



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS**

ALESSANDRA PINHEIRO DE GÓES CARNEIRO

**ENCAPSULAÇÃO DE SUBPRODUTO INDUSTRIAL DE ACEROLA EM MATRIZ
COMPOSTA DE GOMA ARÁBICA E MALTODEXTRINA PARA APLICAÇÃO EM
ALIMENTOS: DESENVOLVIMENTO, CARACTERIZAÇÃO E ESTABILIDADE**

FORTALEZA

2017

ALESSANDRA PINHEIRO DE GÓES CARNEIRO

**ENCAPSULAÇÃO DE SUBPRODUTO INDUSTRIAL DE ACEROLA EM MATRIZ
COMPOSTA DE GOMA ARÁBICA E MALTODEXTRINA PARA APLICAÇÃO EM
ALIMENTOS: DESENVOLVIMENTO, CARACTERIZAÇÃO E ESTABILIDADE**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Raimundo Wilane de Figueiredo.

FORTALEZA

2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

A361e Alessandra Pinheiro de Góes, Carneiro.
Encapulação de subproduto industrial de acerola em matriz composta de goma arábica e maltodextrina para aplicação em alimentos : desenvolvimento, caracterização e estabilidade / Carneiro Alessandra Pinheiro de Góes. – 2017.
113 f. : il.

Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Fortaleza, 2017.
Orientação: Prof. Dr. Raimundo Wilane de Figueiredo.

1. Nanopartículas. 2. Compostos bioativos. 3. Bioacessibilidade. I. Título.

CDD 664

ALESSANDRA PINHEIRO DE GÓES CARNEIRO

ENCAPSULAÇÃO DE SUBPRODUTO INDUSTRIAL DE ACEROLA EM MATRIZ COMPOSTA DE GOMA ARÁBICA E MALTODEXTRINA PARA APLICAÇÃO EM ALIMENTOS: DESENVOLVIMENTO, CARACTERIZAÇÃO E ESTABILIDADE.

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Aprovada em: 26/05/2017.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Raimundo Wilane de Figueiredo(Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Paulo Henrique Machado de Sousa (Membro)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Dra. Maria do Socorro Rocha Bastos (Membro)
EMBRAPA Agroindústria Tropical do Ceará

Dra. Larissa Morais Ribeiro da Silva (Membro)
Universidade Federal do Ceará

Dra. Livia Xerez Pinho (Membro)
EMBRAPA Agroindústria Tropical do Ceará.

Aos meus filhos, Mateus, Lucas e
Maria Eduarda.

AGRADECIMENTOS

À DEUS, pela fé que alimenta meu caminhar, por ser a força nas minhas aflições e por guiar toda a minha vida com seu amor. Sua presença é real em meu viver.

A minha linda família, fonte de toda garra, luta e amor, por compreender a importância dessa conquista em minha vida. Ao meu grande amor Eduardo, por ser o marido, o companheiro, o amigo e meu porto seguro em todos os momentos vividos. E aos meus filhos Mateus, Lucas e Maria Eduarda, pelo incentivo. Amor incondicional por eles.

A minha Mãe, Canjande, Datinha, por serem ancoras que suportam idas e vindas, flutuações e tribulações e mesmo assim permanecem ao meu lado. Todo o meu respeito. E ao meu Pai e minha Vó que em outra dimensão velam por mim.

A Universidade Federal do Ceará, em especial ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, pela oportunidade de realização do doutorado.

A Profa. Isabella Montenegro Brasil, “minha orientadora”, que mesmo tendo “partido” antes da concretização desse doutorado, foi peça fundamental para que ele se realizasse. Minhas orações.

Ao meu “orientador/co-orientador” Prof. Dr. Raimundo Wilane de Figueiredo pela solicitude, presteza e atenção nesse momento. E por aceitar esse desafio ao meu lado, acreditando no meu potencial.

Ao Prof. Dr. Haroldo César Beserra de Paula, todo meu carinho e respeito, por me proporcionar novos conhecimentos e acreditar na superação de todas as dificuldades que pareciam gigantescas para mim. Obrigada por todos os ensinamentos.

Ao Prof. Dr. Paulo Henrique Machado de Sousa pela amizade, paciência, compreensão, ensinamentos e doces palavras nas minhas tomadas de decisão.

A Dra. Maria do Socorro Rocha Bastos e Dra. Larissa Moraes Ribeiro da Silva por aceitarem participar da banca e conseqüentemente pelas preciosas sugestões para melhoria do trabalho.

A Dra. Maria Leônia da Costa Gonzaga, Prof^a Dra. Luciana da Siqueira Oliveira e Dra. Lívia Xerez Pinho pela solicitude e partilha de seus grandes conhecimentos.

A Prof^a Dra. Evânia Altina Teixeira de Figueiredo e a bolsista Flayanna do laboratório de Microbiologia de Alimentos pela realização das análises microbiológicas.

Aos Professores do Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Ceará, pelos conhecimentos adquiridos durante as disciplinas do doutorado.

Ao Secretário do Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Ceará, Paulo Mendes, pela ajuda e paciência no decorrer do curso.

A Empresa processadora de acerola pelo comprometimento na oferta da matéria-prima para o desenvolvimento desta pesquisa.

Aos funcionários do Laboratório de Frutos e Hortaliças Sra. Hilda, Sr. Omar e Luci pelo carinho.

Aos companheiros do Laboratório de Frutos e Hortaliças, Ana Cristina, Leilane, Lívia, Livânia, Gustavo, Eveline pelo carinho, companhia, amizade, paciência, ajuda, brincadeiras e descontração durante o longo período de análises.

Aos amigos que ganhei no Laboratório de Polímeros do Departamento de Química, Fernanda, Ana Rosa e Rudson que tanto me ajudaram com toda paciência, carinho e generosidade é como posso descrever cada explicação que me deram, e a Leônia, por ser um doce reencontro e a certeza que a doçura e a sabedoria estão sempre presentes. Muito obrigada por tudo.

As amigas, Andréa, Janayna e Kátia, sempre presentes em minha vida, mesmo a distância, vibram comigo a cada conquista.

Enfim, a todos que participaram desse momento da minha vida em que a superação e a perseverança foram uma constante nesse crescimento acadêmico. E que em todas as tribulações e alegrias compartilhadas foram peças fundamentais como incentivo para seguir em frente.

“Mesmo quando tudo parece desabar, cabe a mim decidir entre rir ou chorar, ir ou ficar, desistir ou lutar; porque descobri, no caminho incerto da vida, o mais importante é o decidir.”

Cora Coralina

RESUMO

A agroindústria é um dos setores mais expressivos da economia brasileira e que geram uma grande quantidade de resíduos que atualmente estão sendo explorados como um benefício econômico aos produtores e um efeito benéfico no meio ambiente. A nanotecnologia em produtos alimentícios se torna uma alternativa para efetivar a utilização de diferentes substâncias, como compostos bioativos, aumentando a estabilidade e características desejáveis dos mesmos, como cor, composição nutricional e compostos antioxidantes. Ela se apresenta como uma ferramenta de aplicação para a qualidade, segurança do alimento e de forma a atender as exigências dos consumidores por produtos saudáveis e enriquecidos com produtos naturais que podem ser utilizados a partir de resíduos do processamento de frutas. Esta pesquisa propôs encapsular subproduto industrial de acerola em matriz de goma arábica e maltodextrina, a fim de desenvolver partículas que possam ser utilizadas como veiculadoras de compostos bioativos. Inicialmente foi realizada a caracterização da polpa e subproduto da acerola, através de pH, cor, sólidos solúveis, acidez total titulável, açúcares totais e redutores. As amostras foram submetidas à determinação de vitamina C, compostos fenólicos, carotenoides, antocianinas, flavonoides amarelos e atividade antioxidante total. O extrato que apresentou melhores resultados foi escolhido para ser encapsulado utilizando matriz de goma arábica e maltodextrina. Foram elaboradas sete diferentes formulações de nanopartículas que foram caracterizadas, física, físico-química e quimicamente. A partícula que apresentou melhores resultados foi selecionada para ser adicionada em néctar de acerola, submetido à análise de bioacessibilidade. Tanto a polpa como o subproduto da acerola apresentaram resultados relevantes para polifenóis (1214,54 mgGAE/100g e 5287,11 mgGAE/100g, respectivamente) e vitamina C (1113,10 mg ác. asc./100g e 2726 mg ác. asc./100g, respectivamente). As nanopartículas apresentaram-se como boas fontes de polifenóis totais (954,26 a 2349,43 mg ac. asc./100g), vitamina C (1146,75 a 4468,99 mg GAE/100g) e atividade antioxidante (34,38 a 150,12 μ M TROLOX/g), além de apresentarem distribuição de tamanho de partículas bimodal, heterogeneidade na distribuição e potencial zeta representando estabilidade em suspensão. As nanopartículas A (1GA:1MA:1EXT) e E (1GA:1MA:2EXT) foram selecionadas para avaliação da atividade antimicrobiana sendo eficientes para inibição de *E. coli* e *L. monocytogenes* e bactericida para *E. coli*. As nanopartículas A e E se mantiveram estáveis por um período referente a 6 meses quanto ao conteúdo de polifenóis totais (3595,00 e 4920,19 mg GAE/100g, respectivamente) e atividade antioxidante (60,24 e 59,17 μ M TROLOX/g, respectivamente). Para vitamina C, a

nanopartícula A se manteve estável durante o armazenamento (1976,18 mg ac. asc./100g), enquanto a nanopartícula E apresentou um decréscimo ao longo do tempo (2446,11 a 1663,16 mg ac. asc./100g). A bioacessibilidade gastrointestinal do néctar de acerola contendo nanopartículas apresentou resultados promissores para absorção de polifenóis totais 9,59% para A e 8,62% para E e atividade antioxidante 77,99% para A e 78,91% para E. Concluiu-se que o subproduto do processamento da polpa de acerola apresenta características para ser utilizado em processamentos para extração de compostos bioativos a serem encapsulados. As nanopartículas apresentaram-se como fontes de compostos bioativos e com estabilidade suficiente para serem adicionadas em produtos alimentícios.

Palavras-chave: Nanopartículas. Compostos bioativos. Bioacessibilidade.

ABSTRACT

The agribusiness is one of the most expressive sectors of the Brazilian economy and it generates a large amount of waste that is currently being exploited as an economic benefit to producers and a beneficial effect on the environment. Nanotechnology in food products becomes an alternative to make use of different substances, such as bioactive compounds, increasing the stability and desirable characteristics of the same, such as color, nutritional composition and antioxidant compounds. It presents itself as an application tool for quality, food safety and in order to meet the demands of consumers for healthy products and enriched with natural products that can be used from waste processing fruit. This research proposed to encapsulate an industrial byproduct of acerola on arabic gum matrix and maltodextrin in order to develop particles that could be used as carriers of bioactive compounds. Initially the characterization of the pulp and by - product of the acerola was performed through pH, color, soluble solids, titratable total acidity, total sugars and reducers. The samples were submitted to the determination of vitamin C, phenolic compounds, carotenoids, anthocyanins, yellow flavonoids and total antioxidant activity. The extract that presented the best results was chosen to be encapsulated using gum arabic matrix and maltodextrin. Seven different formulations of nanoparticles were elaborated that were characterized, physically, physicochemically and chemically. The particle that presented the best results was selected to be added in acerola nectar, submitted to bioaccessibility analysis. Both the pulp and the by-product of acerola presented relevant results for polyphenols (1214.54 mgGAE / 100g and 5287.11 mgGAE / 100g, respectively) and vitamin C (1113.10 mg a.c./100g and 2726 mg a.c. / 100g, respectively). The nanoparticles presented as good sources of total polyphenols (954.26 to 2349.43 mg ac. /100 g), vitamin C (1146.75 to 4468.99 mg GAE / 100 g) and antioxidant activity (34.38 to 150.12 μ M TROLOX / g), in addition to presenting bimodal particle size distribution, distribution heterogeneity and zeta potential representing stability in suspension. The nanoparticles presented as good sources of total polyphenols (954.26 to 2349.43 mg ac. /100 g), vitamin C (1146.75 to 4468.99 mg GAE / 100 g) and antioxidant activity (34.38 to 150.12 μ M TROLOX / g), in addition to presenting bimodal particle size distribution, distribution heterogeneity and zeta potential representing stability in suspension. A (1GA: 1MA: 1EXT) and E (1GA: 1MA: 2EXT) nanoparticles were selected for evaluation of antimicrobial activity being efficient for inhibition of *E. coli* and *L. monocytogenes* and bactericidal for *E. coli*. The nanoparticles A and E were stable over a period of 6 months

regarding the content of total polyphenols (3595.00 and 4920.19 mg GAE / 100g, respectively) and antioxidant activity (60.24 and 59.17 μ M TROLOX / g, respectively). For vitamin C, the nanoparticle A remained stable during storage (1976.18 mg ac. /100 g), while the nanoparticle E showed a decrease over time (2446.11 to 1663.16 mg ac. / 100g). The gastrointestinal bioaccessibility of acerola nectar containing nanoparticles presented promising results for absorption of total polyphenols 9.59% for A and 8.62% for E and antioxidant activity 77.99% for A and 78.91% for E. It was concluded That the by-product of the processing of the acerola pulp presents characteristics to be used in processing for extraction of bioactive compounds to be encapsulated. The nanoparticles presented as sources of bioactive compounds and with sufficient stability to be added in food products.

Keywords: Nanoparticles. Bioactive compounds. Bioaccessibility.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação da estrutura química de compostos flavonóides	27
Figura 2 - Esquema geral de funcionamento do spray dryer	38
Figura 3 - Estrutura química da maltodextrina(1) e goma arábica (2).....	42
Figura 4 - Fluxograma do processamento da polpa de acerola	45
Figura 5 - Fluxograma de desenvolvimento da pesquisa	46
Figura 6 - Rendimento após Spray Dryer	75
Figura 7 - Espectro de infravermelho da goma arábica (GA), maltodextrina (MA) e extrato de subproduto de acerola	78
Figura 8 - Espectros de infravermelho das nanopartículas de extrato de subprodutos de acerola	79
Figura 9 - Vitamina C das nanopartículas de extrato de subprodutos de acerola	81
Figura 10 - Polifenóis extraíveis totais das nanopartículas de extrato de subprodutos de acerola	83
Figura 11 - Atividade antioxidante total ABTS ^{•+} das nanopartículas de extrato de subprodutos de acerola	85
Figura 12 - Eficiência de encapsulação das nanopartículas de extrato de subprodutos de acerola para Vitamina C, Polifenóis extraíveis totais e Atividade antioxidante total	87
Figura 13 - Dopagem das nanopartículas de extrato de compostos bioativos de resíduos de acerola obtidos via <i>spray dryer</i>	89
Figura 14 - Dopagem das nanopartículas de extrato de compostos bioativos de resíduos de acerola obtidos via <i>spray dryer</i>	90
Figura 15 - Registro do conteúdo de Vitamina C, Polifenóis extraíveis totais e Atividade antioxidante da nanopartícula A em função do tempo, mantida por 44 dias em temperatura controlada a 50° C.....	94
Figura 16 – Registro do conteúdo de Vitamina C, Polifenóis extraíveis totais e Atividade antioxidante da nanopartícula E em função do tempo, mantida por 44 dias em temperatura controlada a 50° C.....	96

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Planejamento Experimental	48
Tabela 2 - Distribuição dos poços em placas de microdiluição.....	59
Tabela 3 - Caracterização física e físico-química da polpa de acerola não pasteurizada (integral)	62
Tabela 4 - Caracterização física e físico-química dos subprodutos de acerola em dois estágios definidos, despulpadeira e filtro rotativo	65
Tabela 5 - Caracterização de compostos bioativos da polpa de acerola não pasteurizada (Integral)	68
Tabela 6 - Caracterização de compostos bioativos dos subprodutos de acerola em dois estágios definidos, despulpadeira e filtro rotativo	68
Tabela 7 - Valores de distribuição de tamanho de partícula, Índice de Polidispersão (PDI) e Potencial Zeta (mV) das nanopartículas de extrato de subprodutos de acerola obtidas via <i>spray dryer</i>	76
Tabela 8 - Atividade antimicrobiana dos extratos (A e E)	91
Tabela 9 - Valores das médias para os teores de polifenóis totais para o néctar de acerola com adição de nanopartículas antes e após a digestão gastrointestinal simulada <i>in vitro</i>	97
Tabela 10 - Valores das médias para os teores de atividade antioxidante total para o néctar de acerola com adição de nanopartículas antes e após a digestão gastrointestinal simulada <i>in vitro</i>	98

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

FAO	Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação
OMS	Organização Mundial de Saúde
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
FDA	US Food and Drug Administration
NANOREG	A common European approach to the regulatory testing of manufactured nanomaterials
GRAS	Generally Recognized as Safe
APPCC	Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle
BPF	Boas Práticas de Fabricação
AIB	American Institute of Baking

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	20
2	OBJETIVOS	22
2.1	Objetivo geral	22
2.1	Objetivos específicos	22
3	REVISÃO DE LITERATURA	23
3.1	Características da acerola	23
3.2	Compostos bioativos	25
3.3	Resíduos industriais como subproduto para a agroindústria	31
3.4	Nanotecnologia aplicada em alimentos	33
3.5	Método de secagem	35
3.6	Material de parede	40
4	MATERIAIS E MÉTODOS	44
4.1	Materiais	44
4.2	Planejamento Experimental	46
4.2.1	<i>Etapa 1: Caracterização física, química e físico-química da polpa e subprodutos da acerola</i>	46
4.2.2	<i>Etapa 2: Quantificação de compostos bioativos da polpa e subprodutos da acerola</i>	47
4.2.3	<i>Etapa 3: Formulação das nanopartículas utilizando os extratos dos subprodutos do processamento da polpa de acerola</i>	47
4.2.3.1	<i>Preparação das formulações</i>	47
4.2.4	<i>Etapa 4: Definição e estudo das melhores formulações: atividade antimicrobiana e estabilidade acelerada</i>	49
4.2.5	<i>Etapa 5: Adição de nanopartículas em néctar de acerola</i>	49
4.3	Descrição das metodologias utilizadas	49
4.3.1	<i>Determinações físicas, físico-químicas e compostos bioativos</i>	50
4.3.1.1	pH	50
4.3.1.2	Sólidos solúveis (SS)	50
4.3.1.3	Atividade de água (Aa)	50
4.3.1.4	Acidez total titulável (ATT)	50
4.3.1.5	Açúcares redutores (AR) e Açúcares totais (AT)	50

4.3.1.6	Vitamina C	52
4.3.1.7	Equivalente de β -caroteno.....	52
4.3.1.8	Antocianinas totais	53
4.3.1.9	Polifenóis extraíveis totais	53
4.3.1.10	Atividade antioxidante	54
4.3.1.11	Determinação da cor	55
4.3.1.12	Rendimento do processo de liofilização do subproduto	55
4.3.2	<i>Metodologias para avaliações microbiológicas</i>	55
4.3.2.1	Coliformes a 35°C e 45 °C	56
4.3.2.2	Listeria spp.	56
4.3.3	<i>Caracterização das nanopartículas</i>	56
4.3.3.1	Tamanho e distribuição das nanopartículas e potencial Zeta.....	56
4.3.3.2	Espectroscopia de absorção na região do infravermelho	57
4.3.3.3	Rendimento do processo de atomização	57
4.3.3.4	Eficiência de Encapsulamento	57
4.3.3.5	Dopagem	58
4.3.3.6	Avaliação da atividade antimicrobiana	58
4.3.3.7	Ensaio acelerado de estabilidade durante o armazenamento	59
4.3.3.8	Digestão Gastrointestinal simulada <i>in vitro</i> (Teste de Bioacessibilidade)	60
4.4	Análise estatística	61
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	62
5.1	<i>Etapa 1: Caracterização física, química e físico-química da polpa e subprodutos da acerola</i>	62
5.2	<i>Etapa 2: Quantificação de compostos bioativos da polpa e subprodutos da acerola</i>	67
5.3	<i>Etapa 3: Formulação e caracterização de nanopartículas dos extratos dos subprodutos do processamento da polpa de acerola</i>	73
5.3.1	<i>Rendimentodo processo de atomização</i>	74
5.3.2	<i>Distribuição do tamanho de partículas; Índice de Polidispersão e Potencial Zeta</i>	76
5.3.3	<i>Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FTIR)</i>	78
5.3.4	<i>Vitamina C, Polifenóis extraíveis totais e Atividade antioxidante</i>	81

5.3.5	<i>Eficiência de encapsulação</i>	86
5.3.6	<i>Dopagem</i>	88
5.4	<i>Etapa 4: Estudo das melhores formulações: Atividade antimicrobiana e Estabilidade acelerada da nanopartícula</i>	90
5.4.1	<i>Atividade antimicrobiana</i>	91
5.4.2	<i>Estabilidade acelerada</i>	93
5.4.3	<i>Etapa 5: Adição de nanopartículas em néctar de acerola</i>	97
6	CONCLUSÃO	100
	REFERÊNCIAS	102

1 INTRODUÇÃO

O crescimento significativo no mercado de frutas atrai a atenção de fruticultores, distribuidores de frutas e processadores (ANTUNES, et al., 2013), enquanto o consumo de frutas tropicais vem apresentando um aumento expressivo em todo o mundo, por suas propriedades e funcionalidades (LIMA, 2010). É inquestionável a importância do Brasil no agronegócio global, conferindo ao País o posto de terceiro maior produtor mundial de frutas, segundo o Anuário Brasileiro de Fruticultura (2017). Para a Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação (FAO) (2013), o Brasil é uma das grandes potências exportadoras de alimentos do mundo, apresentando destaque como grande supridor de frutas. O Anuário Brasileiro de Fruticultura (2017) ressalta que, o Brasil tem potencial para aumentar a demanda, uma vez que a população ainda não consome a quantidade ideal de frutas e hortaliças a fim de garantir boa alimentação de acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS).

