

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE QUÍMICA

EDUARDA SILVA DE AZEVEDO

**ENCAPSULAMENTO DO EXTRATO DAS BRÁCTEAS DE *Bougainvillea glabra*
PELO MÉTODO DE GELIFICAÇÃO IÔNICA E SUA INCORPORAÇÃO NA
FORMULAÇÃO DE BALAS DE GOMA**

Porto Alegre

2019

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE QUÍMICA

EDUARDA SILVA DE AZEVEDO

**ENCAPSULAMENTO DO EXTRATO DAS BRÁCTEAS DE *Bougainvillea glabra*
PELO MÉTODO DE GELIFICAÇÃO IÔNICA E SUA INCORPORAÇÃO NA
FORMULAÇÃO DE BALAS DE GOMA**

Trabalho de conclusão apresentado junto à atividade de ensino “Trabalho de Conclusão de Curso - QUI” do Curso de Química, como requisito parcial para a obtenção do grau de Bacharel em Química.

Prof. Dr. Caciano Pelayo Zapata Noreña
Orientador

Porto Alegre

2019

CIP - Catalogação na Publicação

de Azevedo, Eduarda Silva
Encapsulamento do extrato das brácteas de
Bougainvillea glabra pelo método de gelificação iônica
e sua incorporação na formulação de balas de goma /
Eduarda Silva de Azevedo. -- 2019.
62 f.
Orientador: Caciano Pelayo Zapata Noreña.

Trabalho de conclusão de curso (Graduação) --
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto
de Química, Bacharelado em Química, Porto Alegre,
BR-RS, 2019.

1. Bougainvillea glabra. 2. betalainas. 3. corantes
naturais. 4. gelificação iônica. 5. balas de goma. I.
Noreña, Caciano Pelayo Zapata, orient. II. Título.

AGRADECIMENTOS

Em poucos caracteres, é impossível expressar minha gratidão aos meus pais, aqueles que forneceram todo o suporte necessário para que eu chegasse até aqui, principalmente nestes últimos 5 anos. Obrigada pela presença constante, mesmo sem estarmos juntos com a frequência que eu gostaria (e vocês também). Agradeço também às minhas irmãs, Alice e Luísa, e à minha família como um todo, em especial às minhas avós e tias, as mulheres que me inspiram há 22 anos. À Maricota, minha tia-avó, amiga e mãe em Porto Alegre. Obrigada por ter me acolhido com tanto carinho, assim como por ter me presenteado com as tuas habilidades culinárias. Às amigas da minha “terrinha”, Triunfo, que permaneceram comigo até aqui: Ju e Chay, pois três pessoas surtando em reta final de curso, quando juntam suas forças, são imbatíveis. Ao pessoal do laboratório 116 (ICTA), local de origem deste trabalho: Andreia, Cassiano, Loleny, Mariane e Fernanda. Mari, assim como a tua dissertação tem um pouquinho de mim, este trabalho tem um pedacinho teu. Fernanda, obrigada por compartilhar o “universo” da *B. glabra* comigo, bem como por ter me acolhido durante toda a minha iniciação científica no 116. A amizade e o incentivo de vocês foram fundamentais para a elaboração desta pesquisa e para o meu desenvolvimento profissional e pessoal. Muito obrigada por tudo! Aos professores que colaboraram para a minha formação, em especial ao professor Caciano, pela orientação. Agradeço também ao CNPq, pela concessão das bolsas de pesquisa, ao Instituto de Química, e ao Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos da UFRGS, pela infraestrutura, assim como aos seus técnicos e bolsistas, pelo auxílio fornecido para a realização deste projeto.

RESUMO

Este estudo objetivou o encapsulamento do extrato das brácteas de *B. glabra* por gelificação iônica externa usando alginato de sódio e inulina como materiais de parede. Para tanto, a partir do extrato de *B. glabra* obtido por extração assistida por micro-ondas, foram produzidas duas dispersões, cujas formulações foram denominadas AI10E (alginato de sódio 1% (m/m), inulina 10% (m/m) e extrato 25% (m/m)) e AI20E (alginato de sódio 1% (m/m), inulina 20% (m/m) e extrato 25% (m/m)). Para o encapsulamento, as formulações foram gotejadas sobre uma solução de CaCl_2 ($2,5 \text{ g kg}^{-1}$), e as cápsulas formadas retiradas e lavadas com água destilada após 1 minuto de imersão. Avaliou-se a influência da concentração de inulina sobre as características físico-químicas e estruturais, e sobre a estabilidade térmica das cápsulas. Foi observado que a concentração desse polímero exerceu influência significativa no teor de betacianinas e na cinética de liberação desses compostos bioativos, na resistência mecânica, nos parâmetros estruturais (área, perímetro e circularidade) e na estabilidade térmica das cápsulas formadas. O aumento na concentração de inulina de 10% para 20% (m/m) resultou em maiores eficiências de encapsulamento de betacianinas, cujos valores foram de 79,28% e de 89,01%, para as formulações AI10E e AI20E, respectivamente. Os dados experimentais para a liberação das betacianinas, em meio aquoso à 25 °C, foram ajustados ao modelo cinético de *Lagergren* ($R^2 \geq 0,98$), observando-se um maior controle na liberação de betacianinas com o aumento da concentração de inulina nas formulações das cápsulas, cujas constantes de velocidade de liberação das betacianinas foram de $0,462 \text{ min}^{-1}$ e $0,260 \text{ min}^{-1}$, para as formulações AI10E e AI20E, respectivamente. As cápsulas contendo 20% (m/m) de inulina (AI20E) foram incorporadas na formulação de balas de goma, empregadas como alimento modelo. O teor residual de betacianinas nas balas foi avaliado, durante 35 dias, à 25 °C e 43,2% de umidade relativa, observando-se que a degradação das betacianinas seguiu uma cinética de primeira ordem. A atividade de água das balas de goma, cujos valores previamente ao armazenamento e após os 35 dias foram de, respectivamente, 0,954 e 0,533, pode ser considerada como um dos fatores mais relevantes para a degradação desses compostos, visto que a água contribui com as reações responsáveis pela degradação das betacianinas, como as reações de hidrólise e oxidação.

Palavras-chave: *Bougainvillea glabra*; betalainas; corantes naturais; gelificação iônica; balas de goma.

ABSTRACT

This study aimed the encapsulation of the *B. glabra* bracts extract by external ionic gelation using sodium alginate and inulin as wall materials. Therefore, from *B. glabra* extract obtained by microwave assisted extraction, two dispersions were produced, whose formulations were denominated AI10E (sodium alginate 1% (w/w), inulin 10% (w/w) and extract 25% (w/w)) and AI20E (sodium alginate 1% (w/w), inulin 20% (w/w) and extract 25% (w/w)). For the encapsulation, the formulations were dripped into a CaCl₂ solution (2.5 g kg⁻¹), and the formed capsules removed and washed with distilled water after 1 minute of immersion. The influence of inulin concentration on the physico-chemical and structural characteristics, and on the thermal stability of the capsules, was evaluated. It was observed that the concentration of this polymer had a significant influence on betacyanin content and release kinetics of these pigments, mechanical strength, structural parameters (area, perimeter and circularity) and thermal stability of the formed capsules. The increase of inulin concentration from 10% to 20% (w/w) resulted in higher encapsulation efficiencies of betacyanins, with values of 79.28% and 89.01%, for the formulations AI10E and AI20E, respectively. The experimental data for betacyanins release, in 25 °C aqueous medium, were adjusted to the *Lagergren* kinetic model ($R^2 \geq 0.98$), with improved control on betacyanins release, with increasing inulin concentration in capsules formulations, whose betacyanin release rate constants were 0.462 min⁻¹ and 0.260 min⁻¹, for formulations AI10E and AI20E, respectively. Capsules with a 20% inulin content (AI20E) were incorporated into the formulation of gummy candies, employed as a food model. The residual betacyanin content of the gummy candies was evaluated for 35 days, at 25 °C and 43.2% relative humidity. The degradation of the betacyanins followed first order kinetics. The water activity of gum candies, whose values before storage and after 35 days were, respectively, 0.954 and 0.533, can be considered as one of the most relevant factors for the degradation of these compounds, since water contributes to the reactions responsible for betacyanins degradation, such as hydrolysis and oxidation reactions.

Keywords: *Bougainvillea glabra*; betalains; natural colorants; ionic gelation; gummy candies.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Mecanismo de captura do radical aniônico $O_2^{\cdot -}$ pela quercetina.....	15
FIGURA 2 – Fórmula estrutural das betalaínas: betacianinas e betaxantinas.....	16
FIGURA 3 – Fatores influenciadores na estabilidade das betalaínas.....	17
FIGURA 4 – <i>Bougainvillea glabra</i>	18
FIGURA 5 – Estrutura de cápsulas (a) e esferas (b).....	20
FIGURA 6 – Estrutura dos blocos formados pelos resíduos monoméricos G, M e GM no alginato.....	21
FIGURA 7 – Representação esquemática da formação da estrutura “caixa de ovos”: (a) coordenação do Ca^{2+} às cavidades formadas pela interação dos blocos G; (b) dímero “caixa de ovos” (c) associação lateral dos dímeros.....	22
FIGURA 8 – Mecanismo de gelificação externa para formação de cápsulas: (a) gotículas de alginato em contato com a solução de Ca^{2+} , (b) recobrimento da superfície das gotículas pelos cátions, (c) formação da membrana semi-sólida e (d) difusão do Ca^{2+} pela membrana formada, levando à gelificação completa.....	23
FIGURA 9 – Estrutura da inulina.....	25
FIGURA 10 – Viscosidade em função da taxa de cisalhamento das dispersões.....	36
FIGURA 11 – Curvas reológicas oscilatórias dinâmicas para as dispersões, onde G' representa o módulo de armazenamento e G'' o módulo de perda.....	38
FIGURA 12 – Liberação de betacianinas das cápsulas contendo o extrato das brácteas de <i>B. glabra</i> à 25 °C, por 1 h, em água destilada, onde (a) AI10E e (b) AI20E.....	41
FIGURA 13 – Cápsulas do extrato das brácteas de <i>B. glabra</i> : (a) AI10E e (b) AI20E.....	42
FIGURA 14 – Morfologia das cápsulas de alginato e inulina contendo o extrato das brácteas de <i>B. glabra</i> : (a) estrutura das cápsulas (30X) e (b) superfície das cápsulas (50X).....	45
FIGURA 15 – Espectros de FTIR-ATR das cápsulas com a adição do extrato (AI10E e AI20E), sem a adição do extrato (AI10 e AI20) e do extrato das brácteas de <i>B. glabra</i> liofilizado.....	46
FIGURA 16 – Análise termogravimétrica das cápsulas de alginato de sódio e inulina sem a adição do extrato das brácteas de <i>B. glabra</i> (AI10 e AI20) e com a adição do extrato (AI10E e AI20E).....	47
FIGURA 17 – Análise de calorimetria exploratória diferencial das cápsulas de alginato	

de sódio e inulina com a adição do extrato das brácteas de <i>B. glabra</i> (AI10E e AI20E) e sem a adição do extrato (AI10 e AI20).....	49
FIGURA 18 – Balas de goma contendo as cápsulas com o extrato de <i>B. glabra</i> (AI20E).....	50
FIGURA 19 – Efeito das condições de armazenamento das balas de goma no teor de betacianinas, armazenadas por 35 dias, à 25 °C com umidade relativa de 43,2%.....	51

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Parâmetros reológicos obtidos pelo modelo de lei de potência para as dispersões produzidas.....	37
TABELA 2 – Teor de compostos fenólicos totais (CFT) e de betacianinas, e eficiência de encapsulamento (EE) das cápsulas contendo o extrato das brácteas de <i>B. glabra</i>	39
TABELA 3 – Atividade antioxidante (ABTS) e atividade antioxidante remanescente (AAR) das cápsulas contendo o extrato das brácteas de <i>B. glabra</i>	40
TABELA 4 – Constante de velocidade de liberação das betacianinas (k), porcentagem máxima liberada de betacianinas (Y_{\max}) e coeficientes de determinação (R^2) obtidos no ajuste de dados da liberação de betacianinas das cápsulas contendo o extrato das brácteas de <i>B. glabra</i> ao modelo de <i>Lagergren</i>	41
TABELA 5 – Força necessária e deformação no ponto de ruptura das cápsulas produzidas.....	42
TABELA 6 – Parâmetros de cor das cápsulas (AI10E e AI20E) contendo o extrato das brácteas de <i>B. glabra</i>	43
TABELA 7 – Área, perímetro, circularidade e diâmetro de Feret das cápsulas contendo o extrato das brácteas de <i>B. glabra</i>	44

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO	11
2.OBJETIVOS	13
2.1 OBJETIVO GERAL.....	13
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	13
3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	14
3.1 COMPOSTOS BIOATIVOS.....	14
3.1.1 Betalaínas	16
3.2 <i>Boungainvillea glabra</i>	18
3.3 ENCAPSULAMENTO.....	19
3.3.1 Gelificação iônica	20
3.3.1.1 Gelificação iônica externa.....	23
3.3.2 Materiais de parede	24
3.3.2.1 Alginato de sódio.....	24
3.3.2.2 Inulina.....	25
4. MATERIAIS E MÉTODOS	27
4.1 MATERIAIS.....	27
4.2 EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS DAS BRÁCTEAS DA <i>B.glabra</i>	27
4.3 ENCAPSULAMENTO DO EXTRATO DAS BRÁCTEAS DE <i>B.glabra</i>	28
4.3.1 Reologia das dispersões	28
4.4 CARACTERIZAÇÃO DAS CÁPSULAS CONTENDO O EXTRATO DAS BRÁCTEAS DE <i>B. glabra</i>	29
4.4.1 Análises espectrofotométricas	29
4.4.1.1 Compostos fenólicos totais (CFT).....	29
4.4.1.2 Teor de betacianinas.....	29
4.4.1.3 Atividade antioxidante pelo método ABTS.....	30
4.4.1.4 Cinética de liberação de betacianinas.....	31
4.4.2 Força de ruptura e cor das cápsulas	31
4.4.3 Avaliação da área, do perímetro, da circularidade e do diâmetro de Feret através da análise digital de imagens	32
4.4.4 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	32

4.4.5 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier com reflectância total atenuada (FTIR-ATR).....	32
4.4.6 Análise termogravimétrica (TGA) e calorimetria exploratória diferencial (DSC).....	33
4.5 APLICAÇÃO DAS CÁPSULAS DE EXTRATO DAS BRÁCTEAS DE <i>B. glabra</i> EM BALAS DE GOMA.....	33
4.5.1 Análise colorimétrica das balas de goma.....	33
4.5.2 Cinética de degradação das betacianinas nas balas de goma.....	34
4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	35
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	36
5.1 REOLOGIA DAS DISPERSÕES.....	36
5.2 CARACTERIZAÇÃO DAS CÁPSULAS CONTENDO O EXTRATO DAS BRÁCTEAS DE <i>B. glabra</i>.....	39
5.2.1 Compostos fenólicos totais (CFT), betacianinas e atividade antioxidante (ABTS).....	39
5.2.2 Cinética de liberação de betacianinas.....	40
5.2.3 Força de ruptura e cor das cápsulas.....	42
5.2.4 Avaliação da área, do perímetro, da circularidade e do diâmetro de Feret através da análise digital de imagens.....	44
5.2.5 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	44
5.2.6 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier com reflectância total atenuada (FTIR-ATR).....	46
5.2.7 Análise termogravimétrica (TGA) e calorimetria exploratória diferencial (DSC).....	47
5.3 APLICAÇÃO DAS CÁPSULAS DE EXTRATO DAS BRÁCTEAS DE <i>B. glabra</i> EM BALAS DE GOMA.....	50
5.3.1 Análise colorimétrica das balas de goma.....	50
5.3.2 Cinética de degradação das betacianinas nas balas de goma.....	51
6. CONCLUSÃO.....	53
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	54

1. INTRODUÇÃO

Nativa da América do Sul, a *Bougainvillea glabra* é uma espécie comumente cultivada como planta ornamental, principalmente devido à cor característica de suas brácteas, atribuída à presença de betalaínas, que correspondem a compostos nitrogenados e solúveis em água, localizados nos vacúolos dessas plantas. Esses compostos podem ser encontrados na *B. glabra* sob a forma de betacianinas, de coloração rosada, e de betaxantinas, de cor amarela.

Essas substâncias têm atraído o interesse de pesquisadores não somente pela sua capacidade como corante, mas também devido às propriedades benéficas à saúde associadas ao seu consumo, destacando-se seu elevado potencial antioxidante. Sendo assim, as betalaínas podem ser empregadas de forma alternativa aos corantes sintéticos atualmente incorporados nas formulações comerciais, tendo em vista que a incorporação desses compostos no desenvolvimento de alimentos funcionais pode-se mostrar uma interessante estratégia de marketing para a indústria, principalmente para produtos que necessitam uma formulação mais saudável, como os doces, consumidos por um amplo grupo de crianças a idosos.

Contudo, devido à sensibilidade das betalaínas a diversos fatores, como luz, oxigênio, temperatura e umidade, torna-se necessária sua proteção, que pode ser realizada através de diversas técnicas, destacando-se entre elas o encapsulamento. Essa técnica consiste no empacotamento de materiais sólidos, líquidos ou gasosos com o auxílio de polímeros, em cápsulas ou esferas de tamanho variado, as quais podem liberar o conteúdo de forma controlada. Dessa forma, busca-se não somente a preservação das propriedades antioxidantes dos compostos bioativos e o prolongamento da estabilidade dos mesmos durante o armazenamento, prevenindo-se interações indesejadas com a matriz alimentícia, mas também a sua liberação controlada no produto.

