7) e EA (38,6).

Devido às características inerentes dos diversos cultivares de uva presentes no BSU, indicam a influência genética no perfil das antocianinas presente nos extratos e conseqüentemente na sua coloração. Segundo Gordillo et al. (2018) no seu estudo da estabilidade da coloração das antocianinas de diferentes cultivares de uva, as altas proporções de co-pigmentos resentes nos extratos refletem nos efeitos da saturação da coloração das antocianinas, e a tonalidade, com ângulos no primeiro quarto do primeiro quadrante, indicando cores mais puramente vermelhas atribuídas as diferentes proporções de monoglicosídeos e antocianinas aciladas presentes. Nesse estudo, o BSU usado é constituído de diferentes proporções de uva dos cultivares *Isabel*, *Bordô*, *Carmem* e *Niágara*. Ainda, a respeito dos efeitos da coloração dos extratos, o modo como as antocianinas são extraídas indicam que as alterações celulares promovidas pela aplicação dos ultrassons ou pelas micro-ondas

favoreceram a liberação desses compostos. Porém podem influenciar na capacidade desses compostos de reagirem, sendo modificados entre si e/ou com outros compostos que podem estar presentes, fazendo com que o meio seja favorável à glicosilação, acilação ou mesmo a reações de polimerização e/ou hidrólises, que podem influenciar no perfil de antocianinas ou de outros compostos fenólicos e, conseqüentemente na atividade antioxidante dessas moléculas (Gordillo et al., 2015; Kuck et al., 2017; Gordillo et al., 2018).

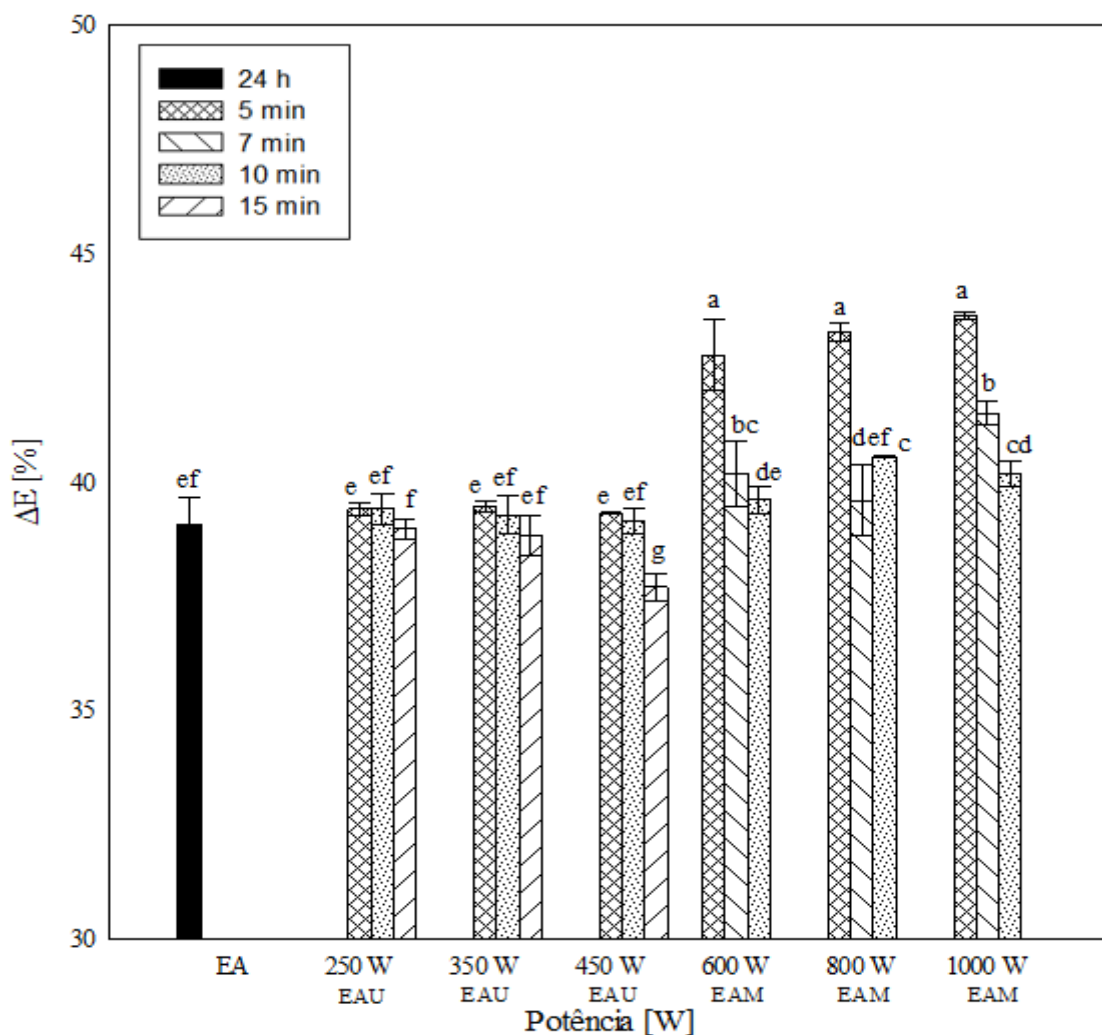
**TABELA 2** Parâmetros colorimétricos ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $Hue$ ,  $Chroma$ ) dos extratos obtidos a partir do bagaço do suco de uva (BSU).

Tratamentos	$L^*$	$a^*$	$b^*$	$Hue$ (°)	$Chroma$
BSU	28,9±1,0	13,9±0,2	1,5±0,3	6,1±1,2	14,0±0,2
EA	57,4±0,5 <sup>c</sup>	41,1±0,4 <sup>ghij</sup>	6,1±0,3 <sup>b</sup>	8,6±0,1 <sup>h</sup>	38,6±0,7 <sup>h</sup>
EAU (250W-5min)	60,9±1,0 <sup>ab</sup>	36,6±1,6 <sup>kl</sup>	4,6±0,4 <sup>h</sup>	7,2±0,3 <sup>i</sup>	36,9±1,6 <sup>i</sup>
EAU (250W-10min)	58,6±1,3 <sup>bc</sup>	39,4±1,9 <sup>hijk</sup>	5,7±0,7 <sup>gh</sup>	8,2±0,7 <sup>hi</sup>	39,8±2,0 <sup>hi</sup>
EAU (250W-15min)	55,8±1,8 <sup>cde</sup>	41,3±1,8 <sup>fghi</sup>	7,5±1,2 <sup>fg</sup>	10,2±1,1 <sup>efg</sup>	42,0±2,0 <sup>fgh</sup>
EAU (350W-5min)	61,1±0,1 <sup>a</sup>	36,5±0,1 <sup>l</sup>	4,5±0,0 <sup>h</sup>	7,0±0,0 <sup>i</sup>	36,8±0,1 <sup>i</sup>
EAU (350W-10min)	58,3±0,6 <sup>c</sup>	39,5±1,3 <sup>ijk</sup>	5,9±0,4 <sup>g</sup>	8,5±0,3 <sup>h</sup>	39,9±1,4 <sup>h</sup>
EAU (350W-15min)	55,0±1,6 <sup>de</sup>	41,8±1,8 <sup>fghi</sup>	7,8±1,1 <sup>ef</sup>	10,5±1,0 <sup>efg</sup>	42,5±2,0 <sup>efgh</sup>
EAU (450W-5min)	61,5±0,5 <sup>a</sup>	35,7±0,7 <sup>l</sup>	4,3±0,3 <sup>h</sup>	6,8±0,3 <sup>i</sup>	35,9±0,7 <sup>i</sup>
EAU (450W-10min)	56,0±0,1 <sup>d</sup>	41,5±0,5 <sup>gh</sup>	7,3±0,0 <sup>f</sup>	10,0±0,1 <sup>g</sup>	42,2±0,5 <sup>gh</sup>
EAU (450W-15min)	53,2±0,2 <sup>f</sup>	41,7±0,3 <sup>g</sup>	9,1±0,2 <sup>de</sup>	12,3±0,3 <sup>d</sup>	42,7±0,3 <sup>g</sup>
EAM (600W-5min)	52,1±0,9 <sup>f</sup>	48,1±1,3 <sup>bc</sup>	12,5±1,1 <sup>bc</sup>	14,5±0,8 <sup>bc</sup>	49,7±1,5 <sup>bc</sup>
EAM (600W-7min)	57,0±0,6 <sup>cdef</sup>	42,0±0,3 <sup>cdef</sup>	7,5±0,4 <sup>cdef</sup>	12,3±1,7 <sup>cdef</sup>	42,7±0,4 <sup>cdef</sup>
EAM (600W-10min)	60,4±1,0 <sup>ab</sup>	39,9±0,6 <sup>ijkl</sup>	7,6±1,1 <sup>g</sup>	8,6±0,5 <sup>fg</sup>	40,4±0,7 <sup>h</sup>
EAM (800W-5min)	50,6±1,4 <sup>gh</sup>	49,2±0,6 <sup>b</sup>	13,8±1,4 <sup>ab</sup>	15,7±1,3 <sup>ab</sup>	51,1±1,0 <sup>b</sup>
EAM (800W-7min)	54,6±0,2 <sup>e</sup>	43,4±0,8 <sup>ef</sup>	7,7±0,2 <sup>f</sup>	10,1±0,0 <sup>g</sup>	44,0±0,8 <sup>ef</sup>
EAM (800W-10min)	54,9±0,1 <sup>e</sup>	44,3±0,1 <sup>e</sup>	8,2±0,2 <sup>f</sup>	10,5±0,2 <sup>f</sup>	45,1±0,1 <sup>de</sup>
EAM (1000W-5min)	47,5±1,8 <sup>h</sup>	50,2±0,1 <sup>a</sup>	16,7±1,7 <sup>a</sup>	18,3±1,7 <sup>a</sup>	53,0±0,7 <sup>a</sup>
EAM (1000W-7min)	51,8±0,0 <sup>g</sup>	46,0±1,1 <sup>cd</sup>	9,7±0,4 <sup>d</sup>	12,0±0,2 <sup>d</sup>	47,0±1,2 <sup>d</sup>
EAM (1000W-10min)	52,7±0,8 <sup>fg</sup>	45,2±0,8 <sup>de</sup>	9,5±0,8 <sup>de</sup>	11,9±0,7 <sup>de</sup>	46,2±0,9 <sup>d</sup>

BSU refere-se ao bagaço do suco de uva; EA refere-se à extração aquosa com temperatura ambiente (20 °C) durante 24 h; EAU refere-se às extrações assistidas por ultrassom; EAM refere-se às extrações assistidas por micro-ondas; diferentes letras na mesma coluna indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ).

A diferença total de cor, Figura 4, foi baseada na diferença em relação aos parâmetros de cor estabelecidos pelo BSU (Tabela 2). Os tratamentos por EAM por 5 min nas três potências de micro-ondas (600, 800 e 1000 W) estabeleceram-se com as maiores diferenças de cor. O

tratamento com menor diferença de cor foi com ultrassom a 450 W e 15 min. Todos os tratamentos apresentaram diferenças de cor entre 37,7 e 43,6, compatíveis com os valores observados por Gordilho et al. (2015), de 36,2 a 60,7 para soluções de antocianinas (Gordillo et al., 2018).



**FIGURA 4** Diferença total de cor ( $\Delta E$ ) dos tratamentos com extração assistida por ultrassom (EAU), com extração assistida por micro-ondas (EAM) e com extração aquosa (EA) com valores de referência do bagaço de suco de uva (BSU).

Diferentes letras indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ).

A melhor condição de extração foi obtida por EAM com potência de 1000 W e tempo de 10 min, com teores de CFT, AMT, atividade antioxidante por ABTS e DPPH de  $6,68 \pm 0,05$   $\text{mg}_{\text{EAG}} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{ms}}$ ,  $1,32 \pm 0,03$   $\text{mg}_{\text{malvidina-3,5-diglicosídeo}} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{ms}}$ ,  $23,84 \pm 0,57$   $\mu\text{mol}_{\text{ET}} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{ms}}$  e  $33,27 \pm 2,00$   $\mu\text{mol}_{\text{ET}} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{ms}}$ , respectivamente. Quando comparado aos resultados obtidos para exaustiva do



BSU,  $32,58 \pm 0,93 \text{ mg}_{\text{EAG}} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{ms}}$ ,  $2,93 \pm 0,15 \text{ mg}_{\text{malvidina-3,5-diglicosídeo}} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{ms}}$ ,  $100,91 \pm 0,01 \text{ } \mu\text{mol}_{\text{ET}} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{ms}}$  e  $92,20 \pm 0,57 \text{ } \mu\text{mol}_{\text{ET}} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{ms}}$ , para CFT, AMT, ABTS e DPPH, respectivamente, demonstra que a recuperação de antocianinas extraídas na EAM foi cerca de 45 % do total obtido com a extração exaustiva no BSU, e recuperações de cerca de 21, 24 e 36 % para CFT, ABTS e DPPH, respectivamente. Comparando os tempos utilizados de 1 h 40 min para extração exaustiva do BSU, com um tempo 10 vezes menor para EAM (10 min), e a não utilização de solvente orgânico fazem com que se torne vantajosa esta última, entretanto os rendimentos foram muito baixos, atingindo quase 50 % em relação a quantidade de antocianinas e de cerca de um quinto de CFT. Por esta razão, mais estudos avaliando potência e tempo se fazem necessários com o intuito de melhorar os rendimentos. Quando comparado com a EA, o tempo empregado foi de 24 h, com recuperações de antocianinas, CFT, ABTS e DPPH de aproximadamente 40, 10, 14 e 17 %, respectivamente.

A rápida ação das micro-ondas em promover a penetração do solvente dentro da matriz alimentar pela movimentação molecular da rotação dipolo e da condução iônica torna a EAM adequada para extração de compostos ativos polares, tais como os compostos fenólicos, incluindo as antocianinas (Dranca e Oroian, 2016; Caldas et al., 2018). De outro lado, os processos convencionais de extração de sólido-líquido em matrizes alimentares, normalmente utilizam grandes quantidades de solventes orgânicos para o esgotamento da matéria-prima durante longos períodos e, assim, obtém um alto rendimento de compostos bioativos.

### 3.4 Conclusão

Os resultados indicaram que o bagaço do suco de uva é uma fonte de compostos fenólicos, podendo tornar esse resíduo um subproduto com alto valor. Os resultados das extrações por ultrassom e por micro-ondas, usando água acidificada como solvente, indicaram a melhor condição correspondeu ao tratamento de EAM com 1000 W de potência e tempo de exposição de 10 min, com teores de  $6,68 \pm 0,05 \text{ mg}_{\text{EAG}} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{ms}}$ ,  $1,32 \pm 0,03 \text{ mg}_{\text{malvidina-3,5-diglicosídeo}} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{ms}}$ ,  $23,84 \pm 0,57 \text{ } \mu\text{mol}_{\text{ET}} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{ms}}$  e  $33,27 \pm 2,00 \text{ } \mu\text{mol}_{\text{ET}} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{ms}}$ , para CFT, AMT, ABTS e DPPH, respectivamente. Entretanto, a recuperação obtida nesta condição (EAM, 1000W por 10min), quando comparada à extração exaustiva com solução de metanol 80 % (v/v) acidificado com 1 % de HCl, foi de 45 % para antocianinas.

## REFERÊNCIAS

- ALIAKBARIAN, B.; FATHI, A.; PEREGO, P.; DEHGHANI, F. Extraction of antioxidants from winery wastes using subcritical water. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 65, p. 18-24, 2012.
- ÁLVAREZ, A.; POEJO, J.; MATIAS, A. A.; DUARTE, C. M. M.; COCERO, M. J.; MATO, R. B.. Microwave pretreatment to improve extraction efficiency and polyphenol extract richness from grape pomace. Effect on antioxidant bioactivity. **Food and Bioproducts Processing**, v. 106, p. 162-170, 2017.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). **Official methods of analysis of AOAC International**. 19th ed. Gaithersburg, MD: AOAC, c2012. 2v.
- BALJEET, S.; ROSHANLAL, Y.; RITIKA, B. Effect os cooking methods and extraction solvents on the antioxidant activity of summer squash (*Cucurbita pepo*) vegetable extracts. **International Food Research Journal**, v. 23, p. 1531-1540, 2016.
- 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.
- BENMEZIANE, F.; ABDOURHAMANE, A. M.; GUEDAOURA, A. Nutritional quality and bioactive compounds of some fruit juices. **Advances in Environmental Biology**, v. 10, n. 4, p. 242-250, 2016.
- BERES, C.; COSTA, G. N. S.; CABEZUDO, I.; DA SILVA-JAMES, N. K.; TELES, A. S. C.; CRUZ, A. P. G.; MELLINGER-SILVA, C.; TONON, R. V.; CABRAL, L. M. C.; FREITAS, S. P.. Towards integral utilization of grape pomace from winemaking process: A review. **Waste Management**, v. 68, p. 581-594, 2017.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT – Lebensmittel Wissenschaft und Technologie**, v. 28, p. 25-30, 1995.
- 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.
- CALDAS, T. W.; MAZZA, K. E. L.; TELES, A. S. C.; MATTOS, G. N.; BRÍGIDA, A. I. S.; CONTE-JÚNIOR, C. A.; BORGUINI, R. G.; GODOY, R. L. O.; CABRAL, L. M. C.; TONON, R. V.. Phenolic compounds recovery from grape skin using conventional and non-conventional extraction methods. **Industrial Crops & Products**, v. 111, p. 86-91, 2018.
- CHEMAT, F.; ROMBAUT, N.; SICAIRE, A.; MEULLEMIESTRE, A.; FABIANO-TIXIER, A.; ABERT-VIAN, M.. Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mecanismos, techniques, combinations, protocols and applications. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 34, p. 540-560, 2017.
- DE SOUZA, V. B.; THOMAZINI, M.; BALIERO, J. C. C.; FÁVARO-TRINDADE, C. S.. Effect of spray drying on the physicochemical properties and color stability of the powdered pigment obtained from vinification byproducts of the Bordo grape (*Vitis labrusca*). **Food and Bioproducts Processing**, v. 93, p. 39-50, 2015.
- DHEKNEY, S. A.. Grapes. **Encyclopedia of Food and Health (Reference Module in Food Science)**, p. 261-265, 2016.
- DIAS, D. d. R. C.; BARROS, Z. M. P.; DE CARVALHO, C. B. O.; HONORATO, F. A.; GUERRA, N. B.; AZOUBEL, P; M. Effect of sonification on soursop juice quality. **LWT – Food Science and Technology**, v. 62, n. 1, p. 883-889, 2015.
- DRANCA, F.; OROIAN, M.. Optimization of ultrasound-assisted extraction of total monomeric anthocyanin (TMA) and total phenolic content (TPC) from eggplant (*Solanum melongena* L.) peel. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 31, p. 637-646, 2016.
- FARZANEH, V.; CARVALHO, I. S.. Modelling of Microwave Assisted Extraction (MAE) of Anthocyanins (TMA). **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**, v. 6, p. 92-100, 2017.

FONTELES, T. V.; LEITE, A. K. F.; DA SILVA, A. R. A.; FERNANDES, F. A. N.; RODRIGUES, S. Sonication Effect on Bioactive Compounds of Cashew Apple Bagasse. **Food Bioprocess Technology**, v. 10, p. 1854-1864, 2017.

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

GORDILLO, B.; RODRÍGUEZ-PULIDO, F. J.; GONZÁLEZ-MIRET, M. L.; QUIJADA-MORÍN, N.; RIVAS-GONZALO, J. C.; GARCÍA-ESTÉVEZ, I.; HEREDIA, F. J.; ESCRIBANO-BAILÓN, M. T.. Applications of Differential Colorimetry To Evaluate Anthocyanin-Flavonol-Flavanol Ternary Copigmentation Interactions in Model Solutions. **Journal of Agriculture and Food Science**, v. 63, p. 7645-7653, 2015.

GORDILLO, B.; SIGURDSON, G. T.; LAO, F.; GONZÁLEZ-MIRET, M. L.; HEREDIA, F. J.; GIUSTI, M. M.. Assessment of the color modulation and stability of naturally copigmented anthocyanin-grape colorants with different levels of purification. **Food Research International**, v. 106, p. 791-799, 2018.

GOULA, A. M.; THYMIATIS, K.; KADERIDES, K.. Valorization of grape pomace: Drying behavior and ultrasound extraction of phenolics. **Food and Bioprocess Technology**, v. 100, p. 132-144, 2016.

HAYAT, K.; ZHANG, X.; FAROOQ, U.; ABBAS, S.; XIA, S.; JIA, C.; ZHONG, F.; ZHANG, J.. Effect of microwave treatment on phenolic content and antioxidant activity of citrus mandarin pomace. **Food Chemistry**, v. 123, p. 423-429, 2010.

HE, B.; ZHANG, L.; YUE, X.; LIANG, J.; JIANG, J.; GAO, X.; YUE, P.. Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds and anthocyanins from blueberry (*Vaccinium ashei*) wine pomace. **Food Chemistry**, v. 204, p. 70-76, 2016.

INSTITUTO BRASILEIRO DO VINHO (IBRAVIN). **Safra da uva 2015 é 16% maior em volume em relação ao ano passado**. Disponível em: <<http://www.ibravin.org.br>>. Acesso em: 20 jun. 2016.

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.

KHAN, M. K.; AHMAD, K.; HASSAN, S.; IMRAN, M.; AHMAD, N.; XU, C.. Effect of novel technologies on polyphenols during food processing. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 45, p. 361-381, 2018.

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.

LEE, J.; DURST, R. W.; WROLSTAD, R. E. Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: collaborative study. **Journal of AOAC International**, v. 88, n. 5, p. 1269-1278, 2005.

LIAZID, A.; GUERRERO, R. F.; CANTOS, E.; PALMA, M.; BARROSO, C. G. Microwave assisted extraction of anthocyanins from grape skins. **Food Chemistry**, v. 124, p. 1238-1243, 2011.

MAKRIS, D. P.; BOSKOU, G.; ANDRIKOPOULOS, N. K. Polyphenolic content and *in vitro* antioxidant characteristics of wine industry and other agri-food solid waste extracts. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 20, p. 125-132, 2007.

MUHLACK, R. A.; POTUMARTHI, R.; JEFFERY, D. W. Sustainable wineries through waste valorization: A review of grape marc utilization for value-added products. **Waste Management**, v. 72, p. 99-118, 2018.

ONGKOWWIJOYO, P.; LUNA-VITAL, D. A.; DE MEJIA, E. G. Extraction techniques and analysis of anthocyanins from food sources by mass spectrometry: An update. **Food Chemistry**, v. 250, p. 113-126, 2018.