Segundo AYALA-ZAVALA et al.(2011), as frutas tropicais exóticas são ricas em compostos bioativos, tais como compostos fenólicos, carotenóides, vitaminas e fibras alimentares. No entanto, a indústria de transformação destes frutos enfrenta uma grande dificuldade relacionada com a porcentagem de seus subprodutos, como cascas, sementes e polpas não utilizadas, geradas nas diferentes etapas das cadeias de processamento. Na maioria dos casos, os subprodutos desperdiçados podem apresentar conteúdo semelhante ou até mais altos de compostos bioativos que o produto final.

Neste contexto, uso de fontes renováveis e procedimentos de concepção tem obtido atenção na última década devido ao crescimento contínuo da população mundial, levando a uma diminuição dos recursos naturais, com a implementação de produtos alimentares enriquecidos e funcionais (TOLUN, ALTINTAS e ARTIK, 2016).

A acerola é uma fruta nativa da América Central e adaptada ao cultivo no Brasil, no qual se tornou maior produtor, consumidor e exportador mundial. Esta fruta é excelente fonte de vitamina C e também contém fitoquímicos, tais como carotenóides e polifenóis (ANTUNES, et al. 2013).

A utilização da nanotecnologia apresenta inúmeras oportunidades que podem ser exploradas, como a elaboração de produtos com características funcionais e nutraceuticas, o desenvolvimento de processos, as embalagens inteligentes, a garantia da segurança microbiológica do alimento e a extensão da vida útil dos produtos alimentares, bem como a

liberação controlada de ingredientes ativos em sistemas alimentares e a melhoria de nutrientes com aumento na sua biodisponibilidade.

A aplicação da nanotecnologia apresenta-se como uma estratégia para garantir a qualidade e segurança microbiológica de produtos de alto valor comercial. Esses produtos cumprem assim as exigências dos consumidores por produtos saudáveis, nutritivos, práticos e seguros, podendo ser enriquecidos com produtos naturais, como subprodutos do processamento, de modo a garantir uma agregação de valor nutricional e benefícios adicionais à saúde.

Existe na atualidade grande demanda da sociedade brasileira e internacional por alimentos saudáveis, nutritivos e que apresentem propriedades benéficas para a saúde (ABIA, 2017). Estudo realizado por RIPA (2008) estimou que até 2023 haverá um crescente interesse por alimentos funcionais, produtos diferenciados, naturais e orgânicos, frutas e hortaliças, carne branca e magra, assim como alimentos processados e semiprontos. De forma geral, o mercado será mais exigente, não só em relação à qualidade e diversidade dos alimentos, mas também nos quesitos de rastreabilidade, bem-estar animal, certificação de qualidade e sustentabilidade ambiental.

O interesse em encontrar e adicionar compostos bioativos naturais para formulação de novos produtos. Corresponde a uma tendência atual, tendo em vista que o mercado de alimentos busca satisfazer as necessidades do público consumidor por produtos saudáveis e livres de aditivos sintéticos, além de conferir também ao produto qualidade nutricional adicional, atividade antimicrobiana e valor agregado.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Encapsular extrato de subproduto industrial de acerola em matriz de goma arábica e maltodextrina, a fim de sua utilização como enriquecedor em produtos alimentares para maior retenção da qualidade funcional e segurança do produto.

2.2 Objetivos Específicos

- Caracterizar polpa e subproduto da acerola em seus parâmetros físicos, químicos e físico-químicos;
- Encapsular extrato do subproduto de acerola determinando a melhor concentração do material de parede para a retenção dos composto bioativos;
- Verificar a eficiência de encapsulação das formulações testadas;
- Apontar a melhor formulação para posterior utilização em produtos alimentares;
- Determinar a Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) da melhor formulação contra *Listeria monocytogenes*, (Gram-positiva) e *Escherichia coli* (Gram-negativa);
- Acompanhar a estabilidade dos compostos bioativos da melhor formulação;
- Verificar a bioacessibilidade da melhor formulação aplicada em néctar de acerola preparado de acordo com a IN nº 12/ 2003.

3 REVISÃO DE LITERATURA

No Brasil, em toda a cadeia produtiva das frutas, incluindo colheita, transporte e armazenamento, as perdas são ainda bastante elevadas. As frutas tropicais apresentam elevada perecibilidade, e são considerados escassos a aplicação de novas técnicas de pós-colheita que venham a diminuir estas perdas. Com a biodiversidade presente no país, especialmente no Nordeste, é necessário estudos a respeito da detecção, quantificação, extração, aplicação e utilização de substâncias de interesse para aplicação industrial que tragam benefícios à saúde da população (SILVA, 2014).

Para o Anuário Brasileiro de Fruticultura (2017) o destaque dado ao aparecimento de novos produtos mostra uma tendência mundial à saúde e o incremento do comércio de produtos processados devido o menor tempo de preparo dos alimentos, aproveitamento integral e qualidade sensorial mais próxima possível do alimento *in natura*. Isto é impulsionado com o aumento da conscientização quanto aos benefícios à saúde e aumento da qualidade e expectativa de vida, a busca por uma alimentação mais saudável e a tendência crescente no que diz respeito ao aumento do consumo de vegetais, principalmente frutas, além de produtos de frutas (SILVA, 2014).

3.1 Características da acerola

A acerola ou cereja-das-antilhas tem sua origem na América Tropical (OLIVEIRA et al., 2003). Fruta do gênero *Malpighia*, pertencente à família Malpighiaceae (ANTUNES et al., 2013). Embora não seja uma planta nativa do Brasil, a produção desta fruteira tem se destacado por encontrar adequadas condições de clima e solo na maior parte do território brasileiro (RITZINGER et al., 2003; ANTUNES et al., 2013).

A aceroleira foi introduzida no Nordeste em 1958, via sementes oriundas de Porto Rico. Esta região é a que mais se destaca no Brasil, com um volume de produção superior a 60% do total da produção nacional (RITZINGER et al., 2003).

Os frutos da aceroleira são do tipo drupa tri-pirenóide com epicarpo fino, mesocarpo de células grandes e suculentas, endocarpo constituído de três caroços alongados e lignificados, variando em tamanho, forma e peso. O peso do fruto pode variar de 3 a 16g e a cor da casca quando maduro é predominantemente vermelha, podendo ter variação de vermelho-amarelada à vermelha-púrpura. Quanto a cor da polpa, esta pode ser amarela, laranja ou vermelha e representa, em média, de 70 a 80% do peso total do fruto, podendo ser

ácida ou subácida, ligeiramente doce ou doce acidulada. O ácido málico possui papel preponderante no aroma dos frutos (OLIVEIRA et al., 2003).

Os frutos passam por várias fases de desenvolvimento até atingirem condições adequadas para consumo humano, associadas às alterações físicas, químicas e bioquímicas determinadas por reações metabólicas de várias naturezas. Essas atividades metabólicas continuam após a separação dos frutos da planta (frutos climatéricos), resultando em efeitos sobre a sua qualidade de consumo e o tempo de manutenção desta qualidade, geralmente chamada “vida de prateleira” (REINHARDT e OLIVEIRA, 2003).

O constituinte presente em maior quantidade na fruta acerola e sua polpa é a água, que corresponde a mais de 90% do total da fruta, assim como dos componentes da polpa os carboidratos, sendo pobre em proteínas e lipídios, como a maioria das frutas. Seu principal apelo nutricional é o conteúdo de açúcares, vitaminas e minerais (FOLEGATTI e MATSUURA, 2003; MAIA et al., 2009), além de compostos antioxidantes tais como carotenóides, polifenóis e vitaminas (ANTUNES et al., 2013; JAESCHKE et al., 2016).

Para Folegatti e Matsuura (2003), a acerola é considerada uma excelente fonte de vitamina C, podendo apresentar, em sua composição, teores entre 1000 e 3000 mg de ácido ascórbico por 100g de polpa. Além da vitamina C, a acerola se apresenta como fonte razoável de pró-vitamina A, além de conter vitaminas do grupo B como tiamina (B1), riboflavina (B2), piridoxina (B6) e niacina, não sendo fonte significativa de nenhum mineral em particular.

A acerola é uma fruta rica em vitamina C (MAIA, et al., 2009; ANTUNES et al., 2013). O teor de ácido ascórbico da acerola varia em função de uma série de fatores, como variedade, estágio de maturação, época do ano da colheita, métodos culturais, disponibilidade de nutrientes do solo, clima do local de cultivo, manuseio pós-colheita e condições de estocagem (FOLEGATTI e MATSUURA, 2003).

Segundo Oliveira et al.(1998) a degradação oxidativa da vitamina C pode ser reduzida em meio ácido e na presença de compostos fenólicos, que exercem efeito protetor sobre essa vitamina.

Para Maia et al.(2009), a polpa de fruta é quase sempre utilizada como matéria-prima para processamento de outros produtos, como néctares, sucos, geléias, sorvetes e doces. Os autores ressaltam que os produtos fabricados com acerola vermelha são preferidos àqueles produzidos com frutos amarelados mesmo não havendo diferença em suas características internas.

3.2 Compostos bioativos

Numerosos compostos presentes em vegetais vêm sendo estudados com base em suas propriedades bioativas, tendo seus potenciais terapêuticos como âncora dos estudos científicos. Dessa forma, uma dieta rica em frutas e hortaliças diminui o risco de vários cânceres, e recentemente, ingredientes extraídos desses produtos tem apresentado ênfase nas pesquisas científicas (LIU et al., 2010).

Os compostos bioativos de alimentos são componentes extranutricionais, que geralmente estão presentes em pequenas quantidades nos alimentos (COZZOLINO; COMINETTI, 2013).

Variam quimicamente em sua estrutura e, em sua função biológica. No entanto, eles apresentam características em comum, tais como: são substâncias orgânicas e em geral de baixo peso molecular, não são sintetizados pelo organismo humano, apresentam ação protetora quando presentes na alimentação humana em quantidades significativas e pertencem a alimentos do reino vegetal. Em sua maioria, são metabólitos secundários de plantas relacionados aos sistemas de defesa de plantas contra radiação ultravioleta, agressão de insetos ou patógenos (CASSANO et al., 2016).

Maia et al.(2009) consideram as frutas como alimentos funcionais, já que podem influenciar a manutenção da saúde pela prevenção ou tratamento de patologias como: diabetes, hipertensão, hipercolesterolemia de obesidade, constipação e câncer, além do seu poder nutricional para cegueira noturna, anemia, escorbuto e xeroftalmia. A história dos alimentos funcionais é relacionada à melhoria da saúde em combinação com a longevidade.

Segundo a Resolução nº 18 de 30 abril de 1999 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) que define sobre alimento ou ingrediente com propriedades funcionais ou de saúde; os alimentos com alegação de propriedades funcionais são aqueles que o nutriente ou não nutriente tem papel metabólico ou fisiológico no crescimento, desenvolvimento, manutenção e outras funções normais do organismo humano. (BRASIL, 1999).

Estes efeitos são atribuídos às propriedades antioxidantes dos compostos bioativos, os quais inibem a oxidação de moléculas, evitando o início ou propagação das reações de oxidação em cadeia (AYALA-ZAVALA et al., 2011).

Segundo as Diretrizes Básicas para Avaliação de Risco e Segurança dos Alimentos, para que um alimento seja considerado funcional, é necessária a comprovação dos seus benefícios em humanos através de estudos científicos (BRASIL, 1999).

Em geral, os bioativos relacionados à promoção de saúde pertencem à categoria dos antioxidantes, fibras ou ácidos graxos. Assim, um alimento pode receber a alegação funcional se contiver em sua composição alguns destes compostos em quantidade suficiente para a manutenção da saúde (BRASIL, 1999).

Os antioxidantes são os responsáveis por capturar os radicais livres presentes no ambiente celular ou extracelular. Por consequência, esta categoria de compostos está associada à prevenção de várias doenças, como tumores e doenças degenerativas, já que o excesso de radicais livres foi associado aos processos que causam obstrução das artérias, transformação das células saudáveis em células cancerosas, problemas nas articulações e mau funcionamento do sistema nervoso, envelhecimento, e doenças crônico-degenerativas (MAIA et al., 2009).

Os produtos funcionais estão se transformando em novas oportunidades no mercado de alimentos, tomando espaço dos produtos tradicionais e por isso, apresentam perspectivas de crescimento muito altas. Isso é observado nos investimentos crescentes das empresas nesses produtos. As grandes multinacionais do setor parecem perceber o grande potencial de consumidores dispostos a consumir e pagar mais por esse tipo de alimento (IKEDA et al., 2010).

Maia et al.(2009) citam os carotenóides, a vitamina C, a vitamina E, flavonóides e selênio como exemplos de antioxidantes. Estes podem agir diretamente na neutralização da ação dos radicais livres ou participar indiretamente de sistemas enzimáticos com essa função. Ressaltam também que a vitamina C (ácido ascórbico) apresenta múltiplas funções no organismo e que a acerola é uma excelente fonte desta vitamina.

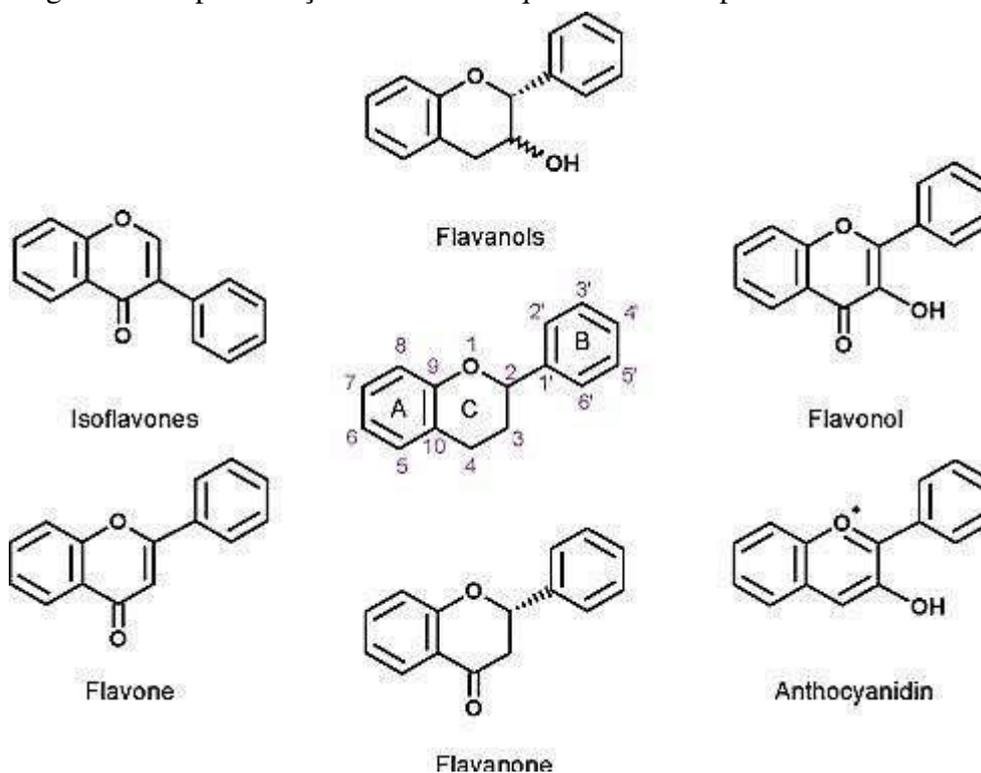
Os antioxidantes de acordo com o mecanismo de ação podem ser classificados em primários e secundários. Os antioxidantes primários envolvem os compostos fenólicos que promovem a remoção ou inativação dos radicais livres formados, através da doação de átomos de hidrogênio a estas moléculas, interrompendo a reação em cadeia. Os antioxidantes secundários não envolvem a redução direta dos radicais livres, agem por meio de muitos mecanismos, que incluem complexação de metais, sequestro de oxigênio, decomposição de hidroperóxidos para formar espécie não radical, absorção da radiação ultravioleta ou desativação de oxigênio singlete. Eles diminuem a taxa de oxidação, mas não convertem radicais livres em produtos mais estáveis (SUCUPIRA et al., 2012).

Pesquisas com antioxidantes naturais tem sido relatadas, devido às suspeitas de que os antioxidantes sintéticos sejam adversos a saúde, assim direcionando os estudos para os

compostos naturais que apresentam esta capacidade e que venham a substituir os artificiais ou atuar em conjunto com os mesmos, reduzindo seus teores nos alimentos (GONZÁLEZ-CENTENO et al., 2015).

Os flavonóides constituem uma família relativamente diversificada de moléculas aromáticas que são derivados do ácido chiquímico, fenilalanina e malonil-coenzima A (acetil coenzima A). Mais de cinco mil compostos flavonóides de origem natural foram descritos e classificados com base na estrutura química e grau de oxidação no anel C. De acordo com esta classificação, estes compostos podem ser divididos em: chalconas, flavonas, flavanonas, flavonóis, diidroflavonóis, isoflavonas, antocianinas e antocianidinas, auronas (BOROS *et al.*, 2010). Alguns desses compostos são representados em sua estrutura química na figura 1.

Figura 1 – Representação da estrutura química de compostos flavonóides



Fonte: Galleano et al. (2010).

Flavonoides e antocianinas são os polifenóis de baixo peso molecular encontrados em diversas espécies vegetais e se acumulam em vários tecidos da planta como folhas, frutos e flores. São responsáveis em conferir a pigmentação das flores, frutos e sementes, que por sua vez contribuem para atrair agentes polinizadores e dispersores de sementes (YAMAGISHI et al., 2010).

Os compostos fenólicos são considerados um dos grupos de compostos bioativos

responsáveis pelos efeitos benéficos à saúde proporcionados pelos vegetais. Embora existam outros mecanismos, o modo de ação mais citado é a atividade antioxidante. O conhecimento do conteúdo dos compostos fenólicos em vegetais é considerado uma ferramenta para o entendimento do seu papel na fisiologia da planta e na saúde humana, bem como para pesquisas que visam o aumento do seu consumo (HOFFMANN RIBANI, 2006).