Dentre os métodos de encapsulamento, destaca-se a gelificação iônica externa, um método ambientalmente correto, dispensando o uso de solventes orgânicos, e de baixo custo energético e operacional, podendo ser realizado à temperatura ambiente, sem a necessidade de equipamentos sofisticados. Esse método baseia-se em interações iônicas entre compostos de cargas opostas, sendo realizado por meio do gotejamento ou aspersão de um polissacarídeo aniônico sobre uma solução catiônica. Geralmente são empregados alginato de sódio e cloreto de cálcio (CaCl_2) como elementos aniônico e catiônico, respectivamente, podendo-se também combinar outros materiais poliméricos que apresentem sinergismo com o alginato, como a inulina – um carboidrato prebiótico – visando a aumentar a estabilidade da estrutura formada.

Neste trabalho buscou-se encapsular o extrato de *B. glabra* por gelificação iônica externa, com inulina e alginato de sódio como materiais de parede, pois a utilização desse

método, empregando-se essa combinação de materiais, ainda não foi reportada na literatura para o encapsulamento de betalaínas. Para a aplicação das cápsulas produzidas, cujas características funcionais originam-se tanto dos compostos encapsulados como da inulina, desenvolveu-se balas de goma como um modelo de alimento capaz de carregar esses benefícios e provê-los aos consumidores.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Produzir cápsulas contendo o extrato das brácteas de *B. glabra* por gelificação iônica externa e avaliar suas características físico-químicas e estruturais, bem como seu comportamento na formulação de balas de goma.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Extrair compostos bioativos das brácteas de *B. glabra*, caracterizando o extrato quanto ao teor de compostos fenólicos, teor de betacianinas e atividade antioxidante pelo método ABTS;
- Encapsular o extrato das brácteas de *B. glabra* por gelificação iônica externa utilizando alginato de sódio e inulina como materiais de parede;
- Caracterizar as cápsulas quanto ao teor de compostos fenólicos, teor de betacianinas e atividade antioxidante pelo método ABTS, bem como avaliar a microestrutura das mesmas, por microscopia eletrônica de varredura (MEV), e sua estabilidade térmica, por termogravimetria (TGA) e calorimetria exploratória diferencial (DSC);
- Estudar o modelo cinético de liberação das betacianinas das cápsulas em meio aquoso à 25 °C;
- Aplicar as cápsulas produzidas no desenvolvimento de uma bala de goma, verificando-se a estabilidade das betacianinas no alimento à 25°C, sob 43,2% de umidade relativa, por 35 dias.

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 COMPOSTOS BIOATIVOS

Compostos bioativos correspondem às substâncias produzidas por organismos vivos que possuem a capacidade de interagir com um ou mais componentes dos tecidos vivos, exercendo um efeito biológico sobre os mesmos (GUAADAUI et al., 2014). Quando resultantes do metabolismo secundário de sistemas vegetais, esses compostos são produzidos pelo organismo para ajudá-lo em sua proteção, principalmente em quadros de estresse oxidativo, onde atuam como antioxidantes (COLEGATE; MOLYNEUX, 2008). Desta forma, o consumo desses compostos, quando aliado a um estilo de vida saudável, exibe inúmeros benefícios à saúde, podendo auxiliar na prevenção de diversas doenças crônicas, como aterosclerose, inflamações, câncer e diabetes (GALANAKIS, 2017).

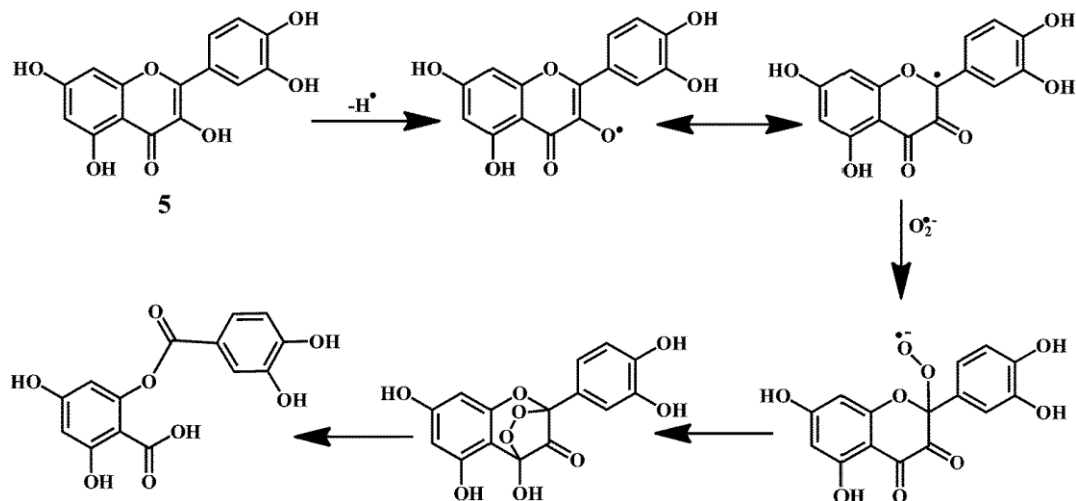
A presença de espécies reativas de oxigênio (EROs) e espécies reativas de nitrogênio (ERNs), como superóxido ($O_2^{\cdot-}$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), radical hidroxila (HO^{\cdot}), óxido nítrico (NO^{\cdot}), peroxinitrito ($ONOO^{\cdot}$) e ácido hipocloroso ($HOCl$), é resultante tanto do funcionamento regular das células, como também de quadros de estresse oxidativo (VAYA; AVIRAM, 2001). A manutenção do equilíbrio entre a produção desses oxidantes e a sua redução no meio celular se dá por meio da atuação dos antioxidantes, compostos de origem endógena ou dietética, que são capazes de retardar ou inibir a oxidação do substrato oxidável (BARBOSA et al., 2010).

Os antioxidantes são classificados principalmente quanto à sua atividade, como enzimáticos ou não enzimáticos. Os metabólitos secundários que apresentam atividade antioxidante provenientes de organismos vegetais, conhecidos como fitoquímicos, pertencem ao grupo de antioxidantes não enzimáticos, agindo na interrupção das reações em cadeia produtoras de radicais livres (NIMSE; PAL, 2015). Entre os compostos bioativos que apresentam potencial antioxidante estão os carotenoides, compostos fenólicos, compostos organosulfurados, alcaloides e demais metabólitos nitrogenados, como as betalainas (LIU, 2004).

Quanto ao mecanismo de ação, essas substâncias podem atuar de duas maneiras distintas: reagindo diretamente com os radicais livres, convertendo-os para formas mais estáveis, ou indiretamente, por meio do impedimento ou retardação da produção desses radicais, através da complexação com metais de transição envolvidos no processo de geração de radicais livres, por exemplo (JACOBSEN, 2019).

No caso dos compostos fenólicos, por serem estruturas ricas em elétrons e possuírem grupos hidroxila, podem reagir por ambos os métodos, sendo eficientes na interrupção da propagação de radicais livres, podendo reduzi-los doando seus hidrogênios com a subsequente formação de radicais fenoxil, de maior estabilidade por conta da possibilidade de ressonância e, portanto, menor reatividade, além de atuarem como agentes quelantes (WENZEL, 2013). Na Figura 1 tem-se, como exemplo, o mecanismo de atuação da quercetina na extinção do $O_2^{\cdot-}$.

Figura 1 – Mecanismo de captura do radical aniônico $O_2^{\cdot-}$ pela quercetina.



Fonte: Nimse e Pal (2015).

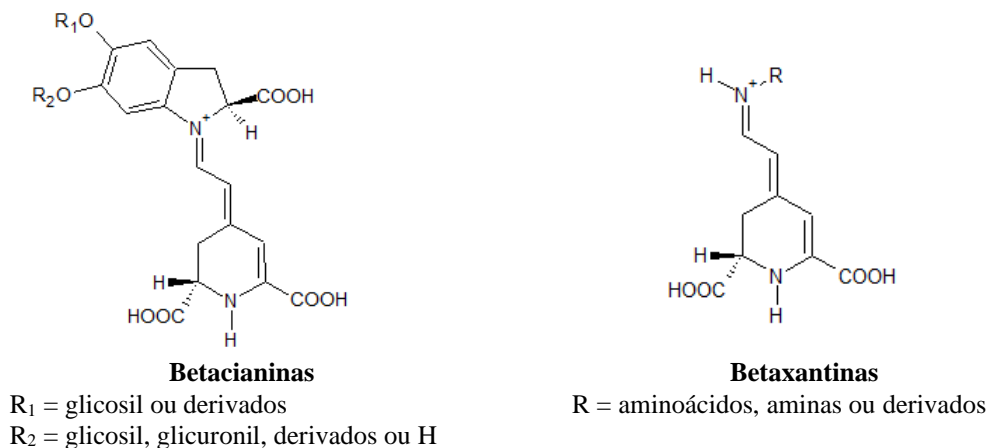
Há um crescente interesse da indústria alimentícia no desenvolvimento de alimentos funcionais – alimentos que, quando consumidos regularmente, produzem um efeito benéfico à saúde além de suas propriedades nutricionais básicas – por meio da incorporação dos compostos bioativos como ingredientes, visando ao aproveitamento das propriedades benéficas intrínsecas dos mesmos (GIL-CHÁVEZ et al., 2013). Esta demanda vem da nova percepção do consumidor, que busca por alimentos que não somente satisfaçam o apetite e forneçam os nutrientes básicos para a manutenção do corpo, mas também atuem na prevenção de doenças, melhorando o bem-estar físico e mental (SIRÓ et al., 2008).

Considerando-se que alguns grupos, como os carotenoides, antocianinas e outros fenólicos, e betalaínas absorvem luz na região do visível (aproximadamente entre 380 e 770 nm), pode-se empregar esses compostos como substituintes aos corantes sintéticos atualmente predominantes no mercado (DAMODARAN; PARKIN, 2017).

3.1.1 Betalaínas

As betalaínas são compostos nitrogenados, solúveis em água, presentes nos vacúolos das plantas. São classificadas como betacianinas, cuja estrutura corresponde ao acoplamento do íon imínio do ácido betalâmico com a ciclo-Dopa (ciclo-3,4-dihidroxifenilalanina), ou betaxantinas, resultantes do acoplamento do íon imínio do ácido betalâmico com compostos amino (aminoácidos, amins ou derivados), como pode ser observado na Figura 2 (RODRIGUEZ-AMAYA, 2019). Betacianinas e betaxantinas possuem máximo de absorção na região do visível, respectivamente em 532-550 nm, cuja coloração observada encontra-se entre vermelho e violeta, e em 457-485 nm, cuja cor está entre amarelo e laranja (KHAN, 2016).

Figura 2 – Fórmula estrutural das betalaínas: betacianinas e betaxantinas.



Fonte: Adaptado de Rodriguez-Amaya (2019).

O sistema de ligações duplas conjugadas do ácido betalâmico, presente nas duas estruturas, constitui o cromóforo responsável por essas regiões de absorção e, conseqüentemente, pela cor vívida observada nessas moléculas. Já o deslocamento batocrômico entre betacianinas e betaxantinas, de 50 a 70 nm, é atribuído à expansão do sistema de ressonância eletrônica, observado na estrutura das betacianinas, devido à conjugação das ligações duplas com o anel aromático da ciclo-3,4-dihidroxifenilalanina (ciclo-Dopa) (RODRIGUEZ-AMAYA, 2018).

Além das suas propriedades corantes, as betalaínas têm atraído o interesse dos pesquisadores devido aos benefícios à saúde associadas ao seu consumo, como atividade antioxidante (ALBANO et al., 2015), efeito cardioprotetor (HOBBS et al., 2013), anti-

inflamatório (VIDAL et al., 2014), e antimicrobiano (FARIDAH; HOLINESTI; SYUKRI, 2015).

Contudo, da mesma forma que os demais corantes naturais, a estabilidade das betalaínas é influenciada por diversos fatores, tais como concentração, pH, atividade de água (a_w), entre outros, sumarizados na Figura 3. Assim, para que seja garantida a conservação de suas propriedades durante seu processamento, condições específicas durante a execução do mesmo devem ser cuidadosamente controladas, bem como fatores externos durante o armazenamento, como temperatura, luz e exposição ao ar (HERBACH; STINTZING; CARLE, 2006).

Figura 3 – Fatores influenciadores na estabilidade das betalaínas.

Fatores que aumentam a estabilidade:	Fatores que diminuem a estabilidade:
<ul style="list-style-type: none"> • Alta concentração de betalaínas • Baixa a_w • Constituintes da matriz • pH 3-7 • Antioxidantes • Baixas temperaturas • Ausência de luz • Atmosfera inerte (N_2) 	<ul style="list-style-type: none"> • Baixa concentração de betalaínas • Alta a_w • Enzimas degradantes • pH <3 ou >7 • Cátions metálicos • Altas temperaturas • Luz • O_2 e H_2O_2

Fonte: Adaptado de Herbach, Stintzing e Carle (2006).

Com o objetivo de aumentar a resistência das betalaínas perante os fatores citados e para seu emprego numa maior gama de aplicações industriais, diversas técnicas de estabilização, como copigmentação, formação de complexos e encapsulamento, vêm sendo desenvolvidas (KHAN, 2016).

A beterraba vermelha (*Beta vulgaris*) é a principal fonte de exploração de betalaínas, comercializada como corante natural para alimentos, aprovada pela União Europeia e pela FDA (DAMODARAN; PARKIN, 2017). No entanto, seu uso é restrito por conta de seu alto teor de nitratos e de seu sabor terroso, causado pela presença de derivados de geosmina e pirazina (LU et al., 2003; STINTZING; CARLE, 2004). Entre outras fontes de betalaínas destacam-se as plantas da ordem Caryophyllales, como o amaranto (*Amaranthus sp.*) (LI et

al., 2015), o figo da Índia (*Opuntia ficus indica*) (KHATABI et al., 2016), a pitaya (*Hylocereus undatus*) (DE MELLO et al., 2015) e a primavera (*Bougainvillea glabra*) (MARAN; PRIYA; NIVETHA, 2015).

Utilizando a *B. glabra* como matéria-prima, Maran et al. (2015) extraíram teores de betalaínas de até 750 mg por 100 g de matéria seca, valor superior ao encontrado no pó comercial de beterraba, equivalente a 550 mg de betacianinas por 100 g de matéria seca (MOURA; CASCON; GRUIMARÃES, 1985), indicando o potencial dessa espécie como fonte a ser explorada na obtenção desses compostos.

3.2 *Bougainvillea glabra*

Nativa da América do Sul, a *Bougainvillea glabra* (Figura 4) é uma planta ornamental composta por pequenas flores brancas agrupadas, circundadas por brácteas coloridas, (KUMAR et al., 2013; SOARES et al., 2017). Também denominada “primavera”, “três Marias” e “flor de papel”, a *B. glabra* é encontrada em diferentes colorações, como rosa, magenta, vermelha, laranja, branca e amarela, sendo a presença de betalaínas a principal responsável por essa pigmentação (KUMAR et al., 2013; MARAN; PRIYA; NIVETHA, 2015).

Figura 4 – *Bougainvillea glabra*.



Fonte: Adaptado de Pérez-Ramírez, Lima e Guzmán (2015).

No Rio Grande do Sul, ocorre nas regiões da encosta superior do nordeste, serra do sudeste, depressão central e encosta inferior do nordeste (MARCHIORETTO; LIPPERT; DA SILVA, 2011).

Quanto à segurança de seu consumo, estudos de citotoxicidade realizados *in vitro* com o extrato das brácteas da *B. glabra* demonstram que a mesma é atóxica e sua ingestão é

segura, não havendo efeitos danosos à células saudáveis do organismo humano (SALEEM et al., 2019; SHALINI et al., 2018). Em alguns países asiáticos, como na Tailândia, seu consumo é bastante popular, seja por meio da inclusão das brácteas em saladas ou na forma de *chips* (LIM, 2014).

Os benefícios à saúde ocasionados pelo consumo dessa planta, como atividade antioxidante (SHALINI et al., 2018), antimicrobiana (GUPTA et al., 2009), anti-inflamatória (ELUMALAI; ESWARAI AH; ALI, 2012) e efeito neuroprotetor (SOARES et al., 2017), podem ser atribuídos ao teor de compostos bioativos presentes na mesma, destacando-se os compostos fenólicos e as betacianinas (ABARCA-VARGAS; PETRICEVICH, 2018). Assim, as brácteas da *B. glabra* podem ser empregadas na produção de corantes alimentícios, que podem ser incorporados em formulações culinárias não somente com o objetivo da coloração, mas também como ingredientes funcionais (KUMAR et al., 2013).

3.3 ENCAPSULAMENTO

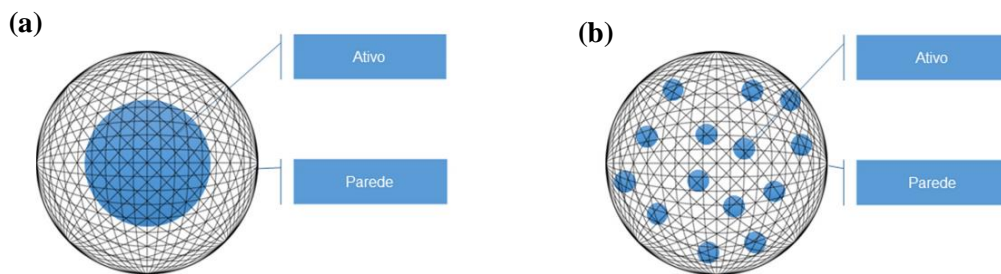
Apesar dos benefícios associados ao consumo de compostos bioativos, sua inclusão em produtos, como fármacos, cosméticos e alimentos permanece um desafio. Após serem separados de sua matriz, esses compostos apresentam instabilidade a fatores extrínsecos, como exposição ao ar, à luz e ao calor (MUNIN; EDWARDS-LÉVY, 2011). De maneira geral, a estabilidade das betalaínas pode ser considerada um dos fatores limitantes mais relevantes no seu emprego como corantes naturais em alimentos (DIAS et al., 2017; MARTINS et al., 2017).