PALOU, E.; LÓPEZ-MALO, A.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V.; WELTI-CHANES, J.; SWANSON, B. G. Polyphenoloxidase Activity and Color of Blanched and High Hydrostatic Pressure Treated Banana Puree. **Journal of Food Science**, v. 64, n. 1., p. 42-45, 1999.

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

POSER, Gilsane Lino von; MENTZ, Lilian Auler. Diversidade Biológica e Sistemas de Classificação. In: SIMÕES, Cláudia Maria Oliveira; SCHENKEL, Eloir Paulo; GOSMANN, Grace; MELLO, João Carlos Palazzo de; MENTZ, Lilian Auler; PETROVICK, Pedro Ros (Org.). **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 5.ed. ver. ampl. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/ Editora DA UFSC, 2003. cap. 4, p. 75-89.

RE, Roberta; PELLEGRINI, Nicoletta; PROTEGGENTE, Anna; PANNALA, Ananth; YANG, Min; RICE-EVANS, Catherine. Antioxidant activity applying na improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 26, n. 9 e 10, p. 1231-1237, 1999.

RIZZON, L. A.; MENEGUZZO, J. **Suco de uva**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2007 il. – (Coleção Agroindústria Familiar), 2007. 45 p.

RODRIGUES, E.; MARIUTTI, L. R. B.; MERCADANTE, A. Z. Carotenoids and Phenolic Compounds from *Solanum sessiflorum*, na Unexploited Amazonian Fruit, and Their Scavenging Capacities against Reactive Oxygen and Nitrogen Species. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, p. 3022-3029, 2013.

SÁNCHEZ-ALONSO, I.; JIMÉNEZ-ESCRIG, A.; SAURA-CALIXTO, F.; BORDERÍAS, A. J. Antioxidant protection of white grape pomace on restructured fish products during frozen storage. **LWT – Food Science and Technology**, v. 41, p. 42-50, 2008.

SHARMILA, G.; NIKITHA, V. S.; ILAIYARASI, S.; DHIVYA, K.; RAJASEKAR, V.; MANOJ KUMAR, N.; MUTHUKUMARAN, K.; MUTHUKUMARAN, C. Ultrasound assisted extraction of total phenolics from *Cassia auriculata* leaves and evaluation of its antioxidant activities. **Industrial Crops and Products**, v. 84, p. 13-21, 2016.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdicphosphotungstic acid reagents. **About American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, p. 144-158, 1965.

TEIXEIRA, A.; BAENAS, N.; DOMINGUES-PERLES, R.; BARROS, A.; ROSA, E.; MORENO, D. A.; GARCIA-VIGUERA, C. Natural bioactive compounds from winery by-products as health promoters: a review. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 15, p. 15638-15678, 2014.

YAMASHITA, F.; TONRAZ, A. C.; FERNANDES, J. G., MORIYA, S., BENASSI, M. de T. Influência de diferentes embalagens de atmosfera modificada sobre a aceitação de uvas finas de mesa var. Itália mantidas sob refrigeração. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 20, n.1, p. 110-114, 2000.

ZEKOVIĆ, Z.; PINTAĆ, D.; MAJKIĆ, T.; VIDOVIĆ, S.; MIMICA-DUKIĆ, N.; TESLIĆ, N.; VERSATI, A.; PAVLIĆ, B. Utilization of sage by-products as raw material for antioxidants recovery – Ultrasound versus microwave-assisted extraction. **Industrial Crops and Products**, v. 99, p. 49-59, 2017.

#### 4 Artigo 02 – Encapsulamento de compostos bioativos provenientes do resíduo do processamento do suco de uva com extração assistida por micro-ondas

Cassiano Brown da Rocha<sup>1</sup>, Caciano Pelayo Zapata Noreña<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos (ICTA/UFRGS), Avenida Bento Gonçalves, 9500, Prédio 43212, Campus do Vale, CEP 91501-970, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.

##### RESUMO

O extrato do bagaço do suco de uva obtido por extração assistida por micro-ondas (1000 W × 10 min), foram encapsulados por atomização e liofilização utilizando-se dispersões com misturas de proteína isolada do soro de leite (WPI), goma arábica e pectina como materiais de parede. Os pós obtidos por atomização e liofilização contendo misturas de WPI e goma arábica apresentaram as maiores retenções de compostos fenólicos (2,66 e 2,42 mg<sub>EAG</sub>·g<sup>-1</sup><sub>ms</sub>), antocianinas monoméricas totais (0,346 e 0,353 mg<sub>malvidina-3,5-diglicosídeo</sub>·g<sup>-1</sup><sub>ms</sub>), atividade antioxidante por ABTS (8,23 e 8,32 μmol<sub>ET</sub>·g<sup>-1</sup><sub>ms</sub>) e DPPH (12,64 e 10,92 μmol<sub>ET</sub>·g<sup>-1</sup><sub>ms</sub>). Entretanto, os testes acelerados de armazenamento conduzidos indicaram que os pós contendo pectina foram os mais estáveis com valores de 76 e 73 % de retenção de antocianinas para o pó atomizado e liofilizado, respectivamente, nas condições de 35 °C e 75 % aos 28 dias de estocagem. Na simulação digestiva *in vitro* os pós contendo WPI e goma arábica tiveram as maiores liberações de antocianinas na fase intestinal.

**Palavras-chave:** bagaço de uva, antocianinas, microencapsulamento, simulação digestiva *in vitro*, estabilidade.

## 4.1 Introdução

A uva (*Vitis vinífera* L.) é uma das culturas de frutas mais cultivadas no mundo, que são consumidas *in natura* e, principalmente, utilizadas na produção de bebidas (Barba et al., 2016). A cada ano o consumo de derivados da uva vem crescendo, muitas vezes por estar associado às suas propriedades funcionais, visto que possuem grande quantidade de compostos bioativos com alto teor de antioxidantes (Teixeira et al., 2014). Com o alto consumo, a grande quantidade de resíduos gerados no processamento de uva proporcionalmente aumenta, perfazendo cerca de um quinto do peso de uvas processadas, composto principalmente pela casca e sementes (De Souza et al., 2015; Muhlack et al., 2018).

Os resíduos do processamento da uva, que são constituídos principalmente pela casca e semente, também são fontes de compostos bioativos que auxiliam na prevenção de doenças ligadas ao estresse oxidativo, resultando em benefícios à saúde, como retardar o envelhecimento precoce e o aparecimento de algumas doenças crônicas, inflamatórias e neoplasias malignas (Acosta-Estrada et al., 2014; Beres et al., 2017). As antocianinas, que são um subgrupo dos compostos fenólicos, são a classe de flavonoides mais importante dentre os pigmentos presentes na vascularização das plantas e diretamente ligada à coloração intensa roxo-avermelhada características das uvas (Yamashita et al., 2000; De Souza et al., 2015). Durante o processamento e armazenamento de alimentos, a estabilidade das moléculas de antocianinas pode ser facilmente afetada por diferentes fatores, tais como a exposição a luz e oxigênio, altas temperaturas, íons metálicos, mudança de pH, entre outros (Giusti e Wrolstad, 2003). Nesse contexto a extração assistida por micro-ondas (EAM) torna-se uma alternativa para reduzir o tempo de exposição à altas temperaturas diminuindo o custo energético e ao mesmo tempo diminuindo a degradação dos compostos de interesse (Barba et al., 2016; Zeković et al., 2017; Ongkowijoyo et al., 2018). Entretanto, após separação, se faz necessário o isolamento dos compostos bioativos por métodos, tais como o microencapsulamento, com o intuito de incrementar a estabilidade destes compostos pelo seu recobrimento ou revestimento com materiais de parede (Giusti e Wrolstad, 2003; He et al., 2016).

Existem diversos tipos de materiais de parede aplicáveis a microencapsulação, que para serem aplicados em alimentos, deve-se levar em consideração as propriedades físicas e químicas do encapsulado, da aplicação pretendida, do método utilizado para formar as partículas e o sistema de liberação (Schaffazick et al., 2003; De Souza et al., 2015). As proteínas isoladas do soro de leite (WPI) podem ser utilizadas como material de parede auxiliando a estabilização estrutural das micropartículas devido a sua estrutura globular, e sua característica

catiônica em pH ácido, que facilita as ligações com polissacarídeos com características aniônicas, tais como, a goma arábica (GA) e a pectina (Pec), formando assim um material de parede com complexas ligações proteína-polissacarídeo favorecendo o microencapsulamento (Gharsallaoui et al., 2007; Eratte et al., 2014; Chung et al., 2015). Além das propriedades inerentes ao sistema das micropartículas, as WPI contemplam propriedades benéficas à saúde humana por possuírem frações peptídicas que podem atuar como antioxidantes de espécies reativas de oxigênio, eliminação de radicais livres, inibição da peroxidação lipídica, quelação de íons metálicos ou uma combinação desses mecanismos, ou ainda, como fonte de aminoácidos essenciais que estimulam a síntese proteica no metabolismo humano (Flores et al., 2014b; Brandelli et al., 2015). Na indústria de alimentos o método mais comumente utilizado, principalmente pelo baixo custo de produção, a boa retenção de compostos voláteis, a boa estabilidade dos encapsulados e a produção em larga escala em modo contínuo, é a atomização (Shishir e Chen, 2017). O método consiste em aspergir a dispersão na forma de gotículas ao mesmo tempo que há uma circulação forçada de ar quente para que a dispersão seja desidratada quase que instantaneamente (Vos et al., 2010; Shishir e Chen, 2017). Outro método utilizado para o microencapsulamento é a liofilização que é normalmente utilizado para conservação de alimentos que possuem constituintes sensíveis ao calor, gerando produtos de melhor qualidade devido a utilização de baixas temperaturas durante o processo de secagem (Ramírez et al., 2015).

Portanto, o presente estudo teve como objetivo desenvolver pós microencapsulados pelos métodos de atomização e liofilização a partir do extrato do bagaço do suco de uva obtido pelo método de extração assistida por micro-ondas. Os materiais de parede usados foram a proteína isolada do soro de leite (WPI), a goma arábica (GA) e a pectina (Pec).

## **4.2 Materiais e métodos**

### **4.2.1 Materiais**

O bagaço do suco de uva (BSU) foi proveniente de diversos cultivares de uvas utilizadas na obtenção de suco, na proporção de 70 % Isabel, 15 % Bordô, 10 % Carmem e 5 % Niágara, o qual foi cedido pela *Fante* Industria de Bebidas Ltda. da região da Serra Gaúcha, Rio Grande do Sul, Brasil. Foram coletados 2 lotes de 16 kg, que após homogeneizados (homogeneizador, Fabbe), e acondicionados em embalagens plásticas de polietileno de baixa densidade, foram congelados e armazenados a -18 °C para serem utilizados posteriormente. Os

materiais de parede para o encapsulamento utilizados foram a proteína isolada do soro de leite, WPI, (Alibra Ingredientes Ltda, Brasil); a goma arábica, GA, (Instantgum BA, Nexira Brasil Com. Ltda.); e a pectina, Pec, (MasterSense Ing. Alim. Ltda., Brasil). Reagentes químicos de grau analítico foram utilizados para demais análises.

#### 4.2.2 Extração assistida por micro-ondas

Uma solução de água destilada acidificada com 2 % (m/v) de ácido cítrico foi misturada com o BSU (previamente descongelado a 4 °C) na proporção de 3:1 (m/m) em um agitador mecânico (Ika, RW20) com velocidade de 200 rpm por 10 min. A seguir a solução foi resfriada a 0 °C para imediata extração assistida por micro-ondas. A extração assistida por micro-ondas (EAM) foi realizada a 1000 W de potência durante 10 min (valores obtidos a partir de provas preliminares) em um forno micro-ondas (Electrolux, MEF41). Após a EAM, o extrato foi imediatamente resfriado a temperatura ambiente (20 °C), foi separado com velocidade de 3000×g durante 10 min em uma centrífuga (Sigma, 4K15), e o sobrenadante filtrado à vácuo com papel de filtro *Whatman* n°1. O filtrado foi armazenado a -20 °C para o posterior encapsulamento e o retido descartado. Parte do extrato foi separado para as análises de compostos fenólicos totais (CFT), antocianinas monoméricas totais (AMT), atividade antioxidante pelo método do ABTS e DPPH e cor. Todos os procedimentos foram executados sob o abrigo da luz.

#### 4.2.3 Preparação dos pós microencapsulados

Os materiais de parede foram pesados nas seguintes proporções: WPI-GA, 3:1 (m/m); WPI-GA-Pec, 3:1:1 (m/m/m). Para a preparação da dispersão WPI-GA, foi dissolvida previamente WPI no extrato (3:25, m/m) com auxílio de um agitador mecânico (Ika, RW20) a 300 rpm por 15 min, e a seguir adicionou-se a GA (1:3:25, m/m/m) com agitação a 300 rpm por 15 min. Depois, a dispersão foi deixada em repouso durante 20 min em um banho de rotaevaporador (Heidolph, Labrota 4000) a 40 °C para favorecer a ligação proteína-polissacarídeo em um pH em torno de 3,75 medido por um peagâmetro (Quimis, Q400M1). Após o repouso, houve um arrefecimento em temperatura ambiente. A seguir foi adicionado 150 g de solução aquosa acidificada com 2 % (m/v) de ácido cítrico (1:3:25:25, m/m/m/m). Para a preparação da dispersão contendo pectinas, a preparação foi realizada da mesma forma já descrita, porém a pectina foi previamente adicionada e misturada na solução aquosa



acidificada (1:25, m/m) com auxílio de um ultra-turrax (Ika, T25), a 11000 rpm durante 6 min a uma temperatura em torno de 70 °C. Essas duas dispersões foram secas por atomização e liofilização. Para secagem por atomização utilizou-se um atomizador (Labmaq, MSDI 1.0) com duplo fluido, com sistema de alimentação concorrente em um bico de 1,0 mm de diâmetro. A alimentação com uma taxa de fluxo volumétrico de alimentação líquida de 0,6 L·h<sup>-1</sup> e vazão de ar de secagem de 40,5 L·h<sup>-1</sup> a 160 °C. Na liofilização, as dispersões foram previamente congeladas a -68 °C por 24 h em um ultrafreezer (Liotop, UFR30), e depois as amostras foram submetidas à secagem em um liofilizador (Liobras, Liotop L101) a -57 °C com pressão em torno de 90 µmHg durante 72 h. Após liofilizadas, as amostras foram moídas utilizando-se um almofariz e pistilo de porcelana.

Os pós obtidos foram imediatamente guardados em embalagens plásticas de polietileno recobertas com papel alumínio e armazenadas em dessecadores contendo sílica à temperatura ambiente até o momento das análises. Os tratamentos foram obtidos em duplicata. Desta forma foram obtidos quatro tratamentos: TA1 – atomizado, WPI-GA na proporção 3:1; TA2 – atomizado, WPI-GA-Pec na proporção 3:1:1; TL1 – liofilizado, WPI-GA na proporção 3:1; TL2 – liofilizado, WPI-GA-Pec na proporção 3:1:1.

#### 4.2.4 Análises químicas

Previamente às análises, as amostras em pó foram dissolvidas e rompidas para a liberação dos componentes encapsulados, seguindo a metodologia de Robert et al. (2010), que consiste em pesar 1 g de pó e misturá-lo com 10 g da solução de acetonitrila e de metanol:ácido acético:água (50:8:42, v/v/v) na proporção 1:1. Agitou-se a dispersão em vórtex (Quimis, Q920A2) durante 5 min, e em seguida foi centrifugado (Sigma, 4K15) por 10 min a 3000×g. O sobrenadante foi separado com papel de filtro *Whatman* n°1 onde o filtrado foi reservado para posterior análise e no retido repetiu-se o procedimento acima mais uma vez.

Os compostos fenólicos totais (CFT) determinou-se utilizando o método colorimétrico de *Folin-Ciocalteu* (Singleton e Rossi, 1965). As leituras foram realizadas em espectrofotômetro (Thermo Scientific, Genesys S10), a 765 nm e os resultados expressos em miligrama de equivalente de ácido gálico (EAG) por grama de massa seca (ms).

As antocianinas monoméricas totais (AMT) foram determinadas conforme metodologia de pH diferencial baseado em Lee et al. (2005). As leituras em espectrofotômetro foram realizadas a 520 nm e a 700 nm. Os teores foram expressos em miligrama de malvidina-

3,5-diglicosídeo por grama de massa seca (ms), com massa molar de equivalente e coeficiente molar de extinção de  $724,5 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$  e  $37000 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ , respectivamente.

A atividade antioxidante total foi medida pelos métodos do radical ABTS, 2,2'-azino-bis (ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico), (Re et al., 1999) e DPPH, 2,2-difenil-1-picrilhidrazil, (Brand-Williams et al., 1995) em comprimentos de onda de 734 e 515 nm, respectivamente. Os resultados foram expressos como micromol ( $\mu\text{mol}$ ) equivalente de Trolox (ET), ácido 6-hidróxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxílico, por grama de massa seca (ms).

#### 4.2.5 Caracterização das micropartículas

##### 4.2.5.1 Umidade e atividade de água ( $a_w$ )

O teor de umidade dos pós microencapsulados foram determinados pelo método gravimétrico em estufa a  $105 \text{ }^\circ\text{C}$  até atingir peso constante (AOAC 984.25, 2012). A  $a_w$  foi mensurada por medida direta (Aqualab, 3TE-Decagon) a uma temperatura de  $25 \text{ }^\circ\text{C}$  (AOAC 978.18, 2012).

##### 4.2.5.2 Solubilidade

A solubilidade das micropartículas foi determinada de acordo com o método de Eastman e Moore (1984), com algumas modificações, onde misturou-se 100 mL de água destilada com 1 g de amostra de pó em um Ultra-Turrax (IKA, T25), com velocidade de 6500 rpm durante 5 min. Após centrifugar a solução a  $3000\times g$  durante 5 min, uma alíquota de 25 mL do sobrenadante foi transferida para cápsulas previamente taradas, onde foram colocadas para secagem a  $105 \text{ }^\circ\text{C}$  durante 5 h. A solubilidade foi obtida pela diferença de peso (%) da massa inicial e final seca (Cano-Chauca et al., 2005).

##### 4.2.5.3 Higroscopicidade

Determinou-se a higroscopicidade dos pós microencapsulados de acordo com o método proposto por Cai e Corke (2000), com algumas modificações. Pesou-se 1 g das amostras em um béquer de 10 mL onde foram colocados em um recipiente hermético com solução saturada de NaCl (75 % de umidade relativa) e incubadas a  $25 \text{ }^\circ\text{C}$  em uma câmara (Ethik Technology, 411/FDP). Após uma semana de incubação, as amostras foram pesadas até atingir

o equilíbrio. O resultado de higroscopicidade foi expresso como porcentagem (%) (Tonon et al., 2009).

#### 4.2.5.4 *Rendimento de encapsulamento (RE)*

O rendimento de encapsulamento (Pasrija et al., 2015) foi determinado pelo quociente do teor de compostos fenólicos totais obtidos nos pós microencapsulados (FP) com o do extrato (FE), calculado de acordo com a equação (5).

$$RE (\%) = \frac{FP}{FE} \times 100 \quad (5)$$

#### 4.2.5.5 *Análise colorimétrica*

A cor foi determinada por um colorímetro (Minolta, CR400/410), com o sistema tridimensional CIEL\*a\*b\*. Os parâmetros *Chroma* (saturação da cor), ângulo *Hue* (tonalidade da cor) e a diferença total de cor ( $\Delta E$ ) em relação ao extrato, foram calculados através das medidas das coordenadas referentes a luminosidade ( $L^*$ , da cor preta até a cor branca com uma escala indicativa de 0 a 100),  $a^*$  e  $b^*$  que indicam a coloração verde ao vermelho e azul ao amarelo, respectivamente, com um eixo de valores entre -60 a +60, descritas por Palou et al. (1999) e Gordilho et al. (2015).

#### 4.2.5.6 *Análise termogravimétrica (TGA)*

De acordo com a metodologia proposta por Paini et al. (2015), a análise termogravimétrica (TGA) foi determinada em um equipamento TGA (Perkin Elmer, Pyris 1 TGA), equipado com um controlador de temperatura do forno. Cerca de 20 mg de amostra foram colocados num cadinho de alumina e introduzido no interior da fornalha. Utilizou-se uma faixa de temperatura de 20 a 800 °C com uma taxa nominal de 10 °C·cm<sup>-1</sup> numa atmosfera de gás nitrogênio com fluxo de 40 mL·min<sup>-1</sup>.

#### 4.2.5.7 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As estruturas das micropartículas dos pós encapsulados foram observadas por microscópio eletrônico de varredura (Jeol, JSM 6060). Para microscopia, as amostras foram fixadas em *stubs* de alumínio utilizando fita adesiva dupla face de carbono. A superfície da amostra foi metalizada utilizando ouro pulverizado com gás argônio, e após examinadas no microscópio, operando à tensão de 5 kV. As imagens foram ampliadas 2000 vezes para os pós obtidos por atomização e 300 vezes para os liofilizados.

#### 4.2.5.8 Espectroscopia infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros dos materiais encapsulantes puros, do extrato e dos pós microencapsulados por liofilização e atomização foram obtidos no intervalo de  $4000\text{ cm}^{-1}$  a  $400\text{ cm}^{-1}$  e a resolução foi ajustada para  $4\text{ cm}^{-1}$  por amostra (De Souza et al., 2015). Para leitura do infravermelho foi utilizado o espectrofotômetro FTIR (Shimadzu, 8300FTIR). Previamente, foram confeccionadas pastilhas de KBr com as amostras previamente moídas em almofariz e pistilo de ágata.

#### 4.2.6 Estabilidade em condições aceleradas de armazenamento

Os pós encapsulados foram armazenados em frascos de vidro herméticos com uma atmosfera interna com umidades relativas de soluções saturadas de cloreto de sódio (75 %) e cloreto de bário (90 %) e temperaturas de 35 e 55 °C. Os frascos herméticos foram acondicionados em incubadora (Ethik Technology, 411/FDP), durante 1 mês com verificações a cada 7 dias e monitorados os teores de compostos fenólicos totais (CFT), antocianinas monoméricas totais (AMT) e atividade antioxidante pelos métodos de ABTS e DPPH (Ersus e Yurdagel, 2007).