Os flavonoides e outros compostos fenólicos atuam no crescimento, desenvolvimento e participam de respostas a estresses ambientais nas plantas (HOFFMANN RIBANI, 2006; HUANG et al., 2010). Sua ação antioxidante auxilia na captura de radicais livres, resultantes de processos oxidativos, decorrentes da exposição à luz ultravioleta; atuam na defesa da planta contra patógenos, como moléculas de sinalização na interação planta-micróbio e desempenham papel importante na fertilidade e germinação de pólen (ANTOIGNONI et al., 2007).

Os compostos fenólicos são metabólitos secundários produzidos pelos vegetais, e além de sua capacidade antioxidante, podem apresentar atividade antimicrobiana e antiviral (IGNAT; VOLFF; POPA, 2011). Em concentrações elevadas, os compostos fenólicos são considerados substâncias tóxicas para a célula bacteriana, inibindo seu crescimento (GARCÍA-RUIZ et al., 2007). A atividade antioxidante dos compostos fenólicos depende do arranjo dos grupos sobre a estrutura nuclear (HEIM; TAGLIAFERRO; BOBILYA, 2002) e é de interesse nutricional, pois tem sido associada a potencialização de efeitos promotores da saúde humana através da prevenção de várias doenças (GIADA; FILHO, 2006).

Barreto et al.(2009) estudaram 18 polpas de frutos tropicais e observaram que a atividade anti radical livre encontrada mostrou alta correlação como teor de compostos fenólicos totais e flavonoides, não sendo dependente da concentração de ácido ascórbico e carotenoides totais.

A acerola possui altos teores de duas classes de compostos muito conhecidos por suas propriedades antioxidantes: o ácido ascórbico (vitamina C), e as antocianinas, compostos fenólicos pertencentes à classe dos flavonóides. A concentração desses componentes na fruta varia de acordo com as condições climáticas, uso de pesticidas, localização geográfica, estágio de maturação, processamento ou condições de armazenamento (MERCALI et al., 2012).

Dentre os compostos bioativos em frutas e subprodutos de frutas pode-se destacar a importância do ácido ascórbico que é um agente nutricional e antioxidante que sofre a oxidação em função do alimento, preservando a sua qualidade (LEMES, 2013) e dos

compostos fenólicos que se encontram mais concentrados na casca e sementes (TAIZ; ZEIGER, 2006), sendo esses dois compostos capazes de atuarem como Compostos Antioxidantes, que segundo a FDA (US Food and Drug Administration), os antioxidantes têm sido definidos como substâncias que retardam a rancidez ou descoloração causada pela oxidação (ROCKENBACH et al., 2008).

Segundo Lima et al.(2000) e Araújo (2008), as características físico-químicas de frutos podem ser influenciadas por diversos fatores, a exemplo do grau de maturação, variedade, condições climáticas e edáficas, exposição ao sol, localização da fruta na planta, manuseio pós-colheita, tratos culturais e à própria cultivar.

Os compostos fenólicos foram considerados inicialmente compostos antinutricionais, devido a alguns efeitos adversos que produziam no metabolismo humano, exercidos principalmente pela classe dos taninos. Porém, estudos têm demonstrado a atuação benéfica dessas substâncias (HUBER e RODRIGUES-AMAYA, 2008).

O poder antimicrobiano de compostos fenólicos sobre microrganismos específicos, como *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* e *Helicobacter pylori* foi revelado por Santiago (2007).

Os antimicrobianos são definidos como substâncias químicas que eliminam ou inibem o crescimento de outros organismos. Do ponto de vista industrial, visam o controle do crescimento de microrganismos deteriorantes e patogênicos, retardando a deterioração biológica e prevenindo a disseminação de doenças transmitidas por alimentos, contribuindo desta forma com o prolongamento da vida de prateleira dos alimentos (SILVA, 2014).

Os compostos fenólicos podem ser explorados industrialmente, a fim de fornecer ao mercado de alimentos conservantes de origem natural, geralmente reconhecido como seguros (“GRAS”) e de baixo custo. Além do efeito antimicrobiano e sua significativa contribuição à manutenção e melhoria da saúde humana, desenvolvem-se pesquisas envolvendo o encapsulamento de substâncias naturais, como os compostos fenólicos, para o enriquecimento de produtos alimentícios (SILVA, 2014).

Os compostos antimicrobianos de origem vegetal (óleos essenciais, aldeídos, ésteres, ervas e especiarias) têm sido utilizados efetivamente na redução de patógenos e microrganismos produtores de esporos, em frutas e sucos de frutas (RAYBAUDI-MASSILA et al., 2009). Há uma demanda da indústria de alimentos em reduzir ou eliminar a utilização de substâncias antimicrobianas sintéticas (BUBONJA-SONJE; GIACOMETTI; ABRAM, 2011).

Estudos abordando o efeito antimicrobiano foram relatados por Donsi et al. (2011) utilizando nanoemulsão de óleos essenciais e Niu et al. (2016) em emulsões de óleo de tomilho estabilizadas por ovalbumina e goma arábica.

Os antimicrobianos naturais constituem cada vez mais uma nova forma de garantir uma alimentação segura, mantendo inalterada a qualidade dos alimentos. É observada uma tendência quanto ao uso destes compostos, que começa a crescer no mercado europeu, especialmente em combinação com outras técnicas modernas de controle, como a análise de riscos e o controle de pontos críticos. Em alguns países, como a Nigéria, por exemplo, os extratos de espécies com propriedades conservantes naturais são mais utilizados do que os antimicrobianos sintéticos. Os sistemas antimicrobianos naturais presentes nas plantas, animais ou microorganismos estão cada vez mais ganhando adeptos no âmbito da conservação natural, especialmente em atividades antimicrobianas a partir de extratos de várias espécies de plantas e partes de plantas (FOOD INGREDIENTS, 2010). Dessa forma, a redução ou eliminação da utilização de substâncias antimicrobianas sintéticas pode ser considerada uma demanda atual da indústria de alimentos (BUBONJA-SONJE; GIACOMETTI; ABRAM, 2011).

A simples ingestão do composto fenólico presente em vegetais não indica, necessariamente, sua atuação benéfica, sendo necessários constantes estudos a respeito da natureza do alvo biológico, das condições ambientais e da dosagem de compostos fenólicos ingerida, juntamente com a disponibilidade dessas substâncias. Estes fatores influenciam a eficácia destes compostos (SOUSA, 2008).

Bioacessibilidade refere-se à quantidade de um determinado nutriente presente em um alimento que é liberada no trato gastrointestinal durante a digestão (para cada nutriente se tem uma bioacessibilidade específica). Nem todo o conteúdo do nutriente presente no alimento é liberado durante a digestão, sendo que o conteúdo liberado é considerado a fração bioacessível para a absorção pelo organismo. Deste total de nutrientes biodisponíveis, apenas uma fração tornar-se-á acessível realmente para ser usada pelo organismo nas suas funções fisiológicas, ou ser estocado para uso posterior; isto é, apenas uma parte do total biodisponível será de fato absorvida pelo organismo (COZZOLINO, 2012).

Estudo sobre bioacessibilidade de cobre, ferro, zinco e antioxidantes de suco e fibra de caju foram descritos por Lima et al. (2014), bem como estudos sobre a bioacessibilidade de antioxidantes de cera de carnaúba foram relatados por Freitas et al. (2016).

3.3 Resíduos industriais como subproduto para a agroindústria

Durante o processamento para a produção de sucos, polpas congeladas, néctares, geleias e outros, as substâncias nutritivas encontradas nas cascas, sementes e bagaços são desprezadas. E em virtude do constante crescimento da industrialização, do mercado de frutas *in natura* e minimamente processadas, observa-se um grande aumento na geração de resíduos agroindustriais (MARQUES, 2013).

As atividades agroindustriais geram uma grande quantidade de resíduos vegetais anualmente, sem considerar o desperdício durante os processamentos. O destino dado para a maioria destes resíduos causa um déficit econômico na cadeia produtiva, uma vez que muitos deles são ricos em compostos bioativos que têm elevado valor comercial, além de potencializarem a poluição ambiental (BALASUNDRAM et al., 2006). O aproveitamento destes subprodutos pode contribuir muito para a melhoria do meio ambiente, tendo em vista os grandes volumes produzidos e eliminados em locais inadequados, provocando sérios problemas ambientais, podendo assim ser aproveitados em outras atividades (UCHOA et al., 2008; SOUSA et al., 2011).

Enormes quantidades de alimentos e materiais agrícolas produzidos e industrializados em todo o mundo faz necessário repensar uma maneira promissora de reduzir o desperdício e eliminação de custos na cadeia agro-alimentar com a exploração dos resíduos em operações unitárias como extração e fracionamento (SALDAÑA, 2015).

Resíduos industriais são conceituados como sendo aqueles provenientes do processo produtivo e instalações industriais (BRASIL, 2010), podendo ser reutilizados como um bem econômico e de valor social, gerando trabalho e renda, visando, dessa forma, o desenvolvimento sustentável.

Resíduos de alimentos provenientes de processamento de produtos de fontes de origem vegetal (frutas, legumes, grãos, cana de açúcar, entre outros) e fontes animais (leite, carne, peixe, mel e ovos) têm diferentes compostos, que podem ser separados e transformados em novos materiais, produtos químicos e bioenergia, aumentando o valor de resíduo, usando o conceito de biorefinação. Os objetivos da transformação de resíduos se concentram em primeiro lugar, proporcionar um novo produto com um valor mais elevado que o resíduo original; em segundo lugar, evitar a geração de resíduos para minimizar o impacto ambiental negativo; e terceiro, reduzir o custo de transporte para eliminar os resíduos (SALDAÑA, 2015).

Para a indústria de alimentos é importante a diferenciação entre resíduo e

subproduto. Resíduo é o produto que não é o objetivo final do processo produtivo, enquanto para ser um subproduto deve existir uma aplicação futura para este dentro de outro processo produtivo (FIPA FLASH, 2007).

Subprodutos agroindustriais são conceituados como sendo aqueles provenientes do processo produtivo e instalações industriais, que podem ser reutilizados, sendo utilizados como um bem econômico e de valor social, gerando trabalho e renda, visando, dessa forma, o desenvolvimento sustentável (BRASIL, 2010). A designação de resíduos é utilizada quando a amostra não apresenta valor comercial.

De acordo com Song e Barlow (2004), o teor de compostos funcionais em frutos tropicais depende do tecido analisado. De um modo geral, a vitamina C está uniformemente distribuída na fruta, os carotenóides ocorrem principalmente na superfície dos tecidos (na parte externa do pericarpo e na casca), os compostos fenólicos, com propriedades antioxidantes e antimicrobianas, estão localizados preferencialmente em casca e sementes e, em menor grau na polpa. A casca e as películas também são ricas em fibras (KALTA, 2005).

Portanto, os resíduos de frutas podem ser utilizados como aditivos naturais para melhorar aspectos sensoriais, enriquecer a capacidade antioxidante e a proteção antimicrobiana aos produtos de outros processamentos. Além disso, o maior percentual de utilização pode aumentar a rentabilidade industrial através de processos operacionais sustentáveis (AYALA-ZAVALA et al., 2010), contribuindo para a economia do país (DAMIANI et al., 2008).

O aproveitamento de resíduos, a nível industrial, é interesse para indústria alimentícia, pois, além da redução de custos de produção, a utilização desses resíduos provenientes do processamento de alimentos, contribui com a redução dos impactos ambientais (KUHN et al., 2015).

Estudos para elaboração de pós alimentícios a partir de subprodutos visando a elaboração de novos produtos tem sido desenvolvidos, como o de Costa et al.(2007) a partir da casca e bagaço de abacaxi, e de Uchoa et al. (2008), com bagaço de caju, goiaba e maracujá.

Pereira et al. (2013) realizaram caracterização físico-química e atividade antioxidante em farinha de resíduo de acerola (*Malpighia glabra* L.) e geraram valores para vitamina C e compostos fenólicos de 31,03 mg/100g, 88,38 mg/100g, e Marques et al. (2015) estudaram sobre o aproveitamento de resíduos de acerola na elaboração de barras de cereais ressaltam que os resíduos proporcionam agregação de valor nutricional, com compostos fenólicos e vitamina C, apresentando ainda reduzido teores de sódio e valores elevados de fibras alimentares e ferro.

Os bioativos usados como ingredientes nutracêuticos de alimentos funcionais estão presentes em resíduos de fruta através de peles / cascas (compostos fenólicos, carotenóides), farinhas de oleaginosas (vitaminas, peptídeos), soro de queijo (peptídeos), peixes (os ácidos graxos omega-3, péptidos), entre outros. Sua obtenção varia com as etapas de processamento, tal como, extração, fracionamento, purificação, e de formação de partículas para proporcionar estabilidade do produto. A eficácia da extração é afetado por vários parâmetros, tais como o tamanho de partícula e o teor de umidade do alimento, temperatura de extração e de pressão, o caudal de solvente, tempo de extração, e o uso de um co-solvente ou uma mistura de solventes (SALDAÑA, 2015).

Estudos visando o aproveitamento desses subprodutos de frutas, com o objetivo de uma posterior utilização de compostos específicos, como os compostos fenólicos, estão sendo abordados (SILVA, 2014).

3.4 Nanotecnologia aplicada em alimentos

A aplicação da nanotecnologia em alimentos é uma área nova, no entanto, já apresentando oportunidades na elaboração de produtos com características funcionais e nutracêuticas, o desenvolvimento de processos industriais e as embalagens ativas e inteligentes. Existe um grande interesse no desenvolvimento de embalagens antimicrobianas que liberem seus compostos ativos vagarosamente para a superfície do alimento inibindo a contaminação da superfície do alimento durante o armazenamento (MOREIRA, 2014 e CARVALHO, 2014).

A função mais importante da nanotecnologia aplicada em alimentos é fornecer produtos mais seguros e com maior qualidade nutricional. Porém, pela difusão dessa tecnologia ser recente, muitos consumidores estão incertos quanto à segurança destes novos produtos. Por isso, as certificações de segurança tornam-se necessárias. Os benefícios da nanotecnologia não podem ser prejudicados pela percepção equivocada de risco para o ambiente e a saúde humana com base em pouca ou nenhuma informação. Atualmente, grande parte dos estudos não apresenta nenhum risco previsível para os seres humanos ou para o ecossistema (SEATON; DONALDSON, 2005).

A utilização da nanotecnologia em produtos alimentícios se torna uma alternativa para efetivar a utilização de diferentes substâncias, como compostos bioativos, aumentando a estabilidade e características desejáveis dos mesmos, como cor, composição nutricional e compostos antioxidantes. Assim, o uso da nanotecnologia pode contribuir para o

desenvolvimento de alimentos modernos e convenientes, sem grandes prejuízos ao valor nutricional (ROBSON, 2011).

Dessa forma, a nanoencapsulação pode fornecer várias vantagens ao alimento, como proteção a ingredientes sensíveis em condições ambientais desfavoráveis, eliminação de incompatibilidades (solubilização) e mascaramento de características sensoriais desagradáveis (FATHI, MOZAFARI, MOEHBBI, 2012), visando aumentos potenciais na qualidade e propriedades funcionais dos alimentos (CUSHEN *et al.*, 2011).

A utilização de partículas em produtos alimentares deve evitar a reação entre os ingredientes alimentares e outros componentes, melhorar a qualidade sensorial, controle antimicrobiano, e aumentar a vida de prateleira (SALDAÑA, 2015).

Avanços na nanotecnologia têm aberto novas perspectivas para setores industriais e de consumo de alimentos, incluindo a redução do uso de conservantes, sal, gordura e surfactantes em produtos alimentícios; desenvolvimento de novos sabores e texturas, melhoria da absorção e biodisponibilidade de nutrientes e suplementos alimentares (CHAUDRY, CASTLE, 2011).

A tecnologia de encapsulação e a escolha de novos biopolímeros tem se mostrado de grande importância na indústria de alimentos, em particular no desenvolvimento de alimentos funcionais e saudáveis (CARMO, FERNANDES e BORGES, 2015).

Puerta *et al.* (2012) consideram que a nanotecnologia vem surgindo como uma rápida evolução e com um potencial de revolucionar a área dos alimentos em toda cadeia agrícola e, em relação ao Brasil, a pesquisa na área de nanotecnologia apresentou crescimento importante nos últimos anos.

Com a nanotecnologia os produtos alimentícios se tornam uma alternativa para efetivar a utilização de substâncias naturais, como os compostos bioativos, que proporciona o aumento da estabilidade e melhora as características desejáveis, como cor, composição nutricional e potencial antioxidantes. Assim, o uso da nanotecnologia pode contribuir para o desenvolvimento de alimentos modernos e convenientes, como os compostos bioativos encapsulados visando o enriquecimento de novos produtos com alegação funcional ao consumidor, além da geração de novos empregos e consequente incremento da economia regional e nacional (SILVA, 2014).

Em alimentos têm por finalidade facilitar sua adição em formulações, assim como manipulação e transporte, limitar as interações desses componentes com fatores ambientais, retardando as alterações que acarretam perda de aroma e de nutrientes e modificação da cor.

Ainda, controle da liberação de aromas durante armazenamento; evitar degradação química de compostos antioxidantes. Substâncias antimicrobianas são encapsuladas para aumentar sua eficácia, assim como, controlar sua liberação no alimento (GARTI; MCCLEMENTS, 2012).

A utilização de extratos de frutas tropicais para nanoencapsulação pode apresentar-se bastante interessante devido ao possível sinergismo observado entre os diversos compostos presentes nos extratos, que pode aumentar as propriedades bioativas e atividade antimicrobiana, quando comparado ao composto isolado, que normalmente é utilizado para estudos visando nanoencapsulação de compostos bioativos (SILVA, 2014).

As micro/nanopartículas podem estar presentes nos alimentos por adição como ingredientes utilizados para fabricação de produtos ou serem formadas durante o processamento (CARMO, FERNANDES e BORGES, 2015).

A micro/nanoencapsulação pode potencialmente oferecer numerosos benefícios aos ingredientes alimentares que estão sendo encapsulados. Várias propriedades dos materiais ativos podem ser alteradas por encapsulação. Por exemplo, as propriedades de manuseamento e fluxo podem ser melhoradas convertendo o líquido numa forma encapsulada em pó (FERNANDES, BORGESA e BOTREL, 2014).

Pesquisas foram desenvolvidas com o uso da nanotecnologia em alimentos por Donsi et al. (2011); Campos et al. (2015); Cheong, Tan e Nyam (2017).

No Brasil, o Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação aprovou a adesão do país ao projeto europeu NANOREG “A common European approach to the regulatory testing of Manufactured Nanomaterials”, que trata da regulação internacional de nanotecnologia e, têm como objetivo fornecer aos legisladores um conjunto de mecanismos e instrumentos para tomada de decisão, incluindo o monitoramento e controle para nanomateriais utilizados em produtos; estabelecer relação entre governos e indústrias, com relação a gestão apropriada dos riscos, e criar a base para abordagens comuns. Ainda, desenvolver novas estratégias de análises, adaptadas a um elevado número de nanomateriais (BRASIL, 2014; NANOREG, 2015).

3.5 Método de secagem

A secagem por atomização, mais conhecida por *spray dryer*, teve seus primeiros passos na metade do século XVIII, quando foi patenteada a primeira operação de secagem de ovos em 1865. Porém, o início de sua utilização como processo a nível industrial data da

década de 20. Os primeiros produtos a que se tem notícia como obtidos em larga escala com a secagem por *spray dryer* foram o leite e o sabão em pó (ROSA; TSUKADA e FREITAS, 2006).