A fim de prolongar a estabilidade dessas substâncias e ampliar suas aplicações na indústria, diversas técnicas para proteção desses compostos podem ser empregadas, destacando-se os métodos de encapsulamento, que podem ser físicos (atomização, liofilização e precipitação por fluido super crítico), químicos (polimerização interfacial e inclusão molecular) ou físico-químicos (coacervação, lipossomas e gelificação iônica) (MARTINS et al., 2017; OZKAN et al., 2019).

O encapsulamento consiste no empacotamento dos compostos de interesse (material ativo) por outra substância, chamada de material de parede, tendo-se como produto partículas cujo tamanho varia de nanômetros a milímetros (RAY; RAYCHAUDHURI; CHAKRABORTY, 2016). Após o encapsulamento, dois sistemas estruturais podem ser obtidos: sistema reservatório e sistema monolítico. No sistema reservatório, o material ativo é bem definido e totalmente rodeado pelo material de parede, havendo a formação de uma cápsula. Já no sistema monolítico, a estrutura é do tipo matricial e o material ativo se encontra

disperso em uma matriz contínua. Neste caso o material ativo pode estar disperso no material de parede e/ou ser encontrado na sua superfície, caracterizando uma estrutura denominada esfera (Figura 5) (PEREIRA et al., 2018).

Figura 5 – Estrutura de cápsulas (a) e esferas (b).



Fonte: Pereira et al. (2018).

A utilização dos métodos de encapsulamento permite não somente a proteção e estabilização do composto a ser encapsulado, como também a sua liberação controlada no produto desejado, buscando garantir a biodisponibilidade da substância de interesse no organismo quando ingerida (ĐORĐEVIĆ et al., 2014).

Embora a atomização seja o método mais utilizado para o encapsulamento de betalaínas, há algumas desvantagens no seu emprego. Além do equipamento necessário ser de alto custo e da elevada temperatura de entrada do ar de secagem (>100 °C), a quantidade de compostos encapsulados é dependente de diversos fatores intrínsecos do processo, como temperatura de saída do ar, pressão de atomização, vazão do ar e vazão média de alimentação (OTÁLORA et al., 2019).

3.3.1 Gelificação iônica

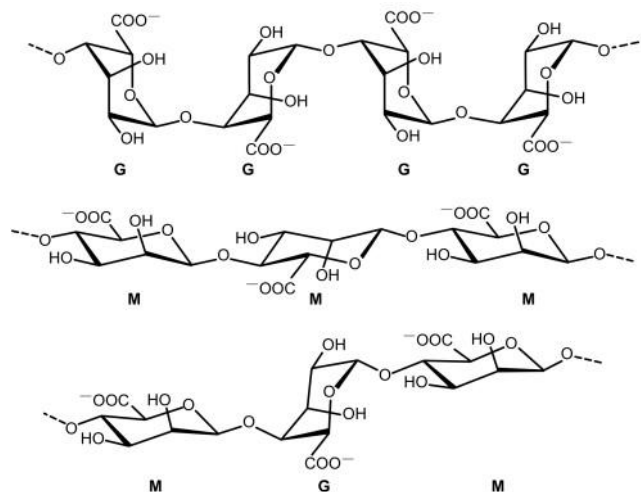
A gelificação iônica baseia-se na interação entre polímeros aniônicos, como alginato, pectina e carboximetilcelulose, e cátions polivalentes, tais como Ca^{2+} , Ba^{2+} e Al^{3+} (OZKAN et al., 2019). Esse método é recomendado principalmente para o encapsulamento de compostos sensíveis a altas temperaturas, como as betalaínas, já que é realizado à temperatura ambiente (DIAS et al., 2017). Dentre as demais vantagens associadas ao emprego desse método, pode-se citar a diminuição do uso de solventes orgânicos, caracterizando-o como um método ambientalmente amigável, de baixo custo energético e operacional, não havendo a necessidade de equipamentos sofisticados (AGUIRRE CALVO; SANTAGAPITA, 2016).

O alginato de sódio é o material de parede mais utilizado como polieletrólito, pela facilidade do mesmo em formar géis quando em contato com íons bivalentes, além de ser biodegradável e biocompatível com o material a ser encapsulado (AGUIRRE CALVO; SANTAGAPITA, 2016). O grau de afinidade do alginato em relação a cátions bivalentes diminui na seguinte sequência: $Pb > Cu > Cd > Ba > Sr > Ca > Co, Ni, Zn > Mn$. Entretanto, o cálcio (Ca^{2+}) é o mais empregado, devido à toxicidade dos demais íons (MØRCH et al., 2006).

As cápsulas resultam do gotejamento de uma dispersão contendo alginato e os compostos a serem encapsulados sobre uma solução de Ca^{2+} , onde a gelificação ocorre na superfície das gotas, havendo a formação de cápsulas cujo interior contém o composto de interesse (DIAS et al., 2017; OZKAN et al., 2019).

Os monômeros do alginato, ácidos β -D-manurônico e α -L-glucurônico, são unidos por ligações glicosídicas do tipo β (1 \rightarrow 4) sendo distribuídos em três blocos distintos: os resíduos manurônicos (bloco M), os resíduos glucurônicos (bloco G) e os resíduos alternados (Blocos M-G) (Figura 6) (DAMODARAN; PARKIN, 2017).

Figura 6 – Estrutura dos blocos formados pelos resíduos monoméricos G, M e GM no alginato.

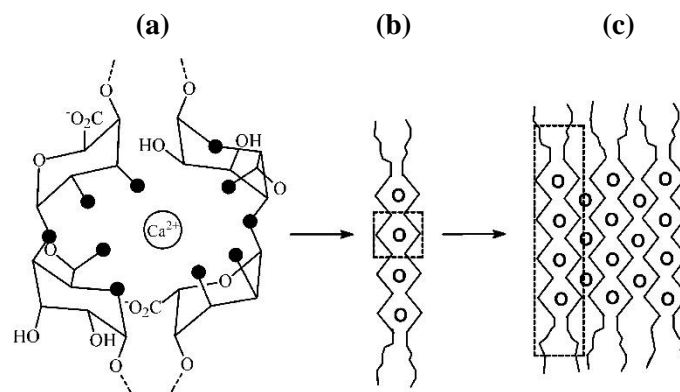


Fonte: Lee e Mooney (2012).

Os íons de metais alcalino-terrosos se ligam preferencialmente aos blocos G do alginato, que adotam uma conformação helicoidal, formando regiões curvadas. Em contato com cátions bivalentes, como o Ca^{2+} , ocorre a coordenação desses íons dentro das cavidades criadas nessas regiões, formando-se um dímero, cuja estrutura é similar à de uma caixa de

ovos (Figura 7 (a) e (b)) (GRANT et al., 1973). Posteriormente, Stokke et al. (1997), usando a técnica de espalhamento de raios-X em pequeno ângulo (SAXS) para estudar a gelificação de alginato durante a liberação *in situ* de Ca^{2+} , observaram que além da formação da estrutura dimérica do tipo “caixa de ovos”, predominante em baixas concentrações de Ca^{2+} , em maiores concentrações de Ca^{2+} há também a associação lateral dos dímeros formados (Figura 7 (c)).

Figura 7 - Representação esquemática da formação da estrutura “caixa de ovos”: (a) coordenação do Ca^{2+} às cavidades formadas pela interação dos blocos G; (b) dímero “caixa de ovos” (c) associação lateral dos dímeros.



Onde em (a) os círculos sólidos correspondem a átomos de oxigênio possivelmente envolvidos na coordenação com o Ca^{2+} e em (b) e (c) os círculos abertos representam o íon Ca^{2+} .

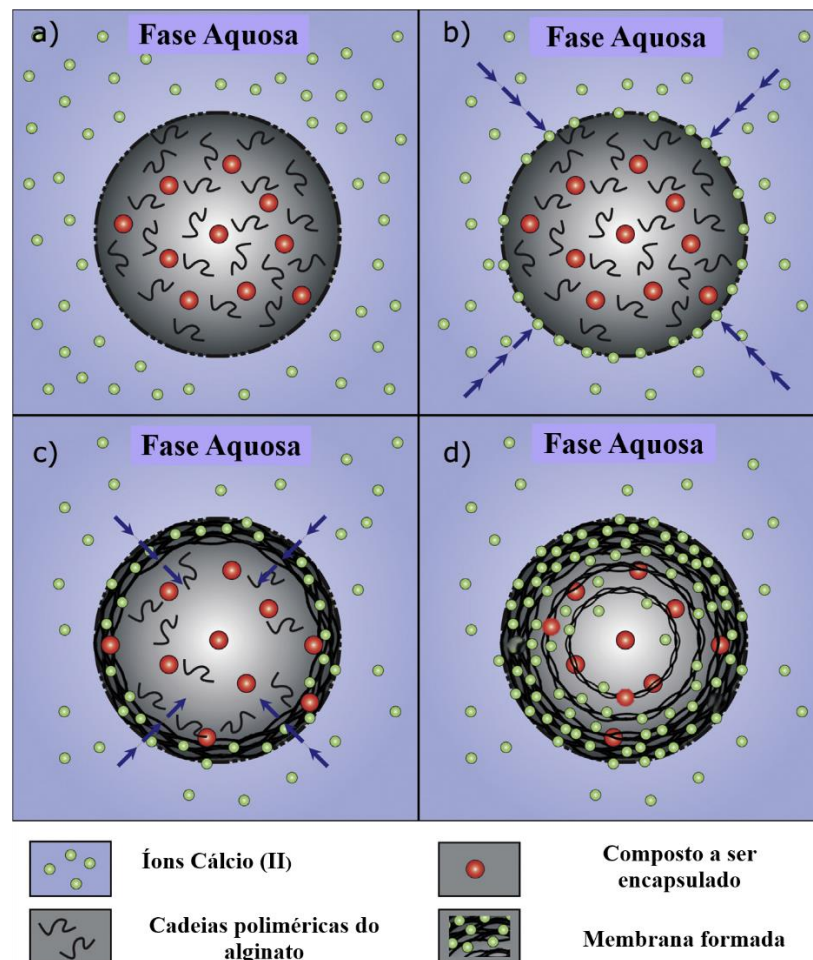
Fonte: Fang et al. (2007).

Há cinco mecanismos possíveis para gelificação iônica, podendo essa ocorrer de forma externa, interna, inversa, interfacial ou em multi-camadas. A gelificação iônica externa corresponde ao mecanismo mais utilizado, por ser um processo mais simples, sem haver a necessidade de um iniciador de gelificação, como no mecanismo interno, por exemplo, onde a gelificação somente é iniciada após a diminuição do pH ou por irradiação UV (LEONG et al., 2016). Apesar da simplicidade, o método tem se mostrado eficiente no encapsulamento de compostos bioativos. Arriola et al. (2019) encapsularam por gelificação iônica externa o extrato aquoso de *stevia rebaudiana*, contendo compostos fenólicos, obtendo uma eficiência de encapsulamento superior a 78%; Ferreira (2018), ao encapsular o extrato aquoso de beterraba (*Beta vulgaris* L.) pela mesma metodologia, obteve eficiências de encapsulamento de betalaínas e de compostos fenólicos superiores a 76%.

3.3.1.1 Gelificação iônica externa

Na gelificação iônica externa, a formação da estrutura do tipo “caixa de ovos” é responsável pelo encapsulamento de enzimas, lipídeos e compostos bioativos (AGUIRRE CALVO; SANTAGAPITA, 2016; LEONG et al., 2016). As etapas do processo de gelificação iônica externa, descritas a seguir, podem ser observadas na Figura 8.

Figura 8 - Mecanismo de gelificação externa para formação de cápsulas: (a) gotículas de alginato em contato com a solução de Ca^{2+} , (b) recobrimento da superfície das gotículas pelos cátions, (c) formação da membrana semi-sólida e (d) difusão do Ca^{2+} pela membrana formada, levando à gelificação completa.



Fonte: Adaptado de Leong et al. (2016).

Neste método, os íons Ca^{2+} entram em contato com as gotículas de alginato de sódio externamente, através do gotejamento da dispersão de alginato com os compostos a serem encapsulados sobre uma solução de Ca^{2+} . Ao entrar em contato com a solução catiônica, tem-

se o início da formação das ligações cruzadas entre as cadeias poliméricas do alginato e o Ca^{2+} , observando-se a formação inicial de uma membrana semi-sólida envolvendo a gota, cujo núcleo permanece líquido (LEONG et al., 2016). O prolongamento da imersão das gotículas na solução de Ca^{2+} permite uma maior difusão do cátion para a membrana formada, através do gradiente de concentração, levando subsequentemente à formação de uma superfície de maior solidez (CHAN; LEE; HENG, 2006).

No entanto, algumas desvantagens estão frequentemente associadas a esse método, como a permeabilidade da cápsula formada e sua baixa resistência mecânica, podendo haver vazamento do composto encapsulado (LEONG et al., 2016). Dentre as alternativas para evitar esses problemas, tem-se recomendado a adição de polissacarídeos e outros biopolímeros cujos grupos funcionais sejam capazes de estabelecer interações intermoleculares, como interações eletrostáticas e ligações de hidrogênio, com o alginato, atuando em sinergia com o mesmo (AGUIRRE CALVO; SANTAGAPITA, 2016).

Como exemplo tem-se a inulina de alta massa molecular, que além de agir como um estabilizador da matriz polimérica que constitui o gel formado, também possui capacidade gelificante quando empregada em concentrações superiores ou iguais a 15% (m/m) (CUI; WU; DING, 2013; NORUDIN; MOHAMED; YAHYA, 2018). Outra vantagem de sua utilização é devida ao seu caráter prebiótico, caracterizado pela sua resistência ao pH ácido do estômago, bem como à hidrólise por enzimas oriundas de organismos mamíferos. Assim, a inulina não é absorvida no trato gastrointestinal, mas sim fermentada seletivamente pela microbiota intestinal. Portanto, o seu consumo permite a ocorrência de alterações tanto na composição quanto na atividade da microflora presente no trato gastrointestinal, conferindo benefícios ao bem-estar e à saúde do hospedeiro.

Dessa forma, a inulina pode ser considerada como um ingrediente com potencial para aplicação em alimentos funcionais (NORUDIN; MOHAMED; YAHYA, 2018).

3.3.2 Materiais de parede

3.3.2.1 Alginato de Sódio

O alginato é um polímero aniônico atóxico de ocorrência natural, tipicamente obtido a partir de algas marinhas marrons, amplamente utilizado nas indústrias alimentícia, biomédica e farmacêutica (LEE; MOONEY, 2012). É utilizado preferencialmente na forma de alginato de sódio, devido à maior solubilidade em água (FUNAMI et al., 2009).

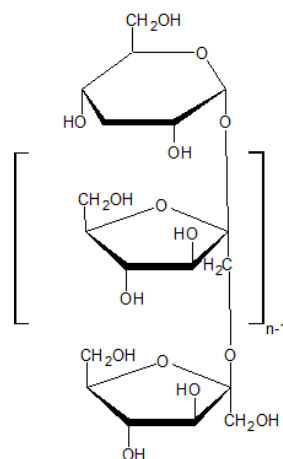
Devido às diferentes conformações adotadas pelos blocos que constituem a estrutura polimérica do alginato, cada bloco apresenta propriedades diferentes, como a solubilidade e a rigidez estrutural: os blocos G representam a fração do alginato insolúvel em água, cuja estrutura apresenta maior rigidez quando comparada aos blocos M, representantes da fração solúvel, que possuem um impedimento estérico maior em torno das ligações glicosídicas (FUNAMI et al., 2009; LARSEN et al., 2003).

Quando disperso em meio líquido, a estrutura do alginato também é influenciada pelo pH do meio, por conta da presença dos grupos carboxílicos (YANG; CHEN; FANG, 2009). Com o pH entre 3,0 e 4,5, esses grupos encontram-se protonados, diminuindo a interação com as moléculas de água e, portanto, a solubilidade das cadeias, sendo que em pH inferior a 3,0 ocorre a precipitação do ácido algínico (DAMODARAN; PARKIN, 2017). Por conta disso, usualmente se utilizam dispersões cujos valores de pH se encontram entre 5,0 e 10,0, faixa em que o alginato permanece solúvel (YANG; CHEN; FANG, 2009).

3.3.2.2 Inulina

A inulina ocorre naturalmente como um carboidrato de armazenamento em diversas espécies de plantas, sendo que a principal fonte de exploração comercial é a raiz de chicória (*Chicorium intybus*) (BEIRAO-DA-COSTA et al., 2005). Estruturalmente, como pode ser observado na Figura 9, correspondem a polímeros lineares cujas unidades monoméricas são β -D-frutofuranoses unidas por ligações do tipo $\beta(2\rightarrow1)$, usualmente com uma unidade de sacarose na terminação das cadeias poliméricas, que diferem quanto ao grau de polimerização, cujo valor varia de 2 a 60 (DAMODARAN; PARKIN, 2017).

Figura 9 – Estrutura da inulina.



Fonte: Adaptado de Cui e Robert (2009).

Quanto ao pH do meio em que se encontra dispersa, a inulina é suscetível à hidrólise ácida, podendo essa ocorrer em pH inferior a 4. Apesar de possuírem baixa viscosidade, dispersões de inulina, quando combinadas com outros polissacarídeos, competem pelas moléculas de água do meio, alterando o comportamento reológico da dispersão resultante (CUI; WU; DING, 2013). Quando o grau de polimerização é superior a 10, a inulina pode ser usada para modificar a reologia e a textura de produtos alimentícios, sendo que, quando a concentração de inulina excede 15%, pode haver a formação de um gel ou de um creme, que é frequentemente empregado na indústria alimentícia como substituto de gordura. A força do gel pode ser afetada por diversos fatores, como o comprimento da cadeia polimérica (cadeias longas tendem a formar géis mais firmes) e a concentração de polímero (CUI; WU; DING, 2013; DAMODARAN; PARKIN, 2017).