#### 4.2.7 Simulação digestiva *in vitro*

Através de um modelo estático foram simulados *in vitro* a ação do sistema digestivo humano sobre os pós, de acordo com metodologia proposta por Hur et al. (2009) e modificada por Flores et al. (2014a). As etapas da digestão na boca, estômago e intestino delgado foram representadas pela adição de soluções que simularam a saliva e os sucos gástrico, duodenal e

biliar. Os sucos digestivos foram preparados no dia do experimento. Para a simulação pesou-se 3,5 g de pó em frascos *Erlenmeyer* de 250 mL e foram incubados juntamente com os sucos digestivos em agitador horizontal com banho (Dubnoff, CT-232) a 60 rpm com temperatura de 37 °C. Iniciou-se a simulação digestiva com a adição de 6 mL de suco salivar com pH 6,8 e agitado por 5 min. Após isso, adicionou-se 12 mL do suco gástrico (pH 1,3) e agitado durante 2 h. Então, 12 mL de suco duodenal e 6 mL de suco biliar foram adicionadas nos frascos com as amostras e agitados por mais 2 h. Uma alíquota de 1,5 mL foi retirada para análises a cada 1 h de simulação no total de 4 h. As amostras foram centrifugadas a 3000×g durante 10 min sob temperatura de 4 °C e em seguida armazenadas sob congelamento (-18 °C) até o momento das análises químicas. O conteúdo de antocianinas monoméricas totais (AMT) foi avaliado. Com essa metodologia, pode-se medir o percentual de liberação de compostos bioativos extraídos de alimentos que foram submetidos à encapsulação de acordo com a etapa digestiva (Equação 6).

$$\text{Liberação de AMT (\%)} = \frac{\text{mg AMT digestão}}{\text{mg AMT pó microencapsulado}} \times 100 \quad (6)$$

#### 4.2.8 Análise estatística

Os dados foram submetidos a análise dos efeitos principais e de interação obtidos de análises de variância (ANOVA). Utilizou-se o teste de *Tukey* para a comparação múltipla de médias ( $p < 0,05$ ). Os cálculos foram realizados através do software estatístico SAS (*Statistical Analysis System*, versão 9.3).

### 4.3 Resultados e discussão

#### 4.3.1 Caracterização das micropartículas

Os valores de umidade, atividade de água ( $a_w$ ), solubilidade, higroscopicidade e rendimento são apresentados na Tabela 3 de acordo com cada tratamento submetido aos pós microencapsulados.

Os teores de umidade variaram de 5,5 a 6,3 % e atividade de água entre 0,17 e 0,18, não diferiram significativamente entre os tratamentos demonstrando que a mistura de proteína com características catiônicas em pH ácido e carboidratos com característica aniônica possuem uma boa interação molecular e contribuem para a diminuição do conteúdo de água dos pós,

conferindo boa estabilidade (Eratte et al., 2014). A baixa atividade de água em torno de 0,2 confere maior estabilidade às reações de degradação de alimentos em armazenamento como escurecimento enzimático e não-enzimático além da inibição de microrganismos e baixa oxidação lipídica (Damodaran et al., 2008; De Souza et al., 2015). As amostras apresentaram valores similares a De Souza et al. (2015) que encapsulou extratos de bagaço da vinificação com maltodextrina.

**TABELA 3** Valores de umidade, atividade de água, solubilidade, higroscopicidade do bagaço do suco de uva microencapsulado com proteína isolada do soro de leite (WPI), goma arábica (GA) e pectina (Pec), por atomização e liofilização.

Tratamentos	Umidade [%]	$a_w$	Solubilidade [%]	Higroscopicidade [%]	Rendimento [%]
TA1	5,8±0,3 <sup>a</sup>	0,184±0,001 <sup>a</sup>	64,5±0,5 <sup>a</sup>	31,7±0,2 <sup>a</sup>	31,0±0,0 <sup>a</sup>
TA2	5,5±0,3 <sup>a</sup>	0,171±0,001 <sup>a</sup>	38,9±2,5 <sup>b</sup>	30,6±0,2 <sup>b</sup>	26,8±0,0 <sup>b</sup>
TL1	6,3±0,1 <sup>a</sup>	0,185±0,007 <sup>a</sup>	60,8±0,2 <sup>a</sup>	29,7±0,1 <sup>b</sup>	28,2±0,0 <sup>b</sup>
TL2	5,6±0,2 <sup>a</sup>	0,171±0,034 <sup>a</sup>	39,9±4,1 <sup>b</sup>	28,3±0,3 <sup>c</sup>	21,9±0,0 <sup>c</sup>

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

Atomizado: TA1, WPI-GA; TA2, WPI-GA-Pec. Liofilizado: TL1, WPI-GA; TL2, WPI-GA-Pec.

Os pós com WPI-GA, tanto o atomizado quanto o liofilizado, obtiveram valores acima de 50 % de solubilidade e significativamente maiores (64,5 e 60,8 %) do que os pós com pectina (38,9 e 39,9 %). Independentemente do tipo de secagem a solubilidade da WPI pode ser diminuída devido as suas cargas elétricas serem progressivamente neutralizadas pela ligação proteína-carboidrato e havendo maior tendência de agregação proteica com conseqüente diminuição da solubilidade (Eratte et al., 2014). Outro parâmetro importante para reconstituição e estabilidade dos pós é a higroscopicidade, que variaram entre 28,3 a 31,7 %. Os baixos teores de umidade das partículas, podem acarretar maiores valores de higroscopicidade, devido ao maior gradiente de concentração de água entre o produto e o ambiente (Tonon et al., 2010; Bazaria e Kumar, 2016). A adição de pectina nos tratamentos diminuiu significativamente a higroscopicidade tanto nos pós atomizados quanto nos pós liofilizados, devido as características das ligações proteína-carboidrato formadas e da boa estabilização que o polímero de pectina confere ao meio (Eratte et al., 2014; Chung et al., 2015). O mesmo comportamento foi observado por De Souza et al. (2015) quando aumentaram a concentração de material de parede diminuiu os valores de higroscopicidade dos pós.

O rendimento de encapsulamento refere-se à capacidade que o material de revestimento utilizado para encapsular tem de reter os compostos de interesse (Pasrija et al.,

2015). O rendimento dos pós com WPI-GA foi significativamente maior que os valores obtidos nos pós WPI-GA-Pec, 31,0 a 26,8 % e 28,2 a 21,9 % para atomizados e liofilizados respectivamente.

#### 4.3.2 Análise colorimétrica

Os parâmetros de cor dos extratos obtidos estão apresentados na Tabela 4, onde pode-se observar que o parâmetro da luminosidade ( $L^*$ , onde a escala indica vai de 0 a 100, da cor preta a cor branca) dos pós atomizados, próximo de 83, foram significativamente mais claros do que os liofilizados, próximo de 65, valores mais claros que o extrato, de 36, devido a luminosidade mais clara dos materiais encapsulantes. Para os parâmetros de cor  $a^*$  e  $b^*$ , que indicam a coloração verde ao vermelho e do azul ao amarelo, respectivamente, todos os tratamentos apresentaram valores positivos para  $a^*$  e negativos para  $b^*$ , indicando o espectro do vermelho ao azul, enquanto o extrato obteve ambos parâmetros positivos em um espectro de cor vermelho ao amarelo.

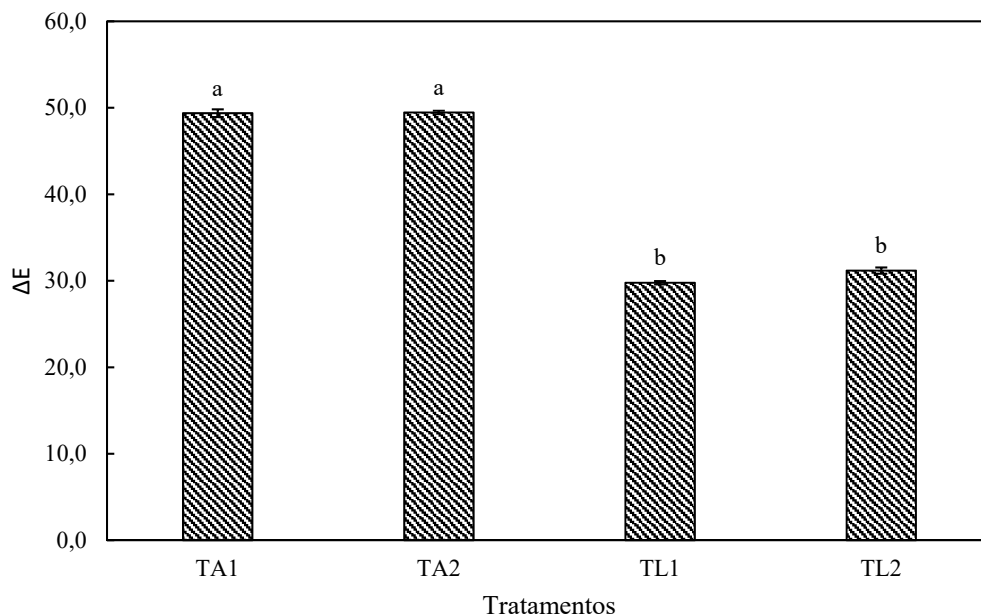
**TABELA 4** Parâmetros colorimétricos ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ , *Hue*, *Chroma*) do extrato aquoso do bagaço do suco de uva microencapsulado com proteína isolada do soro de leite (WPI), goma arábica (GA) e pectina (Pec), por atomização e liofilização.

Tratamentos	$L^*$	$a^*$	$b^*$	<i>Hue</i> (°)	<i>Chroma</i>
Extrato	36,9±0,2 <sup>c</sup>	28,0±0,2 <sup>b</sup>	6,8±0,4 <sup>a</sup>	13,7±0,6 <sup>a</sup>	28,8±0,2 <sup>a</sup>
TA1	83,7±0,5 <sup>a</sup>	15,1±0,2 <sup>c</sup>	-2,0±0,0 <sup>b</sup>	-7,5±0,1 <sup>c</sup>	15,1±0,1 <sup>b</sup>
TA2	83,4±0,2 <sup>a</sup>	14,1±0,0 <sup>c</sup>	-2,6±0,0 <sup>b</sup>	-10,2±0,0 <sup>c</sup>	14,4±0,0 <sup>b</sup>
TL1	64,8±0,1 <sup>b</sup>	29,3±0,2 <sup>a</sup>	-3,1±0,0 <sup>c</sup>	-6,0±0,0 <sup>b</sup>	29,5±0,2 <sup>a</sup>
TL2	65,9±0,4 <sup>b</sup>	29,0±0,0 <sup>a</sup>	-4,5±0,0 <sup>d</sup>	-8,7±0,1 <sup>d</sup>	29,4±0,0 <sup>a</sup>

Diferentes letras em uma mesma coluna indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ). Extrato refere-se a extração assistida por micro-ondas (1000 W e 10 min) do bagaço do suco de uva. Atomizado: TA1, WPI-GA; TA2, WPI-GA-Pec. Liofilizado: TL1, WPI-GA; TL2, WPI-GA-Pec.

O ângulo *Hue* indica o matiz, sendo que todos os tratamentos apresentaram valores no quarto quadrante ( $337,5^\circ$  a  $360^\circ$ ) demonstrando o tom rosáceo dos pós, e para o extrato o valor obtido se enquadrara no primeiro quarto do primeiro quadrante ( $0^\circ$  a  $22,5^\circ$ ) indicando o tom mais avermelhado. A saturação da cor dada pelo parâmetro *Chroma*, nos pós atomizados foi significativamente menor do que nos pós liofilizados e no extrato. Quanto à diferença de cor

( $\Delta E$ ), Figura 5, dos pós em relação aos parâmetros de cor estabelecidos pelo extrato, foram significativamente maiores nos pós atomizados que nos pós liofilizados.



**FIGURA 5** Diferença total de cor ( $\Delta E$ ) do extrato aquoso do bagaço do suco de uva microencapsulado com proteína isolada do soro de leite (WPI), goma arábica (GA) e pectina (Pec), por atomização e liofilização, com relação ao extrato.

Atomizado: TA1, WPI-GA; TA2, WPI-GA-Pec. Liofilizado: TL1, WPI-GA; TL2, WPI-GA-Pec.

Diferentes letras indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ).

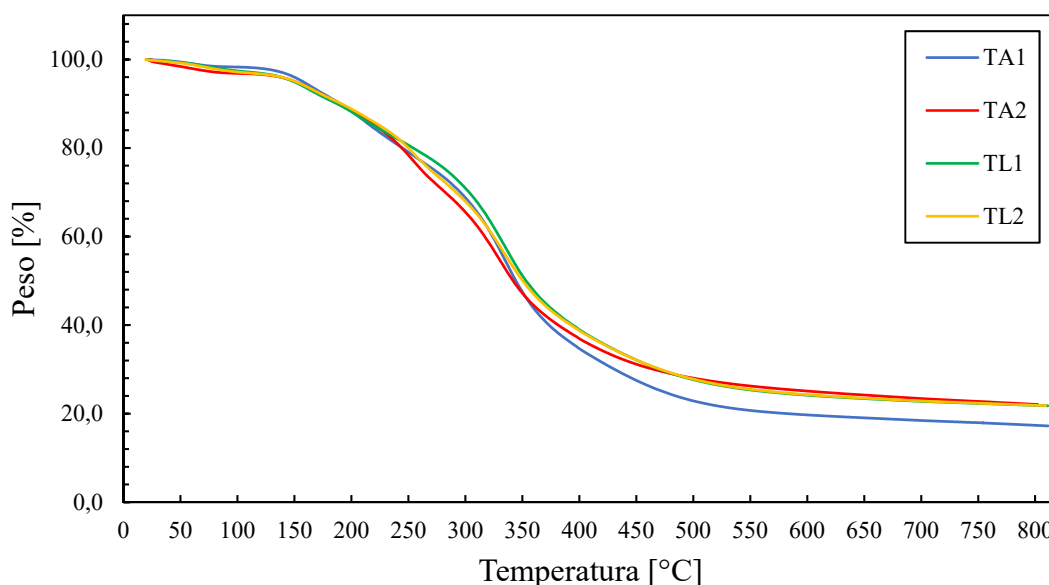
#### 4.3.3 Análise termogravimétrica (TGA)

O comportamento dos pós atomizados e liofilizados foi similar (Figura 6). Na primeira etapa de aquecimento até 110 °C a perda de massa correspondeu a 1,79 e 3,22 % para os pós atomizados (TA1 e TA2, respectivamente) e 2,83 e 3,05 % para os pós liofilizados (TL1 e TL2, respectivamente) que indica que houve a perda de massa relativo a compostos voláteis e a água não-ligada que as amostras continham (Tiwari e Hihara, 2009; Ballesteros et al., 2017; Do Carmo et al., 2018). Após essa primeira etapa, as amostras mantiveram-se com uma pequena perda de massa até 5 % da massa inicial quando atingiram as temperaturas de 157,54 e 150,77 °C, para TA1 e TA2 respectivamente, e de 149,39 e 151,10 °C, para TL1 e TL2 respectivamente, possivelmente indicando a perda de umidade residual referente a água ligada (Tiwari e Hihara, 2009).



Em um terceiro estágio, onde a perda de massa de todos os pós correspondeu a 50 % da massa inicial, os pós TA1 e TA2 chegaram a temperaturas de 344,23 e 341,82 °C respectivamente, e os pós TL1 e TL2 com temperaturas de 353,11 e 350,22 °C, atribuída a desestabilização de ligações glicosídicas com a consequente despolimerização e decomposição dos polissacarídeos em monômeros de sacarose, frutose, glicose e ácidos orgânicos e, também, a desnaturação proteica através do rompimento de ligações peptídicas (Janiszewska, 2014; Paini et al., 2015; Do Carmo et al., 2018). Com a desestruturação dos principais constituintes dos materiais de parede que são as proteínas no caso da WPI e dos polissacarídeos no caso da GA e da Pec, consequentemente pode ocorrer a degradação de compostos fenólicos que outrora estavam dispersos na matriz dos pós microencapsulados e, da mesma forma, há o início da decomposição parcial das moléculas orgânicas (Ballesteros et al., 2017).

Acima de 350 °C, a perda de massa tende a ficar constante com a decomposição das moléculas orgânicas e consequentemente, a volatilização do carbono (Ballesteros et al., 2017).



**FIGURA 6** Análise termogravimétrica do extrato aquoso do bagaço do suco de uva microencapsulado com proteína isolada do soro de leite (WPI), goma arábica (GA) e pectina (Pec), por atomização e liofilização.

Atomizado: TA1, WPI-GA; TA2, WPI-GA-Pec. Liofilizado: TL1, WPI-GA; TL2, WPI-GA-Pec.

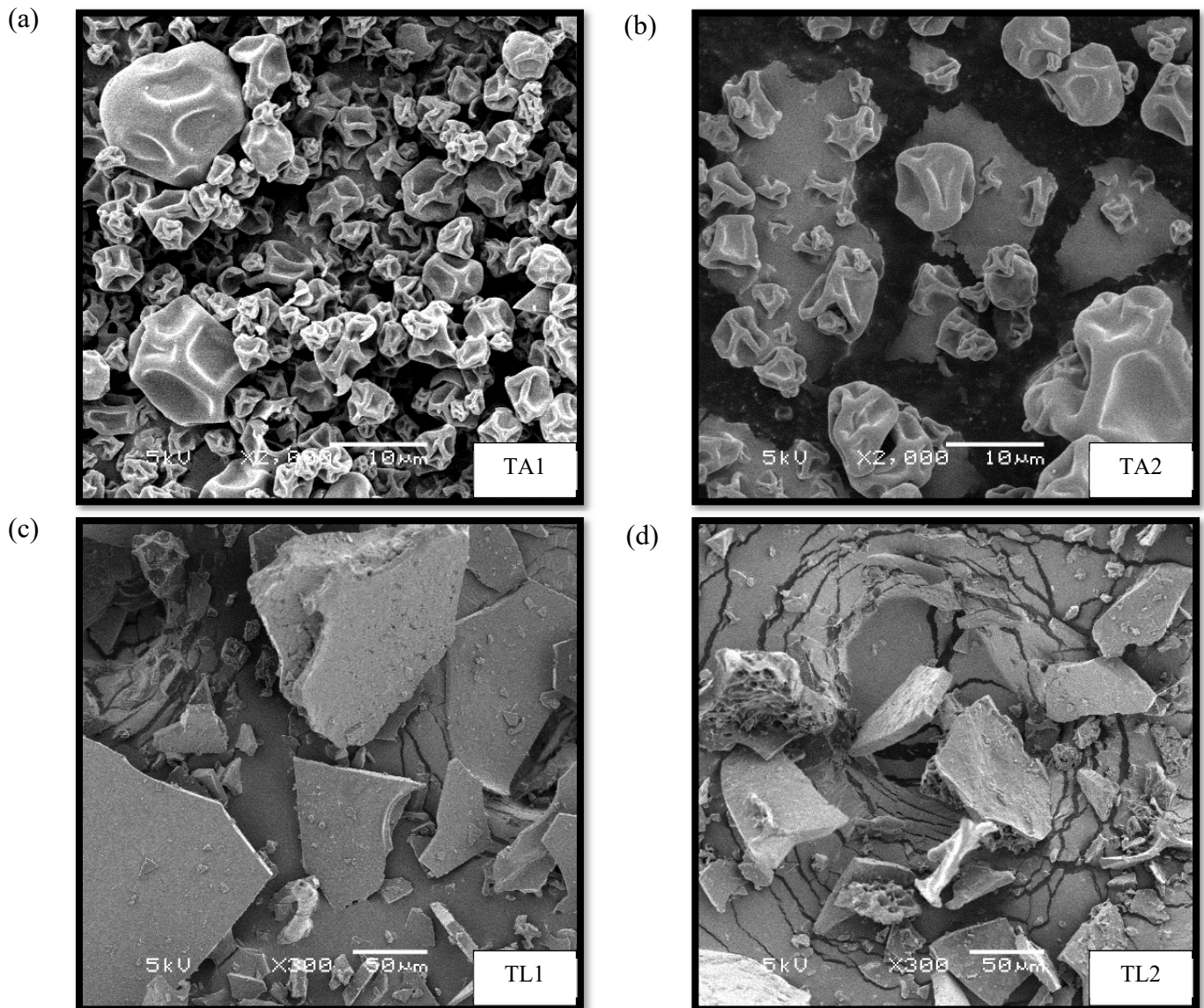
#### 4.3.4 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A morfologia externa das micropartículas pode ser visualizada nas micrografias mostradas na Figura 7. Os pós atomizados apresentaram grandes diferenças morfológicas devido as características inerentes a cada tipo de secagem e, em relação aos pós liofilizados, que foram moídos após secagem. No pó encapsulado por atomização, empregando WPI-GA (Figura 7a), as partículas apresentaram morfologia esférica onde a esfericidade das micropartículas é afetada pela rugosidade que pode ser ocasionada pela característica das proteínas globulares, como as  $\beta$ -lactoglobulinas da WPI (Ferrari et al., 2012; Wang et al., 2011).

A rugosidade pode ser, também, ocasionada pela mudança brusca de temperatura que ocorre durante o processo de secagem, onde a água é rapidamente evaporada fazendo com que haja uma conseqüente contração das partículas no resfriamento (Tonon et al., 2008).

Na Figura 7b, pode ser observado que a adição de pectina ocasiona partículas levemente mais arredondadas. Em um estudo, Moghbeli et al. (2019) constataram que pós produzidos por atomização com maiores proporções de pectina em relação a outros matérias de parede, como WPI, geraram micropartículas mais arredondadas. No entanto, a rugosidade é predominantemente devido a proporção das proteínas em relação a pectina (3:1:1, WPI-GA-Pec) ainda ser maior, como ocorre similarmente no outro pó TA1 (3:1, WPI-GA).

Quanto aos pós elaborados por liofilização (Figura 7c e 7d), as partículas apresentaram formatos irregulares semelhantes a estilhaços de vidro de diferentes tamanhos, o que é atribuído ao tipo de processo de secagem onde a água congelada é sublimada, o que resulta em uma estrutura rígida, porosa e sem encolhimento, que é o principal fator de qualidade do congelamento de alimentos secos (Yamashita et al., 2017). As microcavidades observadas nessas figuras, podem estar associadas à formação de cristais de gelo que se sublimam durante a secagem mantendo a estrutura rígida e sem encolhimento e, também, às bolhas de ar retidas durante o congelamento, devido às características emulsionantes dos materiais de parede como a WPI (Souza et al., 2017; Yamashita et al., 2017).