A encapsulação pode ser definida como a inclusão de pequenas partículas sólidas, gotículas líquidas ou gases em um material de revestimento (DRUSCH et al., 2012), e permite a formação de uma barreira física entre o meio externo e os materiais sensíveis do núcleo, protegendo esses compostos da umidade, pH e oxidação (NESTERENKO et al., 2013). Esta técnica é aplicada em diversos setores, com vários propósitos, nomeadamente em:

- Melhorar as propriedades do material encapsulado, mascarando as características organolépticas (sabores, odores, cor) desagradáveis de alguns materiais;
- Transformar o estado físico das substâncias para melhor manipulação das mesmas;
- Possibilitar a otimização de formulações no que se refere à modulação da libertação da substância a encapsular;
- Estabilizar a substância a encapsular, evitando as reações de degradação decorrentes das condições adversas ao longo do trato gastrointestinal (e.g. pH, sistemas enzimáticos);
- Reduzir ou eliminar efeitos adversos provocados por algumas substâncias a encapsular (e.g. irritação gástrica provocada pelos anti-inflamatórios não esteróides);
- Separação de materiais reativos;
- Diminuição da toxicidade do composto bioativo;
- Controlar a biodisponibilidade;
- Diminuir a volatilidade, impedindo a perda de substâncias;
- Aumentar o tempo de conservação;
- Proteger as substâncias dos agentes atmosféricos (luz, umidade, calor e oxigênio) (DEYPERE et al., 2003; TRINDADE et al., 2008).

A encapsulação é descrita como uma técnica em que um composto bioativo é encapsulado por um biopolímero, que o protege do oxigênio, água ou outras condições para melhorar sua estabilidade (SAËNZ et al., 2009).

Ela representa uma alternativa de proteção contra a oxidação lipídica uma vez que a matriz polimérica do material de parede forma uma barreira e limita o transporte de oxigênio e, conseqüentemente, as reações de oxidação (CARNEIRO et al., 2013).

Existem diversos métodos de encapsulação, são métodos físicos, químicos e físico-químicos. O método físico tradicionalmente mais utilizado é o *spray dryer*. O método *spray drying* é um dos mais antigos métodos de encapsulação, tendo sido originalmente utilizado, na década de 30, para preparar os primeiros compostos contendo sabores encapsulados, usando como agente encapsulante a goma acácia (WILSON e SHAH, 2007).

Um dos objetivos da encapsulação é o de proporcionar uma barreira física entre a bioativo/revestimento e o meio externo. Como frequentemente o bioativo é afetado pela presença de oxigênio, luz, umidade, pH, entre outros, assim outros objetivos são aumentar a biodisponibilidade e mascarar indesejável qualidade sensorial que ele possa ter (SALDAÑA, 2015).

A diferença entre encapsulação, microencapsulação e nanoencapsulação está no tamanho da cápsula. A microencapsulação pode ser considerada como um método alternativo para aumentar a estabilidade de compostos bioativos em condições ambientais adversas, tais como armazenamento e processamento, e para preservar a sua atividade antioxidante. Esta técnica tem sido utilizada para encapsulação de diversos produtos como óleos, flavorizantes, extratos de plantas, enzimas, entre outros (SOUZA et al., 2014).

A aplicação da técnica do *spray drying* para a micro/nanoencapsulação envolve quatro etapas: preparo, homogeneização e aspersão de uma solução, seguida da desidratação da solução atomizada (secagem) (CARMO, FERNANDES E BORGES, 2015).

A operação de secagem em *spray dryer* (Figura 2) está baseada em quatro fases: 1. Atomização do líquido; 2. Contato do líquido atomizado com o ar quente; 3. Evaporação da água e 4. Separação do produto em pó do ar de secagem. O sistema é composto de um método de transformação do líquido em uma névoa, um aquecedor ou fonte de ar quente, uma câmara de mistura da névoa com o ar e um método de recuperar ou reter os sólidos secos a partir da corrente de ar (ROSA; TSUKADA e FREITAS, 2006).

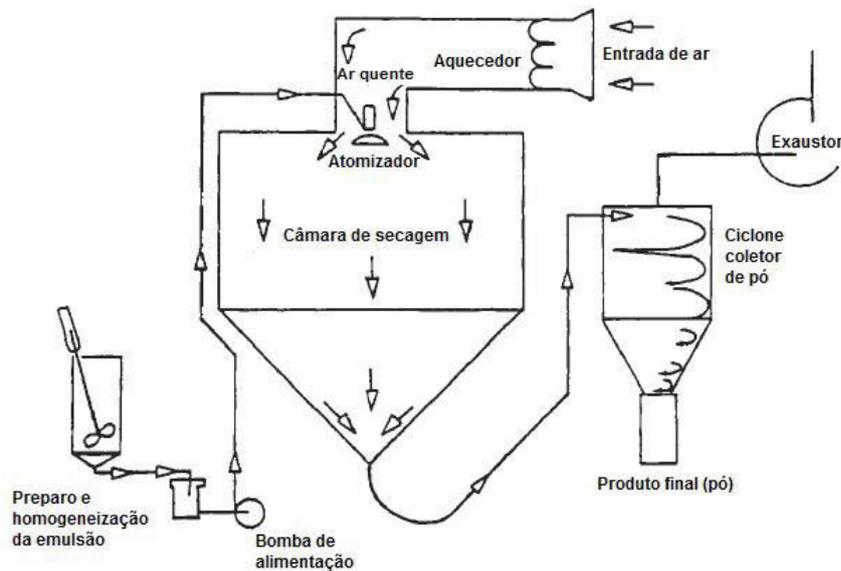
Rosa, Tsukada e Freitas (2006), explicam que dada sua versatilidade e o pequeno tempo de residência dos produtos na câmara de secagem, tornou-se o principal equipamento para a secagem de materiais que apresentam sensibilidade ao calor, como alimentos e materiais de origem biológica. Dentre estes: extratos e produtos oriundos de plantas, corantes, microrganismos, produtos com leveduras, enzimas e proteínas. Outro campo onde a

atomização tem adquirido destaque recentemente é na micro/nanoencapsulação de substâncias.

O *spray drying* tem sido muito utilizado em processos que envolvem micro/nanoencapsulação devido a sua facilidade de operação e boa relação custo benefício (FERNANDES, BORGES, BOTREL, 2014; CARMO, FERNANDES e BORGES, 2015).

A secagem por pulverização apresenta a vantagem de poder utilizar compostos ativos lipossolúveis e hidrossolúveis, com eficiência de 70% e 85% e produz microcápsulas de boa qualidade (FUCHS et al., 2006).

Figura 2 – Esquema geral de funcionamento do spray dryer



Fonte: Carmo, Fernandes e Borges (2015).

O material ativo é emulsificado com o material encapsulante e a emulsão é então bombeada e dispersa em forma de gotículas (*spray*), por meio de bicos atomizadores. Estas, por sua vez, seguem para uma câmara de secagem com fluxo de ar aquecido e, à medida que são lançadas, elas tomam forma esférica e, em contato com ar quente, a água se evapora rapidamente da cápsula, originando partículas sólidas e secas. A alta relação área de superfície/volume das partículas promove rápida evaporação da água, ou seja, na câmara de secagem, a grande área de contorno entre ar de secagem e a superfície das gotas permite a utilização de altas temperaturas para secagem do solvente, mantendo baixa a temperatura de gota. No fim do processo, já no separador, o ar sai do sistema por um lado do ciclone, enquanto o produto final sai pelo outro lado e pode ser recolhido por um recipiente coletor acoplado ao equipamento (PHISUT, 2012).

O processo de secagem por pulverização é econômico e flexível, usa equipamento que está prontamente disponível, e produz partículas de pó de boa qualidade (FERNANDES, BORGESA e BOTREL, 2014).

Çam, Içyer e Erdogan (2014) estudaram os efeitos das condições no microencapsulamento de compostos fenólicos da casca de romã e os resultados indicam uma temperatura de entrada de ar ótima de 160 °C.

A solução preparada para posteriormente passar pelo *spray dryer* também desempenha um papel importante na qualidade do pó obtido ao final do processo. Pode-se citar como parâmetros a considerar nessa etapa a concentração de sólidos totais, viscosidade, estabilidade e tamanho da gotícula (CARMO, FERNANDES e BORGES, 2015).

As características do pó produzido dependem principalmente das variáveis operacionais do secador (temperaturas de entrada e saída do ar do secador), da composição do produto, da concentração de sólidos presentes no material; velocidade de alimentação e também do tipo de adjuvante utilizado na formulação (OLIVEIRA, FIGUEIRÊDO e QUEIROZ, 2006).

Entre os diferentes métodos, o secador por atomização (*Spray dryer*), é o método de secagem mais comum usado na indústria alimentícia por ser econômico, flexível e contínuo (DEL-VALLE, 2004). É bastante utilizado para micro/nanoencapsulação de ingredientes (ARARUNA et al., 2013; BOTREL et al., 2014; HIJO et al., 2015). E tem sido empregado para encapsular sucos de frutos (BORGES et al.2003; OLIVEIRA et al., 2007; SILVA et al., 2013).

A micro/nanoencapsulação é descrita como um técnica em que um composto bioativo é encapsulada por um biopolímero, protegendo-o assim de oxigênio, água ou outras condições para melhorar a sua estabilidade, sendo utilizado diferentes tipos de agentes de encapsulação que incluem polissacáridos (amidos, maltodextrinas, xaropes de milho e goma arábica), lipídios (ácido esteárico, mono e diglicéridos), e proteínas (gelatina, caseína, soro de leite, soja e trigo). As maltodextrinas são obtidos por hidrólise ácida de vários amidos (milho, batata ou outros). Em geral, maltodextrinas tem alta solubilidade em água, baixa viscosidade, e são extensivamente utilizado na indústria alimentar (SAÉNZ et al., 2009).

A tecnologia de micro/nanoencapsulação de bioativos pouco solúveis em água tem atraído grande atenção na indústria alimentar para diversas aplicações como proteção da bioatividade e sua liberação controlada para melhorar a biodisponibilidade. A encapsulação de polifenóis ultrapassam os inconvenientes da sua instabilidade, podem aliviar sabores ou

aromas desagradáveis, bem como melhorar a vida de prateleira do composto *in vivo* e *in vitro*. (SARI et al., 2015).

A eficiência de encapsulação e a morfologia das partículas são discutidas por Saldaña (2015) que relatam depender do tipo de bioativos, revestimentos, a sua interação e parâmetros de processamento (por exemplo temperatura, pressão, o uso de co-solvente, taxa de fluxo, bocal de ID/comprimento, revestimento/relação de solvente, bioativo/relação de solvente, etc). A maioria das metodologias atualmente utilizadas para bioativos avaliam encapsulamento de três a oito parâmetros de processamento, análise de dados é uma comparação desafiadora.

A micro/nanoencapsulação pode manter a bioatividade de compostos bioativos (ROSA et al., 2013). No entanto, o grau de proteção fornecida pela micro/nanoencapsulação é determinado pela escolha do método de encapsulação.

3.6 Material de parede

O material da parede é proveniente de compostos que criam uma rede cuja principal finalidade é a proteção do material do núcleo. Esses compostos geralmente são protetores hidrofílicos e/ou grupos hidrofóbicos, cuja seleção depende do material do núcleo e as características desejadas das microcápsulas, tais como, a natureza e a estabilidade do material a ser encapsulado (CARMO, FERNANDES e BORGES, 2015).

Vários revestimentos têm sido usados para encapsular diferentes tipos de bioativos. No entanto, eles devem ser biodegradáveis e estáveis para evitar a reação com o bioativo e manter a estrutura bioativa, melhorar a sua funcionalidade durante o processamento e armazenagem em condições diferentes. O tipo de revestimento afeta a eficiência de encapsulação, bem como a sua morfologia final. Os revestimentos podem ser selecionados a partir de base biológica (carboidratos, lipídios e proteínas) e sintéticos (polímeros e copolímeros) (SALDAÑA, 2015).

A microcápsula consiste em uma camada de um agente encapsulante, geralmente um composto polimérico que atua como um filme protetor, isolando a substância ativa (gotículas líquidas, partículas sólidas ou material gasoso) e evitando o efeito de sua exposição inadequada. Essa membrana se desfaz sob estímulo específico (CARMO, FERNANDES E BORGES, 2015).

O revestimento em contato com os alimentos devem ser geralmente reconhecido como seguro (GRAS) para consumo humano. Portanto, o processo deve ser projetado para

atender os requisitos de segurança (SALDAÑA, 2015).

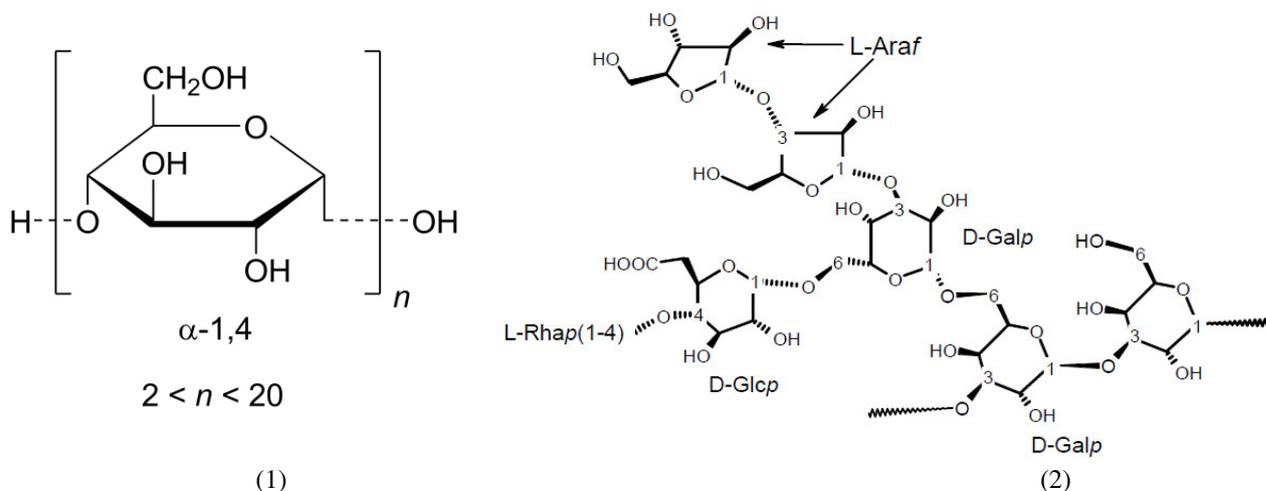
A seleção do material de parede depende do núcleo, da barreira de oxigênio desejada, e a qualidade sensorial do produto final para a alta eficiência da encapsulação, para promover a estabilidade do bioativo durante o armazenamento. Os revestimentos podem ser compostos por um único material ou de uma combinação de mais de um material. Os materiais de revestimento tradicionalmente utilizados para partículas são hidratos de carbono (amilose, amilopectina, dextrina, maltodextrina, polidextrose, xarope, goma, quitosana, galactomanana, pectina, goma arábica, xantano, carragenano, alginatos, e celulose modificada), proteínas (Zeína, hordeína, soro de leite, soja, caseinato de sódio e gelatina), e lipídios (triestearina e ceras) (SALDAÑA, 2015).

As características do polímero encapsulante são: ser capaz de formar um filme coesivo com o material a ser encapsulado, ser quimicamente compatível, não reagir com o núcleo e oferecer propriedades desejáveis de revestimento, tais como, resistência, flexibilidade, impermeabilidade e estabilidade (CARMO, FERNANDES e BORGES, 2015).

Para Carmo, Fernandes e Borges (2015), uma das principais áreas da pesquisa atual na área de micro/nanoencapsulação é a identificação de elementos estruturais apropriados e métodos de produção para a elaboração de partículas biopoliméricas de grau alimentício. Os carboidratos, as proteínas do leite e os novos biopolímeros emergentes constituem as três principais classes de materiais de parede disponíveis e adequados para a micro/nanoencapsulação por *spray drying*, sendo a goma arábica a mais utilizada.

Um número vasto de agentes encapsulantes vem sendo utilizados na proteção de compostos bioativos. Os materiais de parede também são conhecidos como transportadores ou agentes de encapsulação e podem apresentar diferentes origens como natural, sintética ou semi-sintética. Os agentes carreadores de elevado peso molecular, normalmente utilizados na secagem por pulverização incluem maltodextrina e goma arábica (Figura 3), principalmente por causa de sua elevada solubilidade e baixa viscosidade na mudança do material de alimentação (BHUSARI; KHALID; PRADYUMAN, 2014).

Figura 3 – Estrutura química da maltodextrina(1) e goma arábica (2)



Fonte: <https://pt.wikipedia.org/wiki> (2017).

Polímeros, tais como goma arábica e maltodextrina têm sido utilizados em estudos anteriores (SU et al., 2008; KHAZAEI et al., 2014; CHRANIOTI et al., 2015; OUTUKI et al., 2016) para encapsular extratos fenólicos obtidos a partir de fontes naturais.

Entre todas as gomas usadas na encapsulação, a goma arábica destaca-se devido às suas excelentes propriedades de emulsificação e, portanto, tem sido amplamente utilizada (DICKINSON, 2003). Para aumentar a efetividade do encapsulamento, são sugeridas misturas entre diferentes agentes encapsulantes (RÉ 1998; FERNANDES et al., 2008; BAE; LEE, 2008), como por exemplo a mistura de goma arábica (exsudato extraído do tronco e ramos de espécies de Acácia) e maltodextrina (um amido modificado, obtido a partir da conversão do amido). As características de excelente emulsificação e retenção de voláteis inerentes à goma arábica, somadas à baixa viscosidade, baixo custo e alto poder de proteção contra oxidação da maltodextrina, tornam essa mistura uma ótima escolha para material de parede na produção de micro ou nanopartículas (BUFFO et al., 2001; FERNANDES et al., 2008).

Fernades, Borgesa e Botrel (2014) salientam que embora a goma arábica seja considerada um excelente material de parede, vários problemas estão associados ao uso deste material para micro/nanoencapsulação, incluindo seu alto custo e sua oferta limitada.

Segundo Azeredo (2005), Fernandes et al. (2008) e Servat (2010), uma mistura em igual proporção de goma arábica e maltodextrina, usada como materiais encapsulante, foi bastante eficiente para microencapsulação de ativos naturais. Barbosa et al.(2005) encapsularam o pigmento bixina com goma arábica e maltodextrina e secaram em *Spray dryer* e observaram que a goma arábica proporcionou uma maior retenção do pigmento.

A goma arábica é um ingrediente versátil usado em sistemas alimentares devido à sua flexibilidade molecular, contendo funções de emulsificação, encapsulação, estabilização, formação de película dentre outras.

As maltodextrinas de diferentes equivalentes de dextrose são os polissacarídeos mais comumente utilizados para micro/nanoencapsulação. As maltodextrinas são obtidas por hidrólise ácida de vários amidos (milho, batata ou outros). Em geral, as maltodextrinas têm elevada solubilidade em água, baixa viscosidade e sabor formam soluções incolores e são extensivamente utilizados na indústria alimentar (SAÉNZ *et al.* 2009).

Uma vez que um único agente de encapsulação pode não possuir todas as propriedades ideais do material de parede, tem-se concentrado em misturas de carboidratos, gomas, proteínas, além de novos biopolímeros emergentes somado aos estudos dos parâmetros operacionais do processo de secagem (CARMO, FERNANDES e BORGES, 2015).

Fernandes, Borgesa e Botrel (2014) estudaram os efeitos da goma arábica, amido modificado, maltodextrina e inulina como material de parede e como interferiam nas propriedades das micropartículas, tais como retenção de óleo essencial de alecrim, estabilidade do produto, retenção de voláteis e morfologia e tamanho dos pós.

Os polifenóis são uma parte essencial da dieta diária. Contudo, seu sabor amargo e adstringente desagradável precisa ser mascarado especialmente em altas concentrações, antes da incorporação em produtos alimentares. Consequentemente, mecanismos de proteção são necessários para manter a atividade antes do consumo, permitindo eficiente e específico uso pelo organismo. A encapsulação também pode controlar a liberação de aroma/sabor e melhorar a estabilidade durante o processamento e o consumo, fortificar alimentos com vitaminas, esteróis, resveratrol, péptidos bioativos, e misturas com sais minerais (Fe, Ca, etc) (SALDAÑA, 2015).