Tanto a inulina, classificada como uma fibra alimentar, quanto os demais frutooligossacarídeos provenientes de sua despolimerização são prebióticos. Outra característica benéfica à saúde associada ao consumo de inulina é seu índice glicêmico igual a zero, não havendo aumento nos níveis de glicose e insulina no sangue com a sua ingestão (CUI; ROBERT, 2009; DAMODARAN; PARKIN, 2017).

A combinação destes materiais, inulina e alginato, tem se destacado no encapsulamento de compostos fenólicos por gelificação iônica. Ao encapsular o extrato aquoso de carqueja (*Pterospartum tridentatum*) por gelificação iônica utilizando somente alginato como material de parede, Balanč et al. (2016) obtiveram eficiências de 49% para o encapsulamento de compostos fenólicos, enquanto que, ao empregarem combinações de alginato e inulina como materiais de parede, a eficiência foi superior a 73%. Resultados similares foram encontrados por Stojanovic et al., que ao encapsularem o extrato aquoso de tomilho, utilizando combinações de alginato e inulina, obtiveram eficiências de encapsulamento de até 79% (STOJANOVIC et al., 2012).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 MATERIAS

Os ramos de *B. glabra* foram coletados no *campus* do Vale da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil (Localização GPS 30°04'18"S e 51°7'8"O). No laboratório, as brácteas foram separadas dos ramos, selecionadas e submetidas à secagem, realizada em um secador com circulação forçada de ar à temperatura de 30 °C durante 8 h, tempo necessário para que fosse atingida a umidade de equilíbrio. Posteriormente, foram moídas em um moinho de martelos (Fritsch, Pulverisette 14). As brácteas em pó foram acondicionadas em embalagens de polietileno e armazenadas em *freezer* a -18 °C até a preparação do extrato.

O alginato de sódio e o cloreto de cálcio ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), ambos de grau alimentício, foram adquiridos da Êxodo Científica e da Dinâmica (São Paulo, Brasil), respectivamente. A gelatina (220 bloom, incolor e sem açúcar), e a inulina (grau de polimerização ≥ 23), ambas de grau alimentício, foram adquiridas da Importadora Química Delaware LTDA. (Porto Alegre, Brasil) e da BENEIO-Orafti (Mannheim, Alemanha), respectivamente. Os demais reagentes utilizados nas análises apresentadas neste trabalho eram de grau analítico.

4.2 EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS DAS BRÁCTEAS DA *B. glabra*

A extração dos compostos bioativos presentes nas brácteas da *B. glabra* foi realizada por extração assistida por micro-ondas (EAM), de acordo com Cardoso-Ugarte et al. (2014), com modificações. O pó das brácteas foi adicionado à água destilada na proporção de 1:20 (m/v), e a mistura foi agitada em agitador magnético (Ika, 3907506 LAB DISC) por 5 min. Posteriormente, a mesma foi colocada em um béquer, resfriada a 0 °C e submetida à extração em micro-ondas convencional (Electrolux, ME-F41) a 2450 MHz na melhor condição de extração de acordo com testes preliminares, cuja potência foi de 600 W com tempo de exposição às micro-ondas de 13 min, tempo no qual a temperatura da mistura atingiu 60 °C. Segundo Slavov et al. (2013), a utilização de micro-ondas acima desta temperatura contribui para a degradação das betalaínas.

Após a extração, o extrato foi filtrado com papel filtro (Whatman nº 01), acondicionado em embalagens de polietileno e armazenado em *freezer* a -18°C até o seu encapsulamento.

4.3 ENCAPSULAMENTO DO EXTRATO DAS BRÁCTEAS DE *B. glabra*

O encapsulamento do extrato das brácteas de *B. glabra* foi realizado através do método de gelificação iônica externa, conforme o procedimento descrito por Aguirre Calvo, Perullini e Santagapita (2018), com modificações, utilizando-se alginato de sódio e inulina como materiais de parede. Para tanto foram preparadas duas dispersões, em água destilada, contendo o extrato de *B. glabra* com as seguintes composições: Alginato de sódio 1% (m/m), inulina 10% (m/m) e extrato 25% (m/m) (AI10E), e alginato de sódio 1% (m/m), inulina 20% (m/m) e extrato 25% (m/m) (AI20E), cujas massas foram ajustadas para 40 g (100%) por meio da adição de água destilada.

Primeiramente preparou-se a dispersão de alginato de sódio no extrato de *B. glabra*, sob agitação magnética (Ika, 3907506 LAB DISC) por 40 min à 25 °C. Após, a inulina, previamente solubilizada em água destilada sob agitação magnética (Ika, 3907506 LAB DISC) à 60 °C, foi adicionada à dispersão de alginato e extrato, que foi colocada em um banho ultrassônico (Elmasonic, 30H) por 5 min à 40 °C, a fim de eliminar microbolhas formadas durante a agitação. O pH final das dispersões AI10E e AI20E foi de 6,48 e 6,34, respectivamente.

Para a formação das cápsulas, as dispersões foram colocadas em uma bureta de 25 mL e gotejadas, sob uma vazão de 0,7 mL min⁻¹, sobre uma solução de CaCl₂ (2,5 g kg⁻¹) distante 12 cm da ponta da bureta. As cápsulas formadas foram mantidas por 1 min na solução de cálcio, retiradas, lavadas com água destilada e imediatamente submetidas as análises de caracterização.

4.3.1 Reologia das dispersões

Previamente ao encapsulamento, as dispersões AI10E e AI20E foram caracterizadas quanto ao seu comportamento reológico, mediante o emprego de um reômetro (Thermo Scientific, HAAKE MARS 40/60) utilizando uma geometria de placas paralelas (abertura de 1,0 mm) à 20 °C. A viscosidade foi avaliada variando-se a taxa de cisalhamento de 0,1 a 100 s⁻¹. Os dados experimentais foram ajustados ao modelo de lei de potência (modelo de *Ostwald-de Waele*) de acordo com a equação 1.

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

Onde τ é a tensão de cisalhamento (Pa), $\dot{\gamma}$ é a taxa de cisalhamento (s⁻¹), K é o índice de consistência e n o índice de comportamento do fluxo.

Através de testes oscilatórios, foram determinados os módulos de armazenamento (G') e de perda (G'') em função da frequência aplicada. Para a determinação da região viscoelástica linear, foram aplicadas varreduras de tensão (0,1-200 Pa) sob frequência constante (1 Hz). A varredura de frequência foi realizada entre 0,1 e 100 Hz, à 1 Pa e à 20 °C.

4.4 CARACTERIZAÇÃO DAS CÁPSULAS CONTENDO O EXTRATO DAS BRÁCTEAS DE *B. glabra*

4.4.1 Análises espectrofotométricas

Para realização das análises em espectrofotômetro (Thermo Scientific, Genesys 10S), 1 g de cápsulas foi previamente dissolvido em 5 mL de solução de citrato de sódio (10 g kg⁻¹), sob agitação magnética (Ika, 3907506 LAB DISC) por 15 min à 25 °C. Cápsulas sem o extrato de *B. glabra* foram utilizadas como controle, a fim de considerar o efeito de interferentes nas quantificações.

4.4.1.1 Compostos fenólicos totais (CFT)

O teor de compostos fenólicos totais foi analisado empregando-se o método de *Folin-Ciocalteu*. As absorvâncias foram lidas no comprimento de onda de 765 nm, de acordo com Singleton e Rossi (1965). Para quantificação desses compostos, foi feita uma curva padrão de ácido gálico e os resultados foram expressos em mg de equivalente de ácido gálico por g em base seca (mg EAG g⁻¹).

A eficiência de encapsulamento (EE) dos CFT foi calculada com base no teor de compostos fenólicos totais das cápsulas (CFTC) em relação aos compostos fenólicos totais do extrato (CFTE), de acordo com a equação (2):

$$EE (CFT) = \frac{CFTC}{CFTE} \times 100 \quad (2)$$

4.4.1.2 Teor de betacianinas

A quantificação das betacianinas foi realizada conforme a metodologia proposta por Aguirre Calvo, Perullini e Santagapita (2018), com algumas modificações. Previamente à leitura de absorvância das cápsulas, fez-se uma varredura do espectro do extrato, de 300 a 800 nm, em espectrofotômetro. A absorvância para betacianinas (BC) foi medida em 546 nm,

valor obtido após a realização da varredura. O teor de BC foi calculado em relação à betanina, de acordo com a equação (3):

$$BC = \frac{A \times FD \times MM}{\epsilon \times l} \quad (3)$$

Onde BC representa o teor de betacianinas (mg g^{-1} em base seca), A representa o valor da absorbância em 546 nm, MM representa a massa molecular (betanina = 550 g mol^{-1}), ϵ representa o coeficiente de absorvidade molar (betanina = $60000 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), FD representa o fator de diluição e l é o caminho óptico (1 cm).

A eficiência de encapsulamento (EE) foi calculada com base no teor de betacianinas contido nas cápsulas (B_{cap}) em relação ao teor de betacianinas presentes no extrato (B_{ext}), de acordo com a equação (4):

$$EE (\text{Betacianinas}) = \frac{B_{\text{cap}}}{B_{\text{ext}}} \times 100 \quad (4)$$

4.4.1.3 Atividade antioxidante pelo método ABTS

A atividade antioxidante das amostras foi determinada pela capacidade de captura do radical $\text{ABTS}^{+\cdot}$ (2,2'-azino-bis (ácido 3-etilbenzotiazolína-6-sulfônico)), de acordo com Re et al. (1999). Para isso, 5,0 mL de solução de $\text{ABTS}^{+\cdot}$ (7 mM) e 88 μL de persulfato de potássio ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$) (140 mM) foram misturados 16 h antes da realização da análise e mantidos sob ausência de luz à temperatura ambiente ($25 \text{ }^\circ\text{C}$). A solução resultante foi diluída com etanol (99,5%) até atingir um valor de absorbância de $0,700 \pm 0,050$ a 734 nm. Posteriormente, uma alíquota de 30 μL de amostra foi adicionada à 3 mL da solução de $\text{ABTS}^{+\cdot}$, realizando-se a leitura da absorbância no espectrofotômetro (Thermo Scientific, Genesys 10S), em 734 nm, após 6 min. Foi elaborada uma curva padrão de Trolox (ácido 6-hidróx-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxílico), a fim de expressar os resultados em μmol de Trolox equivalente (TE) por g de bráctea em base seca ($\mu\text{mol TE g}^{-1}$).

A atividade antioxidante remanescente (AAR) foi calculada de acordo com Aguirre Calvo, Perullini e Santagapita (2019), com base na atividade antioxidante das cápsulas em relação à atividade antioxidante do extrato de *B. glabra*, segundo a equação (5):

$$AAR (\text{ABTS}) = \frac{(\text{ABTS}) \text{ cápsulas}}{(\text{ABTS}) \text{ extrato}} \times 100 \quad (5)$$

4.4.1.4 Cinética de liberação de betacianinas

Para avaliar a cinética da liberação de betacianinas das cápsulas, à 25 °C em meio aquoso, empregou-se o procedimento proposto por Orozco-Villafuerte et al. (2018) com modificações, conforme descrito a seguir: Analisou-se, durante 1 h, o teor de betacianinas nos seguintes intervalos de tempo: 2, 6, 12, 18, 24, 30, 36, 42, 48, 54 e 60 min. Para tanto, para cada intervalo de tempo, 5 g de cápsulas (aproximadamente 134 cápsulas) foram colocadas em um frasco Erlenmeyer de 250 mL, onde adicionou-se 10 mL de água destilada. Os frascos foram mantidos sob agitação em um agitador do tipo orbital (Ethiktechnology, 501-D), a 100 rpm, na temperatura de 25 °C. Após o período correspondente a cada intervalo de tempo, o frasco era retirado do agitador e a amostra era filtrada com papel filtro (Whatman N°1). O sobrenadante foi submetido à análise de betacianinas, como exposto na seção 4.4.1.2.

Para avaliar o mecanismo de liberação desses compostos bioativos, foi aplicado o modelo de *Lagergren*, em sua forma não-linear (Equação 6).

$$Y_t = Y_{max}(1 - \exp^{-kt}) \quad (6)$$

Onde: Y_t corresponde à porcentagem de betacianinas liberadas no tempo t , Y_{max} à porcentagem máxima liberada, k à constante de velocidade da liberação e t ao tempo (min).

4.4.2 Força de ruptura e cor das cápsulas

Avaliou-se a força necessária para a ruptura das cápsulas, bem como a deformação no ponto de ruptura, empregando-se um analisador de textura (Stable Micro Systems, TA-XT PLUS). Para tanto, utilizou-se um probe cilíndrico de 20 mm de diâmetro (P/20P), a 0,5 mm s⁻¹ de velocidade, a uma força de compressão de 0,049 N, suficiente para causar 90% de deformação nas amostras. Essas medições foram realizadas em triplicata imediatamente após o preparo das cápsulas.

Os parâmetros colorimétricos das cápsulas foram determinados por um colorímetro (Minolta, CR400/410) de acordo com o sistema CIEL*a*b*, onde L^* indica a luminosidade e a^* e b^* são as coordenadas cromáticas. Esses parâmetros foram necessários para o cálculo dos valores de *Chroma*, ângulo *Hue* e diferença total de cor (ΔE) entre as duas formulações, de acordo com as equações (7), (8) e (9), respectivamente (CIE, 2004).

$$Chroma = (a^{*2} + b^{*2})^{\frac{1}{2}} \quad (7)$$

$$Hue = tg^{-1}\left(\frac{b^*}{a^*}\right) \quad (8)$$

$$\Delta E = \sqrt{(L_0^* - L^*)^2 + (a_0^* - a^*)^2 + (b_0^* - b^*)^2} \quad (9)$$

Onde: a^* , b^* e L^* referem-se aos dados das cápsulas (AI10E ou AI20E);

a_0^* , b_0^* e L_0^* referem-se aos dados das cápsulas (AI10E ou AI20E);

4.4.3 Avaliação da área, do perímetro, da circularidade e do diâmetro de Feret através da análise digital de imagens

A análise estrutural por imagem das cápsulas foi realizada como descrito por Aguirre Calvo e Santagapita (2016), utilizando o software ImageJ (versão 1.52a). Foram medidos a área, o perímetro, a circularidade e o diâmetro de Feret das amostras, analisando-se 15 cápsulas de cada formulação. As imagens foram obtidas com a câmera de um smartphone (Apple, iPhone 6s, 12 Mpx) e o software foi calibrado para que fosse possível a transformação dos pixels medidos na imagem em unidades de comprimento (mm).

4.4.4 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A morfologia das cápsulas foi analisada por microscopia eletrônica de varredura (MEV) em um microscópio (JEOL, JSM-6060) operando em uma voltagem de 5 kV, em ampliações de 30 e 50 vezes. Previamente à análise, as cápsulas foram congeladas a $-60\text{ }^\circ\text{C}$ em ultra *freezer* (LIOTOP, UFR30) e liofilizadas (LIOTOP, L101). Após a liofilização, as amostras foram fixadas em stubs, com fita de carbono, e passaram por um processo de metalização a vácuo da superfície por pulverização de ouro e carbono.

4.4.5 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier com reflectância total atenuada (FTIR-ATR)

Os espectros das cápsulas foram obtidos em um espectrômetro FTIR-ATR (Thermo Scientific, Nicolet 6700), a fim de analisar as interações entre o extrato encapsulado, e os materiais de parede (alginato de sódio e inulina). Os espectros de FTIR foram registrados na faixa de 4000 a 400 cm^{-1} , com resolução de 4 cm^{-1} e um número de scans igual a 128. Previamente à análise, as cápsulas foram congeladas a $-60\text{ }^\circ\text{C}$ em ultra *freezer* (LIOTOP, UFR30) e liofilizadas (LIOTOP, L101).

4.4.6 Análise termogravimétrica (TGA) e calorimetria exploratória diferencial (DSC)

A análise termogravimétrica (TGA) das cápsulas foi realizada em um analisador termogravimétrico (TA Instruments, Q50), onde aproximadamente 8 mg da amostra foram adicionados a um cadinho de platina, aquecido de 40 a 800 °C a um gradiente de temperatura de 10 °C min⁻¹, com um fluxo de nitrogênio de 20 mL min⁻¹.

A calorimetria exploratória diferencial (DSC) foi realizada no equipamento DSC 8500 (Perkin Elmer). Aproximadamente 6 mg de amostra foram pesadas em cadinhos de alumínio, realizando-se as medições de -20 a 200 °C, com uma taxa de aquecimento de 10 °C min⁻¹, sob um fluxo de nitrogênio de 20 mL min⁻¹. Previamente às análises térmicas, as cápsulas foram congeladas a -60 °C em ultra *freezer* (LIOTOP, UFR30) e liofilizadas (LIOTOP, L101).

4.5 APLICAÇÃO DAS CÁPSULAS DE EXTRATO DAS BRÁCTEAS DE *B. glabra* EM BALAS DE GOMA

A formulação de cápsulas contendo o extrato das brácteas de *B. glabra* que apresentou os melhores resultados nas análises de caracterização foi utilizada como corante na formulação de balas de goma, seguindo-se o procedimento descrito por Tutunchi e colaboradores (2019), com algumas modificações. Para preparação das balas, fez-se uma calda de açúcar (38,5% m/m) em água destilada, na qual foi adicionada a gelatina em pó (8% m/m) previamente hidratada com água acidificada com ácido cítrico (0,3% m/m). Essa mistura foi homogeneizada e aquecida (60 °C) até a completa dissolução. Em seguida, 0,3 g de cápsulas de *B. glabra* foram dispostas em moldes de polietileno, sobre os quais foi adicionada a mistura contendo gelatina. Após, esses moldes foram armazenados na geladeira por 4 h. Balas sem as cápsulas também foram produzidas, para utilização como controle. Após esse período, as balas foram desenformadas e submetidas às análises descritas a seguir.