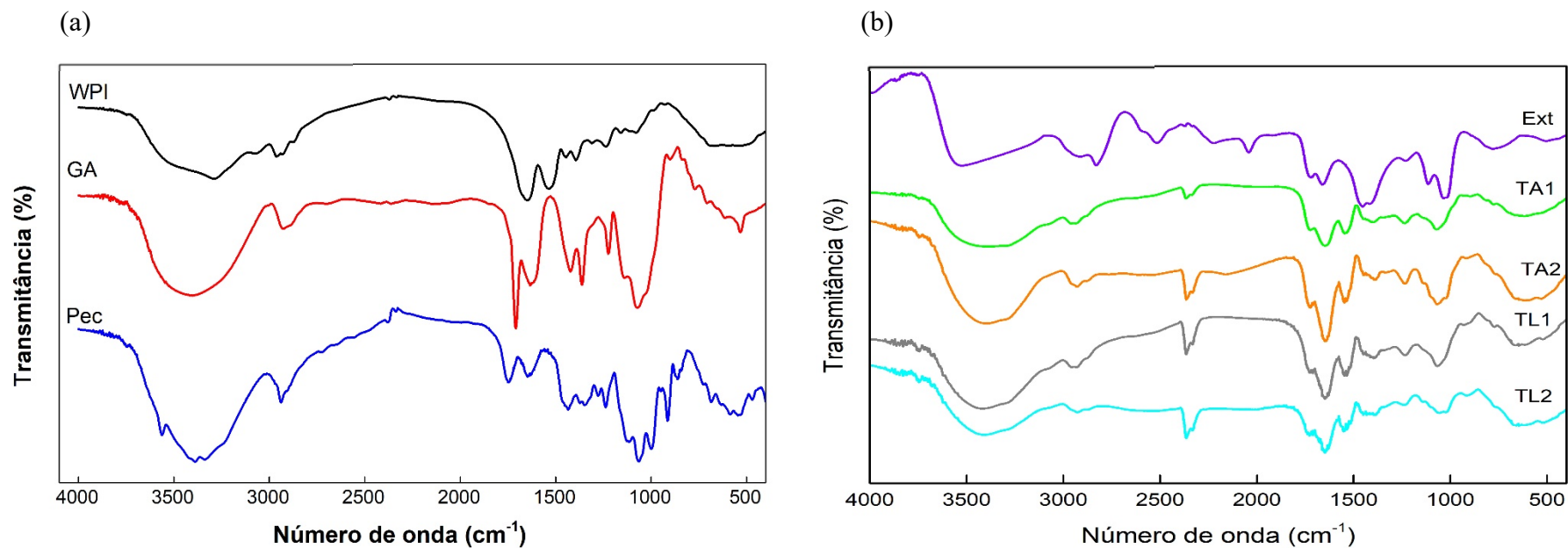


**FIGURA 7** Microscopia eletrônica de varredura do extrato aquoso do bagaço do suco de uva microencapsulado com proteína isolada do soro de leite (WPI), goma arábica (GA) e pectina (Pec), por atomização e liofilização.

Atomizado: TA1, WPI-GA (a); TA2, WPI-GA-Pec (b). Liofilizado: TL1, WPI-GA; TL2 (c); WPI-GA-Pec (d).

#### 4.3.5 Espectroscopia de infravermelho com transformada de *Fourier* (FTIR)

Na Figura 8a, se observa que os espectros de infravermelho dos três materiais de parede possuem, na faixa de  $3500$  a  $2800\text{ cm}^{-1}$ , as bandas de vibração de estiramento de hidroxilas e uma banda de estiramento C-H (García-Saldaña et al., 2016; Raei et al., 2018).



**FIGURA 8** Espectroscopia no infravermelho com transformada de *Fourier* (FTIR) dos materiais de parede, do extrato aquoso do bagaço do suco de uva e de seus pós microencapsulados por atomização e liofilização.

(a) proteína isolada do soro de leite (WPI), goma arábica (GA) e pectina (Pec); (b) extrato (Ext) e pós microencapsulados atomizados (TA1, WPI-GA; TA2, WPI-GA-Pec) e liofilizado (TL1, WPI-GA; TL2; WPI-GA-Pec).

Quando avaliado somente o espectro da WPI, há o aparecimento de banda característica de proteínas no intervalo de número de onda de 1700 a 1500  $\text{cm}^{-1}$  característico de bandas de amida I e II, com banda de vibração de estiramento C-N, estiramento C=O e banda de dobramento N-H, apresentando-se como um duplete (Raei et al., 2018). No espectro da Pec observou-se uma faixa de 1750 a 1600  $\text{cm}^{-1}$  com bandas características de carboxilas esterificadas e não-esterificadas e conjugação de carbonila, C=O, com vibração de banda de estiramento C-O na faixa de número de onda de 1200 a 1000  $\text{cm}^{-1}$ , evidenciando que a pectina é um polissacarídeo (García-Saldaña et al., 2016; Dranca e Oroian, 2018). Por fim, avaliando-se a GA, por ser formada principalmente por derivados de ácidos D-glucurônicos e glicoproteínas, também se observou bandas características de amida I e II intensificadas com as bandas características de carboxilas esterificadas e não-esterificados visualizadas também na Pec, além de uma banda de estiramento C-O na faixa de 1200 a 1000  $\text{cm}^{-1}$  (De Souza et al., 2015; García-Saldaña et al., 2016; Kang et al., 2019).

Na Figura 8b, se observa que devido a não purificação do extrato, se encontram diferentes classes de moléculas com diferentes grupos funcionais de ligações químicas. O espectro do extrato apresentou uma larga faixa de 3700 a 2500  $\text{cm}^{-1}$  com bandas de estiramento O-H e C-H característicos de ácidos carboxílicos, carboidratos (De Souza et al., 2015; García-Saldaña et al., 2016). A região do espectro que compreende a faixa de 1680 a 900  $\text{cm}^{-1}$  apresentou típicas bandas de estiramento C-O, C-O-C e O-H características de compostos fenólicos e monômeros de carboidratos encontrados em extratos de uva (De Souza et al., 2015). Assim como a vibração de bandas C=C na faixa de 1800 a 1520  $\text{cm}^{-1}$  que pode caracterizar a presença de compostos aromáticos (Edelmann et al., 2001; De Souza et al., 2015).

Observa-se, Figura 8b, que houve uma substituição da banda característica de compostos aromáticos obtida no espectro do extrato pela presença de bandas de amida I e II, além de carboxilas esterificadas e não-esterificadas, que são características da composição dos materiais de parede. Também pode-se observar que os pós obtidos por atomização apresentaram espectros similares a de seus pares liofilizados e demonstram o efeito predominante dos espectros dos materiais encapsulantes tanto nos tratamentos com WPI-GA (TA1 e TL1) quanto nos tratamentos com WPI-GA-Pec (TA2 e TL2), onde há uma sobreposição de bandas entre 1700 e 1500  $\text{cm}^{-1}$  referentes as amidas I e II e carboxilas esterificadas e não-esterificadas. Paulo e Santos (2018) observam que a não atribuição de bandas características do composto encapsulado nos espectros dos pós pode indicar que há a incorporação do composto de interesse à matriz polimérica do material de parede. De modo geral, os pós microencapsulados não apresentaram mudanças consideráveis em relação as bandas de ligações químicas quando

comparados aos espectros dos materiais encapsulantes isolados, como deslocamentos nos números de ondas e de intensidade de transmissão, garantindo que o encapsulamento ocorreu de forma física e não incorporação química de compostos (Yadav e Kumar, 2014; Ballesteros et al., 2017).

#### 4.3.6 Estabilidade dos compostos fenólicos em condições aceleradas durante o armazenamento

Os teores de compostos fenólicos totais (CFT), antocianinas monoméricas totais (AMT), e a atividade antioxidante pelos métodos ABTS e DPPH pode ser visualizado na Tabela 5 para o extrato aquoso do bagaço do suco de uva e dos seus pós microencapsulados com WPI, GA e Pec por atomização e liofilização.

**TABELA 5** Compostos fenólicos totais (CFT), Antocianinas monoméricas totais (AMT) e atividade antioxidante (ABTS e DPPH) do extrato aquoso do bagaço do suco de uva microencapsulado com proteína isolada do soro de leite (WPI), goma arábica (GA) e pectina (Pec), por atomização e liofilização.

Tratamentos	CFT*	AMT**	ABTS***	DPPH***
Extrato	8,58±0,02 <sup>a</sup>	1,540±0,031 <sup>a</sup>	24,20±0,03 <sup>a</sup>	35,94±0,23 <sup>a</sup>
TA1	2,66±0,00 <sup>b</sup>	0,346±0,007 <sup>b</sup>	8,23±0,21 <sup>b</sup>	12,64±0,02 <sup>b</sup>
TA2	2,30±0,04 <sup>c</sup>	0,291±0,010 <sup>c</sup>	6,18±0,14 <sup>c</sup>	9,91±0,07 <sup>c</sup>
TL1	2,42±0,02 <sup>c</sup>	0,353±0,003 <sup>b</sup>	8,32±0,04 <sup>b</sup>	10,92±0,01 <sup>b</sup>
TL2	1,88±0,04 <sup>d</sup>	0,321±0,001 <sup>c</sup>	6,29±0,04 <sup>c</sup>	7,99±0,35 <sup>c</sup>

Diferentes letras em uma mesma coluna indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ). Extrato refere-se a extração assistida por micro-ondas (1000 W e 10 min) do bagaço do suco de uva. Atomizados (TA1, WPI-GA; TA2, WPI-GA-Pec) e liofilizado (TL1, WPI-GA; TL2; WPI-GA-Pec).

\*CFT expresso em  $\text{mg}_{\text{EAG}} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{ms}}$ ;

\*\*AMT expresso  $\text{mg}_{\text{malvidina-3,5-diglicosideo}} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{ms}}$ ;

\*\*\*ABTS e DPPH expressos em  $\mu\text{mol}_{\text{ET}} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{ms}}$ .

O teor de CFT para todos os pós microencapsulados foi significativamente menor do que no extrato. Entre os pós houve diferença significativa e seus rendimentos ficaram em torno de 30 %, com exceção do pó liofilizado com WPI-GA-Pec (TL2), que obteve um rendimento de 22 %. A maior retenção de compostos fenólicos foi obtida no tratamento atomizado com WPI-GA, e o menor no tratamento liofilizado contendo pectina, com valores de 2,66±0,00 e

$1,88 \pm 0,04 \text{ mg}_{\text{EAG}} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{ms}}$ , respectivamente. No caso dos pós atomizados, o decréscimo dos teores de compostos fenólicos possivelmente foi ocasionado pelas altas temperaturas utilizadas na atomização o que pode causar a degradação e/ou a polimerização das moléculas (Gharsallaoui et al., 2007). Nos pós liofilizados, as perdas do teor de CFT podem estar associadas à degradação devido a reações de oxidação que são ocasionadas pela porosidade produzida pela sublimação, bolhas de ar retidas durante o congelamento, devido às características emulsionantes dos materiais de parede, e ainda, devido a moagem realizada após a secagem (Kuck e Noreña, 2016; Souza et al., 2017; Yamashita et al., 2017).

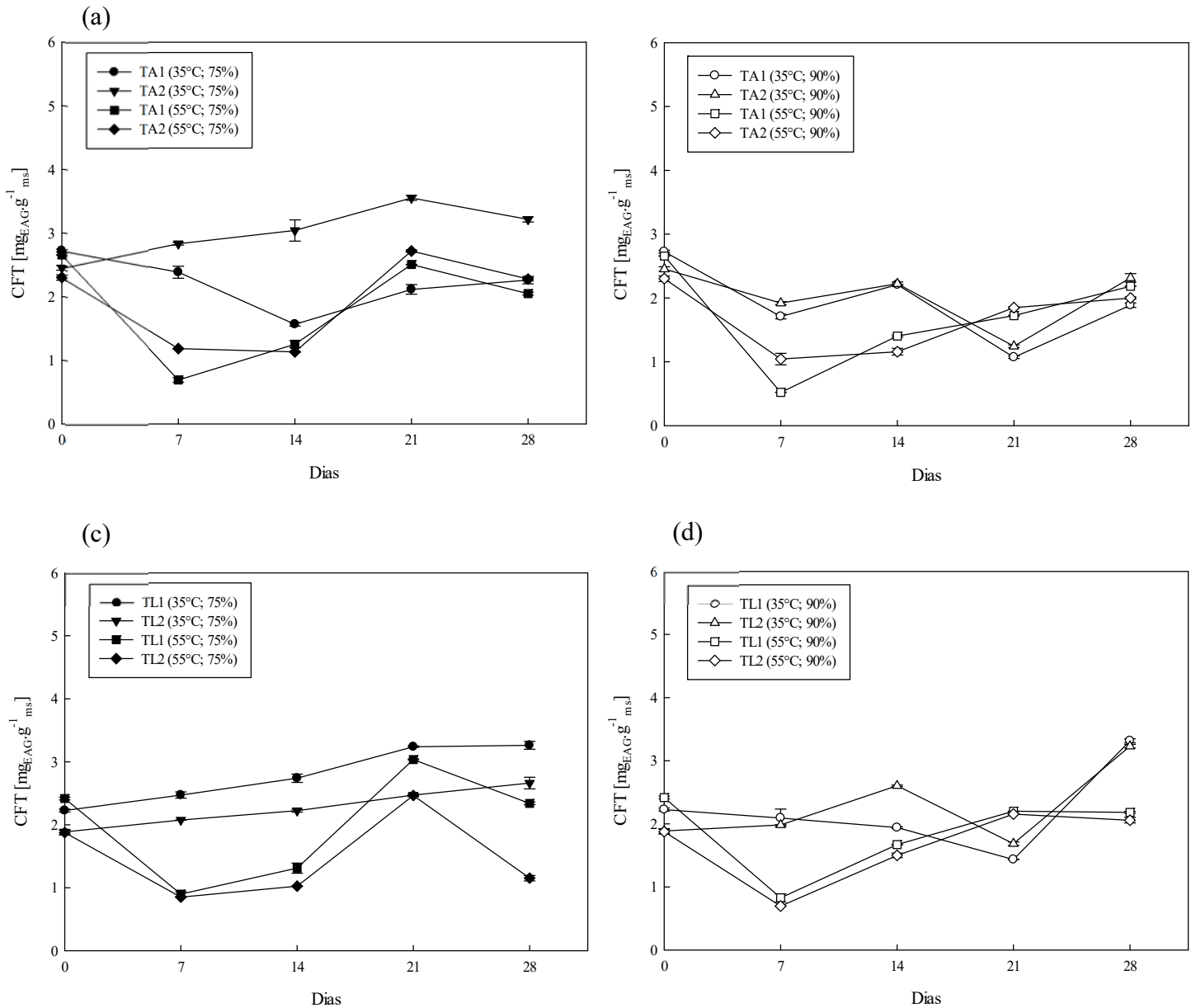
O teor de AMT (Tabela 5), de todos os pós foi significativamente menor que no extrato. As maiores concentrações registradas foram nos tratamentos TA1 e TL1, que corresponderam a valores de  $0,353 \pm 0,003$  e  $0,346 \pm 0,007 \text{ mg}_{\text{malvidina-3,5-diglicosídeo}} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{ms}}$ , respectivamente. Os pós contendo pectina obtiveram valores significativamente menores que os pós encapsulados somente com WPI-GA, indicando que a adição da pectina pode ter afetado a retenção de antocianinas.

Lee et al. (2005) mencionam que devido a exposição à altas temperaturas na secagem por atomização e da exposição à reações oxidativas na liofilização pode haver degradação de compostos fenólicos, dentre eles, as antocianinas, podendo ocorrer, ainda, reações de hidrólises que podem mudar a natureza dos compostos, ou reações de polimerização formando compostos fenólicos com maior ou menor atividade antioxidante. Sendo que os novos compostos formados podem não ser quantificados pelo método analítico que é específico para monômeros de antocianinas presentes nas amostras.

A atividade antioxidante do extrato (Tabela 5), foi significativamente maior que nos pós, tanto no método de ABTS, quanto no DPPH. A capacidade antioxidante dos alimentos está diretamente relacionada ao comportamento do teor de compostos fenólicos presentes nas amostras, pois o conjunto dos antioxidantes é formado por diferentes compostos, tendo em vista que os antioxidantes neutralizam os radicais livres (Kaur e Kapoor, 2001). Quando as misturas são avaliadas, a atividade antioxidante dos pós com WPI-GA foi significativamente maior que os pós com pectina. Isso pode ser devido a presença de peptídios, tais como a  $\alpha$ -lactoalbumina e  $\beta$ -lactoglobulina que, presente na composição da WPI, também possuem atividade antioxidante (Brandelli et al., 2015). Apesar de todos os pós apresentarem WPI, a pectina pode estar ligada quimicamente a esses peptídios, afetando sua capacidade antioxidante.

Os resultados indicam que o encapsulamento realizado com a mistura WPI-GA, tanto no liofilizado como no atomizado apresentaram os melhores resultados para os teores de

compostos fenólicos totais, antocianinas monoméricas totais, atividade antioxidante por ABTS e DPPH.



**FIGURA 9** Efeito da temperatura e umidade relativa dos teores de compostos fenólicos totais (CFT) do extrato aquoso do bagaço do suco de uva microencapsulado por atomização em umidade de 75 % (a) e de 90 % (b) e por liofilização em umidade de 75 % (c) e de 90 % (d).

(●) TA1, TL1: 35°C, 75 %; (▼) TA2, TL2: 35°C, 75 %; (■) TA1, TL1: 55°C, 75 %; (◆) TA2, TL2: 55°C, 75 %; (○) TA1, TL1: 35°C, 90 %; (△) TA2, TL2: 35°C, 90 %; (□) TA1, TL1: 55°C, 90 %; (◇) TA2, TL2: 55°C, 90 %; TA1 e TA2 por atomização usando WPI-GA e WPI-GA-Pec, respectivamente. TL1 e TL2 por liofilização usando WPI-GA e WPI-GA-Pec, respectivamente.

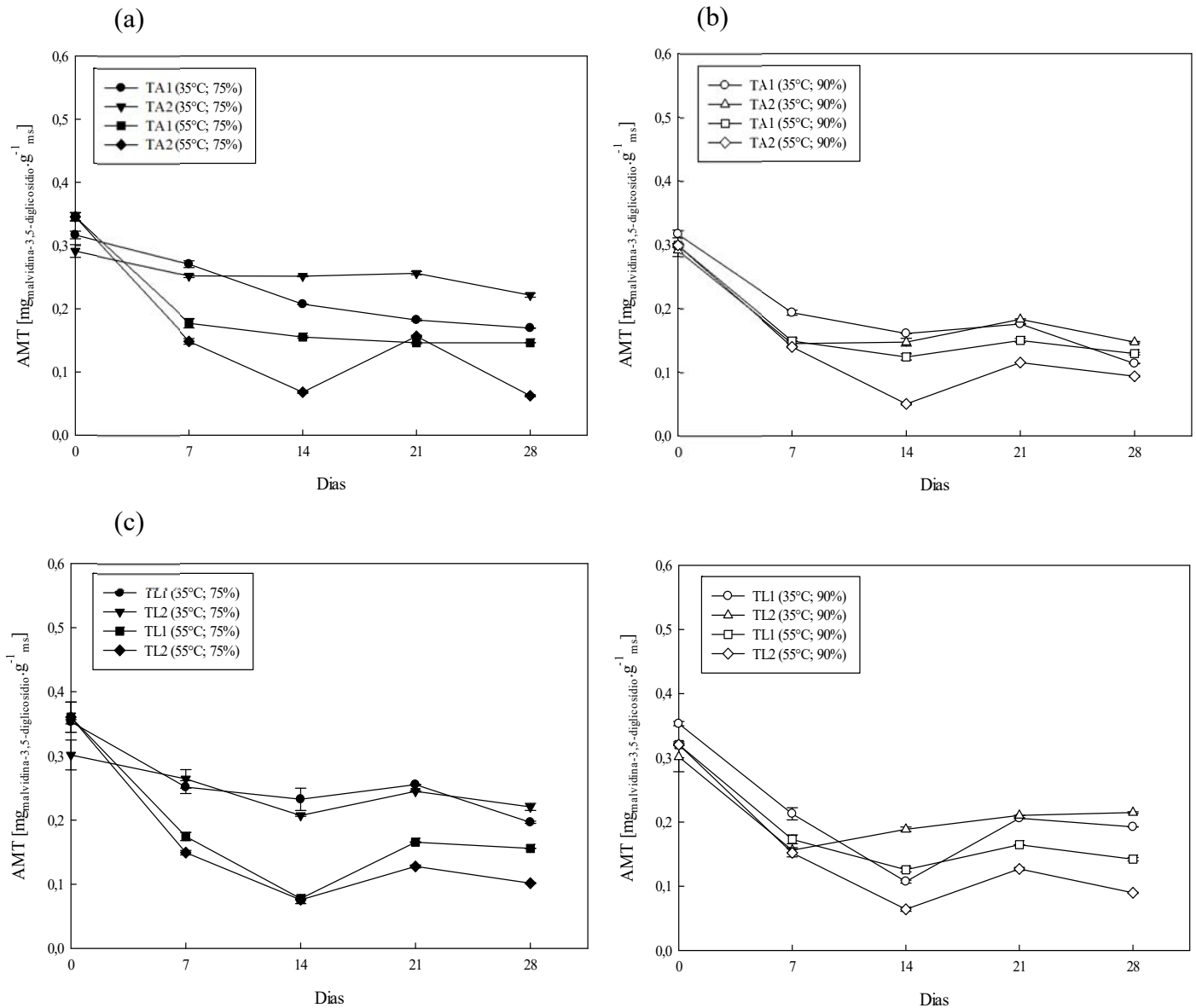


Na Figura 9 (a-d), pode ser observada a variação do teor dos compostos fenólicos totais ao longo do tempo, para diferentes condições de temperatura e umidade relativa. Na Figura 9a e 9b, se observa que o pó contendo pectina (TA2), nas condições de 35°C e 75 % UR, teve a melhor estabilidade ao longo dos 28 dias.

Em relação aos outros tratamentos houveram perdas significativas na primeira semana, sendo maiores quando submetidos a 55 °C, e não havendo diferenças significativas, no final da estocagem, entre esses tratamentos. A retenção do pó com pectina TA2 (35°C, 75 %) foi 35 % maior do que a média das retenções obtidos nas outras condições no final da estocagem. A grande área superficial formada nos pós atomizados pode favorecer a liberação e as reações de degradação destes compostos. A rápida redução de compostos fenólicos durante a primeira semana pode ser devido a que parte dos compostos fenólicos se encontravam na superfície e não encapsulada, ocasionando perdas pelas reações de oxidação e hidrólise (Kuck et al., 2017).

Na Figura 9c e 9d, que corresponde aos pós liofilizados, se observa que nos primeiros 15 dias para todos os pós, quando submetidos a 35 °C, não houve perdas de compostos fenólicos, entretanto, quando submetidos a 55 °C, se observaram perdas significativas na primeira semana. Porém, ambos pós a 35°C e 90 % UR, no dia 28, tiveram aumento significativo nos valores de retenção de compostos fenólicos. Flores et al. (2014b) observaram o aumento do teor de fenóis totais de pós atomizados com WPI de extratos de mirtilo em condições de temperatura de 22, 37 e 45 °C ao longo de 40 dias. Robert et al. (2010), nos extratos de romã encapsulados com misturas de maltodextrina com proteína isolada de soja também observaram o aumento de compostos fenólicos e antocianinas quando armazenados a 60 °C por 56 dias. Eles mencionam que o incremento no teor de fenólicos e antocianinas nos 35 primeiros dias pode ser devido a reações de hidrólise em compostos fenólicos conjugados inerentes à matriz do extrato.