A encapsulação é um método promissor para: primeiro, proteger bioativos, tais como os óleos ricos em lipídeos poli-insaturados, ácidos, vitaminas, péptidos, antioxidantes, minerais entre outros contra reações químicas; segundo, mascarar qualidades sensoriais desagradáveis; em terceiro lugar, evitar a evaporação ou a migração através do alimento; em quarto lugar, proporcionar estabilidade durante o processamento; quinto, auxiliar na libertação controlada; e sexto, aumentar a vida de prateleira (SALDAÑA, 2015).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Materiais

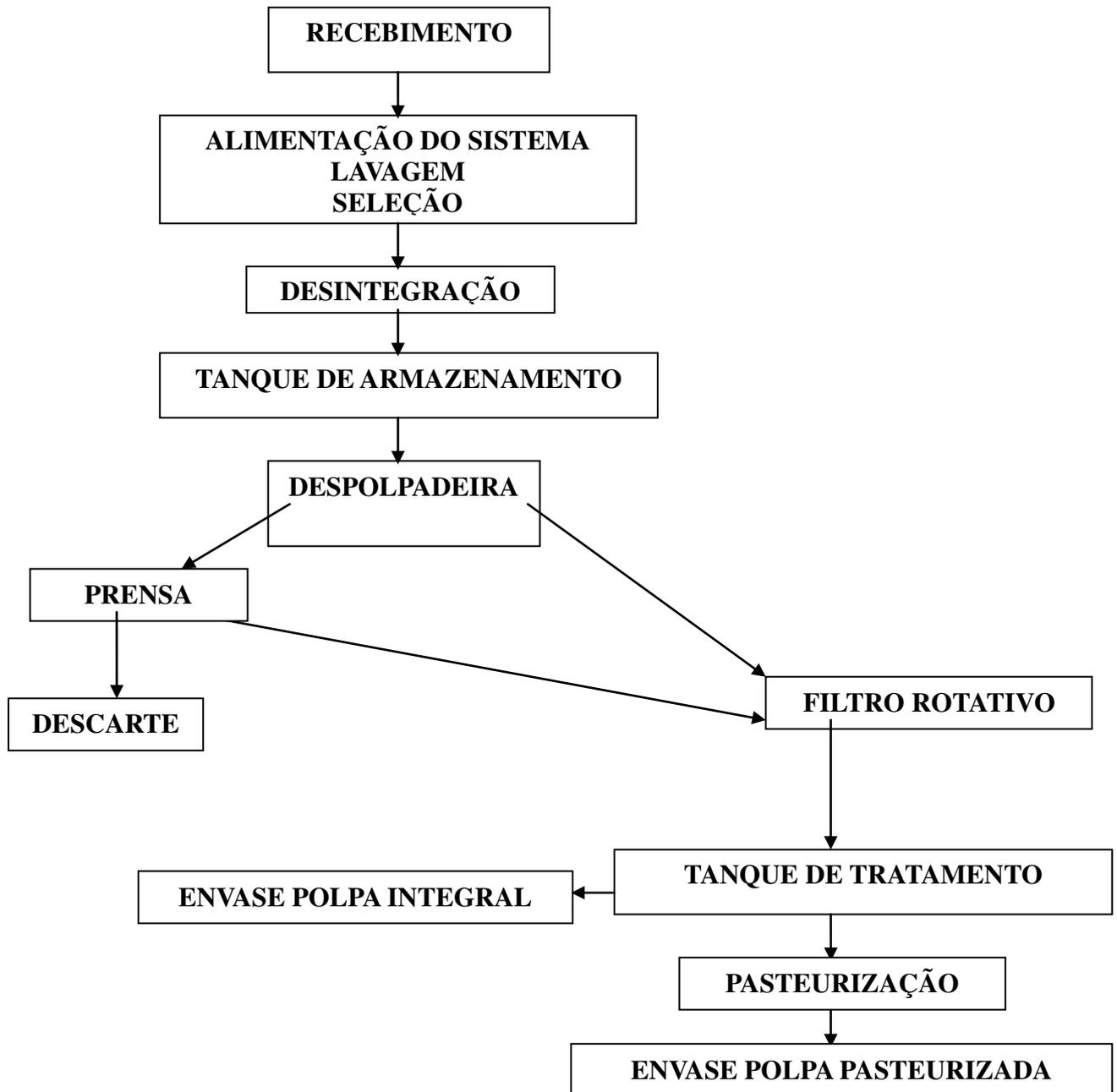
A matéria-prima, subproduto do processamento da polpa de acerola (*Malpighia puniceifolia*, *Malpighia emarginata*, *Malpighia biflora*, *Malpighia glabra* L. e *Malpighia retusa*) foi proveniente de uma indústria processadora de frutos localizada em Tianguá/Ceará. Os frutos utilizados para o processamento foram provenientes de plantio orgânico com certificação BMgLO-01-101 e registro de produto orgânico no MAPA CE-06588 000015-8, apresentando status de regulamentação no Mercado Brasileiro, Europeu e Americano.

A polpa e seus subprodutos foram fornecidos em três diferentes lotes para cada tipo de amostra a ser estudada, provenientes do ano de 2014, com frutos colhidos e processados nos meses de Março, Julho e Outubro de acordo com a disponibilidade da indústria.

Foram utilizados subprodutos de duas etapas distintas ao longo do processamento, um após o despulpamento e o outro após a passagem pelo filtro rotativo. A Figura 4 descreve o processo para a extração da polpa, sendo um procedimento padrão da indústria, garantindo assim a qualidade do processamento e os rigorosos padrões higiênico-sanitários certificados pelos Boas Práticas de Fabricação (BPF), Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC), American Institute of Baking (AIB), Certificado Kosher (termo usado para descrever o alimento permitido de acordo com as leis alimentares judaicas), Certificado Halal (Permissão de acordo com as leis alimentares árabes), que são programas atualmente implantados e em funcionamento.

Culturas puras de *Escherichia coli* ATCC 25922 e *Listeria monocytogenes* ATCC 19115, bem como os meios para os testes microbiológicos, BOD (Biochemical Oxygen Demand), ágar tripticase de soja (TSA), ágar com tripticase de soja e extrato de levedura (TSA-YE), caldo BHI (Ágar de Infusão de Cérebro-Coração) e caldo TSB (Peptona Caseína de Soja), para avaliação da atividade antimicrobiana.

Figura 4 - Fluxograma do processamento da polpa de acerola



Fonte: Empresa processadora da Matéria-Prima.

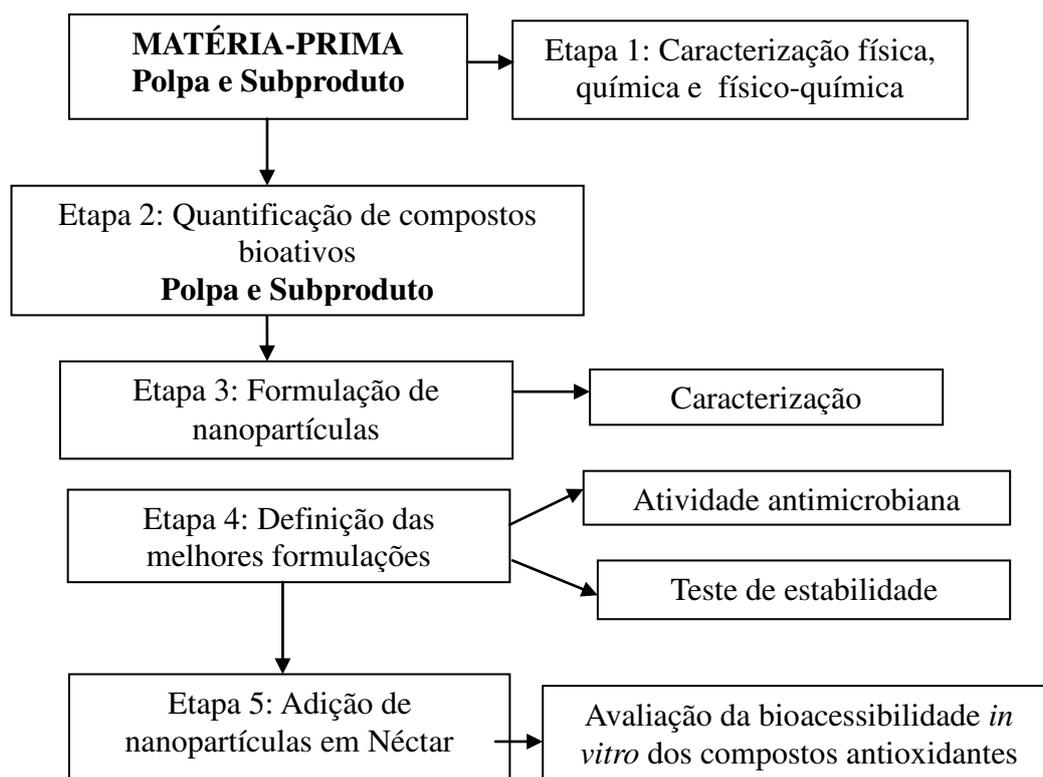
As amostras obtidas foram acondicionadas em embalagens de polietileno fechadas e protegidas da luz, sob congelamento, até o momento das análises.

Foram utilizados para a formulação do material encapsulado: Goma Arábica (GA) (VETEC); Maltodextrina (M) (SIGMA-ALDRICH) e Tween 40 (TW) (SIGMA-ALDRICH).

4.2 Planejamento Experimental

O projeto foi dividido em cinco etapas distintas, apresentadas na Figura 5 e descritas posteriormente.

Figura 5- Fluxograma de desenvolvimento da pesquisa



Fonte: A Autora (2017).

4.2.1 Etapa 1: Caracterização física, química e físico-química da polpa e subprodutos da acerola

Os subprodutos (despolpadeira e filtro rotativo) foram inicialmente liofilizados para posterior utilização nas análises.

Esta etapa teve por objetivo principal caracterizar a polpa e subprodutos da acerola. A caracterização física, química e físico-química foi realizada através de análises de pH (IAL, 2008), cor (L^* , a^* , b^*), sólidos solúveis ($^{\circ}$ Brix) (IAL, 2008), acidez titulável (IAL, 2008), açúcares totais e redutores (MILLER, 1959).

4.2.2 Etapa 2: Quantificação de compostos bioativos da polpa e subprodutos da acerola

Para a quantificação dos compostos bioativos, foi elaborado um extrato para cada amostra a ser analisada. Inicialmente o subproduto da acerola, composto por película, sementes e fibras foi liofilizado (Christ beta 1-8 LD-plus) a -37,0 °C sob vácuo e moído (Liquidificador Industrial VITALEX modelo LI02).

Para a obtenção dos extratos, fez-se opção por duas extrações, uma em água destilada e outra em solução etanólica 50%, método otimizado por Moreira (2014) e Carvalho (2014), já que apresentaram bons resultados para vitamina C, polifenóis extraíveis totais e capacidade antioxidante, utilizando a concentração de 0,25g/mL. Pesou-se 1g de cada subproduto e solubilizou-se em 4mL de água destilada ou solução etanólica 50%. Homogeneizou-se a 15000 rpm em Ultra Turrax (IKA T18 Basic) por 3 min., posteriormente centrifugou-se (ROTINA 380/380R) a 10000 rpm a 20°C por 10 min. sendo o sobrenadante filtrado e utilizado para caracterização e demais etapas do projeto.

Para a avaliação das propriedades bioativas, as amostras foram submetidas as análises de vitamina C (IAL. 2008), compostos fenólicos totais (LARRAURI; RUPÉREZ e SAURA-CALIXTO, 1997), carotenóides totais, antocianinas (NAGATA e YAMASHYITA, 1992), flavonóides amarelos (FRANCIS, 1982) e atividade antioxidante total (ABTS^{•+}) (RE et al. , 1999; RUFINO et al., 2007), conforme descrito no item 3.3.1.

4.2.3 Etapa 3: Formulação das nanopartículas utilizando os extratos dos subprodutos do processamento da polpa de acerola

Esta etapa tem como objetivo elaborar e caracterizar as nanopartículas produzidas com os subprodutos de acerola, visando sua aplicabilidade em alimentos. As formulações foram preparadas com variações na quantidade de goma arábica e maltodextrina a fim de estudar a melhor concentração do material de parede que promovesse a preservação mais eficiente dos compostos bioativos presentes no extrato de subprodutos de acerola.

As formulações de nanopartículas foram caracterizadas química, físico-química e fisicamente.

4.2.3.1 Preparação das formulações

Para o preparo da matriz utilizada na nanoencapsulação, inicialmente foi realizado

a solubilização da Goma Arábica em água destilada utilizando agitação e temperatura máxima de 50°C. A maltodextrina foi então solubilizada em água destilada e adicionada à solução de Goma Arábica, sendo finalmente adicionado, sob gotejamento e agitação, a solução aquosa de Tween 40, com valor fixo para todas as formulações de 0,01g solubilizada em 10ml, e o extrato do subproduto liofilizado da acerola. Após ser aferido no volume de 100 mL, a solução foi homogeneizada no Ultra Turrax por 2 min. utilizando uma rotação de 11.000 rpm, sendo submetida posteriormente a secagem através de *spray dryer*. O extrato utilizado para o preparo das formulações foi o mesmo utilizado na caracterização do subproduto da despoldadeira, 25g/ml. Os parâmetros utilizados no *spray dryer* para a atomização do material foram: temperatura do ar de entrada de 165°C, taxa de aspiração de 90%, taxa da bomba 10%, sem parada para limpeza do bico injetor (BÜCHI MINI SPRAY DRYER B-290).

O planejamento experimental esta apresentado na Tabela 1. Os efeitos das variações das quantidades de Goma Arábica (Amostras A, B, C), de Maltodextrina (Amostra D em relação a A) e do Extrato (Amostra E em relação A) foram estudados. As amostras F e G correspondem a formulações contendo somente Goma Arábica e extrato em concentrações diferentes, todas para um volume final de 100 mL.

Tabela 1 – Planejamento Experimental

Nanopartícula	Goma Arábica GA(g)	Maltodextrina MA(g)	Extrato de subprodutos de acerola EXT(g)
A (1:1:1)	0,25	0,25	1,75
B (2:1:1)	0,50	0,25	1,75
C (3:1:1)	0,75	0,25	1,75
D (1:2:1)	0,25	0,50	1,75
E (1:1:2)	0,25	0,25	2,5
F (2:0:1)	0,50	0,0	1,75
G (2:0:2)	0,50	0,0	2,5

Fonte: Dados da Pesquisa (2017).

As nanoparticulas obtidas no planejamento experimental foram submetidas as análises de Rendimento (JUN-XIA et al., 2011), tamanho de partículas, potencial zeta, infravermelho, eficiência de encapsulamento (ALISHAHI et al., 2011), dopagem (PAULA et al., 2010), vitamina C (IAL, 2008), polifenóis extraíveis totais (LARRAURI; RUPÉREZ e SAURA-CALIXTO, 1997) e atividade antioxidante (RE et al. , 1999; RUFINO et al., 2007).

Para o encapsulamento utilizou-se a emulsão como método de preparação com posterior secagem desta emulsão em *spray dryer* para a formulação das nanopartículas.

Após encapsulamento em *Spray Dryer* todas as formulações foram analisadas e quantificadas quanto ao seu conteúdo de Vitamina C, Polifenóis Extraíveis Totais e Capacidade Antioxidante com o intuito de comparar as formulações identificando o efeito que o material de parede tem na retenção desses compostos, determinar eficiência de encapsulamento e dopagem do princípio ativo e por fim a indicação da melhor formulação.

O uso da goma arábica e da maltodextrina como material de parede para as formulações, se deu devido a biocompatibilidade com elevada solubilidade e baixa viscosidade sem serem tóxicas, esta combinação foi estudada e comprovada por Tolun, Altintas e Artik (2016).

4.2.4 Etapa 4: Definição e estudo das melhores formulações: atividade antimicrobiana e estabilidade acelerada

A partir dos resultados da caracterização da etapa anterior foram selecionadas as melhores formulações com relação ao conteúdo de vitamina C, polifenóis extraíveis totais e a atividade antioxidante para determinação da atividade antimicrobiana relacionada a microrganismos patogênicos e sua estabilidade ao longo do tempo.

Foi determinada a concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bacteriana mínima (CBM) para *Listeria monocytogenes* ATCC 19115e *E coli* ATCC 25922 (BRANEN e DAVIDSON, 2004 e BRANDT et al., 2010) e a análise de Vida de Prateleira através de um ensaio de estabilidade acelerada (SAÉNZ et al., 2009).

4.2.5 Etapa 5: Adição de nanopartículas em néctar de acerola

Nesta etapa foi formulado um néctar de acerola adicionado de nanopartículas contendo extrato do subproduto do processamento da polpa de acerola, 0,5mg de nanopartícula/ml de néctar (RUIZ-RICO et al., 2017). O néctar foi desenvolvido de acordo com a Instrução Normativa nº12/2003 e submetido à avaliação da bioacessibilidade *in vitro* dos compostos bioativos.

4.3 Descrição das metodologias utilizadas

As metodologias para as análises físicas, químicos e físico-químicas e de componentes bioativos estão descritas a seguir. Todas as análises foram realizadas em

triplicata.

4.3.1 Determinações físicas, químicos e físico-químicas e compostos bioativos

4.3.1.1 pH

O pH foi determinado através de leitura direta, em potenciômetro de marca JENWAY 3505 pHMeter, calibrado com soluções tampão de pH 4,0 e 7,0, conforme IAL (2008).

4.3.1.2 Sólidos solúveis (SS)

As determinações dos sólidos solúveis (SS) foram feitas em refratômetro digital (ATAGO PR-1010) com escala de 0 a 45 °Brix, através de leitura direta para as amostras e após filtração, em papel de filtro qualitativo, para os subprodutos. Os resultados foram expressos em °Brix, de acordo com IAL (2008).

4.3.1.3 Atividade de água (Aa)

A atividade de água foi determinada por medida direta da amostra a 25 °C em equipamento digital de medidor de atividade de água portátil *AQUALAB-4TE*, após estabilização da leitura, conforme metodologia do IAL (2008).

4.3.1.4 Acidez total titulável (ATT)

Para determinação da acidez total titulável (ATT), inicialmente, foram pesados cerca de 1,0 g de polpa e 0,5g de subproduto, sendo adicionados 50mL de água destilada e adicionadas 2 a 3 gotas de fenolftaleína. Em seguida, foi feita a titulação com solução de NaOH 0,1 M até mudança de cor para róseo claro. Os resultados foram expressos em porcentagem de ácido cítrico, segundo metodologia descrita pelo IAL (2008).