4.5.1 Análise colorimétrica das balas de goma

Os parâmetros colorimétricos foram determinados por um colorímetro (Minolta, CR400/410) de acordo com o sistema CIEL*a*b*, onde L^* indica a luminosidade e a^* e b^* são as coordenadas cromáticas. Esses parâmetros foram necessários para o cálculo dos valores de *Chroma* e do ângulo *Hue*, de acordo com as equações (7) e (8), respectivamente (CIE, 2004).

4.5.2 Cinética de degradação das betacianinas nas balas de goma

A estabilidade das betacianinas foi avaliada de acordo com Tutunchi et al. (2019), com algumas modificações. Para isso, as balas de goma foram colocadas em béqueres e cobertas com uma película flexível (Parafilm) perfurada. As condições de armazenamento utilizadas foram de 43,2% de umidade relativa (solução saturada de carbonato de potássio (K_2CO_3)), à 25 °C, na ausência de luz. As amostras, correspondentes a 6 balas (cada uma contendo 0,3 g de cápsulas) para cada semana a ser analisada, foram acondicionadas em frascos herméticos, armazenados em uma incubadora (Ethik Technology, 411/FDP) durante 35 dias, realizando-se a análise de teor de betacianinas, descrita na seção 4.4.1.2, a cada 7 dias.

Previamente à análise, as balas foram dispersas em 6,0 mL de uma mistura 1:1 (v/v) de acetonitrila e metanol: ácido acético: água destilada (50: 8: 42 v / v / v), visando à extração das betacianinas. A dispersão foi agitada em um agitador do tipo vortex por 5 min, centrifugada (Sigma, 4K15) por 5 min, a $3000\times g$, na temperatura de 20 °C, filtrada com papel filtro (Whatman N°1) e o sobrenadante foi submetido à análise. Todas as análises foram executadas em duplicata.

Os dados experimentais foram ajustados ao modelo cinético de reação de primeira ordem (10):

$$C = C_0 \exp^{-kt} \quad (10)$$

Onde: C é o teor residual de betacianinas nas balas no tempo t ($mg\ g^{-1}$), C_0 é o teor inicial de betacianinas presente nas balas ($mg\ g^{-1}$), k é a constante de velocidade de reação ($dias^{-1}$) e t é o tempo (dias).

O tempo de redução decimal (D), requerido para a degradação de 90% das betacianinas, e o tempo de meia-vida ($t_{1/2}$), tempo necessário para a degradação de 50% das betacianinas, foram calculados de acordo com as equações (11) e (12), respectivamente:

$$D = \frac{\ln(10)}{k} \quad (11)$$

$$t_{(1/2)} = \frac{\ln(2)}{k} \quad (12)$$

A atividade de água (a_w) das balas antes e após o período de armazenamento (35 dias) foi obtida no medidor de a_w (Aqualab, 3TE-Degacon) conforme método da AOAC (2012) n° 984.25.

4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) e a comparação de médias entre os tratamentos foi realizada pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância, através do software SAS 9.3.

Os parâmetros cinéticos dos modelos descritos pelas equações (6), e (10) foram estimados por análise de regressão não linear utilizando-se o software Origin 9.0, que utiliza o algoritmo de Levenberg–Marquardt como método de otimização.

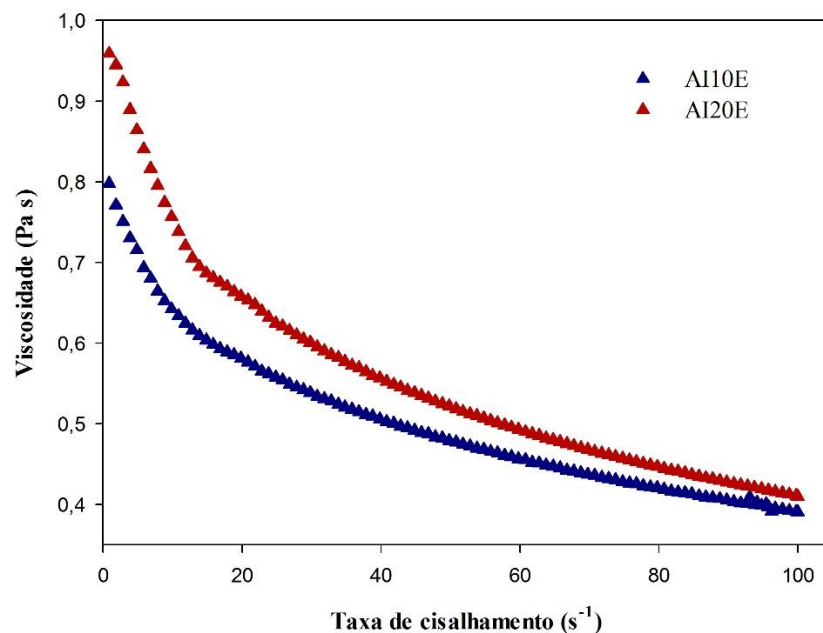
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 REOLOGIA DAS DISPERSÕES

Na Figura 10 são mostradas as curvas de viscosidade das dispersões em função da taxa de cisalhamento, podendo-se observar que a dispersão contendo a maior concentração de inulina (20%) apresentou a maior viscosidade (AI20E).

A viscosidade é influenciada pelo entrelaçamento entre as cadeias de inulina e alginato, dependendo de fatores como a conformação adotada por esses polímeros na dispersão produzida, que relaciona-se à forma como os mesmos interagem entre si e com o meio em que estão dispersos (CUI; WU; DING, 2013), correspondente ao extrato aquoso das brácteas de *B. glabra*. Dessa forma, o aumento da viscosidade observado na dispersão cuja concentração de inulina foi maior pode ser devido às mudanças conformacionais nas cadeias de inulina e alginato, associadas ao aumento de interações intermoleculares entre os polímeros e entre os mesmos com o meio de dispersão. Isso ocorre pela presença de um maior número de grupos hidroxila (-OH), bem como átomos de oxigênio, disponíveis para interagir por ligações de hidrogênio com as moléculas de água do meio e/ou com as moléculas de alginato.

Figura 10 – Viscosidade em função da taxa de cisalhamento das dispersões AI10E e AI20E.



As dispersões apresentaram comportamento não-Newtoniano, com propriedades pseudoplásticas, caracterizadas pela diminuição da viscosidade aparente com o aumento da taxa de cisalhamento. Conforme a taxa de cisalhamento aumenta, as moléculas dos

polissacarídeos tendem a se orientar na direção do movimento do fluido, havendo um decréscimo nas interações físicas entre os polímeros, cuja consequência é a diminuição do entrelaçamento das cadeias poliméricas, diminuindo sua resistência ao fluxo (MEDINA-TORRES et al., 2019; MEZGER, 2006).

Os dados experimentais de viscosidade em função da taxa de cisalhamento ajustaram-se ao modelo de lei de potência (*Ostwald de Waele*), obtendo-se um coeficiente de determinação (R^2) maior que 0,99 (Tabela 1). Os valores menores a 1 do índice de comportamento de fluxo (n) corroboraram o comportamento pseudoplástico das dispersões, observado na Figura 10. Como discutido anteriormente, a amostra AI20E apresenta a maior viscosidade, que pode ser avaliada pelo índice de consistência (K), indicativo da natureza viscosa de um sistema, sendo significativamente maior ($p < 0,05$) para essa dispersão.

Tabela 1 – Parâmetros reológicos obtidos pelo modelo de lei de potência para as dispersões produzidas.

Amostra	Lei de Potência		
	K (Pa s)	n	R^2
AI10E	$1,25 \pm 0,02^b$	$0,751 \pm 0,003^a$	0,999
AI20E	$1,62 \pm 0,03^a$	$0,705 \pm 0,004^b$	0,999

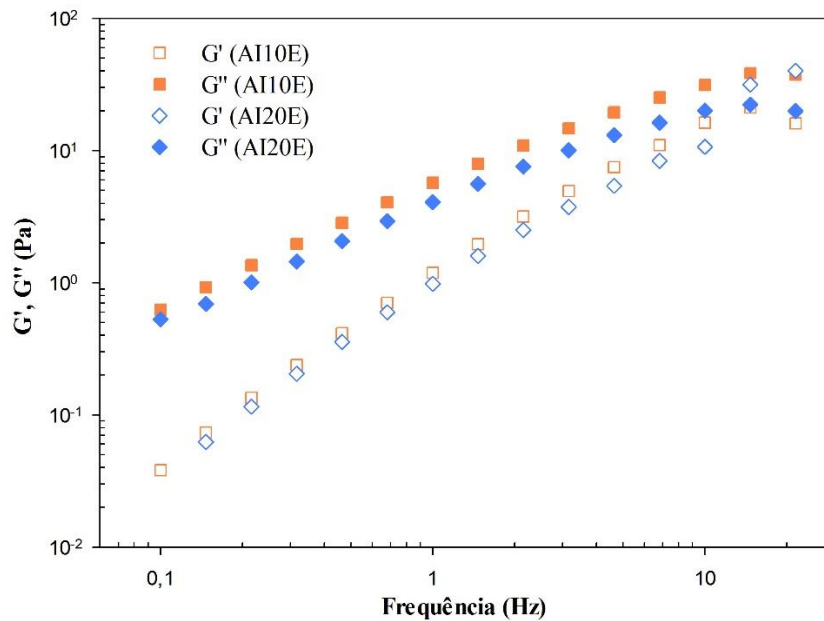
K = índice de consistência

n = índice de comportamento do fluxo

Colunas com letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Quanto aos ensaios oscilatórios (Figura 11), obteve-se os módulos de armazenamento (G') e de perda (G'') por ciclos de oscilação, que consistem na medida da energia armazenada (podendo ser utilizado como um índice da rigidez ou elasticidade do material) e a energia dissipada ou perdida (que pode ser utilizado como um índice das propriedades viscosas do material), respectivamente (MACKŮ et al., 2009).

Figura 11 – Curvas reológicas oscilatórias dinâmicas para as dispersões AI10E e AI20E, onde G' representa o módulo de armazenamento e G'' o módulo de perda.



Na Figura 11, os valores de G' e G'' de todas as dispersões aumentaram com a frequência aplicada, sendo os valores de G'' maiores do que G' para todas as dispersões, indicando a predominância do comportamento viscoso sobre o elástico, característico de líquidos viscoelásticos. Contudo, para valores maiores que 10 Hz, observou-se a inversão entre as curvas de G' e G'' para a dispersão contendo o maior teor de inulina (AI20E), com valores de G' maiores que o G'' , indicativo da formação de um sistema do tipo sólido ou gel viscoelástico.

Esse comportamento, líquido a baixas frequências seguido da transição líquido-gel também chamada de ponto de gelificação, em maiores frequências, é característico de polímeros antes de estabelecerem ligações cruzadas com outras moléculas ou íons, como o Ca^{2+} na gelificação iônica, por exemplo (MEZGER, 2006). Assim, a formação do gel só ocorre de fato após o contato das moléculas de polissacarídeo com os íons metálicos, formando a estrutura do tipo “caixa de ovos” proveniente das ligações cruzadas estabelecidas entre os íons Ca^{2+} e os grupos carboxilato do alginato.

5.2 CARACTERIZAÇÃO DAS CÁPSULAS CONTENDO O EXTRATO DAS BRÁCTEAS DE *B. glabra*

5.2.1 Compostos fenólicos totais (CFT), betacianinas e atividade antioxidante (ABTS)

Os teores de CFT e de betacianinas presentes no extrato e nas cápsulas contendo o extrato das brácteas de *B. glabra*, bem como as eficiências de encapsulamento, são mostrados na Tabela 2.

Tabela 2 – Teor de compostos fenólicos totais (CFT) e de betacianinas, e eficiência de encapsulamento (EE) das cápsulas contendo o extrato das brácteas de *B. glabra*.

Amostra	Compostos Fenólicos		Betacianinas	
	(mg EAG* g ⁻¹)	EE (%)	(mg g ⁻¹)	EE (%)
Extrato	22,97 ± 0,15 ^a	-	4,73 ± 0,02 ^a	-
AI10E	18,24 ± 0,02 ^b	79,41 ± 0,12 ^a	3,75 ± 0,05 ^c	79,28 ± 1,5 ^b
AI20E	18,26 ± 0,03 ^b	79,50 ± 0,19 ^a	4,21 ± 0,04 ^b	89,01 ± 1,2 ^a

Colunas com letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

*EAG (Equivalentes de Ácido Gálico).

Os teores de CFT não diferem significativamente nas duas formulações elaboradas. Entretanto, a formulação com maior concentração de inulina (AI20E) apresentou maior teor de betacianinas ($p < 0,05$), cuja eficiência de encapsulamento foi de 89,01%. Esse resultado pode ser devido à possível redução na permeabilidade da matriz polimérica de alginato da cápsula, por conta da presença da inulina, que funciona como um material de preenchimento, interagindo com o alginato por meio de ligações de hidrogênio entre os grupos -OH, presentes nos dois polímeros (ISAILOVIĆ et al., 2012). Dessa forma, aumenta-se a firmeza da estrutura, tendo-se a diminuição da perda de compostos bioativos pela redução da difusividade efetiva através da estrutura da cápsula.

A atividade antioxidante pelo método ABTS do extrato e das cápsulas contendo o extrato das brácteas de *B. glabra*, assim como a atividade antioxidante remanescente apresentam-se na Tabela 3.

Tabela 3 – Atividade antioxidante (ABTS) e atividade antioxidante remanescente (AAR) das cápsulas contendo o extrato das brácteas de *B. glabra*.

Amostra	ABTS	
	($\mu\text{mol de TE}^* \text{ g}^{-1}$)	AAR (%)
Extrato	$181,0 \pm 6,06^a$	-
AI10E	$68,96 \pm 1,33^b$	$38,10 \pm 1,04^a$
AI20E	$70,04 \pm 1,12^b$	$38,70 \pm 0,87^a$

*TE (Trolox Equivalente).

Colunas com letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Por meio do teste de correlação de *Pearson*, pode-se afirmar que os CFT bem como as betacianinas apresentaram uma correlação fortemente positiva com a atividade antioxidante pelo método ABTS, com coeficientes de correlação iguais a 0,99 e 0,95, respectivamente. Contudo, apesar do encapsulamento de compostos fenólicos e betacianinas ter se mostrado eficiente, a atividade antioxidante remanescente apresentou menores valores, de 38,10% e 38,70% para as formulações AI10E e AI20E, respectivamente. Esse decréscimo na atividade antioxidante de compostos bioativos encapsulados com alginato de sódio já foi reportado em outros estudos, podendo estar relacionado às interações intermoleculares estabelecidas entre as betacianinas e os compostos fenólicos com o alginato, de forma que há a diminuição da capacidade desses compostos de reduzir o radical ABTS (AGUIRRE CALVO; SANTAGAPITA; PERULLINI, 2019; FABRA et al., 2018; LAVELLI; HARSHA, 2019)

5.2.2 Cinética de liberação de betacianinas

Os dados experimentais para a liberação das betacianinas presentes no extrato das brácteas de *B. glabra* foram ajustados ao modelo de *Lagergren* (Equação 6), elaborando-se as curvas de liberação mostradas nas Figuras 12 (a) e (b) para as amostras AI10E e AI20E, respectivamente. Conforme mostrado na Tabela 4, os dados ajustaram-se bem ao modelo, com coeficientes de determinação (R^2) em torno de 0,98. Através do ajuste dos dados, foram obtidas a constante de velocidade da liberação desses compostos bioativos (k), bem como a porcentagem máxima liberada nas condições experimentais estudadas (Y_{max}).

Figura 12 – Liberação de betacianinas das cápsulas contendo o extrato das brácteas de *B. glabra* à 25 °C, por 1 h, em água destilada, onde (a) AI10E e (b) AI20E.

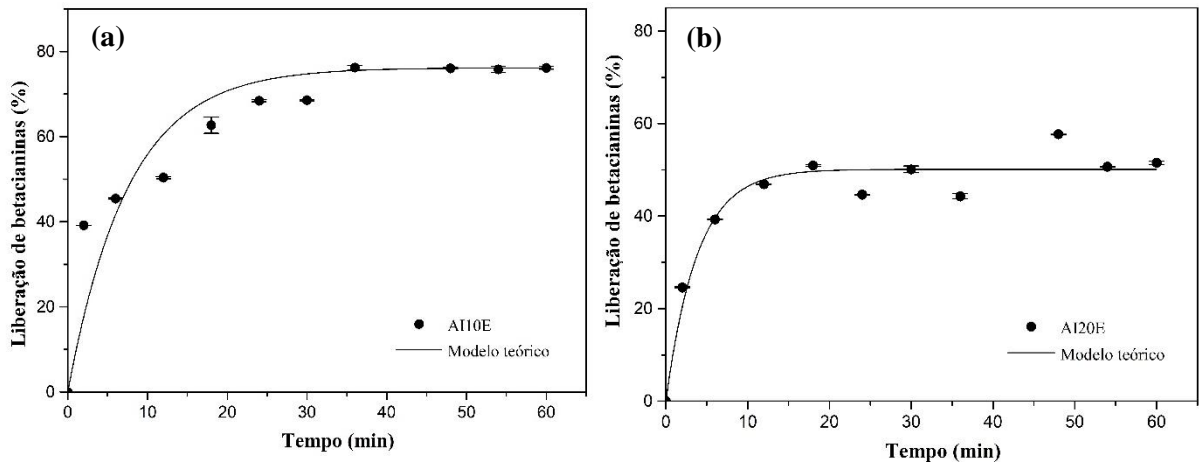


Tabela 4 - Constante de velocidade de liberação das betacianinas (k), porcentagem máxima liberada de betacianinas (Y_{\max}) e coeficientes de determinação (R^2) obtidos no ajuste de dados da liberação de betacianinas das cápsulas contendo o extrato das brácteas de *B. glabra* ao modelo de *Lagergren*.