No caso das antocianinas, para as amostras atomizadas e liofilizadas, Figura 10 (a-d), o tratamento que corresponde ao pó contendo pectina (TA2) nas condições de 35 °C e 75 % UR, apresentou o comportamento similar ao observado no conteúdo de CFT, tendo a melhor estabilidade ao longo de todo o período de armazenamento. Nas demais condições as perdas foram significativas nos primeiros 14 dias tanto para os pós atomizados quanto para os liofilizados. Após a segunda semana o teor de antocianinas nas amostras permanecerem estáveis.



**FIGURA 10** Efeito da temperatura e umidade relativa dos teores de antocianinas monoméricas totais (AMT) do extrato aquoso do bagaço do suco de uva microencapsulado por atomização em umidade de 75 % (a) e de 90 % (b) e por liofilização em umidade de 75 % (c) e de 90% (d). (●) TA1, TL1: 35°C, 75 %; (▼) TA2, TL2: 35°C, 75 %; (■) TA1, TL1: 55°C, 75 %; (◆) TA2, TL2: 55°C, 75 %; (○) TA1, TL1: 35°C, 90 %; (△) TA2, TL2: 35°C, 90 %; (□) TA1, TL1: 55°C, 90 %; (◇) TA2, TL2: 55°C, 90 %; TA1 e TA2 por atomização usando WPI-GA e WPI-GA-Pec, respectivamente. TL1 e TL2 por liofilização usando WPI-GA e WPI-GA-Pec, respectivamente.

Khazaei et al. (2014) estudaram diferentes formulações de goma arábica com maltodextrina como encapsulantes em testes acelerados ao longo de 10 semanas a 35 °C, relatando que após as duas primeiras semanas, o conteúdo de antocianinas monoméricas totais

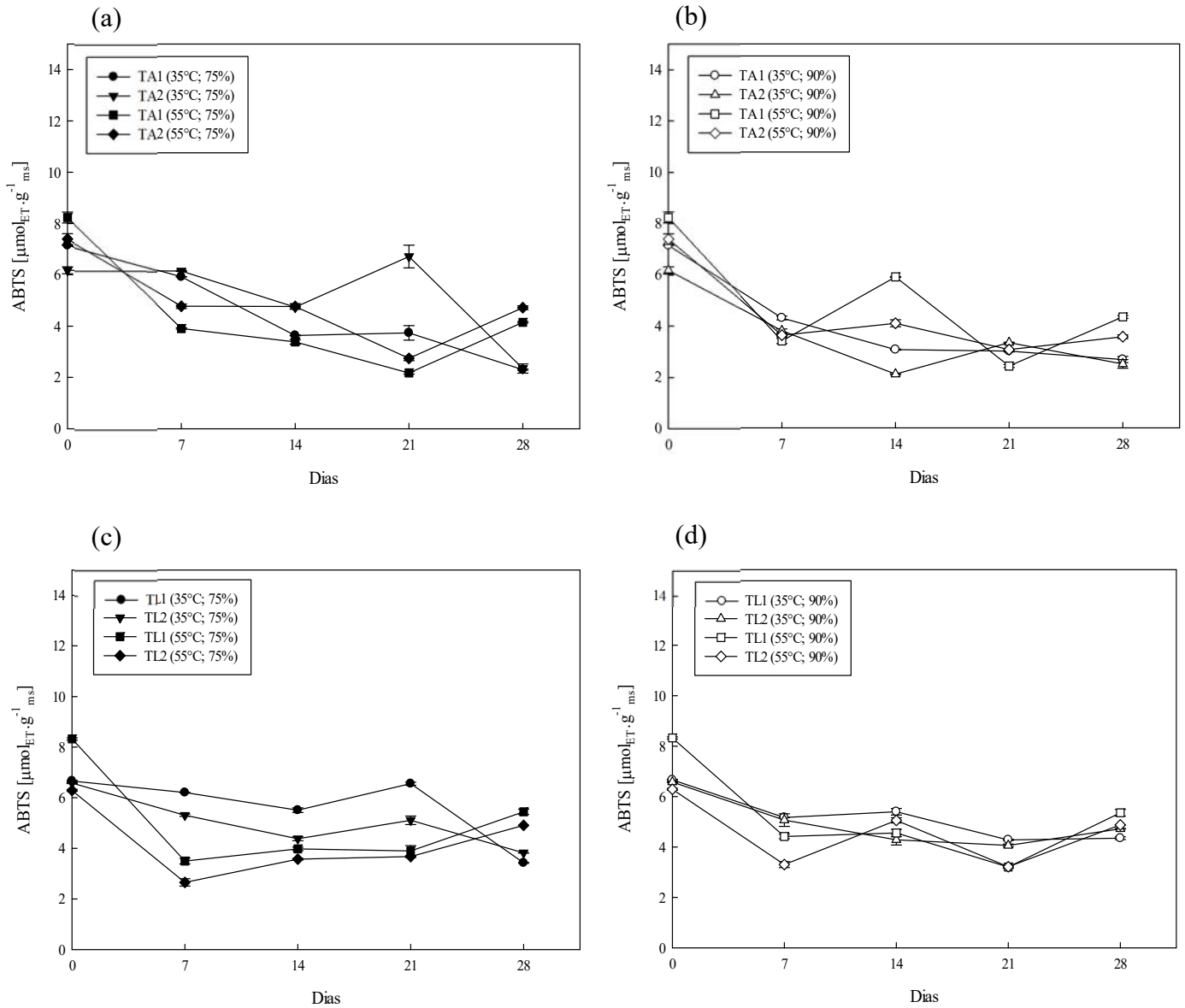
se manteve estável. A estabilidade das antocianinas está diretamente relacionada com os efeitos protetivos que os materiais de parede conferem durante o armazenamento, pois são obstáculos físicos que podem diminuir os efeitos de degradação em relação aos fatores extrínsecos, como a luz, calor, oxigênio e umidade (Khazaei et al., 2014). As maiores retenções de AMT no final do período a 35 °C e a 75 %, corresponderam aos pós TA2 e TL2, com valores de 76 e 73 %, respectivamente ( $0,221 \pm 0,003$  e  $0,221 \pm 0,005$   $\text{mg}_{\text{malvidina-3,5-diglicosídeo}} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{ms}}$ , respectivamente).

Sobre a atividade antioxidante por ABTS nos pós atomizados e liofilizados, Figura 11(a-d), se observam perdas significativas na primeira semana de testes acelerados, e após, não apresentaram mais diferenças significativas ao longo do tempo para cada condição de temperatura e de umidade relativa.

Em relação a atividade antioxidante por DPPH, os pós atomizados (Figura 12a e 12b), nas duas primeiras semanas houveram perdas significativas e após não apresentaram diferenças quando comparado com a terceira semana para cada condição de temperatura e de umidade relativa. No caso dos pós liofilizados (Figura 12c e 12d) houveram perdas significativas na primeira de semana, não apresentando diferença com a segunda semana. No entanto, na terceira semana, com exceção da condição de 55 °C e 90 % UR, os teores não foram significativos quando comparados com a segunda semana ( $p < 0,05$ ).

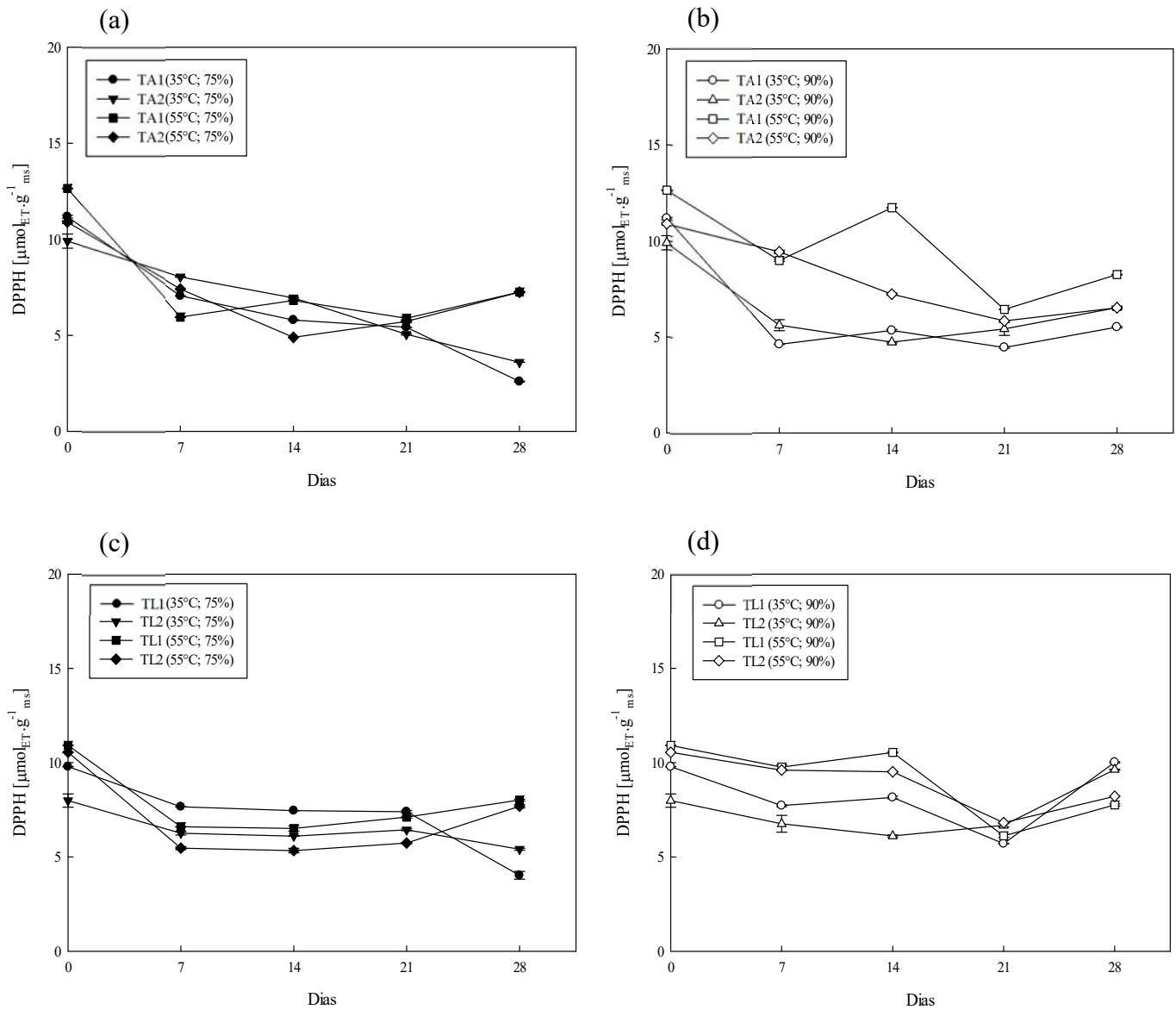
Na quarta semana em algumas condições de temperatura (55 °C e 75 % UR; 35 e 55 °C com 90 % UR) houve aumento significativo da atividade antioxidante. Flores et al. (2014b) e Brandelli et al. (2015) mencionam que a desnaturação proteica da WPI pode gerar peptídeos e aminoácidos funcionais com propriedades de atividade antioxidante.

As maiores perdas relatadas principalmente na primeira semana para os compostos fenólicos, antocianinas e atividades antioxidantes, indicam que parte dos compostos bioativos foram encapsulados em torno da superfície dos materiais de parede ou não foram corretamente encapsulados, ficando expostos a luz e o oxigênio. Cabe ressaltar, que durante o armazenamento prolongado a degradação dos compostos fenólicos e peptídeos podem gerar novos compostos que tende a compensar totalmente ou parcialmente o decréscimo da atividade antioxidante dos pós, devido a hidrólises e outras reações de reestruturação como a polimerização dos compostos (Robert et al., 2010; Flores et al., 2014b; Brandelli et al., 2015; Kuck et al., 2017).



**FIGURA 11** Efeito da temperatura e umidade relativa na atividade antioxidante por ABTS do extrato aquoso do bagaço do suco de uva microencapsulado por atomização em umidade de 75 % (a) e de 90 % (b) e por liofilização em umidade de 75 % (c) e de 90 % (d).

(●) TA1, TL1: 35°C, 75 %; (▼) TA2, TL2: 35°C, 75 %; (■) TA1, TL1: 55°C, 75 %; (◆) TA2, TL2: 55°C, 75 %; (○) TA1, TL1: 35°C, 90 %; (△) TA2, TL2: 35°C, 90 %; (□) TA1, TL1: 55°C, 90 %; (◇) TA2, TL2: 55°C, 90 %; TA1 e TA2 por atomização usando WPI-GA e WPI-GA-Pec, respectivamente. TL1 e TL2 por liofilização usando WPI-GA e WPI-GA-Pec, respectivamente.



**FIGURA 12** Efeito da temperatura e umidade relativa na atividade antioxidante por DPPH do extrato aquoso do bagaço do suco de uva microencapsulado por atomização em umidade de 75 % (a) e de 90 % (b) e por liofilização em umidade de 75 % (c) e de 90 % (d).

(●) TA1, TL1: 35°C, 75 %; (▼) TA2, TL2: 35°C, 75 %; (■) TA1, TL1: 55°C, 75 %; (◆) TA2, TL2: 55°C, 75 %; (○) TA1, TL1: 35°C, 90 %; (△) TA2, TL2: 35°C, 90 %; (□) TA1, TL1: 55°C, 90 %; (◇) TA2, TL2: 55°C, 90 %; TA1 e TA2 por atomização usando WPI-GA e WPI-GA-Pec, respectivamente. TL1 e TL2 por liofilização usando WPI-GA e WPI-GA-Pec, respectivamente.

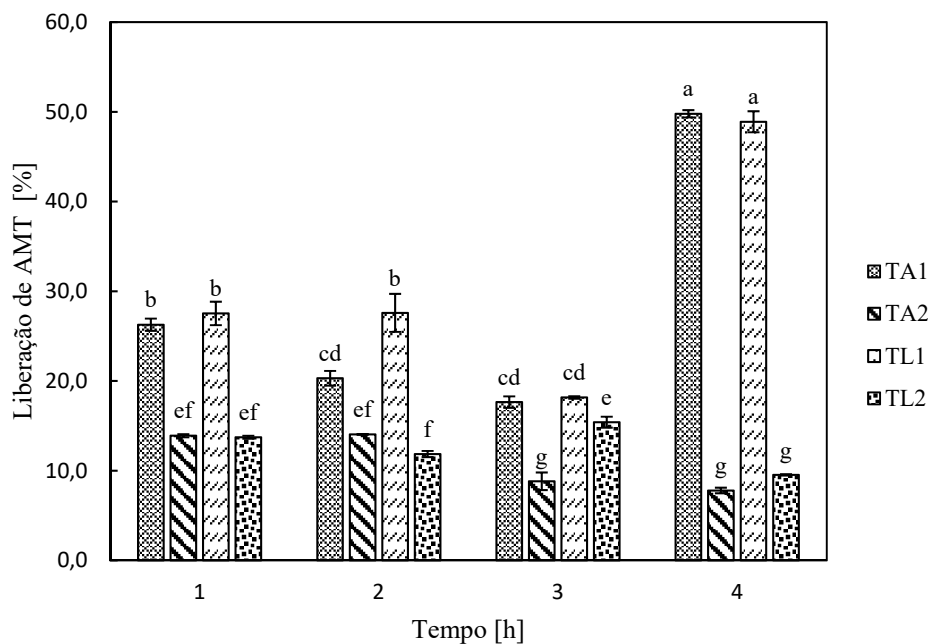
#### 4.3.7 Simulação digestiva *in vitro*

O efeito da simulação digestiva *in vitro* na liberação das antocianinas monoméricas totais encapsuladas foi dividido em duas etapas e é apresentada na Figura 13. A primeira etapa envolve a fase gástrica que simula a entrada do alimento no trato gastrointestinal superior pela boca. Nos primeiros minutos o alimento sofrerá ação da saliva em um pH em torno da neutralidade e em seguida será transportado para o estômago, onde o bolo alimentar se tornará o quimo em pH ácido com a presença do suco gástrico e enzimas proteolíticas como a pepsina, que no caso da simulação corresponde à primeira e segunda hora do experimento. A segunda etapa, chamada fase intestinal, abrange a terceira e quarta hora do experimento correspondendo à simulação da digestão no intestino delgado, o qual o quimo torna-se quilo em pH alcalino, na presença do suco duodenal e da biliar tendo a ação das enzimas pancreatina e lipase (Guyton e Hall, 2006; Hur et al., 2009; Flores et al., 2014a). Sabe-se que é no intestino delgado que grande parte dos compostos fenólicos, antocianinas glicosiladas, peptídeos e aminoácidos ao sofrerem reações hidrolíticas, desesterificações, despeptizações, entre outras, podem ser absorvidas ao longo do intestino delgado (Flores et al., 2014a; Kuck et al., 2017).

Os pós atomizados e liofilizados com materiais de parede WPI-GA obtiveram liberações de  $26,3 \pm 0,7$  e  $27,5 \pm 1,3$  % respectivamente, na primeira hora da fase gástrica e, no final da quarta hora, na fase intestinal chegaram a valores de liberação de  $49,8 \pm 0,4$  e  $48,9 \pm 1,2$  % respectivamente. Oancea et al. (2017) mostraram que o encapsulamento de extratos de cerejas com  $\beta$ -lactoglobulinas obtiveram cerca de 30 % de liberação de antocianinas no final da fase gástrica e de 50 a 60 % no final da fase intestinal. As menores liberações ocorridas na fase gástrica provavelmente são devido aos materiais de parede utilizados que possuem uma ligação proteína-carboidrato favorecida pelo pH ácido do meio que torna a proteína com caráter catiônico e os polissacarídeos (GA e Pec) com caráter aniônico, podendo, assim, resistir à ação hidrolítica das proteases presentes na digestão (Eratte et al., 2014; Paulo e Santos, 2018).

Os pós contendo pectina tiveram as menores liberações, sendo na fase gástrica de  $14,0 \pm 0,0$  e  $11,9 \pm 0,3$  % para TA2 e TL2 respectivamente, e na fase intestinal de  $7,8 \pm 0,3$  e  $9,5 \pm 0,1$  %. Esse decréscimo na liberação pode ser explicado pela baixa digestibilidade da goma arábica e da pectina devido a sua baixa solubilidade no meio alcalino da fase intestinal, fazendo com que os pós se tornem menos suscetíveis a liberação de antocianinas. Levando-se em consideração que o método utilizado neste estudo é específico para antocianinas monoméricas e para quantificação, faz-se o uso do método absorciométrico pelo decréscimo de cor, desta forma a possível formação de antocianinas incolores, que são favorecidas no pH alcalino da

fase intestinal, em detrimento do cátion flavílio presente nas antocianinas com coloração, pode estar relacionado ao decréscimo nos resultados obtidos (Lee et al., 2005; Kuck et al., 2017; Heras et al., 2017).



**FIGURA 13** Percentual de liberação de Antocianinas Monoméricas Totais (AMT) durante a simulação digestiva *in vitro* dos pós microencapsulados, onde a primeira e segunda hora correspondem a fase gástrica (boca e estômago) e a terceira e quarta hora correspondem a fase intestinal (intestino delgado).

TA1 e TA2 por atomização usando WPI-GA e WPI-GA-Pec, respectivamente.

TL1 e TL2 por liofilização usando WPI-GA e WPI-GA-Pec, respectivamente.

#### 4.4 Conclusão

Foi possível obter pós microencapsulados provenientes do extrato aquoso obtido por extração assistida por micro-ondas, utilizando-se a proteína isolada do soro de leite com a goma arábica e a pectina como materiais de parede.

Tanto os pós atomizados quanto os liofilizados com materiais de parede contendo WPI-GA apresentaram os melhores resultados para os teores de compostos fenólicos totais ( $2,66 \pm 0,00$  e  $2,42 \pm 0,02$   $\text{mg}_{\text{EAG}} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{ms}}$ ), antocianinas monoméricas totais ( $0,346 \pm 0,007$  e

0,353±0,003 mg<sub>malvidina-3,5-diglicosídeo</sub>·g<sup>-1</sup><sub>ms</sub>), atividade antioxidante por ABTS (8,23±0,21 e 8,32±0,04 μmol<sub>ET</sub>·g<sup>-1</sup><sub>ms</sub>) e DPPH (12,64±0,02 e 10,92±0,01 μmol<sub>ET</sub>·g<sup>-1</sup><sub>ms</sub>). No entanto, quando os pós foram submetidos às provas aceleradas de estocagem, indicaram que maiores retenções de antocianinas foram nas amostras contendo pectina tanto por atomização como por liofilização, com valores de retenção no final do teste de 76 e 73 % (0,221±0,003 e 0,221±0,005 mg<sub>malvidina-3,5-diglicosídeo</sub>·g<sup>-1</sup><sub>ms</sub>), respectivamente, nas condições de 35 °C e 75 % UR.

As provas de simulação digestiva *in vitro* indicaram que a maior liberação de antocianinas na fase intestinal foi nas amostras que não continham pectina. Mais estudos deverão ser realizados a fim de elucidar a utilização destes produtos como ingredientes em matrizes alimentícias.