4.3.1.5 Açúcares redutores (AR) e Açúcares totais (AT)

Os açúcares redutores foram determinados através da técnica que utiliza o

reagente DNS (ácido 3,5-dinitrosalicílico), conforme metodologia descrita por Miller (1959). O extrato foi obtido a partir da diluição de 5g de amostra polpa e 1g para amostras do subproduto em 40 mL de água destilada. Após esse procedimento, a mistura foi submetida a tratamento térmico em banho-maria à temperatura de 60 a 70 °C/5 minutos. As amostras foram transferidas individualmente para balão volumétrico de 100 mL, o qual foi aferido com água destilada, sendo realizada homogeneização e filtração em papel de filtro qualitativo. Em tubos de ensaio, uma alíquota de 0,5 mL do extrato foi tomada e adicionado 1 mL do reagente DNS, seguido de agitação, aquecimento em banho-maria a 100 °C/5 minutos e imediato resfriamento em banho de gelo. Foi adicionado a cada tubo 7,5 mL de água destilada e a leitura foi realizada em espectrofotômetro de marca SHIMADZU, modelo UV-1800, no comprimento de onda de 540 nm, sendo obtida a absorbância para cada amostra, a qual foi inserida em curva padrão de glicose, obtendo-se a concentração de açúcar. A partir das concentrações obtidas foram determinados os teores percentuais de açúcares redutores, calculados através da equação:

$$\% \text{ Açúcares redutores} = \text{concentração} / (\text{volume alíquota} \times \text{peso da amostra} \times 100)$$

Para os açúcares totais, foi inicialmente realizada uma inversão ácida a partir do extrato de açúcar redutor. Foram adicionados, para cada amostra, 2 mL de ácido clorídrico em 25 mL do extrato de açúcar redutor, que foi submetido a banho-maria entre 70 a 80 °C/30 minutos, seguido de imediato resfriamento em banho de gelo. Em seguida, a solução foi neutralizada utilizando NaOH 20%, com auxílio de papel de pH, tendo como padrão H₂O. A amostra foi transferida para balão volumétrico de 50 mL, o qual foi aferido com água destilada, obtendo-se o extrato de açúcar total. Em tubos de ensaio, foram adicionados 1 mL do extrato, 1 mL do reagente DNS, seguido de agitação e aquecimento em banho-maria a 100 °C/5 minutos e imediato resfriamento em banho de gelo. Foi adicionado a cada tubo 7,5 mL de água destilada e a leitura foi realizada em espectrofotômetro de marca SHIMADZU, modelo UV-1800, no comprimento de onda de 540 nm, sendo obtida a absorbância para cada amostra, que foi inserida em uma curva padrão de glicose, obtendo-se a concentração de açúcar. As concentrações obtidas foram utilizadas para determinação dos teores percentuais de açúcar total, através da equação 1:

$$\% \text{ Açúcares totais} = \text{Concentração} / (\text{volume da alíquota} \times \text{peso da amostra} \times 50) \text{ (Eq.1)}$$

4.3.1.6 Vitamina C

O conteúdo de ácido ascórbico foi determinado através do método titulométrico com Iodato de Potássio, baseado na oxidação do ácido ascórbico pelo iodato de potássio. O ácido ascórbico consegue reduzir o iodo a iodeto. Neste método utiliza-se o caráter redutor do ácido ascórbico para quantificar através da reação, em meio ácido, com o iodo. Uma solução de iodato, de concentração conhecida, é adicionada à solução contendo a amostra e o iodeto, desencadeando uma reação que quando todo ácido tiver sido consumido, o iodo permanece na solução, conferindo-lhe uma coloração acastanhada. Este é o ponto final da titulação. Os resultados foram expressos em mg/100g de ácido ascórbico (IAL, 2008).

Homogeneizou-se a amostra e pesou-se 1g de polpa de acerola em 9 ml de água destilada, ou 50mg de nanopartícula em 10 ml de água destilada, todas apresentando volume final de 10 mL. Transfiriu-se a mistura para um frasco Erlenmeyer de 250 mL com auxílio de aproximadamente 75 mL de água. Adicionou-se 2,5 mL de solução de iodeto de potássio, 2,5 mL da solução ácido clorídrico e 0,5 mL de solução de amido. Titulou-se com solução de iodato de potássio até coloração azul escuro. O cálculo se deu de acordo com a equação 2.

$$\text{Cálculo } \frac{100 \times V \times F}{P} = \text{vitamina C mg por cento m/m (Eq.2)}$$

V = volume de iodato gasto na titulação

F = 8,806 ou 0,8806, respectivamente para KIO₃ 0,02 M ou 0,002 M

P = n° de g da amostra

4.3.1.7 Equivalente de β-caroteno

Os teores de β-caroteno foram obtidos de acordo com metodologia descrita por Nagata e Yamashita (1992). Em um tubo de ensaio de 25 mL foram pesados 1g de polpa ou resíduo de fruta, sendo adicionado ao mesmo 10 mL de uma solução extratora contendo acetona:hexano (4:6), submetido então a agitação por 1 minuto. Após agitação, a solução foi filtrada com auxílio de papel de filtro e transferida imediatamente para outro tubo de ensaio, sendo submetida a leitura em espectrofotômetro nos comprimentos de onda de 453nm, 505nm, 645nm e 663nm. O resultado foi expresso em µg equivalente de β-caroteno/100g de amostra.

Os resultados foram expressos em µg/100g de amostra através da equação 3: (-0,0458*a₆₆₃ + 0,204*a₆₄₅ + 0,372*a₅₀₅ - 0,0806*a₄₅₃)*1000 para licopeno e (0,216*a₆₆₃ - 1,22*a₆₄₅ - 0,304*a₅₀₅ + 0,452*a₄₅₃)*1000 para β-caroteno, onde ax = absorvância no

comprimento λ de onda.

4.3.1.8 Antocianinas totais

Foram determinadas segundo a metodologia descrita por Francis (1982). No procedimento 1g da amostra foi homogeneizado com solução extratora (HCl 1,5 Molar e etanol 85%) para sua extração. As amostras foram homogeneizadas e o conteúdo transferido para um balão volumétrico de 50 mL ao abrigo da luz, o qual foi aferido com a solução extratora, homogeneizado e transferido para frasco âmbar. O sistema foi submetido a 13 horas de repouso sob refrigeração e na ausência de luz. Após esse período o extrato foi filtrado e submetido a leitura em espectrofotômetro de marca SHIMADZU, modelo UV-1800 a 535 nm. Os resultados foram expressos em $\text{mg} \cdot 100 \text{ mL}^{-1}$ e calculados através da equação 4:

$$\text{Antocianinas totais (mg} \cdot 100 \text{ mL}^{-1}) = (\text{absorbância} \times \text{diluição} \times 100) / \text{peso} \times 98,2. \text{ (Eq. 4)}$$

4.3.1.9 Polifenóis extraíveis totais

Os polifenóis extraíveis totais foram determinados através de metodologia que utiliza o reagente de Folin-Ciocalteu, utilizando ácido gálico como padrão, conforme metodologia descrita por Larrauri; Rupérez e Saura-Calixto (1997). A extração foi realizada usando 5g de polpa, em seguida foram adicionados 20 mL de solução de etanol 50% (primeira solução extratora). A mistura obtida foi homogeneizada e deixada em repouso por 1 hora para extração, protegida da luz. Em seguida, a mistura foi centrifugada a 3.000 rpm por 15 minutos. Após a centrifugação, o sobrenadante obtido foi filtrado e colocado em um balão de 50 mL protegido da luz. Ao precipitado foram adicionados 20 mL de uma solução de acetona 70% (segunda solução extratora), ficando em repouso por mais 1 hora, protegido da luz. Em seguida a mistura foi centrifugada a 3.000 rpm por 15 minutos. O segundo sobrenadante obtido foi misturado ao primeiro no mesmo balão de 50 mL, o qual foi aferido com água destilada, obtendo-se assim o extrato para determinação dos polifenóis extraíveis totais e atividade antioxidante. Em tubos de ensaios foram adicionadas alíquotas variando de 30 μ L dos extratos (dependendo da polpa ou formulação analisada) e adicionada água destilada para completar o volume de 0,5 mL. Foram então adicionados 0,5 mL do reagente Folin-Ciocalteu (1:3), 1,0 mL de NaCO_3 e 1,0 mL de água destilada. Os tubos de ensaio foram agitados em agitador vortex para homogeneização e deixados em repouso fora do alcance da luz, por 30

minutos. Decorrido o tempo, a leitura foi realizada em espectrofotômetro de marca SHIMADZU, modelo UV-1800 a 700 nm, usando como referência a curva padrão de ácido gálico. Os resultados foram expressos em mg de ácido gálico (AG).100 g⁻¹ de amostra.

Para os subprodutos a extração foi realizada pela técnica da turbólise segundo metodologia adaptada de Lagos *et al.*(2012) utilizando aparelho desintegrador de tecidos (marca Ultra Turrax IKA modelo T25 basic) em meio aquoso. Os parâmetros utilizados para a extração foram estudados e otimizados por Carvalho (2014) e Moreira (2014) quanto a velocidade de rotação do equipamento, tempo de extração, concentração e volume da solução extratora. Desta forma, foi utilizado os valores de 1g de subproduto para cada 4ml de água ou solução etanólica 50%, sendo homogeneizado/desintegrado a 15.000rpm por 3 min. Após a extração, as amostras de cada tratamento foram centrifugadas a 10000 rpm por 10 minutos a 20 °C (ROTINA 380-r) e, em seguida, filtradas em papel de filtro (marca Qualy[®]) com diâmetro de 12,5 cm, gramatura de 80g/m³ e porosidade de 14 µm. Os extratos foram acondicionados em frascos plásticos escuros e armazenados a -18 °C até realização das análises.

Os polifenóis e a atividade antioxidante foram quantificados utilizando dois extratos, um com extração em água e outro com extração em solução etanólica 50%, de acordo com os estudos de Moreira (2014) e Carvalho (2014).

4.3.1.10 Atividade antioxidante

A Atividade Antioxidante Total foi determinada através dos extratos descritos no item 3.3.1.9, conforme metodologia descrita por Re *et al.*(1999) adaptada por Rufino *et al.*(2007), cujo método baseia-se na habilidade dos antioxidantes, presentes no extrato da fruta, de capturar o radical livre ABTS[•] [2,2'-azino-bis-(ácido 3-etilbenzotiazolino-6-sulfônico)], o que provoca a descoloração da solução e, conseqüentemente, o decréscimo da absorbância, que é medida espectrofotometricamente a 734 nm. Foi utilizada uma curva padrão da Solução padrão de Trolox 2 mM preparado com etanol absoluto utilizando concentrações entre 100 e 2000 µM.

Em ambiente escuro, com as análises realizadas em triplicata para cada concentração, foram misturados 30 µL das soluções de Trolox com 3 mL da solução do radical ABTS preparada. As absorbâncias foram medidas em espectrofotômetro (SHIMADZU UV-1800) a 734 nm, 6 minutos após a adição da solução do radical. A partir

dessa curva foi obtida uma equação, da qual calculou-se a absorvância referente a 1000 µM de Trolox.

Utilizando o extrato obtido (item 4.3.9.1.9), foram preparadas três concentrações: polpa (30.000, 16.000 e 8.000mg/L) e nanopartícula (25.000, 16.667 e 8.333 mg/L). Seguindo os mesmos procedimentos utilizados na determinação da curva padrão uma equação linear 2, também foi obtida. A AAT das amostras foi calculada substituindo na equação 2 a absorvância equivalente a 1000 µM de Trolox. Os resultados foram expressos como capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC) em µM Trolox/g de amostra.

4.3.1.11 Determinação da cor

Para a determinação da cor foi utilizado um colorímetro modelo COLORQUEST/XE - HUNTERLAB, as amostras foram inseridas em quantidades suficientes a lâminas de vidro que se acoplam ao sensor do equipamento, calibrado para a cor branca. Os resultados foram expressos de acordo com as coordenadas CIE lab que incluem as variáveis L*, que indicam a luminosidade do produto, e que varia de claro a escuro; a*, que indica a cromaticidade no eixo da cor, variando de verde (-) para vermelho (+); e b*, que indica a cromaticidade no eixo da cor, variando de azul (-) para amarelo (+).

4.3.1.12 Rendimento do processo de liofilização do subproduto (X)

Considerou-se que o rendimento do processo de secagem por liofilização do subproduto foi igual à massa seca de subproduto obtido sobre a massa úmida inicial do subproduto (Eq. 5), sendo ambas as massas na mesma unidade de medida(g ou Kg).

$$\% X = \frac{\text{Massa seca} \times 100}{\text{Massa úmida}} \text{ (Eq. 5)}$$

4.3.2 Metodologias para avaliações microbiológicas

As avaliações microbiológicas realizadas nas amostras selecionadas foram feitas conforme metodologia recomendada pelo APHA (2001) e SILVA *et al.*(2001).

4.3.2.1 Coliformes a 35°C e 45 °C

Para a análise de coliformes, inicialmente foram selecionadas três diluições adequadas (10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3}) de cada amostra, as quais foram inoculadas em uma série de três tubos de caldo lactosado por diluição, adicionando-se 1,0 mL da diluição por tubo. Os tubos de caldo lactosado foram incubados a 35 °C/24 horas. Após o período de incubação, foram obtidos os resultados com base na formação de gás dentro dos tubos.

Havendo a presença de gás nos tubos de Duhan, uma alçada bem carregada do material de cada tubo de ensaio com produção de gás foi transferida para um tubo contendo caldo *E.coli* (EC), onde os mesmos foram incubados em banho-maria 45,5 °C/24 horas. A produção de gás dentro dos tubos indica contagem de coliformes a 45 °C, e nesse caso, os resultados foram visualizados em uma tabela adequada de número mais provável (NMP) e expressos em NMP/g de amostra.

4.3.2.2 *Listeria* spp.

As amostras foram submetidas à análise de *Listeria* spp. Cada amostra de foi homogeneizada de acordo com o procedimento proposto por SILVA *et al* (2001). Foram transferidas 25 g de cada amostra para 225 mL de Caldo de Enriquecimento para *Listeria* Tamponado (BLEB), previamente preparado e esterilizado, incubado em estufa bacteriológica a 30 °C/48 h.

Após a incubação, o inóculo foi estriado por esgotamento no meio Ágar Oxford (OXA) e meio Ágar *Listeria* de Ottaviani & Agosti (ALOA), sendo incubado a 35 °C/24-48 h. Decorrido o tempo de incubação, foram selecionadas pelo menos cinco colônias típicas de ambas as placas, submetidas à realização de testes bioquímicos que compreenderão: Catalase, Gram, motilidade, hemólise e testes de fermentação de carboidratos (Dextrose, Ramnose, Xilose, Manitol e Maltose).

4.3.3 Caracterização das nanopartículas

4.3.3.1 Tamanho e distribuição das nanopartículas e potencial Zeta

O tamanho e distribuição das partículas foram verificados utilizando um analisador de tamanho de partículas Zetasizer Nano (modelo ZS 3600 Malvern), sendo a água

o meio dispersante e temperatura de 25°C. Os resultados foram mostrados em forma de gráficos tendo o volume das cápsulas como função do tamanho das partículas. A análise foi realizada em triplicata. Foi utilizada a concentração 10^{-3} g/mL.

As amostras foram diluídas em água destilada, sendo as soluções filtrados antes de serem utilizados para evitar contaminação da amostra. A contaminação por poeira é um fator que interfere, pois a quantidade de luz espalhada aumenta com a quantidade de poeira na dispersão (ZETASIZER, 2005).

4.3.3.2 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FTIR)

As nanopartículas foram analisadas utilizando pastilha de KBr (brometo de potássio para espectroscopia), utilizando o equipamento FT-IR 8300 (SHIMADZU) com resolução de 4 cm^{-1} e 10 varreduras na faixa de 4000 a 400 cm^{-1} .

4.3.3.3 Rendimento do processo de atomização (Y)

Quanto ao Rendimento (Y), este foi calculado com base no teor de sólidos do material de parede (M1 = Goma Arábica, e M2 = Maltodextrina) e a quantidade de material do núcleo (N) usado para a encapsulação através do conteúdo de sólidos solúveis, de acordo com a Eq. (6) (Jun-Xia et al., 2011).

$$\% Y = \frac{\text{peso final das nanopartículas}}{(M1 + M2 + N)} \times 100 \text{ (Eq. 6)}$$

4.3.3.4 Eficiência de Encapsulamento

Para o cálculo da Eficiência de encapsulamento (EE) as formulações foram solubilizadas em água destilada nas concentrações de 25mg/mL para atividade antioxidante; 1mg/mL para polifenóis e 5mg/mL para vitamina C, posteriormente agitada em Vortex por 2 min. A Eficiência de encapsulamento foi calculada usando a Eq. (7), em que representa Ct o conteúdo do componente no extrato puro e Cs o conteúdo do componente na formulação solubilizada (Alishahi et al., 2011).

$$\% EE = \frac{Ct - Cs}{Ct} \times 100 \text{ (Eq. 7)}$$

4.3.3.5 Dopagem

O cálculo da Dopagem (D) foi calculado (Eq. 8) pela diferença dos compostos bioativos presentes após o processo de encapsulação de cada formulação (Cb) pelo peso final da nanopartícula (Pf) (mg). Os resultados foram expressos em porcentagem (%) (PAULA et al., 2010).

$$\% D = \frac{Cb}{Pf} \times 100 \text{ (Eq. 8)}$$

4.3.3.6 Avaliação da atividade antimicrobiana

Os inóculos foram preparados conforme descrito a seguir: Cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922 e *Listeria monocytogenes* ATCC 19115 foram cultivadas no meio Triptcase Soy Àgar (Difco, Sparks, USA) a 35°C durante 24 horas. Após o período de incubação, colônias isoladas de aproximadamente 1 mm de ambos microrganismos foram transferidas para tubos contendo 5mL do caldo Triptcase de soya (Difco, Sparks, USA) e incubadas a 35°C durante 24 horas. Ao término do período de incubação, foram realizadas diluições seriadas (10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3}) utilizando como diluente 9 mL de água peptonada 0,1% (Difco, Sparks, USA) para cada diluição, obtendo-se dessa forma a suspensão bacteriana de aproximadamente 10^5 UFC/mL.

O potencial antimicrobiano das amostras foi determinado através dos parâmetros de concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM), conforme as metodologias descritas por Branen e Davidson (2004) e Brandt et al. (2010), com adaptações. As concentrações testadas foram de 40, 50, 55, 60, 75, 80 e 100 mg/mL sobre os microrganismos patogênicos: *Escherichia coli* e *Listeria monocytogenes*. A CIM foi determinada utilizando o método de microdiluição em placas (96 poços, 300 µL de capacidade / poço (Microtest™, Becton Dickinson and Co.) e a distribuição dos poços foi realizada conforme descrito na Tabela 2.

Tabela 2 - Distribuição dos poços em placas de microdiluição

Poços	Descrição
¹ Testes – Potencial antimicrobiano das amostras	Suspensão bacteriana de aproximadamente 10 ⁵ UFC/mL em caldo TSB e solução antimicrobiana (amostras)
Controle - Solução antimicrobiana	Caldo TSB, água destilada estéril e solução antimicrobiana (amostras)
Controle positivo - Microrganismos estudados	Suspensão bacteriana de aproximadamente 10 ⁵ UFC/mL em caldo TSB e água destilada estéril

¹As análises foram realizadas em quadruplicada.

Fonte: Dados da pesquisa (2017).

Após a distribuição da placa, foi realizada a leitura da densidade óptica (D.O.) a 630 nm utilizando o leitor de absorvância ELx 808 (BioTek instruments), Inc. Winooski, VT, EUA, no tempo imediato após a distribuição (T₀) e após a incubação a 35°C por um período de 24 horas (T₂₄). A interpretação dos resultados foi obtida pela variação das leituras (T₂₄ – T₀), sendo considerada a CIM os valores ≤ 0,05 nm.

A partir dos poços testes que indicaram atividade inibitória (≤ 0,05 nm), plaqueou-se (*spread plate*) 100 µL em meios de cultura seletivos e diferenciais específicos para cada microrganismo, sendo utilizado o ágar MacConkey (Oxoid) para *E. coli* e o ágar Listeria Oxford (HiMedia) para *L. monocytogenes*. Em seguida, as placas foram incubadas a 35°C por um período de 48 horas. Foi considerada a CBM a menor concentração testada cuja a placa apresentou ausência de crescimento microbiano.

4.3.3.7 Ensaio acelerado de estabilidade durante o armazenamento

A nanopartícula avaliada como a melhor formulação foi armazenadas a 50 °C numa BOD (Refrigerated Incubator - B.O.D. -biological oxygen demand - TE-39) com temperatura controlada e na ausência de luz durante 44 dias, a contar a partir da produção do material encapsulado. Amostras de 0,4 g de cada pó foram transferidas para frascos de vidro âmbar de 250 mm, em duplicata. Foram estabelecidos 5 tempos (0, 11, 22, 33, 44 dias) para o estudo e determinação de Polifenóis Extraíveis Totais, Vitamina C e Atividade Antioxidante, a fim de avaliar a estabilidade desses compostos com o tempo de armazenamento, de acordo com metodologia descrita por Saénz et al. (2009).

4.3.3.8 Digestão Gastrointestinal simulada *in vitro* (Teste de Bioacessibilidade)

As digestões com fluido gástrico simulado e também com fluido intestinal simulado, ambos preparados de acordo com a Miller *et al.*(1981), foram realizados para avaliar a bioacessibilidade dos Polifenóis Extraíveis Totais e Atividade antioxidante no néctar de acerola contendo as nanopartículas.