Amostra	Betacianinas		
	k (min^{-1})	Y_{\max} (%)	R^2
AI10E	$0,462 \pm 0,053^a$	$64,66 \pm 4,17^a$	0,99
AI20E	$0,260 \pm 0,051^b$	$50,09 \pm 1,77^b$	0,98

Colunas com letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Através dos perfis de liberação obtidos, pode-se observar que a liberação das betacianinas presentes no extrato das brácteas de *B. glabra* ocorre de forma mais lenta e controlada nas cápsulas contendo um maior teor de inulina (AI20E), indicando a formação de uma cápsula de menor permeabilidade e, portanto, de maior controle na liberação dos compostos encapsulados. Esse comportamento é corroborado pelo menor valor da constante de velocidade de liberação das betacianinas (k), de $0,260 \text{ min}^{-1}$, assim como pelo menor valor da porcentagem máxima liberada (Y_{\max}), de 50,09%.

A permeabilidade da cápsula, bem como a difusividade do material encapsulado, estão associadas às características dos materiais de parede, como a sua estrutura química, espessura, porosidade e solubilidade (VANDEGAER, 1974), que correspondem a aspectos influenciadores nas interações estabelecidas entre esses materiais e os compostos a serem encapsulados. Dessa forma, o estabelecimento de interações intermoleculares, demonstradas

na análise de FTIR-ATR (Seção 5.2.6), entre os compostos do extrato e a matriz polimérica de inulina e alginato controla a liberação dos compostos bioativos, cuja liberação máxima (Y_{max}) assume valores menores que 100% para ambas as formulações.

Assim, pode-se assumir que uma maior concentração de inulina leva à formação de uma estrutura mais firme, que pode ser atribuída ao aumento na interação entre os materiais de parede e os compostos bioativos, por conta da presença de um maior número de grupos hidrofílicos provenientes da inulina para interação com os compostos bioativos presentes no extrato. Também deve-se considerar as características da dispersão que foi encapsulada, cuja elevada viscosidade também pode ter influenciado na estrutura formada após o estabelecimento das ligações cruzadas.

5.2.3 Força de ruptura e cor das cápsulas

Na Figura 13 são apresentadas as cápsulas produzidas contendo o extrato das brácteas de *B. glabra*. Os valores para força de ruptura (F_R) das cápsulas, bem como para a deformação no ponto de ruptura (D_R), encontram-se na Tabela 5.

Figura 13 – Cápsulas do extrato das brácteas de *B. glabra*: (a) AI10E e (b) AI20E.

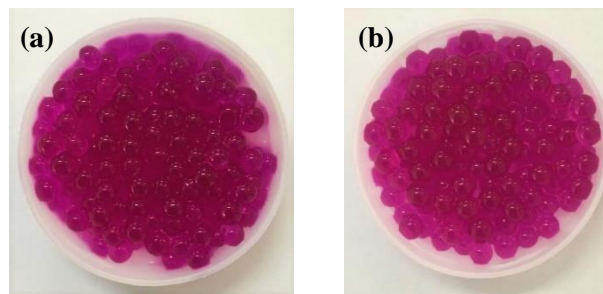


Tabela 5 – Força necessária e deformação no ponto de ruptura das cápsulas produzidas.

Amostra	F_R (N)	D_R (mm)
AI10E	$12,44 \pm 0,47^b$	$2,68 \pm 0,43^a$
AI20E	$40,24 \pm 2,17^a$	$2,80 \pm 0,02^a$

Colunas com letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

A força necessária para a ruptura foi significativamente maior ($p < 0,05$) para as cápsulas cuja formulação contém um maior teor de inulina (AI20E), o que pode ser justificado pela maior viscosidade e pela tendência em formar géis da dispersão AI20E previamente à formação das ligações cruzadas, como discutido na avaliação das curvas reológicas

oscilatórias dinâmicas das dispersões. Considerando-se que as ligações cruzadas dificultam/inibem o escoamento das moléculas, quanto maior o grau de ligações cruzadas menor será a deformação do material para uma dada força aplicada. Como a concentração do alginato, polímero responsável pela formação de ligações cruzadas com o Ca^{2+} , foi de 1% em ambas as formulações, a deformação no ponto de ruptura para as cápsulas AI10E e AI20E não apresentou diferença significativa (CANEVAROLO, 2006).

Enquanto maiores forças de ruptura indicam a formação de cápsulas mais resistentes, menores valores correspondem a formação de estruturas mais frágeis, que podem levar à aceleração da liberação do composto encapsulado, corroborando os resultados obtidos na cinética de liberação de betacianinas das cápsulas. Contudo, a escolha por uma textura mais rígida ou macia dependerá também das características sensoriais desejadas no produto final (LUPO et al., 2015).

Os parâmetros referentes à cor das cápsulas são mostrados na Tabela 6. Comparando-se as formulações AI10E e AI20E, pode-se observar um aumento no módulo dos valores de b^* (b^* negativo, azul; b^* positivo, amarelo) e a^* (a^* negativo, verde; a^* positivo, vermelho). Esse comportamento pode ser explicado pela diferença no teor de betacianinas observado nas formulações, cujos valores são de $3,75 \text{ mg g}^{-1}$ e $4,21 \text{ mg g}^{-1}$ para AI10E e AI20E, respectivamente, visto que, quanto maior o teor de betacianinas, maior é a tendência para as cores entre o vermelho e o azul. Essas diferenças são evidenciadas pelo valor para a diferença total de cor (ΔE) entre as duas formulações, que é de 2,69, valor presente na faixa entre 1,5 e 3,0, na qual a diferença de cor é notável (CSERHALMI et al., 2006).

Tabela 6 - Parâmetros de cor das cápsulas (AI10E e AI20E) contendo o extrato das brácteas de *B. glabra*.

Parâmetros	Cápsulas	
	AI10E	AI20E
L^*	$14,86 \pm 0,21^a$	$14,60 \pm 0,25^a$
a^*	$24,05 \pm 0,21^b$	$25,00 \pm 0,25^a$
b^*	$-3,12 \pm 0,01^a$	$-5,62 \pm 0,11^b$
<i>Chroma</i>	$24,26 \pm 0,20^a$	$25,45 \pm 0,28^a$
<i>Hue</i> ($^\circ$)	$352,60 \pm 0,07^a$	$347,42 \pm 0,05^b$

Colunas com letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

5.2.4 Avaliação da área, do perímetro, da circularidade e do diâmetro de Feret através da análise digital de imagens

Os valores para a área, o perímetro, a circularidade e o diâmetro de Feret das amostras mostram-se na Tabela 7.

Tabela 7 – Área, perímetro, circularidade e diâmetro de Feret das cápsulas contendo o extrato das brácteas de *B. glabra*.

Amostra	Área (mm ²)	Perímetro (mm)	Circularidade	Diâmetro de Feret (mm)
AI10E	12,02 ± 1,04 ^a	16,23 ± 2,39 ^a	0,54 ± 0,16 ^b	4,34 ± 0,20 ^a
AI20E	10,81 ± 1,32 ^b	15,19 ± 1,84 ^b	0,68 ± 0,13 ^a	4,23 ± 0,37 ^a

Colunas com letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

O aumento da concentração de inulina resultou na formação de estruturas mais compactas, havendo uma diminuição na área, no perímetro e no diâmetro de Feret, máximo comprimento de uma partícula medida em uma direção fixa (distância entre tangentes), comportamento observado para cápsulas de alginato em conjunto com outros polissacarídeos (AGUIRRE CALVO; SANTAGAPITA, 2016). Ambas formulações apresentaram um desvio da forma esférica, caracterizada pela circularidade, parâmetro indicativo da similaridade da forma das cápsulas com um círculo, cujos valores variam entre 0 e 1. As cápsulas apresentaram uma forma elíptica, caracterizada por valores de circularidade em torno de 0,6.

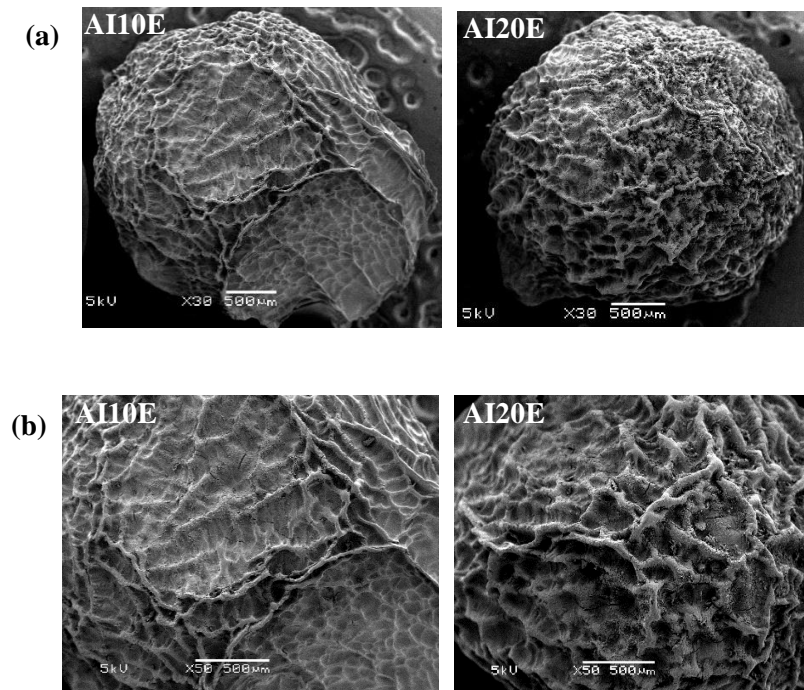
Cápsulas mais compactas podem estar relacionadas a uma maior compacidade da matriz polimérica que as compõe, comportamento que pode ser atribuído a um maior número de grupos -OH, devido à maior concentração de inulina, disponíveis para interagir com o alginato, formando-se uma rede polimérica cujo arranjo das cadeias apresenta uma maior compacidade. Contudo, para se fazer essa afirmação, análises que permitam a avaliação da estrutura a nível molecular, como o espalhamento de raios-X em pequeno ângulo (SAXS), devem ser realizadas.

5.2.5 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Por meio da análise de microscopia eletrônica de varredura (MEV) buscou-se avaliar a forma e as características da superfície das cápsulas quando submetidas a secagem por

liofilização. A morfologia das cápsulas contendo o extrato das brácteas de *B. glabra* é mostrada na Figura 14.

Figura 14 - Morfologia das cápsulas de alginato e inulina contendo o extrato das brácteas de *B. glabra*: (a) estrutura das cápsulas (30X) e (b) superfície das cápsulas (50X).

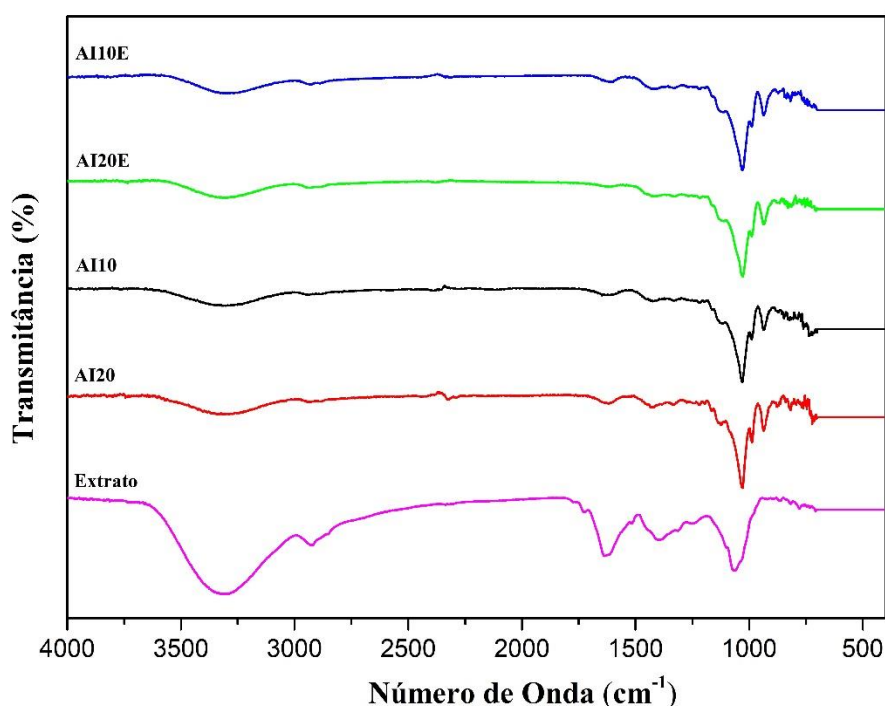


A superfície das cápsulas adquiriu uma aparência rugosa, consequência da liofilização. Isso ocorre pois, durante o congelamento, há o surgimento de áreas localizadas de expansão, caracterizadas pela presença de cavidades ou poros na estrutura, correspondentes à forma dos cristais de gelo que sublimaram durante o processo de liofilização (ĆUJIC et al., 2016; STOJANOVIC et al., 2012). Quanto à forma das cápsulas, percebe-se que a utilização de uma maior concentração de inulina, que atua como um material de preenchimento, mantém a circularidade da estrutura após o processo de secagem, comportamento já relatado em outros trabalhos à cerca do encapsulamento por gelificação iônica de compostos bioativos empregando-se alginato de sódio e inulina, em diferentes concentrações, como materiais de parede (ĆUJIC et al., 2016; ISAILOVIC et al., 2012).

5.2.6 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier com reflectância total atenuada (FTIR-ATR)

Foram obtidos os espectros de infravermelho das cápsulas com e sem a adição do extrato das brácteas de *B. glabra*, bem como do extrato liofilizado, para a avaliação das interações entre os materiais de parede e o extrato (Figura 15).

Figura 15 – Espectros de FTIR-ATR das cápsulas com a adição do extrato (AI10E e AI20E), sem a adição do extrato (AI10 e AI20) e do extrato das brácteas de *B. glabra* liofilizado.



No espectro do extrato das brácteas de *B. glabra* são encontradas bandas típicas de grupos funcionais presentes na estrutura das betacianinas e dos compostos fenólicos. A banda centralizada em 3320 cm^{-1} é resultado da combinação entre a banda correspondente ao estiramento das ligações O-H, característica de compostos fenólicos e de betacianinas, e N-H, típica da estrutura base das betacianinas, assim como o pico localizado em 2927 cm^{-1} , referente ao estiramento das ligações C-H. O pico em 1628 cm^{-1} pode ser atribuído ao estiramento da ligação C=N, presente nas betacianinas. As vibrações localizadas em 1395 e 1064 cm^{-1} podem ser devidas, respectivamente, à deformação angular tanto das ligações C-C-H como de C-O-H de fenóis e ao estiramento da ligação C-O (MOLINA et al., 2014; SINGH; GANESAPILLAI; GNANASUNDARAM, 2017). Nos espectros referentes às cápsulas, os picos em 1029 e 931 cm^{-1} podem ser atribuídos, respectivamente, ao estiramento e à

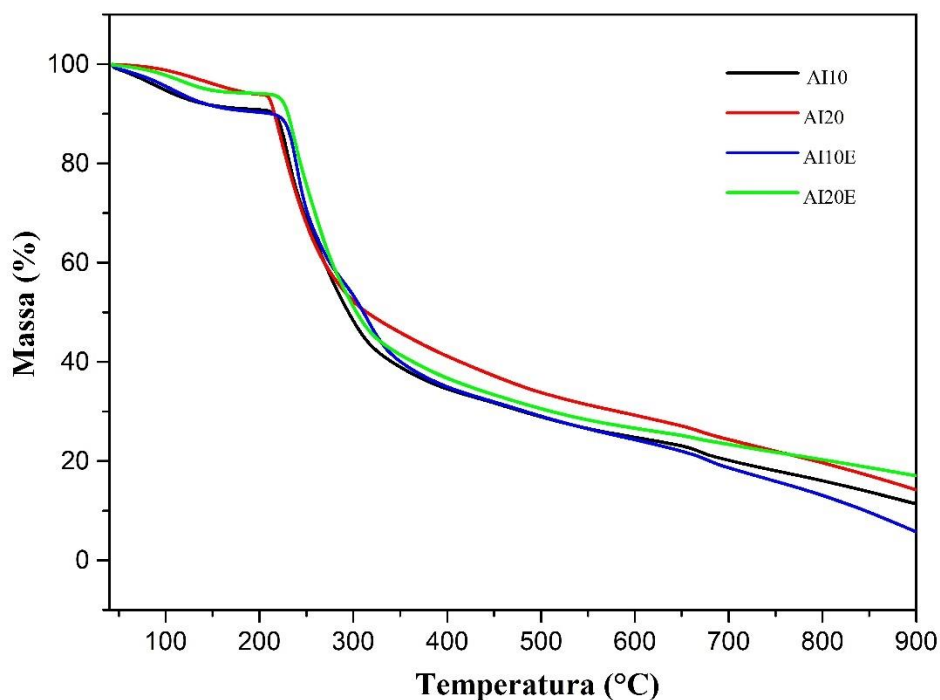
deformação angular das ligações glicosídicas (C-O-C) presentes nos polissacarídeos (CAMPELO-FELIX et al., 2017; ISAILOVIĆ et al., 2012).

Comparando-se o espectro do extrato com o das cápsulas contendo extrato (AI10E e AI20E) e na ausência do mesmo (AI10 e AI20), pode-se perceber que não houve o surgimento de novas bandas, indicativo de que a interação entre os compostos bioativos extraídos e os materiais de parede se dá de forma física, não havendo a formação de novas ligações químicas (PASUKAMONSET; KWON; ADISAKWATTANA, 2016; TAVARES; NOREÑA, 2019). Esse comportamento é evidenciado no deslocamento da banda referente ao estiramento das ligações O-H, cujo valor é de 3320 cm^{-1} no extrato e de 3295 cm^{-1} no extrato encapsulado, indicando o estabelecimento de ligações de hidrogênio entre os grupos polares dos materiais de parede, como as hidroxilas (OH) da inulina e do alginato, e os grupos polares das betacianinas, como os ácidos carboxílicos (-COOH).