## REFERÊNCIAS

- ACOSTA-ESTRADA, B. A.; GUTIÉRREZ-URIBE, J. A.; SERNA-SALDÍVAR, S. O. Bound phenolics in foods, a review. **Food Chemistry**, v. 152, p. 46-55, 2014.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). **Official methods of analysis of AOAC International**. 19th ed. Gaithersburg, MD: AOAC, c2012. 2v.
- BALLESTEROS, L.; RAMIREZ, M. J.; ORREGO, C. E.; TEIXEIRA, J.A.; MUSSATO, 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.
- BAZARIA, B.; KUMAR, P.. Effect of whey protein concentrate as drying aid and drying parameters on physicochemical and functional properties of spray dried beetroot juice concentrate. **Food Bioscience**, v. 14, p. 21-27, 2016.
- BERES, C.; COSTA, G. N. S.; CABEZUDO, I.; DA SILVA-JAMES, N. K.; TELES, A. S. C.; CRUZ, A. P. G.; MELLINGER-SILVA, C.; TONON, R. V.; CABRAL, L. M. C.; FREITAS, S. P.. Towards integral utilization of grape pomace from winemaking process: A review. **Waste Management**, v. 68, p. 581-594, 2017.
- BRANDELLI, A.; DAROIT, D.J.; CORRÊA, A.P.F.. Whey as a source of peptides with remarkable biological activities. **Food Research International**, v. 73, p. 149-161, 2015.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT – Lebensmittel Wissenschaft und Technologie**, v. 28, p. 25-30, 1995.
- CAI, Y. Z.; CORKE, H. Production and properties of spray-dried *Amaranthus* betacyanins pigments. **Journal of Food Science**, v. 65, n. 6, p. 1248-1252, 2000.
- CANO-CHAUCA, M.; STRINGUETA, P. C.; RAMOS, A. M.; CAL-VIDAL, J. Effect of the carries 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.
- CHUNG, C.; ROJANASASITHARA, T.; MUTILANGI, W.; McCLEMENTS, D. J.. Enhanced stability of anthocyanin-based color in model beverage systems through whey protein isolate complexation. **Food Research International**, v. 76, p. 761-768, 2015.
- DAMODARAN, S.; FENNEMA, O. R.; PARKIN, K. L. **Fennema's food chemistry**. 4th ed. Boca Raton : CRC Press, Taylor & Francis, c2008. 1144 p. : il.
- DE SOUZA, V. B.; THOMAZINI, M.; BALIERO, J. C. C.; FÁVARO-TRINDADE, C. S.. Effect of spray drying on the physicochemical properties and color stability of the powdered pigment obtained from vinification byproducts of the Bordo grape (*Vitis labrusca*). **Food and Bioprocess Processing**, v. 93, p. 39-50, 2015.
- DO CARMO, E. L.; TEODORO, R. A. R.; FÉLIX, P. H. C.; FERNANDES, R. V. B.; DE OLIVEIRA, E. R.; VEIGA, T. R. L. A.; BORGES, S. V.; BOTREL, D. A.. Stability of spray-dried beetroot extract using oligosaccharides and whey proteins. **Food Chemistry**, v. 249, p. 51-59, 2018.
- DRANCA, F.; OROIAN, M.. Extraction, purification and characterization of pectin from alternative sources with potential technological applications. **Food research International**, v. 113, p. 327-350, 2018.
- EASTMAN, J. E.; MOORE, C. O. **Cold water soluble granular starch for gelled food compositions**. U. S. Patent 4,465,702. 1984.

- EDELMANN, A.; DIEWOK, J.; SCHUSTER, K. C.; LENDL, B. Rapid method for the discrimination of red wine cultivars based on mid-infrared spectroscopy of phenolic wine extracts. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 1139-1145, 2001.
- ERATTE, D.; WANG, B.; DOWLING, K.; BARROW, C. J.; ADHIKARI, B. P. Complex coacervation with whey isolate and gum Arabic for the microencapsulation of omega-3 rich tuna oil. **Food & Function**, v. 5, p. 2743-2750, 2014.
- ERSUS, S.; YURDAGEL, U. Microencapsulation of anthocyanin pigments of black carrot (*Daucus carota* L.) by spray drier. **Journal of Food Engineering**, v. 80, n. 3, p. 805-812, 2007.
- FERRARI, C. C.; GERMER, S. P. M.; ALVIM, I. D.; VISSOTTO, F. Z.; AGUIRRE, J. M. Influence of carrier agents on the physicochemical properties of blackberry powder produced by spray drying. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 47, p. 1237-1245, 2012.
- FLORES, F. P.; SINGH, R. K.; KERR, R. B.; PEGG, F. K.; KONG, F.. Total phenolics content and antioxidant capacities of microencapsulated blueberry anthocyanins during *in vitro* digestion. **Food Chemistry**, v. 153, p. 272-278, 2014a.
- 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. 1-5, 2014b.
- GARCÍA-SALDAÑA, J. S.; CAMPAS-BAYPOLI, O. N.; LÓPEZ-CERVANTES, J.; SÁNCHEZ-MACHADO, D. I.; CANTÚ-SOTO, E. U.; RODRÍGUEZ-RAMÍREZ, R. Microencapsulation of sulforaphane from broccoli seed extracts by gelatin/gum arabic and gelatin/pectin complexes. **Food Chemistry**, v. 201, p. 94-100, 2016.
- 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.
- GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R. E. Acylated anthocyanins from edible sources and their applications in food systems. **Biochemical Engineering Journal**, v. 14, p. 217-225, 2003.
- GORDILLO, B.; RODRÍGUEZ-PULIDO, F. J.; GONZÁLEZ-MIRET, M. L.; QUIJADA-MORÍN, N.; RIVAS-GONZALO, J. C.; GARCÍA-ESTÉVEZ, I.; HEREDIA, F. J.; ESCRIBANO-BAILÓN, M. T.. Applications of Differential Colorimetry To Evaluate Anthocyanin-Flavonol-Flavanol Ternary Copigmentation Interactions in Model Solutions. **Journal of Agriculture and Food Science**, v. 63, p. 7645-7653, 2015.
- GUYTON, Arthur C.; HALL, John E. Tratado de fisiología médica. 11. ed. Rio de Janeiro, RJ: Elsevier, c2006. xxxvi, 1115 p. ISBN 9788535216417.
- HE, B.; ZHANG, L.; YUE, X.; LIANG, J.; JIANG, J.; GAO, X.; YUE, P.. Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds and anthocyanins from blueberry (*Vaccinium ashei*) wine pomace. **Food Chemistry**, v. 204, p. 70-76, 2016.
- HERAS, R. M.; PINAZO, A.; HEREDIA, A.; ANDRÉS, A.. Evaluation studies of persimmon plant (*Diospyros kaki*) for physiological benefits and bioaccessibility of antioxidants by *in vitro* simulated gastrointestinal digestion. **Food Chemistry**, v. 214, p. 478-485, 2017.
- HUR, S. J.; DECKER, E. A.; McCLEMENTS, D. J. Influence of initial emulsifier type on microstructural changes occurring in emulsified lipids during *in vitro* digestion. **Food Chemistry**, v. 114, n. 1, p. 253-262, 2009.
- JANISZEWSKA, E. Microencapsulated beetroot juice as a potential source of betalain. **Powder Technology**, v. 264, p. 190-196, 2014.
- KANG, Y.; LEE, Y.; KIM, Y. J.; CHANG, Y. H.. Characterization and storage stability of chlorophylls microencapsulated in different combination of gum Arabic and maltodextrin. **Food Chemistry**, v. 272, p. 337-346, 2019.

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.

KHAZAEI, K. M.; JAFARI, S. M.; GHORBANI, M.; KAKHKI, A. H.. Application of maltodextrin and gum Arabic in microencapsulation of saffron petal’s anthocyanins and evaluating their storage stability and color. **Carbohydrate Polymers**, v. 105, p. 57-62, 2014.

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

KUCK, L. S.; 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.

LEE, J.; DURST, R. W.; WROLSTAD, R. E. Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: collaborative study. **Journal of AOAC International**, v. 88, n. 5, p. 1269-1278, 2005.

MOGHBELI, S.; JAFARI, S.M.; MAGHSOUDLOU, Y.; DEHNAD, D. Influence of pectin-whey complexes and surfactant on the yield and microstructural properties of date powder produced by spray drying. **Journal of Food Engineering**, v. 242, p. 124-132, 2019.

MUHLACK, R. A.; POTUMARTHI, R.; JEFFERY, D. W. Sustainable wineries through waste valorization: A review of grape marc utilization for value-added products. **Waste Management**, v. 72, p. 99-118, 2018.

OANCEA, A.; APRODU, I.; GHINEA, I. O.; BARBU, V.; IONIȚĂ, E.; BAHRIM, G.; RÂPEANU, G.; STÂNCIUC, N. A bottom-up approach for encapsulation of sour cherries anthocyanins by using  $\beta$ -lactoglobulin as matrices. **Journal of Food Engineering**, v. 210, p. 83-90, 2017.

ONGKOWWIJOYO, P.; LUNA-VITAL, D. A.; DE MEJIA, E. G. Extraction techniques and analysis of anthocyanins from food sources by mass spectrometry: An update. **Food Chemistry**, v. 250, p. 113-126, 2018.

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.

PALOU, E.; LÓPEZ-MALO, A.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V.; WELTI-CHANES, J.; SWANSON, B. G. Polyphenoloxidase Activity and Color of Blanched and High Hydrostatic Pressure Treated Banana Puree. **Journal of Food Science**, v. 64, n. 1., p. 42-45, 1999.

PASRIJA, D.; EZHILARASI, P. N.; INDRANI, D.; ANANDHARAMAKRISHNAN, C. Microencapsulation of green tea polyphenols and its effect on incorporated bread quality. **LWT – Food Science and Technology**, v. 64, p. 289-296, 2015.

PAULO, F.; SANTOS, L. Inclusion of hydroxytyrosol in ethyl cellulose microparticles: *In vitro* release studies under digestion conditions. **Food Hydrocolloids**, v. 84, p. 104-116, 2018.

RAEI, M.; RAFE, A.; SHAHIDI, F. Rheological and structural characteristics of whey protein-pectin complex coacervates. **Journal of Food Engineering**, v. 228, p. 25-31, 2018.

RAMÍREZ, M. J.; GIRALDO, R. G. I.; ORREGO, C. E. Modeling and stability of polyphenol in spray-dried and freeze-dried fruit encapsulates. **Powder Technology**, v. 277, p. 89-96, 2015.

RE, Roberta; PELLEGRINI, Nicoletta; PROTEGGENTE, Anna; PANNALA, Ananth; YANG, Min; RICE-EVANS, Catherine. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 26, n. 9 e 10, p. 1231-1237, 1999.

- 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 & Technology**, v. 45, p. 1386-1394, 2010.
- SCHAFFAZICK, S. R.; GUTERRES, S. S.; FREITAS, L. L.; POHLMANN, A. R.. Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos. **Química Nova**, São Paulo, v. 26, n. 5, p. 726-737, 2003.
- SHISHIR, M. R. I.; CHEN, W. Trends of spray drying: A critical review on drying of fruit and vegetable juices. **Trends in Food Science & Technology**, v. 65, p. 49-67, 2017.
- SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdicphosphotungstic acid reagents. **About American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, p. 144-158, 1965.
- SOUZA, A. C. P.; GURAK, P. D.; MARCZAK, L. D. F. Matodextrin, pectin and soy protein isolate as carrier agentes in the encapsulation of anthocyanins-rich extract from jaboticaba pomace. **Food and Bioproducts Processing**, v. 102, p. 186-194, 2017.
- TEIXEIRA, A.; BAENAS, N.; DOMINGUES-PERLES, R.; BARROS, A.; ROSA, E.; MORENO, D. A.; GARCIA-VIGUERA, C. Natural bioactive compounds from winery by-products as health promoters: a review. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 15, p. 15638-15678, 2014.
- TIWARI, A.; HIHARA, L. H. Thermal stability and thermokinetics studies on silicone creamer coatings: Part 1- inert atmosphere parameters. **Polymer Degradation and Stability**, v. 94, p. 1754-1771, 2009.
- TONON, R. V.; BARONI, A. F.; BRABET, C.; GIBERT, O.; PALLET, D.; HUBINGER, M. D. Water sorption and glass transition temperature of spray dried açai (*Euterpe oleracea* Mart.) juice. **Journal of Food Engineering**, v. 94, p. 215-221, 2009.
- TONON, R. V.; BRABET, C.; HUBINGER, M. D. Influence of process conditions on the physicochemical properties of açai (*Euterpe oleraceae* Mart.) powder produced by spray drying. **Journal of Food Engineering**, v. 88, p. 411-418, 2008.
- TONON, R. V.; BRABET, C.; HUBINGER, M. D. Anthocyanin stability and antioxidant activity of spray-dried açai (*Euterpe oleraceae* Mart.) juice produced with different carrier agents. **Food Research International**, v. 43, p. 907-914, 2010.
- VOS, P.; FAAS, M. M.; SPASOJEVIC, M.; SIKKEMA, J. Encapsulation for preservation of functionality and targeted delivery of bioactive food components. **International Dairy Journal**, v. 20, p. 292-302, 2010.
- WANG, W.; YAGIZ, Y.; BURAN, T. J.; NUNES, C. do N.; GU, L. Phytochemicals from berries and grapes inhibited the formation of advanced glycation end-products by scavenging reactive carbonyls. **Food Research International**, v. 44, p. 2666-2673, 2011.
- YADAV, D.; KUMAR, N. Nanonization of curcumin by antisolvent precipitation: Process development, characterization, freeze drying and stability performance. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 477, p. 564-577, 2014.
- YAMASHITA, F.; TONRAZ, A. C.; FERNANDES, J. G., MORIYA, S., BENASSI, M. de T. Influência de diferentes embalagens de atmosfera modificada sobre a aceitação de uvas finas de mesa var. Itália mantidas sob refrigeração. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 20, n.1, p. 110-114, 2000.
- YAMASHITA, C.; CHUNG, M. M. S.; DOS SANTOS, C.; MAYER, C. R. M.; MORAES, I. C. F.; BRANCO, I. G. Microencapsulation of na anthocyanin-rich blackberry (*Rubus* spp.) by-product extract by freeze-drying. **LWT – Food Science and Technology**, v. 84, p. 256-262, 2017.
- ZEKOVIĆ, Z.; PINTAĆ, D.; MAJKIĆ, T.; VIDOVIĆ, S.; MIMICA-DUKIĆ, N.; TESLIĆ, N.; VERSATI, A.; PAVLIĆ, B. Utilization of sage by-products as raw material for antioxidants recovery – Ultrasound versus microwave-assisted extraction. **Industrial Crops and Products**, v. 99, p. 49-59, 2017.

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

### 5.1 Discussão geral

A uva é uma fruta não-climatérica e dependendo das espécies podem apresentar intensa coloração roxo-avermelhada devido a grande concentração de antocianinas (Yamashita et al., 2000). Na produção de suco de uva faz-se a extração da parte líquida do mosto para a produção do suco, enquanto a parte prensada sólida, o bagaço, pode ser utilizado como fonte de compostos bioativos com alto potencial de valor agregado (Makris et al., 2007; Aliakbarian et al., 2012; Beres et al., 2017).

A utilização de métodos não-convencionais de extração está sendo estudada para diminuir os tempos de exposição à altas temperaturas e reduzir as concentrações de solventes orgânicos utilizados, diminuindo dessa forma o impacto ambiental, aumentando o rendimento de extração e diminuindo o custo energético (Zeković et al., 2017; Ongkowijoyo et al., 2018). Na extração aquosa acidificada a 2 % de ácido cítrico para separação dos compostos bioativos provenientes do bagaço, na EAU foram avaliados a potência de amplitude das ondas a 250, 350 e 450 W, e com tempos de 5, 10 e 15 min, enquanto que na EAM foram avaliadas as potências de 600, 800 e 1000 W, e tempos de 5, 7 e 10 min.

A melhor condição de extração estudada correspondeu ao de micro-ondas (1000W × 10 min), apresentados na Tabela 6. As elevações das temperaturas observadas nas separações por EAM e EAU, estão em relação direta com o aumento de potência e tempo empregados, e em ambos os casos com a elevação da temperatura aumentam os coeficientes de difusão através da matriz celular, aumentando assim o rendimento (Khan et al., 2018).

Comparando a melhor condição de extração obtido por EAM com a extração exaustiva do bagaço com solução de metanol 80 % (v/v) acidificado com 1 % de HCl, as recuperações de compostos fenólicos, antocianinas, e atividade antioxidante por ABTS e DPPH foram de 21, 45, 23 e 36%, respectivamente. Em relação ao tempo de extração utilizado para extração exaustiva que foi de 1h40min, pode-se notar que o tempo empregado por EAM (10 minutos) foi 10 vezes menor que a extração exaustiva empregada. Entretanto, a pesar da baixa recuperação de compostos fenólicos (21%) e antocianinas (45%), a não utilização de solvente orgânico faz com que se torne vantajosa esta última. Por esta razão, mais estudos avaliando maiores tempos e potência se fazem necessários com o intuito de melhorar esses rendimentos. Quando se compara a extração exaustiva com a extração aquosa (EA), que empregou um tempo de 24 h, as recuperações de compostos fenólicos, antocianinas, ABTS e DPPH foram de 10, 40,

14 e 17%, respectivamente. A rápida ação das micro-ondas em promover a penetração do solvente dentro da matriz alimentar pela movimentação molecular da rotação dipolo e da condução iônica torna a EAM adequada para extração de compostos ativos polares, tais como os compostos fenólicos, incluindo as antocianinas (Dranca e Oroian, 2016; Caldas et al., 2018). De outro lado, os processos convencionais de extração de sólido-líquido em matrizes alimentares, normalmente utilizam grandes quantidades de solventes orgânicos e longos períodos quando se deseja o esgotamento da matéria-prima e, assim, obtém um alto rendimento de compostos bioativos.

**TABELA 6** Teores de compostos fenólicos totais (CFT), antocianinas monoméricas totais (AMT) e atividade antioxidante por ABTS e DPPH dos extratos obtidos a partir do bagaço do suco de uva (BSU).

Tratamentos	CFT*	AMT**	ABTS***	DPPH***
BSU	32,58±0,93 <sup>a</sup>	2,93±0,15 <sup>a</sup>	100,91±0,01 <sup>a</sup>	92,20±0,57 <sup>a</sup>
EA	3,21±0,04 <sup>c</sup>	1,19±0,03 <sup>c</sup>	14,33±0,48 <sup>c</sup>	16,04±0,19 <sup>c</sup>
EAM (1000 W×10 min)	6,68±0,05 <sup>b</sup>	1,32±0,03 <sup>b</sup>	23,84±0,57 <sup>b</sup>	33,27±2,00 <sup>b</sup>

BSU refere-se ao bagaço do suco de uva; EA refere-se à extração aquosa com temperatura ambiente (20°C) durante 24h; EAM refere-se às extrações assistidas por micro-ondas; diferentes letras na mesma coluna indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ).

\*CFT expresso em  $\text{mg}_{\text{EAG}} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{ms}}$ ;

\*\*AMT expresso em  $\text{mg}_{\text{malvidina-3,5-diglicosídeo}} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{ms}}$ ;

\*\*\*ABTS e DPPH expresso em  $\mu\text{mol}_{\text{ET}} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{ms}}$ .

Após a obtenção da melhor condição de separação dos compostos fenólicos pela EAM (1000 W × 10 min), a segunda parte do estudo consistiu na elaboração de micropartículas desse extrato por meio do método de atomização (160 °C) e liofilização. (-57 °C × 72 h). Como materiais de parede empregados fez-se uso das proteínas isoladas do soro de leite (WPI), goma arábica (GA) e pectina (Pec). A WPI pode ser utilizada auxiliando a estabilização estrutural das micropartículas devido a sua estrutura globular, e sua característica catiônica em pH ácido, que facilita as ligações com polissacarídeos com características aniônicas, tais como, a goma arábica e a pectina, formando assim um material de parede com complexas ligações proteína-polissacarídeo favorecendo o microencapsulamento (Eratte et al., 2014; Chung et al., 2015).

Foram usadas dispersões com misturas de WPI-GA na proporção de 3:1 e WPI-GA-Pec na proporção 3:1:1. Essas dispersões foram posteriormente secas por atomização e liofilização.

Os pós microencapsulados obtiveram  $a_w$  em torno de 0,2, que confere maior estabilidade às reações de degradação de alimentos em armazenamento como escurecimento enzimático e não-enzimático além da inibição de microrganismos e baixa oxidação lipídica (De Souza et al., 2015). Os teores de umidade variaram de 5,5 a 6,3 % e não diferiram significativamente entre os pós encapsulados. Os valores de solubilidade dos pós contendo WPI-GA foram de 64,5 e 60,8 % para o atomizado e liofilizado, respectivamente, sendo significativamente maiores do que os pós contendo pectina (38,9 e 39,9 %, atomizado e liofilizado, respectivamente).

Quanto aos parâmetros de cor, nos pós atomizados, os valores de luminosidade foram significativamente mais claros do que no extrato, devido à maior luminosidade dos materiais encapsulantes. Para os parâmetros de cor  $a^*$  e  $b^*$ , os pós apresentaram valores positivos para  $a^*$  e negativos para  $b^*$ , indicando o espectro do vermelho ao azul, enquanto o extrato obteve ambos parâmetros positivos em um espectro de cor vermelho ao amarelo. O ângulo *Hue*, todos os pós apresentaram valores no quarto quadrante ( $337,5^\circ$  a  $360^\circ$ ) demonstrando o tom rosáceo. A saturação da cor dada pelo parâmetro *Chroma*, nos pós atomizados foi significativamente menor do que nos pós liofilizados e no extrato. Quanto à diferença total de cor ( $\Delta E$ ) dos pós em relação ao extrato, foram significativamente maiores nos pós atomizados que nos liofilizados.

Em relação a análise termogravimétrica, as amostras tiveram perdas de massa inicial de até 5 % do total a temperaturas de 157,54 e 150,77 °C para os pós atomizados com WPI-GA e WPI-GA-Pec, respectivamente, e de 149,39 e 151,10 °C, para os pós liofilizados com WPI-GA e WPI-GA-Pec, respectivamente, possivelmente indicando a perda de umidade residual referente a água ligada (Tiwari e Hihara, 2009). Em um estágio seguinte a perda de massa é atribuída a desestabilização de ligações glicosídicas com a consequente despolimerização e decomposição dos polissacarídeos em monômeros de sacarose, frutose, glicose, ácidos orgânicos, compostos fenólicos e, também à desnaturação proteica através do rompimento de ligações peptídicas (Janiszewska, 2014; Paini et al., 2015; Do Carmo et al., 2018).

As superfícies externas das micropartículas apresentaram grandes diferenças morfológicas devido às características inerentes a cada tipo de secagem. Os pós atomizados apresentaram morfologia esférica com rugosidades que pode ser ocasionada pela característica das proteínas globulares, como as  $\beta$ -lactoglobulinas da WPI (Ferrari et al., 2012; Wang et al., 2011). Para os tratamentos liofilizados apresentaram formatos irregulares semelhantes a

estilhaços de vidro de diferentes tamanhos, o que é atribuído ao tipo de secagem onde a água congelada é sublimada resultando em uma estrutura rígida, porosa e sem encolhimento (Yamashita et al., 2017). As microcavidades também observadas podem estar associadas à formação de cristais de gelo que se sublimam durante a secagem mantendo a estrutura rígida e, também, às bolhas de ar retidas durante o congelamento, devido às características emulsionantes dos materiais de parede como a WPI (Souza et al., 2017; Yamashita et al., 2017).

Na análise de espectroscopia de infravermelho com transformada de *Fourier* (FTIR) as possíveis interações químicas foram analisadas entre os pós microencapsulados e o extrato. Foi observado a presença de bandas de amida I e II, além de carboxilas esterificadas e não-esterificadas, que são características da composição dos materiais de parede. Nos resultados se verifica o efeito predominante dos materiais de parede WPI, GA e Pec na amostra final, uma vez que as estruturas observadas no extrato não geraram mudanças consideráveis nos deslocamentos dos números de ondas e de intensidade de transmissão (Yadav e Kumar, 2014; Ballesteros et al., 2017).