A simulação da digestão gastrointestinal foi feita com pepsina solubilizada em HCl 0,1 mol L⁻¹ durante a fase gástrica e sais de bile-pancreatina, solubilizada com NaHCO₃ 0,1 mol L⁻¹ na fase intestinal. A solução de pepsina foi preparada dissolvendo 16 g de pepsina em 100 mL de HCl 0,1 mol L⁻¹. A solução de pancreatina e sais de bile foi preparada pela dissolução de 0,5 g de pancreatina e 3,13 g de extrato de bile em 125 mL de NaHCO₃ 0,1 mol L⁻¹. Adicionaram-se 20mL de cada amostra do néctar de acerola contendo nanopartículas, acrescentando-se 100 mL de HCl 0,01 mol L⁻¹ e ajustando-se o pH para 2 com solução de HCl 2 mol L⁻¹. Após o ajuste do pH, adicionaram-se 3,2 mL de pepsina no meio, agitou-se em banho termostatizado a 37° C durante 2 horas. Essa etapa simula a digestão do alimento que ocorre no estômago.

Ao final da primeira etapa de 2 horas de digestão, 20 mL do digerido de pepsina foi pesado em triplicata sendo uma delas utilizada para o procedimento de titulação e as outras para a diálise. Para o procedimento de titulação, 5 mL de solução de pancreatina e sais de bile foram adicionados aos digeridos de pepsina de cada amostra que, em seguida, foram tituladas com solução 0,5 mol L⁻¹ de NaOH até pH 7,5 para simular o valor de pH encontrado no meio intestinal de um indivíduo. A diálise foi realizada durante duas horas em sacos de diálise contendo NaHCO₃ 0,1 mol L⁻¹ equivalente à acidez titulável.

NaHCO₃ 0,1 mol L⁻¹ foi utilizado no interior da membrana de diálise pois a mesma deve estar em meio tamponado para que, durante o processo de diálise, não ocorra mudança brusca de pH e precipitação das proteínas. Após o ajuste do pH, adicionou-se as membranas de diálise e agitou-se em banho termostatizado a 37° C durante 30 minutos, após isso adicionaram-se 5,0 mL da solução de pancreatina e sais de bile no meio e agitou-se em banho termostatizado a 37° C durante 2 horas. Essa etapa simula a digestão do alimento que ocorre no intestino. Ao final desta etapa de 2 horas de digestão, o conteúdo da membrana chamado de dialisado, foi retirado, e as amostras foram armazenadas sob refrigeração até o instante das análises.

Para a determinação dos Polifenóis Extraíveis Totais e Atividade Antioxidante após digestão gastrointestinal simulada *in vitro* foram utilizadas as metodologias descritas nos

itens 3.3.1.9 e 3.3.1.10, respectivamente.

A porcentagem bioacessível foi calculada de acordo com Briones-Labarca *et al.*, (2011), utilizando a Eq. 9.

$$\% \text{Bioacessível} = 100 \times (D/E) \text{ (Eq. 9)}$$

Onde D são os dados do conteúdo dialisável e E corresponde aos dados totais da amostra (dados correspondentes a cada determinação).

4.4 Análise estatística

Os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado. O experimento foi realizado em triplicata, para cada polpa e subproduto utilizado como amostra.

Os resultados das análises físicas, químicas, físico-químicas, compostos bioativos e microbiológicas foram avaliados através de análise de variância seguida de teste de Tukey para comparação de médias, ao nível de 5 % de significância através do programa estatístico R Core Team (2016), para a polpa, subproduto e nanopartículas.

Foi aplicado o teste de Tukey para verificar a existência de diferença significativa entre utilizar extração em água destilada e solução etanólica 50% para as análises de Polifenóis extraíveis totais e Atividade antioxidante.

Para encontrar a melhor formulação dentre as nanopartículas aplicou-se a técnica de análise multivariada de componentes principais para reduzir as variáveis estudadas (Vit. C, PET e ATT) em somente uma. Seguindo de aplicação de análise de variância e teste de tukey para encontrar a formulação que gerasse maiores médias.

Os dados obtidos nas análises referentes ao efeito antimicrobiano do extrato do subproduto foram submetidos à análise de variância ($p \leq 0,05$).

Com relação aos resultados das análises do tempo de armazenamento das nanopartículas foram realizadas análise de regressão linear e Tukey entre os tempos de amostragem.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados estão subdivididos em cinco etapas de acordo com o fluxograma apresentado anteriormente na metodologia.

5.1 Etapa 1: Caracterização física, química e físico-química da polpa e subprodutos da acerola

Os resultados referentes à caracterização física, química e físico-química da polpa e subprodutos de acerola estão apresentados nas Tabelas 3 e 4, respectivamente.

Tabela 3 – Caracterização física, química e físico-química da polpa de acerola não pasteurizada (integral)

ANÁLISES	NÃO-PASTEURIZADA (INTEGRAL)
Cor - L*	45,09±1,70
Cor - a*	20,27±3,02
Cor - b*	41,74±3,82
Cor - c	46,41±4,73
Cor - h	64,18±1,48
pH	3,19±0,21
Sólidos solúveis SST (°Brix)	3,73±0,88
Acidez total ATT (g ác. cítrico/100g)	1,08±0,12
Relação SST/ATT	3,71±1,30
Atividade de água	0,998±0,01
Açúcares redutores(g/100g)	5,37±0,92
Açúcares totais(g/100g)	10,70±1,09

os lotes utilizados foram avaliados ao nível de 5% de significância, garantindo a qualidade dos dados. n=3; Resultados expressos: média±desvio padrão. Dados em amostra úmida.

Fonte: Dados da Pesquisa (2017).

Deve-se levar em consideração que a caracterização de polpa de acerola não pasteurizada (integral) foi realizada a fim de se avaliar a qualidade da amostra para a posterior formulação do néctar de acerola.

Para os parâmetros de cor, foi verificado para polpa de acerola integral um valor de L* de 45,09. O parâmetro de luminosidade representa o brilho e quanto mais próximo de 100, maior o brilho da amostra. Neves (2009), verificando a estabilidade de polpa congelada de acerola obteve valores de L* variando de 36,79 a 47,50, resultado semelhante ao obtido nesta pesquisa.

Para a coordenada a^* encontrou-se valor médio de 20,27 para a polpa de acerola, valor que corresponde ao componente cromático da cor vermelha do fruto. Esse parâmetro é diretamente influenciado pelo teor de cada pigmento responsável pela cor da polpa. Silva (2008) observou para a coordenada a^* , uma amplitude entre 10,54 e 46,13, para frutos de aceroleira oriundos de cultivo orgânico e convencional e Lima (2010) observou em sua pesquisa que as polpas de acerola apresentaram valores médios que decresceram de 32,56 no início de armazenamento para 16,09 ao final do armazenamento de 360 dias sob congelamento. Estando portanto os valores desta pesquisa de acordo com a literatura.

Como a coordenada b^* representa, quando positiva, o grau da cor amarela, o valor de 41,74 da polpa de acerola é considerado alto quando comparado aos resultados encontrados por Lima (2010) para polpa de acerola em que os valores apresentaram uma pequena variação de b^* 33,31 a 34,25. Isso é justificável pela grande variabilidade da cor da acerola que pode variar desde alaranjada a púrpura, interferindo na cor da polpa ao final do processamento.

Com valores de cromaticidade (c^*) de 46,41 os dados são semelhantes aos encontrados por Lima (2010), 46,96 no início do armazenamento, para 37,91 ao final do armazenamento de 360 dias sob congelamento da polpa de acerola. Este parâmetro revela o grau de concentração ou pureza de uma cor sendo valores satisfatórios por se tratarem de subproduto.

No presente trabalho o valor obtido para o ângulo Hue (h^*) foi de 64,18 o que representa um grau de saturação elevada. Os valores do ângulo Hue, encontrados por Lima (2010) para polpas de acerola cresceram de 45,43, no início do armazenamento, para 64,82, ao final do armazenamento de 360 dias.

Valores de pH de 3,19 foram encontrados nesta pesquisa sendo semelhante aos encontrados por Lima et al. (2012) com valores médio de 3,21 para polpas orgânicas de acerola não pasteurizada. Esses valores se encontram de acordo com a legislação já que apresentam valores superiores a 2,80 (BRASIL, 2000).

Segundo Maia et al.(2009), a acerola é uma fruta ácida que possibilita a utilização industrial em geleias e doces, sem a necessidade de adição de ácidos no processamento. Pode-se considerar então a acerola em estudo como um alimento ácido, pois apresenta $\text{pH} < 4,5$, garantindo sua segurança quanto ao ataque e comprometimento do produto por microrganismos.

Em relação aos valores de sólidos solúveis foi obtida uma média de 3,73°Brix para polpa não pasteurizada. O teor de sólidos solúveis totais apresenta correlação com teores

de açúcares e ácidos orgânicos, característica de interesse para produtos comercializados *in natura*, pois o mercado consumidor prefere frutos doces (CANUTO et al., 2010). Esse valor se encontra abaixo do que é recomendado na legislação para polpa de acerola, que recomenda o mínimo de 5,5° Brix (BRASIL, 2000).

Para acidez total titulável o valor médio encontrado foi de 1,08g de ácido cítrico/100g, apresentando valores próximos aos encontrados por Lima et al. (2012), 1,21g de ácido cítrico/100g para polpa não pasteurizada. Castro (2005) encontrou valores médios de pH de 3,31, e acidez 1,36%, expressos em ácido cítrico para polpa de acerola não tratadas termicamente.

Quanto a relação de SST/ATT, açúcares totais e redutores com valores de 3,71, 10,70g/100g e 5,37g/100g, respectivamente, foi observado que os valores médios da polpa não pasteurizada foram similares ao comportamento do estudo realizado por Lima et al. (2012). Mesmo sendo valores para subproduto os mesmos se encontram dentro do que é recomendado pela legislação.

Do ponto de vista tecnológico para a fabricação de vinhos, sucos, geleias, doces em massa, etc., as melhores matérias-primas são aquelas com maiores teores de açúcares por se apresentarem mais agradáveis ao paladar (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Segundo os mesmos autores, os açúcares solúveis presentes nas frutas na forma livre ou combinada são também responsáveis pela doçura e sabor; devido o equilíbrio com os ácidos orgânicos e pela textura, quando combinados adequadamente, compoem os polissacarídeos estruturais.

Para açúcares totais o valor de 10,70 g/100g ultrapassa os valores citados por Brasil (2000) de no máximo 9,50 g/100g para polpa de acerola, esse valor um pouco mais elevado poderá ser devido as variedades e o cultivo orgânico da acerola usadas nesta pesquisa.

Maia et al.(2009) explicam que os ácidos orgânicos desempenham importante papel no sabor dos frutos através da relação sólidos solúveis:acidez. Os açúcares conferem doçura enquanto os ácidos orgânicos, acidez. Dentre os dados encontrados por estes autores para pH, sólidos solúveis (°Brix) e acidez titulável (% de ácido cítrico) para acerola, citam as variações de 3,31-3,91; 5,7-10,0; 0,53-1,52, respectivamente. Valores superiores aos encontrados nesta pesquisa, com exceção para acidez titulável.

O valor médio de atividade de água foi de 0,998, resultados semelhantes foram encontrados por Lima et al. (2012) com polpas orgânicas de acerola não pasteurizadas, 0,976.

Mesmo utilizando médias para as análises avaliadas vale ressaltar que apresentou-se diferenças entre os lotes podendo ser justificado por se tratarem de lotes com período de cultivo e colheita diferentes.

O fluxo inicial para a aquisição dos subprodutos é único, inicia-se com higienização dos frutos e posterior desintegração. Os subprodutos foram retirados em dois pontos de coleta, devido ser pontos de descarte pela indústria e poderem apresentar um potencial nutricional e tecnológico para sua utilização. Ambos apresentam aspectos físicos diferentes. O subproduto da despulpadeira apresenta fragmentos de película e sementes aparentes, enquanto o subproduto do filtro rotativo, etapa posterior ao despulpamento, se assemelha a uma massa pastosa sem a identificação de fragmentos sólidos visíveis, devido ser retido por peneiramento.

Os resultados referentes à caracterização dos subprodutos são apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 – Caracterização física, química e físico-química dos subprodutos de acerola em dois estágios definidos, despulpadeira e filtro rotativo

ANÁLISES	SUBPRODUTO DE ACEROLA	
	DESPOLPADEIRA	FILTRO-ROTATIVO
Rendimento(%)	19,26±1,68 a	9,84±1,67 b
Cor - L*	53,51±9,55 a	61,74±1,19 a
Cor - a*	16,06±2,36 a	19,62±2,11 a
Cor - b*	26,02±5,21 a	28,11±1,51 a
Cor - c	30,78±3,76 a	34,34±0,77 a
Cor - h	57,81±7,99 a	55,09±4,11 a
pH	3,22±0,32 a	3,20±0,25 a
Sólidos solúveis SST(°Brix)	2,31±0,030 b	3,34±0,028 a
Acidez total ATT(g ác. cítrico/100g)	5,41±0,68 b	10,95±1,40 a
Relação SST/ATT	0,35±0,12 a	0,30±0,07 a
Atividade de água	0,50±0,07 a	0,26±0,06 b
Açúcares redutores(g/100g)	10,82±2,90 b	27,21±3,27 a
Açúcares totais(g/100g)	28,45±8,95 a	29,82±0,86 a

médias seguidas das mesmas letras não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de significância.

Dados em amostra seca.

Fonte: Dados da Pesquisa (2017).

A despulpadeira apresentou maior rendimento que o filtro rotativo, apresentando diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre os valores, desta forma já seria o primeiro incentivo a manter este subproduto para o restante do projeto. Além do rendimento o subproduto da despulpadeira encontra parâmetros para sua comparação, já que o filtro rotativo é um

subproduto específico de uma indústria e só justifica dentro da planta industrial desta empresa.

A possível razão de alguns parâmetros para os subprodutos apresentarem valores diferentes pode estar relacionada à constituição dos mesmos. Apesar de serem provenientes da mesma matéria prima, as etapas industriais onde foram coletados são diferentes, onde os subprodutos coletados da despulpadeira apresentavam a presença de caroços e películas e os coletados no filtro rotativo apresentavam-se somente como uma massa pastosa proveniente do peneiramento do resíduo, o que retém partículas menores, já trituradas do despulpamento.

Apenas a relação SST/ATT e os parâmetros de cor (L^* , a^* , b^* , c , h) e açúcares totais não diferiram significativamente entre subproduto da despulpadeira e do filtro rotativo ($p \geq 0,05$), enquanto os outros parâmetros apresentaram-se diferentes estatisticamente a 5% de significância.

Quanto aos parâmetros de cor não diferirem entre si para a despulpadeira e filtro rotativo, pode-se sugerir que esse resultado pode ter sido influenciado pela constituição dos subprodutos e pela liofilização anterior as análises homogeneizando o subproduto como um todo.

Para os parâmetros de cor, a luminosidade L^* que representa a quantidade de luz refletida e brilho apresenta valores elevados, até mesmo comparando o valor da polpa. A coordenada a^* por apresentar valores positivos tendem o grau da cor vermelha. A coordenada b^* tende ao grau da cor amarela. Como o croma c^* representa o grau de concentração ou pureza da cor e o ângulo hue a saturação dessa cor, pode-se perceber que os valores ficam próximos aos valores da polpa de acerola quantificada anteriormente. Mesmo apresentando valores menores os parâmetros de cor encontrados para os subprodutos se assemelham aos da polpa, o que remete a preservação dos componentes pela liofilização.

Os valores de pH não apresentaram diferença significativa entre os dois subprodutos e apresentaram valores baixos, 3,22 e 3,20 para despulpadeira e filtro rotativo respectivamente, o que representa o produto ácido.

Os valores de sólidos solúveis de 2,31° Brix e 3,34° Brix para despulpadeira e filtro rotativo são valores baixos comparados aos resultados encontrado por Araújo et al. (2014) de 7,02° Brix em seu estudo de caracterização de resíduos de acerola. Essa diferença pode ser justificada devido a forma de prensagem no despulpamento e a secagem que foi utilizada antes das análises, além de fatores ambientais de cultivo.

A acidez total quantificado no filtro rotativo, 10,95 g de ácido cítrico/100g representa o dobro do valor para a despulpadeira, 5,41 g de ácido cítrico/100g.

A relação sólidos solúveis e acidez titulável é a forma mais utilizada para avaliação do sabor e indica o grau de equilíbrio entre o teor de açúcares e ácidos orgânicos do fruto (LIMA et al., 2012). Valores de 0,35 e 0,30 foram encontrados para os sólidos solúveis da despulpadeira e filtro rotativo, respectivamente. Os valores são baixos, mas era de se esperar já o que está sendo analisados são subprodutos. Mesmo a relação SST/ATT não tendo apresentado diferença significativa, os valores para sólidos solúveis e acidez total do subproduto do filtro rotativo (3,57°Brix e 9,34 g ác. cítrico/100g, respectivamente) foram superiores aos da despulpadeira (2,50°Brix e 5,88 g ác. cítrico/100)g.

Os valores de atividade de água de 0,500 para subprodutos da despulpadeira e 0,262 para os do filtro rotativo são baixos, mas representam o tratamento inicial das amostras por liofilização. A água está presente como constituinte na maioria dos alimentos e influencia praticamente todos os processos deteriorativos. A atividade de água é um parâmetro de referência no processamento de alimentos e armazenamento e é baseado em efeitos amplamente reconhecidos, tais como: influencia sobre o crescimento de microrganismos e relação com as reações de degradação químicas, enzimáticas e físicas (MALTINI et al., 2003). Com essa visão da importância da atividade de água dos produtos a diferença significativa entre os valores da despulpadeira e do filtro rotativo representa uma maior estabilidade da amostra com menor valor. Isso era de se esperar já que a constituição do subproduto do filtro rotativo é mais aquoso o que facilita a eliminação da água com maior facilidade no processo de liofilização, em contrapartida o subproduto da despulpadeira apesar de ainda manter uma baixa atividade de água, se apresenta maior pela presença de sementes e películas o que dificulta a eliminação da água durante a liofilização.

Os valores de açúcares redutores se apresentaram maiores no subproduto do filtro rotativo que nos da despulpadeira, não apresentado diferença significativa de 5% para os açúcares totais.

5.2 Etapa 2: Quantificação de compostos bioativos da polpa e subprodutos da acerola

Os resultados referentes aos compostos bioativos da polpa e subprodutos de acerola são apresentados na Tabelas 5 e 6.

Tabela 5 – Caracterização de compostos bioativos da polpa de acerola não pasteurizada (Integral)

ANÁLISES	POLPA NÃO-PASTEURIZADA (INTEGRAL)
β-caroteno (mg/100g)	0,11±0,06
Antocianinas (mg/100g)	6,74±1,123
Flavonóides amarelos (mg/100g)	7,98±1,66
Vitamina C (mg/100g)	1113,10±52,60
Polifenóis Extraíveis Totais (mg/100g)	1214,54±60,24
Atividade Antioxidante	
ABTS (μM trolox/g)	106,89±44,99

os lotes utilizados foram avaliados ao nível de 5% de significância, garantindo a qualidade dos dados.
Fonte: Dados da Pesquisa (2017).

Os valores obtidos para β-caroteno e antocianinas podem ser considerados baixos comparados aos valores obtidos por Silva et al. (2014) para polpa de acerola, 144,27 mg/100g para antocianinas e 2,62 mg/100g de β-caroteno. Valores também superiores para antocianinas (13,93 mg/100g) e β-caroteno (1,69 mg/100g) foram relatados por Lima (2010) em seu estudo com polpa de acerola não pasteurizada. O que pode ser justificado pela diferença de cultivados, além de condições diferentes de clima, quantidade de água, temperatura, adubação e outros parâmetros de cultivo.