5.2.7 Análise termogravimétrica (TGA) e calorimetria exploratória diferencial (DSC)

O termograma das cápsulas, com e sem a adição do extrato das brácteas de *B. glabra*, pode ser observado na Figura 16, sendo verificados dois estágios de perda de massa.

Figura 16 – Análise termogravimétrica das cápsulas de alginato de sódio e inulina sem a adição do extrato das brácteas de *B. glabra* (AI10 e AI20) e com a adição do extrato (AI10E e AI20E).

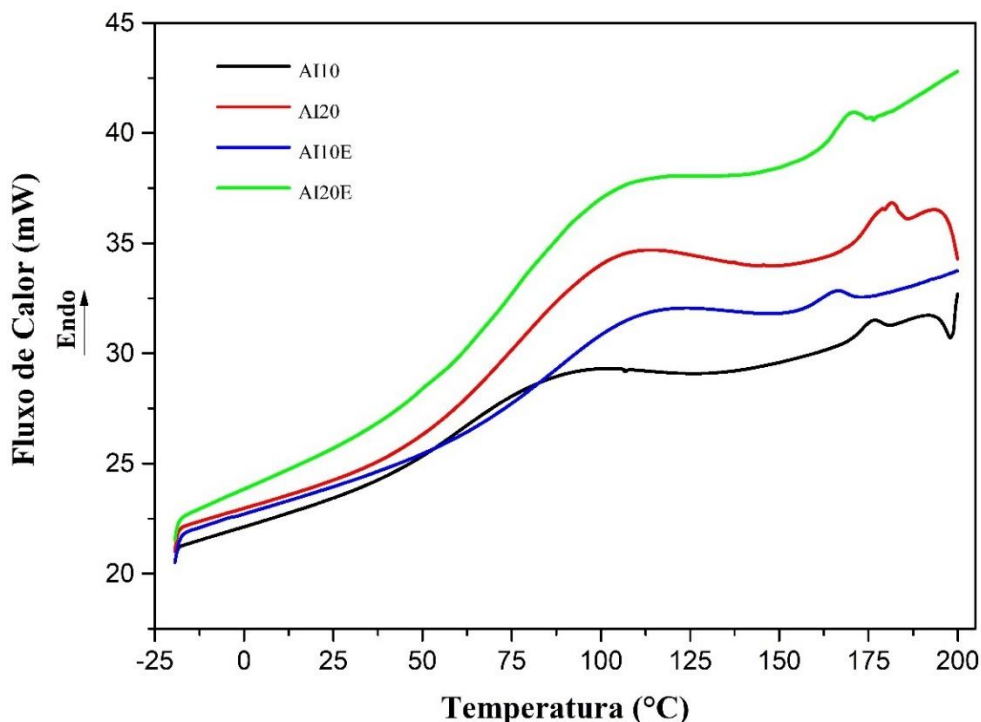


Em torno de 90 °C tem-se início o primeiro estágio, corresponde à perda de água livre por vaporização, cujas perdas de massa foram de 9,00 e 9,67%, para as cápsulas contendo 10% de inulina sem e com a adição de extrato, respectivamente, e de 6,07 e 5,85% para as cápsulas contendo 20% de inulina sem e com a adição de extrato, respectivamente. Nota-se que a estabilidade das cápsulas contendo 20% de massa em inulina foi maior até a temperatura de 200 °C, comportamento que pode ser devido a disponibilidade de um maior número de grupos hidroxila (-OH), bem como átomos de oxigênio provenientes desse polissacarídeo, disponíveis para interagir por ligações de hidrogênio com as moléculas de água, que se encontram mais fortemente ligadas à matriz polimérica da cápsula (BALANČ et al., 2016).

No segundo estágio, entre 240 e 400 °C, a perda de massa foi de aproximadamente 60%, podendo ser atribuída à decomposição dos blocos formados pelos monômeros do alginato de sódio (ácido β -D-manurônico e α -L-glucurônico), que tem início em 211 °C (SAND et al., 2010), bem como à despolimerização da inulina, por meio da quebra das cadeias de frutose, que ocorre a partir de 213 °C (CAMPELO-FELIX et al., 2017). Por conta da desestruturação dos materiais de parede, há a exposição dos materiais encapsulados, iniciando a sua degradação. A região correspondente à temperaturas acima de 400 °C, está associada à degradação oxidativa e à carbonização de resíduos orgânicos e inorgânicos de carbono formados no segundo estágio (SOARES et al., 2004).

Na Figura 17 são mostradas as curvas de fluxo de calor em função da temperatura obtidas na análise de calorimetria exploratória diferencial (DSC) para as cápsulas com e sem o extrato das brácteas. Dois picos endotérmicos podem ser observados em todas as amostras, sendo que, nas amostras AI10 e AI20, também é observado um pico exotérmico.

Figura 17 - Análise de calorimetria exploratória diferencial das cápsulas de alginato de sódio e inulina com a adição do extrato das brácteas de *B. glabra* (AI10E e AI20E) e sem a adição do extrato (AI10 e AI20).



O primeiro pico endotérmico, presente na faixa de temperatura de 88 a 108 °C, refere-se à perda de água livre das cápsulas (DE LAIA; COSTA JÚNIOR; COSTA, 2014; SOARES et al., 2004). Percebe-se que o aumento da concentração de inulina tem por consequência o aumento da área do pico e, portanto, da entalpia (ΔH) para o processo de desidratação da estrutura, comportamento equivalente ao observado na análise termogravimétrica das amostras, podendo ser devido à presença de um maior número de grupos hidrofílicos provenientes da inulina, de forma que as moléculas de água se encontram mais fortemente ligadas à estrutura polimérica (BALANČ et al., 2016).

As entalpias e as temperaturas do segundo pico observado para as amostras AI10E, AI20E, AI10 e AI20 foram de, respectivamente 3,35 J g⁻¹ (164 °C), 6,58 J g⁻¹ (167 °C), 5,72 J g⁻¹ (174 °C) e 8,27 J g⁻¹ (179 °C), valores correspondentes à fusão da inulina empregada, cujo grau de polimerização é superior a 20 (BLECKER et al., 2003). Corroborando os resultados da análise termogravimétrica, as cápsulas contendo um maior teor de inulina são mais estáveis termicamente, como pode ser observado pelos maiores valores de entalpia para o processo de fusão. Isso ocorre devido à necessidade de mais energia para romper as ligações entre as

cadeias poliméricas liberando-as de suas estruturas rígidas e/ou cristalizadas para atingir o estado de fusão (SIN et al., 2010).

Para as cápsulas contendo alginato e 10% de inulina como materiais de parede, sem a adição do extrato (AI10), pode ser observado também um pico exotérmico, em 198 °C, que pode ser atribuído à decomposição do alginato (SOARES et al., 2004). Para a amostra contendo alginato e 20% de inulina como materiais de parede, sem a adição do extrato (AI20), é observado somente o início da formação desse pico, indicativo da presença de uma estrutura mais estável termicamente. Já nas amostras contendo extrato não é observada a etapa de degradação do alginato na faixa de temperaturas analisadas. Esses diferentes perfis podem ser atribuídos às interações intermoleculares, como ligações de hidrogênio, estabelecidas entre os materiais de parede (inulina e alginato), e entre os materiais de parede e os compostos bioativos do extrato, levando à maior estabilidade da estrutura formada.

5.3 APLICAÇÃO DAS CÁPSULAS DE EXTRATO DAS BRÁCTEAS DE *B. glabra* EM BALAS DE GOMA

Considerando-se os resultados obtidos nas análises de caracterização das duas formulações de cápsulas, como maior teor de betacianinas e um maior controle na liberação desses compostos, maior resistência mecânica e maior estabilidade térmica, as cápsulas cuja formulação continham o maior teor de inulina (AI20E) foram incorporadas como corante na formulação de balas de goma.

5.3.1 Análise colorimétrica das balas de goma

As balas de goma produzidas empregando-se as cápsulas contendo o extrato das brácteas de *B. glabra* (AI20E) encontram-se na Figura 18.

Figura 18 – Balas de goma contendo as cápsulas com o extrato de *B. glabra* (AI20E).

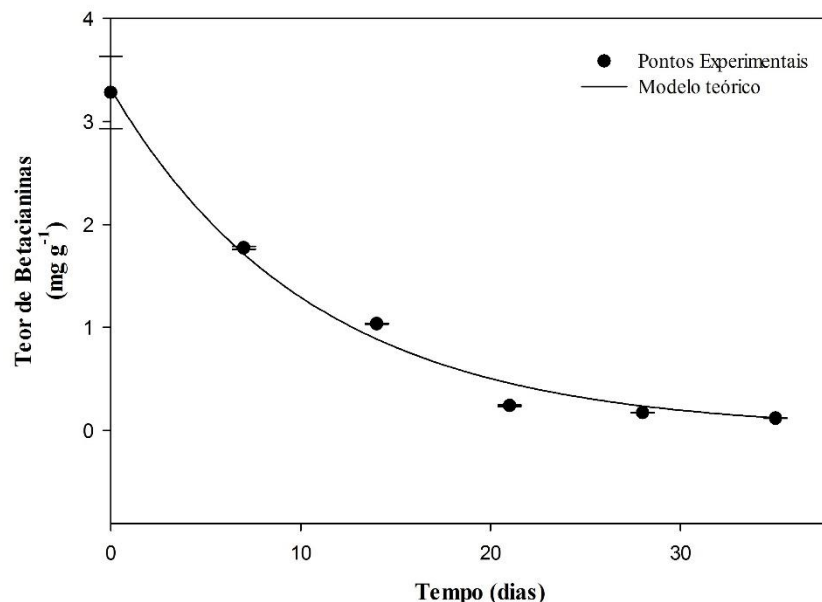


Os valores para os parâmetros de cor das balas contendo as cápsulas (AI20E) foram de $26,09 \pm 0,82$ (L^*), $15,69 \pm 0,50$ (a^*), $-0,30 \pm 0,11$ (b^*), $15,70 \pm 0,49$ ($Chroma$) e $358,91 \pm 0,42^\circ$ (Hue). Os valores positivo e negativo para os parâmetros a^* e b^* , respectivamente, indicam que a cor das balas se encontra entre o vermelho e o azul, comportamento corroborado pelo valor do ângulo Hue , localizado no quarto quadrante do espaço de cores $CIEL^*a^*b^*$, representante da faixa de cores entre vermelho e azul, característica das betacianinas.

5.3.2 Cinética de degradação das betacianinas nas balas de goma

Os dados para o teor de betacianinas nas balas de goma durante o armazenamento, por 35 dias, a 25°C e umidade relativa de 43,2%, foram ajustados ao modelo cinético de primeira ordem (Equação 10), conforme mostrado na Figura 19, com um coeficiente de determinação (R^2) de 0,995.

Figura 19 – Efeito das condições de armazenamento das balas de goma no teor de betacianinas, armazenadas por 35 dias, à 25°C com umidade relativa de 43,2%.



A degradação das betacianinas relaciona-se com a constante de velocidade (k), cujo valor foi de $0,0942 \pm 0,0074$ dias⁻¹. Pode-se observar que nos primeiros 7 dias de armazenamento houve uma redução significativa na concentração de betacianinas, em torno de 50%, como comprovado pelo cálculo do tempo de meia vida dos pigmentos ($t_{1/2}$), igual a $7,39 \pm 0,58$ dias. Comportamento similar foi reportado por Rodríguez-Sánchez, Cruz y

Victoria e Barragán-Huerta (2017) na avaliação da estabilidade de betaxantinas em balas de goma, por 28 dias à 40 °C, obtendo-se valores de 0,067 dias⁻¹ e 10,38 dias para k e $t_{1/2}$, respectivamente.

A maior degradação das betacianinas pode ser atribuída à elevada atividade de água (a_w) do produto, cujo valor foi de $0,954 \pm 0,009$, já que essa exerce um efeito exponencial na estabilidade das betacianinas (DELGADO-VARGAS; PAREDES-LOPEZ, 2000), influenciando na manutenção da integridade dessas estruturas. Altos valores de a_w resultam no aumento da velocidade de degradação das betacianinas, devido à possibilidade da clivagem, por hidrólise, da ligação aldimina, presente na estrutura base desses compostos, bem como pelo aumento da mobilidade dos reagentes e da solubilidade do oxigênio no meio, levando à oxidação das betacianinas (KHAN, 2016; TUTUNCHI et al., 2019).

Percebe-se que ao atingir o tempo de redução decimal (D), requerido para a degradação de 90% das betacianinas, que foi de $24,54 \pm 1,93$ dias, a concentração das betacianinas torna-se aproximadamente constante, o que pode estar relacionado com a diminuição da a_w das balas, cujo valor após os 35 dias de armazenamento foi de $0,533 \pm 0,005$, devida à perda de água para o ambiente de armazenamento. Esse comportamento é observado para valores de a_w menores que 0,6, quando há um aumento na estabilidade das betalaínas por conta da diminuição das reações de degradação dessas estruturas, que são promovidas por uma maior concentração de água (KEARSLEY; KATSABOXAKIS, 1980). Após 35 dias, a concentração de betacianinas nas balas de goma foi de $0,12 \pm 0,00$ mg g⁻¹, correspondendo a uma retenção de 3,66% quanto ao teor inicial de betacianinas ($3,28 \pm 0,35$ mg g⁻¹) presente nas balas.

6. CONCLUSÃO

O método de encapsulamento por gelificação iônica externa, empregando-se alginato e inulina como materiais de parede, mostrou-se eficiente no encapsulamento do extrato das brácteas de *B. glabra*. Os parâmetros reológicos das dispersões, obtidos previamente ao encapsulamento, indicaram a presença de um comportamento não-Newtoniano, sendo que a concentração de inulina empregada influenciou o comportamento reológico observado tanto nos testes de fluxo como nos oscilatórios.

A concentração de inulina também exerceu influência significativa no teor de betacianinas e na cinética de liberação desses compostos bioativos, na resistência mecânica, nos parâmetros estruturais (área, perímetro e circularidade) e na estabilidade térmica das cápsulas formadas. O aumento da concentração desse polímero de 10% para 20% (m/m) na formulação das cápsulas resultou em maiores eficiências de encapsulamento de betacianinas, bem como no maior controle da liberação desses compostos, sendo que as cápsulas contendo 20% (m/m) de inulina (AI20E) foram empregadas na produção de balas de goma.

Nas provas de estabilidade das balas, à 25 °C e 43,2 % de umidade relativa, por 35 dias, observou-se que o perfil de degradação das betacianinas seguiu uma cinética de primeira ordem. Pode-se considerar a alta atividade de água das balas ($a_w = 0,954$) como um dos fatores mais relevantes para a degradação desses compostos durante os primeiros dias de estocagem, visto que nessa condição se potencializam as reações de hidrólise e oxidação, contribuindo no aumento das taxas de degradação das betacianinas.

Dessa forma, recomenda-se para trabalhos futuros avaliar a estabilidade das cápsulas contendo o extrato de *B. glabra* em sua forma desidratada, por secagem à ar quente ou liofilização, com o objetivo de aumentar a estabilidade das betacianinas e ampliar a sua aplicação como corante natural na indústria de alimentos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABARCA-VARGAS, R.; PETRICEVICH, V. L. Bougainvillea genus: A review on phytochemistry, pharmacology, and toxicology. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2018, p. 1-17 2018.
- AGUIRRE CALVO, T. R.; PERULLINI, M.; SANTAGAPITA, P. R. Encapsulation of betacyanins and polyphenols extracted from leaves and stems of beetroot in Ca(II)-alginate beads: A structural study. **Journal of Food Engineering**, v. 235, p. 32–40, 2018.
- AGUIRRE CALVO, T. R.; SANTAGAPITA, P. R.; PERULLINI, M. Functional and structural effects of hydrocolloids on Ca(II)-alginate beads containing bioactive compounds extracted from beetroot. **LWT - Food Science and Technology**, v. 111, p. 520–526, 2019.
- AGUIRRE CALVO, T.; SANTAGAPITA, P. Physicochemical Characterization of Alginate Beads Containing Sugars and Biopolymers. **Journal of Quality and Reliability Engineering**, v. 2016, p. 1-7, 2016.
- ALBANO, C. et al. Betalains, phenols and antioxidant capacity in cactus pear [Opuntia ficus-indica (L.) Mill.] fruits from Apulia (South Italy) genotypes. **Antioxidants**, v. 4, n. 2, p. 269–280, 2015.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). **Official methods of analysis of AOAC International**. 19 ed. Gaithersburg, MD: AOAC, 2012.
- ARRIOLA, N. D. A. et al. Encapsulation of stevia rebaudiana Bertoni aqueous crude extracts by ionic gelation – Effects of alginate blends and gelling solutions on the polyphenolic profile. **Food Chemistry**, v. 275, p. 123–134, 2019.
- BALANČ, B. et al. Calcium-Alginate-Inulin Microbeads as Carriers for Aqueous Carqueja Extract. **Journal of Food Science**, v. 81, n. 1, p. E65–E75, 2016.
- BARBOSA, K. B. F. et al. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, v. 23, n. 4, p. 629–643, 2010.
- BEIRAO-DA-COSTA, M. L. et al. Characterisation of inulin from chicory and salsify cultivated in Portugal. **Alimentos e Nutrição**, v. 16, n. 3, p. 221–225, 2005.
- BLECKER, C. et al. Characterisation of different inulin samples by DSC: Influence of polymerisation degree on melting temperature. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 71, p. 211–220, 2003.
- CAMPELO-FELIX, P. H. et al. Prebiotic carbohydrates: Effect on reconstitution, storage, release, and antioxidant properties of lime essential oil microparticles. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 65, n. 2, p. 445–453, 2017.