Os pós obtidos por atomização e liofilização contendo misturas de WPI e goma arábica apresentaram as maiores retenções de compostos fenólicos (2,66 e 2,42  $\text{mg}_{\text{EAG}} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{ms}}$ ), antocianinas monoméricas totais (0,346 e 0,353  $\text{mg}_{\text{malvidina-3,5-diglicosídeo}} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{ms}}$ ), atividade antioxidante por ABTS (8,23 e 8,32  $\mu\text{mol}_{\text{ET}} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{ms}}$ ) e DPPH (12,64 e 10,92  $\mu\text{mol}_{\text{ET}} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{ms}}$ ). Entretanto os testes acelerados de armazenamento conduzidos indicaram que os pós contendo pectina foram os mais estáveis com valores de 76 e 73 % de retenção de antocianinas para o pó atomizado e liofilizado, respectivamente, nas condições de 35 °C e 75 % de umidade aos 28 dias de estocagem.

Na simulação digestiva *in vitro* os pós contendo WPI e goma arábica tiveram as maiores liberações de antocianinas na fase intestinal.



## 5.2 Conclusão

A extração dos compostos bioativos do bagaço da produção de suco de uva foi possível através do micro-ondas e do ultrassom. Isso possibilitou a quantificação dos compostos fenólicos totais, das antocianinas monoméricas totais e a da atividade antioxidante pelo método de ABTS e DPPH em todos os extratos obtidos nas potências de 250, 350 e 450 W e tempos de 5, 10 e 15 min na extração assistida por ultrassom; e nos extratos obtidos nas potências de 600, 800 e 1000 W com tempos de 5, 7 e 10 min na extração assistida por micro-ondas.

A melhor condição de extração estudada correspondeu a EAM (1000W × 10 min) com teores de  $6,68 \pm 0,05 \text{ mg}_{\text{EAG}} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{ms}}$ ,  $1,32 \pm 0,03 \text{ mg}_{\text{malvidina-3,5-diglicosídeo}} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{ms}}$ ,  $23,84 \pm 0,57 \mu\text{mol}_{\text{ET}} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{ms}}$  e  $33,27 \pm 2,00 \mu\text{mol}_{\text{ET}} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{ms}}$ , para CFT, AMT, ABTS e DPPH, respectivamente.

A melhor condição de extração (EAM, 1000W × 10 min) foi encapsulada por meio do método de atomização (160 °C) e liofilização. (-57 °C × 72 h), utilizando-se a proteína isolada do soro de leite (WPI), goma arábica (GA) e pectina (Pec) como materiais de parede. Produziu-se pós microencapsulados com misturas de WPI-GA na proporção de 3:1 e WPI-GA-Pec na proporção de 3:1:1.

Os pós obtiveram valores de  $a_w$  em torno de 0,2, podendo apresentar maior estabilidade às reações de degradação de alimentos em armazenamento; os teores de umidade variaram entre 5,5 a 6,3%; a solubilidade entre 64,5 e 60,8 % para os pós com WPI-GA atomizado e liofilizado, respectivamente, e 38,9 e 39,9 % para os pós com WPI-GA-Pec atomizado e liofilizado, respectivamente.

Quando os pós foram submetidos às condições aceleradas de armazenamento, sob temperaturas de 35 e 55 °C e umidade relativa de 75 e 90 % durante 4 semanas, os pós contendo misturas de WPI-GA apresentaram as maiores retenções de compostos fenólicos, antocianinas monoméricas totais, atividade antioxidante por ABTS e DPPH. Entretanto aos 28 dias de estocagem indicaram que os pós contendo WPI-GA-Pec foram os mais estáveis com valores de 76 e 73 % de retenção de antocianinas para o pó atomizado e liofilizado, respectivamente, nas condições de 35 °C e 75 % de umidade.

Na simulação digestiva *in vitro* os pós contendo WPI-GA tiveram as maiores liberações de antocianinas na fase intestinal.

### 5.3 Perspectivas

O presente trabalho resultou em contribuições no campo da ciência e tecnologia de alimentos, todavia novas linhas de trabalhos podem seguir as seguintes sugestões:

- Realizar estudos de purificação dos extratos do bagaço de suco de uva para identificação de compostos do extrato aquoso;
- Estudar outras proporcionalidades entre solvente e bagaço para melhorar o rendimento de extração;
- Estudar outras relações de tempo-potência nas extrações assistidas por micro-ondas e por ultrassom, ou a combinação delas;
- Utilização de diferentes combinações de materiais de parede para o encapsulamento;
- Realizar a aplicação em alimentos e avaliar parâmetros de estabilidade e liberação dos compostos microencapsulados.

## REFERÊNCIAS

- ACOSTA-ESTRADA, B. A.; GUTIÉRREZ-URIBE, J. A.; SERNA-SALDÍVAR, S. O. Bound phenolics in foods, a review. **Food Chemistry**, v. 152, p. 46-55, 2014.
- AHMAD-QASEM, M., H.; CÁNOVAS, J.; BARRAJÓN-CATALÁN, E.; MICOL, V.; CÁRCEL, J. A.; GARCÍA-PÉRE, J. V. Kinetic and compositional study of phenolic extraction from olive leaves (var. Serrana) by using power ultrasound. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 17, p. 120-129, 2013.
- AHMED, M.; AKTER, M. S.; LEE, J.; EUN, J. Encapsulation by spray drying of bioactive components, physicochemical and morphological properties from purple sweet potato. **Food Science and Technology**, v. 43, n. 9, p. 307-1312, 2010.
- AIZPURUA-OLAIZOLA, O.; NAVARRO, P.; VALLEJO, A.; OLIVARES, M.; ETXEBARRIA, N.; USOBIAGA, A.. Microencapsulation and storage stability of polyphenols from *Vitis vinifera* grape wastes. **Food Chemistry**, v. 190, p. 614-621, 2016.
- ALI, A.; MAQBOOL, M.; ALDERSON, P.; ZAHID, N.. Effect of gum arabic as an edible coating on antioxidant capacity of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) fruit during storage. **Postharvest Biology and Technology**, v. 76, p. 119-124, 2013.
- ALIAKBARIAN, B.; FATHI, A.; PEREGO, P.; DEGHANI, F. Extraction of antioxidants from winery wastes using subcritical water. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 65, p. 18-24, 2012.
- ÁLVAREZ, A.; POEJO, J.; MATIAS, A. A.; DUARTE, C. M. M.; COCERO, M. J.; MATO, R. B.. Microwave pretreatment to improve extraction efficiency and polyphenol extract richness from grape pomace. Effect on antioxidant bioactivity. **Food and Bioproducts Processing**, v. 106, p. 162-170, 2017.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). **Official methods of analysis of AOAC International**. 19th ed. Gaithersburg, MD: AOAC, c2012. 2v.
- BALJEET, S.; ROSHANLAL, Y.; RITIKA, B. Effect os cooking methods and extraction solvents on the antioxidant activity of summer squash (*Cucurbita pepo*) vegetable extracts. **International Food Research Journal**, v. 23, p. 1531-1540, 2016.
- BALLESTEROS, L.; RAMIREZ, M. J.; ORREGO, C. E.; TEIXEIRA, J.A.; MUSSATO, S. I..Encapsulation of antioxidante 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, A. A.; CALABRETTI, A.; d'AMORE, M.; PICCINELLI, A. L.; RASTRELLI, L. Phenolic constituents levels in cv. Agria potato under microwave processing. **LWT – Food Science and Technology**, v. 41, p. 1919-1926, 2008.
- 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.
- BAZARIA, B.; KUMAR, P.. Effect of whey protein concentrate as drying aid and drying parameters on physicochemical and functional properties of spray dried beetroot juice concentrate. **Food Bioscience**, v. 14, p. 21-27, 2016.
- BELITZ, Hans-dieter. **Química de los alimentos**. 2. ed. Zaragoza: Acribia, 1992. 1087 p.
- BENMEZIANE, F.; ABDOURHAMANE, A. M.; GUEDAOURA, A. Nutritional quality and bioactive compounds of some fruit juices. **Advances in Environmental Biology**, v. 10, n. 4, p. 242-250, 2016.
- BERES,C.; COSTA, G. N. S.; CABEZUDO, I.; DA SILVA-JAMES, N. K.; TELES, A. S. C.; CRUZ, A. P. G.; MELLINGER-SILVA, C.; TONON, R. V.; CABRAL, L. M. C.; FREITAS, S. P.. Towards integral utilization of grape pomace from winemaking process: A review. **Waste Management**, v. 68, p. 581-594, 2017.

BIANCHI, M. de L. P.; ANTUNES, L. M. G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 12, n. 2, p. 123-130, maio/ago. 1999.

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.

BORA, A. F. M.; MA, S.; LI, X.; LIU, L.. Application of microencapsulation for the safe delivery of green tea polyphenols in food systems: Review and recent advances. **Food Research International**, v. 105, p. 241-249, 2018.

BRANDELLI, A.; DAROIT, D.J.; CORRÊA, A.P.F.. Whey as a source of peptides with remarkable biological activities. **Food Research International**, v. 73, p. 149-161, 2015.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT – Lebensmittel Wissenschaft und Technologie**, v. 28, p. 25-30, 1995.

CAI, Y. Z.; CORKE, H. Production and properties of spray-dried *Amaranthus* betacyanins pigments. **Journal of Food Science**, v. 65, n. 6, p. 1248-1252, 2000.

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.

CALDAS, T. W.; MAZZA, K. E. L.; TELES, A. S. C.; MATTOS, G. N.; BRÍGIDA, A. I. S.; CONTE-JÚNIOR, C. A.; BORGUINI, R. G.; GODOY, R. L. O.; CABRAL, L. M. C.; TONON, R. V.. Phenolic compounds recovery from grape skin using conventional and non-conventional extraction methods. **Industrial Crops & Products**, v. 111, p. 86-91, 2018.

CANO-CHAUCA, M.; STRINGUETA, P. C.; RAMOS, A. M.; CAL-VIDAL, J. Effect of the carries 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.

CÁRCEL, J.A.; PÉREZ, J. V. G.; BENEDITO, J.; MULET, A. Food process innovation through new technologies: Use of ultrasound. **Journal of Food Engineering**, v. 110, p. 200-207, 2012.

CHEMAT, F.; ESVELD, E. Microwave Super-Heated Boiling of Organic Liquids: Origin, Effect and Application. **Chemical Engineering & Technology**, v. 24, n. 7, p. 735-744, jul. 2001.

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.

CHEMAT, F.; ROMBAUT, N.; SICAIRE, A.; MEULLEMIESTRE, A.; FABIANO-TIXIER, A.; ABERT-VIAN, M.. Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 34, p. 540-560, 2017.

CHEN, M.; ZHAO, Y.; YU, S. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of phenolic compounds, antioxidants and anthocyanins from sugar beet molasses. **Food Chemistry**, v. 172, p. 543-550, 2015.

CHUNG, C.; ROJANASASITHARA, T.; MUTILANGI, W.; McCLEMENTS, D. J.. Enhanced stability of anthocyanin-based color in model beverage systems through whey protein isolate complexation. **Food Research International**, v. 76, p. 761-768, 2015.

COSTA, S. B.; DUARTE, C.; BOURBON, A. I.; PINHEIRO, A. C.; SERRA, A. T.; MARTINS, M. M.; JANUÁRIO, M. I. N.; VICENTE, A. A.; DELGADILLO, I.; DUARTE, C.; COSTA, M. L. B. Effect of the matrix system in the delivery and in vitro bioactivity of microencapsulated *Oregano* essential oil. **Journal of Food Engineering**, v. 110, n. 2, p. 190-199, 2012.

COULTATE, T. P. **Food: The chemistry of its components**. 6. ed. Cambridge: RSC, 2016. 620 p.

DAMODARAN, S.; FENNEMA, O. R.; PARKIN, K. L. **Fennema's food chemistry**. 4th ed. Boca Raton : CRC Press, Taylor & Francis, c2008. 1144 p. : il.

DE SOUZA, V. B.; THOMAZINI, M.; BALIERO, J. C. C.; FÁVARO-TRINDADE, C. S.. Effect of spray drying on the physicochemical properties and color stability of the powdered pigment obtained from vinification byproducts of the Bordo grape (*Vitis labrusca*). **Food and Bioproducts Processing**, v. 93, p. 39-50, 2015.

DESAI, K. G. H.; PARK, H. J. Recent developments in microencapsulation of food ingredients. **Drying Technology**, v. 23, n. 7, p. 1361-1394, 2005.

DESOBRY, S.; DEBEAUFORT, F. Encapsulation of flavors, nutraceuticals and antibacterials. In: BALDWIN, E.; HAGENMAIER, R.; BAI, J. (Ed.). **Edible coatings and films to improve food quality**. 2<sup>nd</sup> ed. Boca Raton: CRC, 333-372. 2011.

DHEKNEY, S. A.. Grapes. **Encyclopedia of Food and Health (Reference Module in Food Science)**, p. 261-265, 2016.

DIAS, D. d. R. C.; BARROS, Z. M. P.; DE CARVALHO, C. B. O.; HONORATO, F. A.; GUERRA, N. B.; AZOUBEL, P; M. Effect of sonification on soursop juice quality. **LWT – Food Science and Technology**, v. 62, n. 1, p. 883-889, 2015.

DO CARMO, E. L.; TEODORO, R. A. R.; FÉLIX, P. H. C.; FERNANDES, R. V. B.; DE OLIVEIRA, E. R.; VEIGA, T. R. L. A.; BORGES, S. V.; BOTREL, D. A.. Stability of spray-dried beetroot extract using oligosaccharides and whey proteins. **Food Chemistry**, v. 249, p. 51-59, 2018.

DRANCA, F.; OROIAN, M.. Optimization of ultrasound-assisted extraction of total monomeric anthocyanin (TMA) and total phenolic content (TPC) from eggplant (*Solanum melongena* L.) peel. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 31, p. 637-646, 2016.

DRANCA, F.; OROIAN, M.. Extraction, purification and characterization of pectin from alternative sources with potential technological applications. **Food research International**, v. 113, p. 327-350, 2018.

EASTMAN, J. E.; MOORE, C. O. **Cold water soluble granular starch for gelled food compositions**. U. S. Patent 4,465,702. 1984.

EDELMANN, A.; DIEWOK, J.; SCHUSTER, K. C.; LENDL, B. Rapid method for the discrimination of red wine cultivars based on mid-infrared spectroscopy of phenolic wine extracts. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 1139-1145, 2001.

ERATTE, D.; WANG, B.; DOWLING, K.; BARROW, C. J.; ADHIKARI, B. P. Complex coacervation with whey isolate and gum Arabic for the microencapsulation of omega-3 rich tuna oil. **Food & Function**, v. 5, p. 2743-2750, 2014.

ERSUS, S.; YURDAGEL, U. Microencapsulation of anthocyanin pigments of black carrot (*Daucuscarota* L.) by spray drier. **Journal of Food Engineering**, v. 80, n. 3, p. 805- 812, 2007.

ESCLAPEZ, M. D.; PÉREZ, J.V.G.; MULET, A.; CÁRCEL, J.A. Ultrasound-assisted extraction of natural products. **Food Engineering Reviews**, v. 3, p. 108-120, 2011.

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

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO); STATISTICS DIVISION (FAOSTAT). **Croops and crops processed – grape and wine – FAOSTAT Agriculture Data 2013**. Disponível em: < <http://faostat3.fao.org/download/Q/QC/E>>. Acesso em: 24 jan. 2018.

FARZANEH, V.; CARVALHO, I. S.. Modelling of Microwave Assisted Extraction (MAE) of Anthocyanins (TMA). **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**, v. 6, p. 92-100, 2017.

FAZAEI, M.; EMAM-DJOMEH, Z.; ASHTARI, A. K.; OMID, M.. Effect os spray drying conditions and feed composition on the physical properties of black mulberry juice powder. **Food and Bioproducts Processing**, v. 90, p. 677-675, 2012.

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

FERNANDES, I.; FARIA, A.; CALHAU, C.; DE FREITAS, V.; MATEUS, N. Bioavailability of anthocyanins and derivatives. **Journal of Functional Foods**, v. 7, p. 54-66, 2014.

FERRARI, C. C.; GERMER, S. P. M.; ALVIM, I. D.; VISSOTTO, F. Z.; AGUIRRE, J. M. Influence of carrier agents on the physicochemical properties of blackberry powder produced by spray drying. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 47, p. 1237-1245, 2012.

FLOEGEL, A.; KIM, D.-O.; CHUNG, S.-J.; KOO, S. I.; CHUN, O. K. Comparision of ABTS/DPPH assays to measure antioxidante capacity in popular antioxidant rich US foods. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 24, p. 1043-1048, 2011.

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

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. 1-5, 2014b.

FONTELES, T. V.; LEITE, A. K. F.; DA SILVA, A. R. A.; FERNANDES, F. A. N.; RODRIGUES, S. Sonication Effect on Bioactive Compounds of Cashew Apple Bagasse. **Food Bioprocess Technology**, v. 10, p. 1854-1864, 2017.

FORD, A. W.; DAWSON, P. J. Effect of type of container, storage temperature and humidity on the biological activity of freeze-dried alkaline phosphatase. **Biologicals**, v. 22, p. 191-197, 1994.

FRAGA, C. G. **Plant phenolics and human health: biochemistry, nutrition and pharmacology**. New Jersey: Wiley & Sons, 2009. 593p.

GARCÍA-SALDAÑA, J. S.; CAMPAS-BAYPOLI, O. N.; LÓPEZ-CERVANTES, J.; SÁNCHEZ-MACHADO, D. I.; CANTÚ-SOTO, E. U.; RODRÍGUES-RAMÍREZ, R. Microencapsulation of sulforaphane from broccoli seed extracts by gelatin/gum arabic and gelatin/pectin complexes. **Food Chemistry**, v. 201, p. 94-100, 2016.

GAROFULIĆ, I. E.; ZORIĆ, Z.; PEDISIĆ, S.; DRAGOVIĆ-UZELAC, V.. Retention of polyphenols in encapsulated sour cherry juice in depence of drying temperature and wall material. **LWT – Food Science and Technology**, v. 83, p. 110-117, 2017.

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.

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

GLOVER, D. A.; USHIDA, K.; PHILLIPS, A. O.; RILEY, S. G. Acacia (sen) SUPERGUM™ (Gum Arabic): An evaluation of potential health benefits in human subjects. **Food Hydrocolloids**, v. 23, p. 2410-2415, 2009.

GORDILLO, B.; RODRÍGUEZ-PULIDO, F. J.; GONZÁLEZ-MIRET, M. L.; QUIJADA-MORÍN, N.; RIVAS-GONZALO, J. C.; GARCÍA-ESTÉVEZ, I.; HEREDIA, F. J.; ESCRIBANO-BAILÓN, M. T.. Applications of Differential Colorimetry To Evaluate Anthocyanin-Flavonol-Flavanol Ternary Copigmentation Interactions in Model Solutions. **Journal of Agriculture and Food Science**, v. 63, p. 7645-7653, 2015.

- GORDILLO, B.; SIGURDSON, G. T.; LAO, F.; GONZÁLEZ-MIRET, M. L.; HEREDIA, F. J.; GIUSTI, M. M.. Assessment of the color modulation and stability of naturally copigmented anthocyanin-grape colorants with different levels of purification. **Food Research International**, v. 106, p. 791-799, 2018.
- GOULA, A. M.; THYMIATIS, K.; KADERIDES, K.. Valorization of grape pomace: Drying behavior and ultrasound extraction of phenolics. **Food and Bioproducts Processing**, v. 100, p. 132-144, 2016.
- GURAK, P. D.; CABRAL, L. M. C.; ROCHA-LEÃO, M. H. Production of grape juice powder obtained by freeze-drying after concentration by reverse osmosis. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 56, n. 6, p. 1011-1017, 2013.
- GUYTON, Arthur C.; HALL, John E. Tratado de fisiologia médica. 11. ed. Rio de Janeiro, RJ: Elsevier, c2006. xxxvi, 1115 p. ISBN 9788535216417.
- HAYAT, K.; ZHANG, X.; FAROOQ, U.; ABBAS, S.; XIA, S.; JIA, C.; ZHONG, F.; ZHANG, J.. Effect of microwave treatment on phenolic content and antioxidant activity of citrus mandarin pomace. **Food Chemistry**, v. 123, p. 423-429, 2010.
- HE, B.; ZHANG, L.; YUE, X.; LIANG, J.; JIANG, J.; GAO, X.; YUE, P.. Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds and anthocyanins from blueberry (*Vaccinium ashei*) wine pomace. **Food Chemistry**, v. 204, p. 70-76, 2016.
- HERAS, R. M.; PINAZO, A.; HEREDIA, A.; ANDRÉS, A.. Evaluation studies of persimmon plant (*Diospyros kaki*) for physiological benefits and bioaccessibility of antioxidants by *in vitro* simulated gastrointestinal digestion. **Food Chemistry**, v. 214, p. 478-485, 2017.
- HUR, S. J.; DECKER, E. A.; McCLEMENTS, D. J. Influence of initial emulsifier type on microstructural changes occurring in emulsified lipids during *in vitro* digestion. **Food Chemistry**, v. 114, n. 1, p. 253-262, 2009.
- INSTITUTO BRASILEIRO DO VINHO (IBRAVIN). **Safra da uva 2015 é 16% maior em volume em relação ao ano passado**. Disponível em: <<http://www.ibravim.org.br>>. Acesso em: 20 jun. 2016.
- INGLETT, G. E.; ROSE, D. J.; CHEN, D.; STEVENSON, D. G.; BISWAS, A.. Phenolic content and antioxidant activity of extracts from whole buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Möench) with or without microwave irradiation. **Food Chemistry**, v. 119, p. 1216-1219, 2010.
- JANISZEWSKA, E. Microencapsulated beetroot juice as a potential source of betalain. **Powder Technology**, v. 264, p. 190-196, 2014.
- KANG, Y.; LEE, Y.; KIM, Y. J.; CHANG, Y. H.. Characterization and storage stability of chlorophylls microencapsulated in different combination of gum Arabic and maltodextrin. **Food Chemistry**, v. 272, p. 337-346, 2019.
- KAPPE, C. O.; DALLINGER, D.; MURPHREE, S. S. **Practical Microwave Synthesis for Organic Chemists**. Wiley-VCH: Weinheim, Alemanha, jan. 2009. 310 p.
- 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.
- KHAN, M. K.; AHMAD, K.; HASSAN, S.; IMRAN, M.; AHMAD, N.; XU, C.. Effect of novel technologies on polyphenols during food processing. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 45, p. 361-381, 2018.
- KHAZAEI, K. M.; JAFARI, S. M.; GHORBANI, M.; KAKHKI, A. H.. Application of maltodextrin and gum Arabic in microencapsulation of saffron petal’s anthocyanins and evaluating their storage stability and color. **Carbohydrate Polymers**, v. 105, p. 57-62, 2014.
- KIM, D.-O.; LEE, K. W.; LEE, H. J.; LEE, C. Y. Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolic phytochemicals. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 3713-3717, 2002.

- KUCK, L. S.; NOREÑA, C. P. Z. Microencapsulation of grape (*Vitis labrusca* var. Bordo) skin phenolic extract using gum Arabic, polydextrose, and partially hydrolyzed guar gum as encapsulating agents. **Food Chemistry**, v. 194, p. 569-576, 2016.
- KUCK, L. S.; 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.
- KUSKOSKI, E. M.; ASUERO, A. G.; TRONCOSO, A. M.; MANCINI-FILHO, J.; FETT, R. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante em pulpa de frutos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 4, p. 726-732, 2005.
- LAFKA, T.; SINANOĞLU, V.; LAZOS, E. S. On the extraction and antioxidant activity of phenolic compounds from winery wastes. **Food Chemistry**, v. 104, p. 1206-1214, 2007.
- LEE, J.; DURST, R. W.; WROLSTAD, R. E. Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: collaborative study. **Journal of AOAC International**, v. 88, n. 5, p. 1269-1278, 2005.
- LIAZID, A.; GUERRERO, R. F.; CANTOS, E.; PALMA, M.; BARROSO, C. G. Microwave assisted extraction of anthocyanins from grape skins. **Food Chemistry**, v. 124, p. 1238-1243, 2011.
- MADHAVI, D. L.; SALUNKHE, D. K. Antioxidants. In: MAGA, Joseph A.; TU, Anthony T. (Org.). **Food Additive Toxicology**. Editora Marcel Dekker, Nova Iorque, 1995. cap. 3, p. 90-177.
- 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.
- MAKRIS, D. P.; BOSKOU, G.; ANDRIKOPOULOS, N. K. Polyphenolic content and *in vitro* antioxidant characteristics of wine industry and other agri-food solid waste extracts. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 20, p. 125-132, 2007.
- MANE, S.; BREMNER, D. H.; TZIBOULA-CLARKE, A.; LEMOS, M. A. Effect of ultrasound on the extraction of total anthocyanins from *Purple Majesty* potato. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 27, p. 509-514, 2015.
- MARAGKOUidakis, P. A.; NARDI, T.; BOVO, B.; D'ANDREA, M.; HOWELL, K. S.; GIACOMINI, A.; CORICH, V. Biodiversity, dynamics and ecology of bacterial community during grape marc storage for the production of grappa. **International Journal of Food Microbiology**, v. 162, p. 143-151, 2013.
- MARTÍNEZ-VALVERDE, I.; PERIAGO, M. J.; PROVAN, G.; CHESSON, A. Phenolic compounds, lycopene and antioxidant activity in commercial varieties of tomato (*Lycopersicon esculentum*). **Journal of the Science of Food in Agriculture**, v. 82, p. 323-330, 2002.
- MOGHBELI, S.; JAFARI, S.M.; MAGHSOUDLOU, Y.; DEHNAD, D. Influence of pectin-whey complexes and surfactant on the yield and microstructural properties of date powder produced by spray drying. **Journal of Food Engineering**, v. 242, p. 124-132, 2019.
- MONAGAS, M.; BARTOLOMÉ, B.; GÓMEZ-CORDOVÉS, C. Updated knowledge about the presence of phenolic compounds in wine. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 45, n. 2, p. 85-118, 2005.
- MUHLACK, R. A.; POTUMARTHI, R.; JEFFERY, D. W. Sustainable wineries through waste valorization: A review of grape marc utilization for value-added products. **Waste Management**, v. 72, p. 99-118, 2018.
- MUJUMDAR, A. S.; LAW, C. L.; WOO, M. W. Freeze Drying: Effects on Sensory and Nutritional Properties. **Encyclopedia of Food and Health (Reference Module in Food Science)**, p. 99-103, 2016.
- MURÚA-PAGOLA, B.; BERISTAIN-GUEVARA, C. I., MARTÍNEZ-BUSTOS, F. Preparation of starch derivatives using reactive extrusion and evaluation of modified starches as shell materials for encapsulation of flavoring agents by spray drying. **Journal of Food Engineering**, v. 91, n. 3, p. 380-386, 2009.



- NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of Chromatography A**, v. 1054, p. 95-111, 2004.
- NEVES, C. F. C.; SCHVARTZMAN, M. M. A. M.; JORDÃO, E. Técnica para seleção de variáveis aplicada à separação de gases. **Química Nova**, v. 25, n. 2, p. 327-329, 2002.
- ONCEA, A.; APRODU, I.; GHINEA, I. O.; BARBU, V.; IONIȚĂ, E.; BAHRIM, G.; RÂPEANU, G.; STĂNCIUC, N. A bottom-up approach for encapsulation of sour cherries anthocyanins by using  $\beta$ -lactoglobulin as matrices. **Journal of Food Engineering**, v. 210, p. 83-90, 2017.
- OBREQUE-SLIER, E.; PEÑA-NEIRA, A.; LÓPEZ-SOLÍS, R.; ZAMORA-MARÍN, F.; DA SILVA, J. M. R.; LAUREANO, O. Comparative study of the phenolic composition of seeds and skins from Carménère and Cabernet Sauvignon grape varieties (*Vitis vinifera* L.) during ripening. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 6, p. 3591-3599, 2010.
- ONGKOWWIJOYO, P.; LUNA-VITAL, D. A.; DE MEJIA, E. G. Extraction techniques and analysis of anthocyanins from food sources by mass spectrometry: An update. **Food Chemistry**, v. 250, p. 113-126, 2018.
- 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.
- PALOU, E.; LÓPEZ-MALO, A.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V.; WELTI-CHANES, J.; SWANSON, B. G. Polyphenoloxidase Activity and Color of Blanched and High Hydrostatic Pressure Treated Banana Puree. **Journal of Food Science**, v. 64, n. 1., p. 42-45, 1999.
- PASRIJA, D.; EZHILARASI, P. N.; INDRANI, D.; ANANDHARAMAKRISHNAN, C. Microencapsulation of green tea polyphenols and its effect on incorporated bread quality. **LWT – Food Science and Technology**, v. 64, p. 289-296, 2015.
- PAULO, F.; SANTOS, L. Inclusion of hydroxytyrosol in ethyl cellulose microparticles: *In vitro* release studies under digestion conditions. **Food Hydrocolloids**, v. 84, p. 104-116, 2018.
- PIETTA, P. G. Flavonoids as antioxidants. **Journal of Natural Products**, v.63, p.1035- 1042, 2000.
- PINGRET, D.; FABIANO-TIXIER, A.; CHEMAT, F. Degradation during application of ultrasound in food processing: A review. **Food Control**, v. 31, p. 593-606, 2013.
- PIYASENA, P.; MOHAREB, E.; MCKELLAR, R. C. Inactivation of microbes using ultrasound: a review. **International Journal of Food Microbiology**, v. 87, n. 3, p. 207-216, 2003.
- POSER, Gilsane Lino von; MENTZ, Lilian Auler. Diversidade Biológica e Sistemas de Classificação. In: SIMÕES, Cláudia Maria Oliveira; SCHENKEL, Eloir Paulo; GOSMANN, Grace; MELLO, João Carlos Palazzo de; MENTZ, Lilian Auler; PETROVICK, Pedro Ros (Org.). **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 5.ed. ver. ampl. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/ Editora DA UFSC, 2003. cap. 4, p. 75-89.
- PRADAL, D.; VAUCHEL, P.; DECOSSIN, S.; DHULSTER, P.; DIMITROV, K. Kinetics of ultrasound-assisted extraction of antioxidant polyphenols from food by-products: Extraction and energy consumption optimization. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 32, p. 137-146, 2016.
- PRIETO, Pilar; PIÑEDA, Manuel; AGUILAR, Miguel. Spectrophotometric Quantitation of antioxidant Capacity through the Formation of a Phosphomolybdenum Complex: Specific Application to the Determination of Vitamin E. **Analytical Biochemistry**, v. 269, p. 337-341, 1999.
- RAEI, M.; RAFE, A.; SHAHIDI, F. Rheological and structural characteristics of whey protein-pectin complex coacervates. **Journal of Food Engineering**, v. 228, p. 25-31, 2018.
- RAMÍREZ, M. J.; GIRALDO, R. G. I.; ORREGO, C. E. Modeling and stability of polyphenol in spray-dried and freeze-dried fruit encapsulates. **Powder Technology**, v. 277, p. 89-96, 2015.

- RATTI, C. Hot air and freeze-drying of high-value foods: a review. **Journal of Food Engineering**, v. 49, p. 311-319, 2001.
- RE, Roberta; PELLEGRINI, Nicoletta; PROTEGGENTE, Anna; PANNALA, Ananth; YANG, Min; RICE-EVANS, Catherine. Antioxidant activity applying na improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 26, n. 9 e 10, p. 1231-1237, 1999.
- RIZZON, L. A.; MENEGUZZO, J. **Suco de uva**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2007 il. – (Coleção Agroindústria Familiar), 2007. 45 p.
- 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 & Technology**, v. 45, p. 1386-1394, 2010.
- RODRIGUES, E.; MARIUTTI, L. R. B.; MERCADANTE, A. Z. Carotenoids and Phenolic Compounds from *Solanum sessiflorum*, na Unexploited Amazonian Fruit, and Their Scavenging Capacities against Reactive Oxygen and Nitrogen Species. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, p. 3022-3029, 2013.
- RODRIGUES, S.; FERNANDES, F. A. N.; DE BRITO, E. S.; SOUSA, A. D.; NARAIN, N. Ultrasound extraction of phenolics and anthocyanins from jabuticaba peel. **Industrial Crops and Products**, v. 69, p. 400-407, 2015.
- ROSINI, F.; NASCENTES, C. C.; NÓBREGA, J. A. Experimentos didáticos envolvendo radiação micro-ondas. **Química Nova**, São Paulo, v. 27, n. 6, p. 1012-1015, dez. 2004.
- SAHIDI, F.; JANITHA, P. K.; WANASUNDARA, P. D. Phenolic antioxidants. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 32, n. 1, p. 67-103, 1992.
- SÁNCHEZ-ALONSO, I.; JIMÉNEZ-ESCRIG, A.; SAURA-CALIXTO, F.; BORDERÍAS, A. J. Antioxidant protection of white grape pomace on restructured fish products during frozen storage. **LWT – Food Science and Technology**, v. 41, p. 42-50, 2008.
- SANTOS, Rosana Isabel dos. Metabolismo Básico e Origem dos Metabólitos Secundários. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P. de; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. (Org.). **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 5.ed. ver. ampl. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/ Editora DA UFSC, 2003. cap. 16, p. 403-434.
- SCHAFFAZICK, S. R.; GUTERRES, S. S.; FREITAS, L. L.; POHLMANN, A. R.. Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos. **Química Nova**, São Paulo, v. 26, n. 5, p. 726-737, 2003.
- SCHUCK, P.; JEANTET, R.; DOLIVET, A. **Analytical methods for food and dairy powders**. Chichester: Wiley-Blackwell, 2012. 248 p.
- SHAHIDI, F.; HAN, X. Q. Encapsulation of food ingredients. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 33, n. 6, p. 501-547, 1993.
- SHARMILA, G.; NIKITHA, V. S.; ILAIYARASI, S.; DHIVYA, K.; RAJASEKAR, V.; MANOJ KUMAR, N.; MUTHUKUMARAN, K.; MUTHUKUMARAN, C. Ultrasound assisted extraction of total phenolics from *Cassia auriculata* leaves and evaluation of its antioxidant activities. **Industrial Crops and Products**, v. 84, p. 13-21, 2016.
- SHISHIR, M. R. I.; CHEN, W. Trends of spray drying: A critical review on drying of fruit and vegetable juices. **Trends in Food Science & Technology**, v. 65, p. 49-67, 2017.
- SHRIKHANDE, A. J. Wine by-products with health benefits. **Food Research International**, v. 33, p. 469-474, 2000.
- SIES, H. Total Antioxidant Capacity: Appraisal of a Concept. **The Journal of Nutrition**, v. 137, n. 6, p. 1493-1995, 2007.

SILVEIRA, A. C. P.; PERRONE, I. T.; RODRIGUES, P. H.; CARVALHO, A. F. Secagem por spray: uma revisão. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 68, n. 391, p. 51-58, 2013.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdicphosphotungstic acid reagents. **About American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, p. 144-158, 1965.

SOUZA, F. N.; GEBARA, C.; RIBEIRO, M. C. E.; CHAVES, K. S.; GIGANTE, M. L.; GROSSO, C. R. F. Production and characterization of microparticles containing pectin and whey proteins. **Food Research International**, v. 49, p. 560-566, 2012.

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

SRI HARSHA, P. S. C.; LAVELLI, V.; SCARAFONI, A.. Protective ability of phenolics from white grape vinification by-products against structural damage of bovine serum albumin induced by glycation. **Food Chemistry**, v. 136, p. 220-226, 2014.

STAFUSSA, A. P.; MACIEL, G. M.; ANTERO, A. G. da S.; DA SILVA, M. V.; ZIELINSKI, A. A. F.; HAMINIUK, C. W. I. Biosorption of anthocyanins from grape pomace extracts by waste yeast: kinetic and isotherm studies. **Journal of Food Engineering**, v. 169, p. 53-60, 2016.

TEIXEIRA, A.; BAENAS, N.; DOMINGUES-PERLES, R.; BARROS, A.; ROSA, E.; MORENO, D. A.; GARCIA-VIGUERA, C. Natural bioactive compounds from winery by-products as health promoters: a review. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 15, p. 15638-15678, 2014.

THAIPONG, Kriengsak; BOONPRAKOB, Unaroj; CROSBY, Kevin; CISNEROS-ZEVALLOS, Luis; BYRNE, David Hawkins. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19, p. 669-675, 2006.

TIWARI, A.; HIHARA, L. H. Thermal stability and thermokinetics studies on silicone creamer coatings: Part 1- inert atmosphere parameters. **Polymer Degradation and Stability**, v. 94, p. 1754-1771, 2009.

TONON, R. V.; BARONI, A. F.; BRABET, C.; GIBERT, O.; PALLET, D.; HUBINGER, M. D. Water sorption and glass transition temperature of spray dried açai (*Euterpe oleracea* Mart.) juice. **Journal of Food Engineering**, v. 94, p. 215-221, 2009.

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

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

TOURNOUR, H. H.; SEGUNDO, M. A.; MAGALHÃES, L. M.; BARREIROS, L.; QUEIROZ, J.; CUNHA, L. M. Valorization of grape pomace: Extraction of bioactive phenolics with antioxidant properties. **Industrial Crops and Products**, v. 74, p. 397-406, 2015.

VALLEJO, F.; TOMÁS-BARBERÁN, F. A.; GARCÍA-VIGUERA, C. Phenolic compound contents in edible parts of broccoli inflorescences after domestic cooking. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 83, n. 14, p. 1511-1516, nov. 2003.

VENKATESAN, P.; MANAVALAN, R.; VALLIAPPAN, K. Encapsulation: a vital technique in novel drug delivery system. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 1, n. 4, p. 26-35, 2009.

VOS, P.; FAAS, M. M.; SPASOJEVIC, M.; SIKKEMA, J. Encapsulation for preservation of functionality and targeted delivery of bioactive food components. **International Dairy Journal**, v. 20, p. 292-302, 2010.

WANG, J.; SUN, B.; CAO, Y.; TIAN, Y.; LI, X. Optimisation of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from wheat bran. **Food Chemistry**, v. 106, p. 804-810, 2008.

WANG, W.; YAGIZ, Y.; BURAN, T. J.; NUNES, C. do N.; GU, L. Phytochemicals from berries and grapes inhibited the formation of advanced glycation end-products by scavenging reactive carbonyls. **Food Research International**, v. 44, p. 2666-2673, 2011.

WATANABE, F.; ABE, K.; FUJITA, T.; GOTO, M.; HIEMORI, M.; NAKANO, Y. Effects of microwave heating on the loss of vitamin B<sub>12</sub> in foods. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, n. 1, p. 206-210, 1998.

WU, T.; YAN, J.; LIU, R.; MARCONE, M. F.; AISA, H. A.; TSAO, R. Optimization of microwave-assisted extraction of phenolics from potato and its downstream waste using orthogonal array design. **Food Chemistry**, v. 133, p. 1292-1298, 2012.

WU, D.; GAO, T.; YANG, H.; DU, Y.; LI, C.; WEI, L.; ZHOU, T.; LU, J.; BI, H. Simultaneous microwave/ultrasonic-assisted enzymatic extraction of antioxidant ingredients from *Nitraria tangutorum* Bobr. juice by-products. **Industrial Crops and Products**, v. 66, p. 229-238, 2015.

YADAV, D.; KUMAR, N. Nanonization of curcumin by antisolvent precipitation: Process development, characterization, freeze drying and stability performance. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 477, p. 564-577, 2014.

YAMASHITA, F.; TONRAZ, A. C.; FERNANDES, J. G., MORIYA, S., BENASSI, M. de T. Influência de diferentes embalagens de atmosfera modificada sobre a aceitação de uvas finas de mesa var. Itália mantidas sob refrigeração. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 20, n.1, p. 110-114, 2000.

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

ZHANG, D. L.; HAMAUZU, Y. Phenolics, ascorbic acid, carotenoids and antioxidant activity of broccoli and their changes during conventional and microwave cooking. **Food Chemistry**, v. 88, n. 4, p. 503-509, 2004.

ZEKOVIĆ, Z.; PINTAĆ, D.; MAJKIĆ, T.; VIDOVIĆ, S.; MIMICA-DUKIĆ, N.; TESLIĆ, N.; VERSATI, A.; PAVLIĆ, B. Utilization of sage by-products as raw material for antioxidants recovery – Ultrasound versus microwave-assisted extraction. **Industrial Crops and Products**, v. 99, p. 49-59, 2017.

## APÊNDICE A – TABELAS SUPLEMENTARES

**TABELA S1** ANOVA para os fatores potência e tempo para as extrações assistida por ultrassom (EAU) (a) e por micro-ondas (EAM) (b) em relação a variável resposta de compostos fenólicos totais (CFT).

(a) EAU

Fator	Graus de Liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado da Média	Valor F	p > F
Potência	2	0,55328422	0,27664211	8,30	0,0028
Tempo	2	9,02806489	4,51403244	135,47	< 0,0001
Interação	4	0,78600222	0,19650056	5,90	0,0033
Erro experimental	18	0,59979733	0,03332207		
Total	26	10,96714867			

(b) EAM

Fator	Graus de Liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado da Média	Valor F	p > F
Potência	2	25,59898541	12,79949270	1858,70	< 0,0001
Tempo	2	9,03996119	4,51998059	656,38	< 0,0001
Interação	4	2,68027526	0,67006881	97,31	< 0,0001
Erro experimental	18	0,12395267	0,00688626		
Total	26	37,443117452			

Fator potências com níveis de 250, 350 e 450 W no caso de EAU e 600, 800 e 1000 W no caso de EAM; o fator tempo com níveis de 5, 10 e 15 min para EAU e 5, 7 e 10 min para EAM; a interação refere-se aos dois fatores potência e tempo.

**TABELA S2** ANOVA para os fatores potência e tempo para as extrações assistida por ultrassom (EAU) (a) e por micro-ondas (EAM) (b) em relação a variável resposta de antocianinas monoméricas totais (AMT).

## (a) EAU

Fator	Graus de Liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado da Média	Valor F	p > F
Potência	2	0,00836474	0,00418237	1,35	0,2845
Tempo	2	0,32992496	0,16496248	53,20	< 0,0001
Interação	4	0,02531148	0,00632787	2,04	0,1315
Erro experimental	18	0,05581267	0,00310070		
Total	26	0,41941385			

## (b) EAM

Fator	Graus de Liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado da Média	Valor F	p > F
Potência	2	0,13880274	0,06940137	15,14	0,0001
Tempo	2	0,13039652	0,06519826	14,23	0,0002
Interação	4	0,41042037	0,10260509	22,39	< 0,0001
Erro experimental	18	0,08249667	0,00458315		
Total	26	0,76211630			

Fator potências com níveis de 250, 350 e 450 W no caso de EAU e 600, 800 e 1000 W no caso de EAM; o fator tempo com níveis de 5, 10 e 15 min para EAU e 5, 7 e 10 min para EAM; a interação refere-se aos dois fatores potência e tempo.

**TABELA S3** ANOVA para os fatores potência e tempo para as extrações assistida por ultrassom (EAU) (a) e por micro-ondas (EAM) (b) em relação a variável resposta de atividade antioxidante ABTS.

## (a) EAU

Fator	Graus de Liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado da Média	Valor F	p > F
Potência	2	22,43747144	11,21873572	175,05	< 0,0001
Tempo	2	78,45039878	39,22519929	612,06	< 0,0001
Interação	4	24,64719456	6,16179864	96,15	< 0,0001
Erro experimental	9	0,5767830	0,0640870		
Total	17	126,1118478			

## (b) EAM

Fator	Graus de Liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado da Média	Valor F	p > F
Potência	2	100,5568861	50,2784431	53,95	< 0,0001
Tempo	2	73,1811231	36,5905616	39,26	< 0,0001
Interação	4	110,6014076	27,6503519	29,67	< 0,0001
Erro experimental	9	8,3881110	0,9320123		
Total	17	292,7275278			

Fator potências com níveis de 250, 350 e 450 W no caso de EAU e 600, 800 e 1000 W no caso de EAM; o fator tempo com níveis de 5, 10 e 15 min para EAU e 5, 7 e 10 min para EAM; a interação refere-se aos dois fatores potência e tempo.

**TABELA S4** ANOVA para os fatores potência e tempo para as extrações assistida por ultrassom (EAU) (a) e por micro-ondas (EAM) (b) em relação a variável resposta de atividade antioxidante DPPH.

## (a) EAU

Fator	Graus de Liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado da Média	Valor F	p > F
Potência	2	14,8996290	7,4498145	47,24	< 0,0001
Tempo	2	281,5320423	140,7660212	892,61	< 0,0001
Interação	4	3,5810527	0,8952632	5,68	0,0146
Erro experimental	9	1,4193205	0,1577023		
Total	17	301,4320445			

## (b) EAM

Fator	Graus de Liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado da Média	Valor F	p > F
Potência	2	199,4378423	99,7189212	31,52	< 0,0001
Tempo	2	392,6794013	196,3397007	62,05	< 0,0001
Interação	4	91,3820333	22,8455083	7,22	0,0069
Erro experimental	9	28,4773155	3,1641462		
Total	17	711,9765952			

Fator potências com níveis de 250, 350 e 450 W no caso de EAU e 600, 800 e 1000 W no caso de EAM; o fator tempo com níveis de 5, 10 e 15 min para EAU e 5, 7 e 10 min para EAM; a interação refere-se aos dois fatores potência e tempo.