- CANEVAROLO, S. V. J. **Ciência dos Polímeros: Um texto básico para técnicos e engenheiros**. 2. ed. São Paulo: Artliber Editora, 2006. p.184
- CARDOSO-UGARTE, G. A. et al. Microwave-assisted extraction of betalains from red beet (*Beta vulgaris*). **LWT - Food Science and Technology**, v. 59, n. 1, p. 276–282, 2014.
- CHAN, L. W.; LEE, H. Y.; HENG, P. W. S. Mechanisms of external and internal gelation and their impact on the functions of alginate as a coat and delivery system. **Carbohydrate Polymers**, v. 63, n. 2, p. 176–187, 2006.
- CIE- Commission Internationale de l'Eclairage. **CIE 15.3:2004**; 2004.
- COLEGATE, S. M.; MOLYNEUX, R. J. **Bioactive natural products: detection, isolation, and structural determination**. 2. ed. Boca Raton: CRC Press, 2008. p.624.
- CSERHALMI, Z. et al. Study of pulsed electric field treated citrus juice. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 7, p. 49–54, 2006.
- CUI, S. W.; ROBERT, K. T. Dietary Fiber: Fulfilling the Promise of Added-Value Formulations. In: **Modern biopolymer science: Bridging the divide between fundamental treatise and industrial application**. 1. ed. Academic Press, 2009. p. 399–448.
- CUI, S. W.; WU, Y.; DING, H. The range of dietary fibre ingredients and a comparison of their technical functionality. In: **Fibre-Rich and Wholegrain Foods: Improving Quality**. 1. ed. Woodhead Publishing, 2013. p. 96–119.
- ĆUJIĆ, N. et al. Chokeberry (*Aronia melanocarpa* L.) extract loaded in alginate and alginate/inulin system. **Industrial Crops and Products**, v. 86, p. 120–131, 2016.
- DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L. **Fennema's Food Chemistry**. 5. ed. Boca Raton: CRC Press, 2017. p. 1125.
- DE LAIA, A. G. S.; COSTA JÚNIOR, E. DE S.; COSTA, H. DE S. C. A study of sodium alginate and calcium chloride interaction through films for intervertebral disc regeneration uses. In: **CBECIMAT - Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais**, 21. p. 7341-7348, 2014.
- DE MELLO, F. R. et al. Antioxidant properties, quantification and stability of betalains from pitaya (*Hylocereus undatus*) peel. **Ciencia Rural**, v. 45, n. 2, p. 323–328, 2015.
- DELGADO-VARGAS, F.; PAREDES-LOPEZ, O. Natural Pigments: Carotenoids, Anthocyanins, and Betalains — Characteristics, Biosynthesis, Processing, and Stability. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 40(3), p. 173–289, 2000.
- DIAS, D. R. et al. Encapsulation as a tool for bioprocessing of functional foods. **Current Opinion in Food Science**, v. 13, p. 31–37, 2017.
- DORĐEVIĆ, V. et al. Trends in Encapsulation Technologies for Delivery of Food Bioactive

- Compounds. **Food Engineering Reviews**, v. 7, n. 4, p. 452–490, 2014.
- ELUMALAI, L.; ESWARAI, C.; ALI, H. In-vivo screening of *Bougainvillea glabra* leaves for its Analgesic, Antipyretic and Anti-inflammatory activities. **Asian J. Res. Pharm. Sci.**, v. 2, n. 3, p. 85–87, 2012.
- FABRA, M. J. et al. Antiviral and antioxidant properties of active alginate edible films containing phenolic extracts. **Food Hydrocolloids**, v. 81, p. 96–103, 2018.
- FANG, Y. et al. Multiple steps and critical behaviors of the binding of calcium to alginate. **Journal of Physical Chemistry B**, v. 111, n. 10, p. 2456–2462, 2007.
- FARIDAH, A.; HOLINESTI, R.; SYUKRI, D. Betalains from Red Pitaya Peel (*Hylocereus polyrhizus*): Extraction, Spectrophotometric and HPLC-DAD identification, bioactivity and toxicity screening. **Pakistan Journal of Nutrition**, v. 14, n. 12, p. 976–982, 2015.
- FERREIRA, L. P. C. **Microencapsulação de Extrato de Beterraba pelo Processo de Gelificação Iônica**. 2018. 60 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Nutrição) - Universidade Federal de Sergipe, 2018.
- FUNAMI, T. et al. Rheological properties of sodium alginate in an aqueous system during gelation in relation to supermolecular structures and Ca²⁺ binding. **Food Hydrocolloids**, v. 23, n. 7, p. 1746–1755, 2009.
- GALANAKIS, C. M. **Nutraceutical and Functional Food Components: Effects of Innovative Processing Techniques**. 1. ed. Chania: Academic Press, 2017. p. 382.
- GIL-CHÁVEZ, G. J. et al. Technologies for Extraction and Production of Bioactive Compounds to be Used as Nutraceuticals and Food Ingredients: An Overview. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 12, n. 1, p. 5–23, 2013.
- GRANT, G. T. et al. Biological interactions between polysaccharides and divalent cations: The egg-box model. **FEBS Letters**, v. 32, n. 1, p. 195–198, 1973.
- GUAADAQUI, A. et al. What is a bioactive compound? A combined definition for a preliminary consensus. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 3, n. 3, p. 17–179, 2014.
- GUPTA, V. et al. Evaluation of antibacterial activity of *Bougainvillea glabra* ‘ snow white ’ and *Bougainvillea glabra* ‘ choicy ’. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, v. 1, n. 1, p. 233–237, 2009.
- HERBACH, K. M.; STINTZING, F. C.; CARLE, R. Betalain stability and degradation - Structural and chromatic aspects. **Journal of Food Science**, v. 71, n. 4, p. 41–50, 2006.
- HOBBS, D. A. et al. Acute Ingestion of Beetroot Bread Increases Endothelium-Independent Vasodilation and Lowers Diastolic Blood Pressure in Healthy Men: A Randomized

- Controlled Trial. **The Journal of Nutrition**, v. 143, n. 9, p. 1399–1405, 2013.
- ISAILOVIĆ, B. et al. Microencapsulation of natural antioxidants from *Pterospartum tridentatum* in different alginate and inulin systems. *In: 6th Central European Congress on Food*, p. 1075–1081, 2012.
- JACOBSEN, C. Oxidative Rancidity. **Encyclopedia of Food Chemistry**, v. 2, p. 261–269, 2019.
- KEARSLEY, M. W.; KATSABOXAKIS, K. Z. Stability and use of natural colours in foods. **Journal of Food Technology**, v. 15, p. 501–514, 1980.
- KHAN, M. I. Stabilization of betalains: A review. **Food Chemistry**, v. 197, p. 1280–1285, 2016.
- KHATABI, O. et al. Extraction and determination of polyphenols and betalain pigments in the Moroccan Prickly pear fruits (*Opuntia ficus indica*). **Arabian Journal of Chemistry**, v. 9, p. S278–S281, 2016.
- KUMAR, S. N. A. et al. Extraction optimization and characterization of water soluble red purple pigment from floral bracts of *Bougainvillea glabra*. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 10, p. S2145–S2150, 2013.
- LARSEN, B. et al. Characterization of the alginates from algae harvested at the Egyptian Red Sea coast. **Carbohydrate Research**, v. 338, n. 22, p. 2325–2336, 2003.
- LAVELLI, V.; HARSHA, P. S. C. S. Microencapsulation of grape skin phenolics for pH controlled release of antiglycation agents. **Food Research International**, v. 119, p. 822–828, 2019.
- LEE, K. Y.; MOONEY, D. J. Alginate: Properties and biomedical applications. **Progress in Polymer Science**, v. 37, p. 106–126, 2012.
- LEONG, J. Y. et al. Advances in fabricating spherical alginate hydrogels with controlled particle designs by ionotropic gelation as encapsulation systems. **Particuology**, v. 24, p. 44–60, 2016.
- LI, H. et al. Characterization of phenolics, betacyanins and antioxidant activities of the seed, leaf, sprout, flower and stalk extracts of three *Amaranthus* species. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 37, p. 75–81, 2015.
- LIM, T. K. **Edible Medicinal and Non Medicinal Plants (Volume 8: Flowers)**. 1. ed. Dordrecht: Springer, 2014. p. 876.
- LIU, R. H. Potential Synergy of Phytochemicals in Cancer Prevention: Mechanism of Action. **The Journal of Nutrition**, v. 134, n. 12, p. 3479S–3485S, 2004.
- LU, G. et al. Biosynthetic origin of geosmin in red beets (*Beta vulgaris* L.). **Journal of**

- Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 4, p. 1026–1029, 2003.
- LUPO, B. et al. Characterization of alginate beads with encapsulated cocoa extract to prepare functional food: Comparison of two gelation mechanisms. **Food Hydrocolloids**, v. 49, p. 25–34, 2015.
- MACKŮ, I. et al. Effect of addition of selected solid cosolutes on viscoelastic properties of model processed cheese containing pectin. **Food Hydrocolloids**, v. 23, n. 8, p. 2078–2084, 2009.
- MARAN, J. P.; PRIYA, B.; NIVETHA, C. V. Optimization of ultrasound-assisted extraction of natural pigments from *Bougainvillea glabra* flowers. **Industrial Crops and Products**, v. 63, p. 182–189, 2015.
- MARCHIORETTO, M. S.; LIPPERT, A.P.U.; DA SILVA, V.L. **Família Nyctaginaceae juss. no Rio Grande do Sul, Brasil**. PESQUISAS, BOTÂNICA N° 62:129-162. São Leopoldo: Instituto Anchietano de Pesquisas, 2011.
- MARTINS, N. et al. Coloring attributes of betalains: A key emphasis on stability and future applications. **Food and Function**, v. 8, n. 4, p. 1357–1372, 2017.
- MEDINA-TORRES, L. et al. Industrial Crops & Products Microencapsulation of gallic acid by spray drying with aloe vera mucilage (aloe barbadensis miller) as wall material. **Industrial Crops & Products**, v. 138, p. 1-7, 2019.
- MEZGER, T. G. **The Rheology Handbook**. 2. ed. Hannover: Coatings Compendia, 2006. p. 300.
- MOLINA, G. A. et al. Effects of tetraethyl orthosilicate (teos) on the light and temperature stability of a pigment from *beta vulgaris* and its potential food industry applications. **Molecules**, v. 19, n. 11, p. 17985–18002, 2014.
- MØRCH, Ý. A. et al. Effect of Ca²⁺, Ba²⁺, and Sr²⁺ on alginate microbeads. **Biomacromolecules**, v. 7, n. 5, p. 1471–1480, 2006.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). Layde Lannes Moura, Seiva Cherdman Cascon e Ismênia Salignac de Souza Gruimarães. **Processo de extração de corante vermelho em pó, isento de betaxantina e de nitrto, a partir de beterraba (beta vulgaris)**. PI 8305089-2 B1, 29 ago. 1989. Disponível em: <<https://www.escavador.com/patentes/651560/processo-extracao-corante-vermelho-em-po-isento-betaxantina-nitrto-partir>>. Acesso em: 21 de novembro de 2019.
- MUNIN, A.; EDWARDS-LÉVY, F. Encapsulation of natural polyphenolic compounds; a review. **Pharmaceutics**, v. 3, n. 4, p. 793–829, 2011.
- NIMSE, S. B.; PAL, D. Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms.

RSC Advances, v. 5, p. 27986–28006, 2015.

NORUDIN, N. S.; MOHAMED, H. N.; YAHYA, N. A. M. Controlled released alginate-inulin hydrogel: Development and in-vitro characterization. **AIP Conference Proceedings** p. 0201131-0201136, 2016.

OROZCO-VILLAFUERTE, J. et al. Evaluation of the protection and release rate of bougainvillea (*Bougainvillea spectabilis*) extracts encapsulated in alginate beads. **Journal of Dispersion Science and Technology**, v. 40, n. 7, p. 1065–1074, 2018.

OTÁLORA, M. C. et al. Encapsulated betalains (*Opuntia ficus-indica*) as natural colorants. Case study: Gummy candies. **LWT - Food Science and Technology**, v. 103, p. 222–227, 2019.

OZKAN, G. et al. A review of microencapsulation methods for food antioxidants: Principles, advantages, drawbacks and applications. **Food Chemistry**, v. 272, p. 494–506, 2019.

PASUKAMONSET, P.; KWON, O.; ADISAKWATTANA, S. Alginate-based encapsulation of polyphenols from *Clitoria ternatea* petal flower extract enhances stability and biological activity under simulated gastrointestinal conditions. **Food Hydrocolloids**, v. 61, p. 772–779, 2016.

PEREIRA, K. C. et al. Microencapsulação e liberação controlada por difusão de ingredientes alimentícios produzidos através da secagem por atomização: revisão. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 21, p. 1-9, 2018.

PÉREZ-RAMÍREZ, E.; LIMA, E.; GUZMÁN, A. Natural betalains supported on γ -alumina: A wide family of stable pigments. **Dyes and Pigments**, v. 120, p. 161–168, 2015.

RAY, S.; RAYCHAUDHURI, U.; CHAKRABORTY, R. An overview of encapsulation of active compounds used in food products by drying technology. **Food Bioscience**, v. 13, p. 76–83, 2016.

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

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Update on natural food pigments - A mini-review on carotenoids, anthocyanins, and betalains. **Food Research International**, v. 124, p. 200–205, 2018.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Betalains. **Encyclopedia of Food Chemistry**, 2019.

RODRÍGUEZ-SÁNCHEZ, J. A.; CRUZ Y VICTORIA, M. T.; BARRAGÁN-HUERTA, B. E. Betaxanthins and antioxidant capacity in *Stenocereus pruinosus*: Stability and use in food. **Food Research International**, v. 91, p. 63–71, 2017.

SALEEM, H. et al. Phytochemical profiling , antioxidant , enzyme inhibition and cytotoxic

- potential of *Bougainvillea glabra* flowers. **Natural Product Research**, p. 1–5, 2019.
- SAND, A. et al. Modification of alginate by grafting of N-vinyl-2-pyrrolidone and studies of physicochemical properties in terms of swelling capacity, metal-ion uptake and flocculation. **Carbohydrate Polymers**, v. 80, n. 4, p. 1147–1154, 2010.
- SHALINI, M. et al. In-vitro Antioxidant Activities , Phytoconstituent and Toxicity Evaluation of Local *Bougainvillea glabra* Bract (Bunga Kertas). **International Journal of ChemTech Research**, v. 11, p. 22–30, 2018.
- SIN, L. T. et al. Detection of synergistic interactions of polyvinyl alcohol – cassava starch blends through DSC. **Carbohydrate Polymers**, v. 79, n. 1, p. 224–226, 2010.
- SINGH, A.; GANESAPILLAI, M.; GNANASUNDARAM, N. Optimizat on of extraction of betalain pigments from beta vulgaris peels by microwave pretreatment. *In: IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, v. 263, n. 3, 2017.
- SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdicphosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, p. 144–158, 1965.
- SIRÓ, I. et al. Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance-A review. **Appetite**, v. 51, n. 3, p. 456–467, 2008.
- SLAVOV, A. et al. Antioxidant activity of red beet juices obtained after microwave and thermal pretreatments. **Czech Journal of Food Sciences**, v. 31, n. 2, p. 139–147, 2013.
- SOARES, J. J. et al. Paraquat exposure-induced Parkinson’s disease-like symptoms and oxidative stress in *Drosophila melanogaster*: Neuroprotective effect of *Bougainvillea glabra* Choisy. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 95, p. 245–251, 2017.
- SOARES, J. P. et al. Thermal behavior of alginic acid and its sodium salt. **Ecletica Quimica**, v. 29, n. 2, p. 57–63, 2004.
- STINTZING, F. C.; CARLE, R. Functional properties of anthocyanins and betalains in plants, food, and in human nutrition. **Trends in Food Science and Technology**, v. 15, n. 1, p. 19–38, 2004.
- STOJANOVIC, R. et al. Encapsulation of thyme (*Thymus serpyllum* L.) aqueous extract in calcium alginate beads. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 92, n. 3, p. 685–696, 2012.
- STOKKE, B. T. et al. Small-angle X-ray scattering and rheological characterization of alginate gels. **Macromolecules Symposium**, v. 120, p. 91–101, 1997.
- TAVARES, L.; NOREÑA, C. P. Z. Encapsulation of garlic extract using complex coacervation with whey protein isolate and chitosan as wall materials followed by spray

drying. **Food Hydrocolloids**, v. 89, p. 360–369, 2019.

TUTUNCHI, P. et al. Extraction of red beet extract with β -cyclodextrin-enhanced ultrasound assisted extraction: A strategy for enhancing the extraction efficacy of bioactive compounds and their stability in food models. **Food Chemistry**, v. 297, p. 124994, 2019.

VANDEGAER, J. E. **Microencapsulation Processes and Applications**. Springer, 1974. v. 66. p. 180.

VAYA, J.; AVIRAM, M. Nutritional Antioxidants Mechanisms of Action, Analyses of Activities and Medical Applications. **Current Medicinal Chemistry-Immunology, Endocrine & Metabolic Agents**, v. 1, n. 1, p. 99–117, 2001.

VIDAL, P. J. et al. Inactivation of lipoxygenase and cyclooxygenase by natural betalains and semi-synthetic analogues. **Food Chemistry**, v. 154, p. 246–254, 2014.

WENZEL, G. E. **Radicais Livres, Antioxidantes Nutracêuticos: Fenólicos e polifenólicos vegetais**. 1. ed. São Leopoldo: Unisinos, 2013. p. 262.

YANG, J.; CHEN, S.; FANG, Y. Viscosity study of interactions between sodium alginate and CTAB in dilute solutions at different pH values. **Carbohydrate Polymers**, v. 75, n. 2, p. 333–337, 2009.