As antocianinas são pigmentos responsáveis pela coloração vermelha da acerola, daí a importância de mensurá-los, já que o interesse comercial também leva em consideração a aparência, pois uma polpa com coloração amarelada não apresenta tanta aceitação pelos consumidores.

Para flavonoides amarelos, o valor médio obtido foi de 7,98mg/100g, considerado elevado quando comparado a pesquisa realizada por Silva et al. (2014).

Verificaram-se valores médios de vitamina C na polpa não pasteurizada de 1113,10 mg de ácido ascórbico 100g⁻¹. No estudo realizado por Furtado et al.(2009), envolvendo pasteurização de polpas de acerola cultivadas sob sistema orgânico, o valor encontrado para o ácido ascórbico, na polpa integral, antes da pasteurização, foi de 1365,7 mg de ácido ascórbico 100g⁻¹.

Esse resultado está acima dos relatados nessa pesquisa, ressaltando que o teor deste composto pode variar entre diferentes regiões do país, em função de fatores como temperatura, intensidade de luz e conteúdo de umidade, além do processamento da polpa, que pode afetar bastante a concentração de ácido ascórbico (RUFINO et al., 2009).

Para a atividade antioxidante e teores de polifenóis extraíveis totais, observaram-se valores de 106,89 μM trolox/g e 1214,54 mg GAE/100g, respectivamente. Resultados

similares foram obtidos por Lima (2010) e Furtado et al. (2009). Valores bem mais expressivos foram encontrados por Freire et al. (2013), 1.298,14 μM trolox/g em polpa congelada de acerola porém com extrato acetônico-etanólico. Para os valores de compostos fenólicos estes autores relataram 10,79 mg GAE/g, o que aproxima aos valores encontrados nessa pesquisa.

De acordo com estudo realizado por Vasco, Ruales, Kamal-Eldin (2008), as frutas tropicais analisadas com relação aos teores de polifenóis podem ser classificadas em três categorias: baixo teor (<100 mg GAE/100g), médio teor (100-500 mg GAE/100g) e alto teor (>500 mg GAE/100g). Dessa forma, as amostras analisadas neste estudo podem ser classificadas como de alto teor, se apresentando como excelentes fontes de polifenóis.

A Tabela 6 apresenta os resultados para as análises de compostos bioativos dos subprodutos de acerola.

Tabela 6 – Caracterização de compostos bioativos dos subprodutos de acerola em dois estágios definidos, despulpadeira e filtro rotativo

ANÁLISES	SUBPRODUTO DE ACEROLA	
	DESPOLPADEIRA	FILTRO-ROTATIVO
Clorofila (mg/100g)	10,47±2,620 a	0,33±0,162 b
β- caroteno (mg/100g)	0,53±0,06 a	0,56±0,16 a
Antocianinas (mg/100g)	55,41±4,65 b	63,97±1,70 a
Flavonóides (mg/100g)	63,02±10,22 a	20,63±4,34 b
Vitamina C (mg/100g)	2726±413,44 b	6039±530,79 a
Polifenóis extraíveis totais		
H₂O (mg/100g)	4989,86±909,56 b C	9802,97±906,13 a E
Polifenós extraíveis totais ET50%		
(mg/100g)	5287,11±1225,36 b C	14940,28±4361,67 a E
Antioxidante -ABTS H₂O		
(μM trolox/g)	216,05±13,70 b D	452,02±120,74 a F
Antioxidante -ABTS ET50%		
(μM trolox/g)	323,93±126,9 a D	511,71±276,49 a F

médias seguidas das mesmas letras não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de significância. resultados para amostra seca.

letras maiúsculas comparam as médias entre despulpadeira e filtro rotativo na mesma coluna.

Fonte: Dados da Pesquisa (2017).

Somente para os valores de β -caroteno não houve diferença significativa ($p \leq 0,05$). Porém para todos os parâmetros os subprodutos apresentaram maiores valores que a polpa.

Os valores para clorofila apresentaram diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre os dois subprodutos, sendo os maiores valores para a despulpadeira (10,47 mg/100g) o que se

pode supor a presença de acerolas verdes já que esse subproduto apresenta películas do fruto. Este parâmetro foi observado visualmente e comprovado pelo cálculo.

Foi observada diferença significativa para flavonóides amarelos com valores superiores para o subproduto da despulpadeira (63,02 mg/100g) e para antocianinas com valores superiores para o filtro rotativo (63,97 mg/100g), mesmo os dois subprodutos não apresentando diferença significativa para os parâmetros de cor, esses valores podem está associados a estrutura química dos polifenóis que mais se sobressaem ao final de cada processamento do subproduto. Sobre os teores de antocianinas e flavonóides amarelos, os dados encontrados por Silva et al. (2014) para subprodutos liofilizados do despulpamento de acerola foram respectivamente, 245,90mg/100g e 98,05 mg/100g, dados superiores aos encontrados nesta pesquisa. Valores também superiores para antocianinas e flavonoides amarelos (94,60 e 92,97 mg/100g, respectivamente) foram encontrados por Moreira (2014) em subprodutos liofilizados de acerola.

As antocianinas são pigmentos muito instáveis que podem ser degradadas no próprio tecido, sob ação da vitamina C, oxigênio, temperatura, pH do meio ou destruídas durante o processamento e estocagem dos alimentos (LIMA et al., 2000).

Sousa et al. (2011) justificam que a variação dos teores de flavonóides em alimentos é determinada geneticamente, esta relacionada a fatores como estação do ano, clima, composição do solo, estágio de maturação, preparo, processamento e estocagem dos alimentos, que influenciam diretamente em tais concentrações.

Comparando os valores de vitamina C nos dois subprodutos, percebe-se uma maior retenção desta vitamina no filtro rotativo. O teor verificado (6039 mg/100g) apresenta-se bastante elevado, sugerindo a utilização do subproduto para enriquecer outros alimentos que sejam pobres em vitamina C ou que por algum motivo perdem vitamina C durante o processamento. Valores muito inferiores foram relatados por Sousa et al.(2011) em resíduos triturados de acerola (89,55 mg/100g). Deve-se levar em consideração que nesta pesquisa os subprodutos foram inicialmente liofilizados, o que concentra e protege os componentes químicos presentes no material.

Houve diferença significativa entre os valores de vitamina C para a despulpadeira e o filtro rotativo. Apesar do alto valor para o filtro rotativo, o valor da despulpadeira, 2726 mg/100g ainda é um valor elevado. O valor de vitamina C encontrado por Moreira (2014) em subproduto de acerola foi de 5532,90 mg/100g, superiores aos desse estudo, quando comparado ao subproduto da despulpadeira. Ressalta-se que o processo de despulpamento usado por Moreira (2014), despulpamento em processador doméstico, pode não ser tão efetivo

como um processamento industrial automatizado, bem como os frutos utilizados para o despulpamento não serem provenientes de cultivo orgânico, o que pode favorecer diferentes resultados para esta vitamina.

O teor de ácido ascórbico em resíduo seco de acerola encontrado por Araújo et al. (2016) foi de $11,2 \pm 1,12$ mg/100g, valor muito abaixo do que encontrou-se para o subproduto de acerola descrito acima. Esse teor pode estar relacionado aos tipos de cultivar, cultivo (orgânico) e pelo tipo de secagem no sentido de reduzir as perdas que podem acontecer durante esse processo.

O alto teor de vitamina C e a presença de antocianinas destacam a acerola no campo das frutas funcionais pela habilidade desses compostos em capturar radicais livres no organismo humano (MEZQUITA; VIGOA, 2000). O ácido ascórbico, o β -caroteno e outros carotenóides agem como antioxidantes no organismo humano.

Comparando os subprodutos quanto ao teor de polifenóis, verificou-se que o obtido da despulpadeira. Com extrato com água destilada apresentou menor valor. Para o resultado de polifenóis, utilizando solução etanólica 50% foi verificado o mesmo comportamento, pois os maiores valores obtidos foram referentes ao filtro rotativo.

Os valores de polifenóis extraídos com água revelaram-se bastantes elevados para os dois subprodutos, sendo considerado mais expressivo o resultado obtido para a amostra referente ao filtro rotativo. Valores inferiores foram encontrados por Moreira (2014) 691,42 mgGAE/100g e Carvalho (2014) 692,46 mgGAE/100mg usando o mesmo tipo de extração em água em subprodutos de acerola da despulpadeira.

Os compostos fenólicos, constituintes de um amplo e complexo grupo de fitoquímicos, são produtos secundários do metabolismo vegetal, que apresentam em sua estrutura um anel aromático com uma ou mais hidroxilas, o que possibilita atuarem como agentes redutores, exercendo proteção ao organismo contra o "stress" oxidativo (SCALBERT; WILLIAMSON, 2000).

Os dados de polifenóis da extração em solução etanólica 50% também apresentaram valores elevados, 14940,28 mg/100g para o filtro rotativo. Silva et al.(2014) encontraram valores superiores (7265mgGAE/100g) quando comparados ao subproduto da despulpadeira (5287,11 mg/100g). Porém, esses resultados foram bastante inferiores ao subproduto referente ao filtro rotativo. Já os dados encontrados por Moreira (2014) e Carvalho (2014) são bem abaixo dos quantificados nesta pesquisa (1833,97 mgGAE/100mg e 1836,01 mgGAE/100mg, respectivamente). Já que os dois autores utilizaram a mesma metodologia, pode-se inferir que a forma do despulpamento e o tipo de acerola podem ter

influenciado na grande diferença desses valores.

Silva (2014) enfatiza que os compostos fenólicos podem ser explorados a nível industrial, a fim de fornecer ao mercado de alimentos conservantes de origem natural, seguros (“GRAS”) e de baixo custo. Além do efeito antimicrobiano, os compostos fenólicos apresentam-se também como compostos bioativos, sendo responsáveis por contribuição significativa à manutenção e melhora efetiva da saúde humana.

Considerando os valores dos polifenóis para cada tipo de subproduto e o tipo de solvente utilizado na extração, verificou-se diferença significativa ($p \leq 0,05$) para esse parâmetro com valores mais elevados para os subprodutos do filtro rotativo. Dessa forma, em termos de polifenóis todos apresentaram valores elevados, assim ambos os subprodutos e métodos de extração podem ser utilizados para estudos futuros, a fim de serem utilizados como antimicrobiano de origem natural, já que Santiago (2007) e Silva (2014) salientam esta propriedade para os polifenóis.

Deve-se destacar que não foi verificada diferença significativa ($p \leq 0,05$) para os resultados de ABTS ET50%, para os dois tipos de subprodutos, sendo encontrada diferença para ABTS H₂O, com maiores valores para o filtro rotativo.

A atividade antioxidante com extração em água com valores de 216,05 μM trolox/g para subproduto da despulpadeira, apresentaram valores bem superiores aos encontrados por Moreira (2014) e Carvalho (2014), 34,15 μM trolox/g e 34,41 μM trolox/g, respectivamente. O mesmo acontecendo com a extração etanólica 323,9315 μM trolox/g, no qual Moreira (2014) encontrou 83,47 μM trolox/g e Carvalho (2014) 83,73 μM trolox/g

Comparando-se a atividade antioxidante do subproduto da despulpadeira com o do filtro rotativo, na extração com água o teor do filtro rotativo foi aproximadamente o dobro da despulpadeira, o que poderia ser esperado devido ao seu teor elevado de vitamina C. No caso da extração em solução etanólica, o teor do filtro rotativo não apresentou diferença significativa ($p \leq 0,05$). Dessa forma, sugere-se que a contribuição da atividade antioxidante do filtro rotativo se deve a vitamina C, um composto hidrofílico que pode não ser quantificado adequadamente na presença da solução etanólica.

Levando em consideração que os polifenóis e a atividade antioxidante foram quantificados utilizando dois extratos, um com extração em água e outro com extração em solução etanólica 50%, quando comparados os resultados nas duas extrações pelo mesmo subproduto, não houve diferença significativa ao nível de 5% de significância, para essas duas análises. Porém o extrato aquoso se sobressai pelos benefícios de facilidade, praticidade, menor custo e de utilização indiscutível em produtos alimentícios.

Analisando as diferentes extrações para polifenóis extraíveis totais e atividade antioxidante, ao nível de 5% de significância, não foi possível rejeitar a hipótese de igualdades das médias dentro de cada uma das variáveis. Portanto, utilizar água ou solução etanólica para extração de Polifenóis e Atividade antioxidante não resulta em diferentes médias. Sendo assim, utilizar água para obtenção desses compostos resulta em extração eficiente e de baixo custo.

Analisando os resultados obtidos nesta etapa, o subproduto proveniente da despulpadeira foi escolhido para ser utilizado nas demais etapas dessa pesquisa.

A escolha se deu tendo em vista que esse tipo de subproduto apresenta-se comum a qualquer indústria de polpa, o que viabilizaria a utilização para a produção de encapsulados (nano/micropartículas) por qualquer indústria que demonstre interesse.

Ressalta-se ainda que os dados encontrados para os extratos de subprodutos de acerola proporcionam sua utilização como ingrediente funcional. Deve-se destacar que para sua utilização são necessários cuidados específicos, visando a manutenção dos compostos bioativos, tendo em vista que grande parte apresenta-se termossensível ou fotosensível. Tolun, Altintas e Artik (2016), em sua pesquisa com extratos de sementes de uva, enfatizam os cuidados com os extratos, pois são sensíveis à variação de pH, à presença de íons metálicos, à luz, à temperatura, ao oxigênio e às atividades enzimáticas, que podem ser facilmente afetados por fatores físicoquímicos, criando um grande desafio para a incorporação desses compostos nos produtos alimentares.

Com os dados obtidos na determinação dos compostos bioativos do subproduto de acerola, foi possível confirmar o grande potencial dessa amostra para utilização em outros processos, como o encapsulamento, sendo esses parâmetros utilizados para verificação da qualidade final do material produzido.

Tolun, Altintas e Artik (2016) descrevem em seu estudo de microencapsulação de extratos de uva em matriz de goma arábica e maltodextrina que os efeitos favoráveis dos extratos de sementes de uva proporcionam a possibilidade de serem utilizados como ingrediente funcional em muitos produtos alimentares.

5.3 Etapa 3: Formulação e caracterização de nanopartículas utilizando os extratos dos subprodutos do processamento da polpa de acerola

A emulsão apresentou aspecto límpido e translúcido sem precipitação de material. Durante a secagem foi utilizada temperatura de entrada de 165°C com o intuito de formar

rapidamente as partículas, porém foi observado que o material seco se adere facilmente às paredes do ciclone apresentando certa dificuldade em sua retirada, o que de certa forma reduz o rendimento devido à dificuldade da retirada de todo o material.

Mansour et al.(2010) apresentam como inconvenientes ao processo de secagem por *spray dryer* a grande percentagem de perdas, uma vez que as partículas se agregam bastante às paredes do ciclone, sendo bastante difícil recuperá-las; e de não se poderem processar soluções de elevada viscosidade.

Quanto à temperatura do ar de entrada do *spray dryer* de 165°C, Carmo, Fernandes e Borges (2015) descrevem que entre as temperaturas de 160-220°C esse processo leva a uma rápida formação de uma membrana semipermeável na superfície das gotas, porém salienta que altas temperaturas podem causar danos pelo calor ao produto seco e imperfeições na superfície, como rachaduras, que conseqüentemente fazem com que ocorra liberação prematura do conteúdo das microcápsulas e degradação do mesmo, ou ainda perda de compostos voláteis. Tolun, Altintas e Artik (2016), em seu estudo sobre temperatura de encapsulação de polifenóis de uva usando goma arábica e maltodextrina como material de parede, apontaram 180° C como limite superior para a temperatura de entrada. No que se refere à relação núcleo: revestimento, a solução de alimentação foi colocada na câmara de secagem por pulverização.

As amostras nomeadas de A, B, C, D, E, F e G, descritas no planejamento experimental (Tabela 1), foram preparadas com as mesmas etapas, todas apresentando a mesma característica de aderência nas paredes do ciclone durante a secagem.

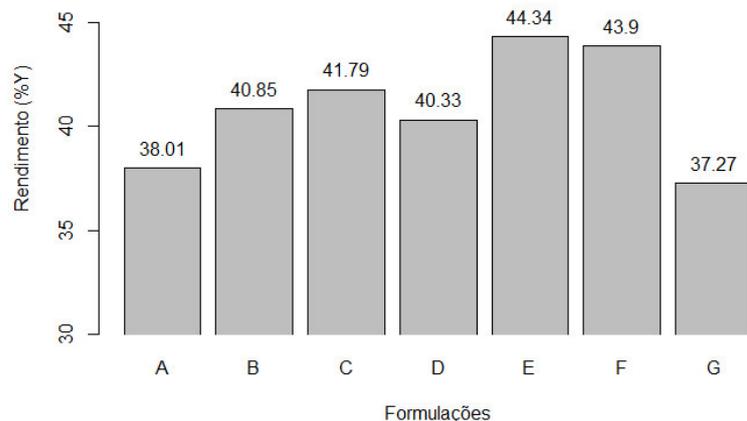
Charanioti et al. (2015) comprovaram que a maltodextrina juntamente com goma arábica provou ser agentes eficazes para beterraba e extratos de coloração de açafrão microencapsulação por liofilização.

Silva et al. (2013), microencapsulando extratos de jabuticaba por *spray dryer*, concluíram que a utilização da maltodextrina e a goma arábica permitiu a formação de partículas mais homogêneas e recomendam na microencapsulação de secagem por pulverização.

5.3.1 Rendimento do processo de atomização

O rendimento das amostras sob o efeito da variação da quantidade do material de parede utilizado na formulação é apresentado na Figura 6.

Figura 6 – Rendimento após Spray Dryer



Fonte: Dados da Pesquisa (2017).

Legenda nanopartículas: Relação GA:M:EXT: A (1:1:1); B (2:1:1); C (3:1:1); D (1:2:1); E (1:1:2); F(2:0:1) e G(2:0:2).

Os valores dos rendimentos variaram de 37,27 % a 44,34 %. Para o cálculo do rendimento levou-se em consideração o teor de sólidos solúveis presente no extrato, para garantir precisão aos cálculos. O valor médio de sólidos solúveis foi 6,07 °Brix. Valores aproximados para extratos de subprodutos de acerola foram encontrados por Araújo et al (2014) de 7,02 °Brix.

Verificou-se que o aumento da quantidade de material de revestimento, considerando a goma arábica resultou em maior rendimento. Para as amostras A, B e C, a quantidade de goma arábica foi crescente e apresentou pesos equivalentes ao dobro da formulação A para a nanopartícula B e o triplo para a nanopartícula C, o que reflete o crescente rendimento, 38,01% (A), 40,85% (B) e 41,79% (C), mesmo com a dificuldade de aderência das amostras no ciclone do *spray dryer*.

Tonon et al.(2008) e Tolun, Altintas e Artik (2016) relatam em seus trabalhos com microencapsulação por meio do método de secagem por pulverização, que o aumento do rendimento do processo pode ser atribuído à grande eficiência dos processos de transferência de calor e massa. O método utilizado manteve temperatura de 165 °C, sendo considerada uma temperatura elevada e que pode promover um bom rendimento.

O baixo rendimento observado nesta pesquisa pode se dar devido à possibilidade da maltodextrina aderir à câmara de secagem, e esse fato foi observado pelos estudos de Tolun, Altintas e Artik (2016). Nesse mesmo estudo, esses autores observaram que a utilização de uma mistura de maltodextrina e goma arábica como um revestimento materializou-se a uma diminuição no rendimento. No presente trabalho como todas as formulações apresentaram a utilização desses materiais de parede, com exceção das

nanopartículas F e G, percebe-se assim o baixo rendimento, semelhante ao descrito pelos autores.

Engel et al.(2016) revelam que o rendimento de um processo via *spray dryer* é altamente afetado pela quantidade de material que fica retido no interior do secador.

Valores mais elevados para rendimento, entre 69,28 e 73,69%, foram encontrados por Calderón-Oliver et al. (2017) microencapsulando por coacervação nisina combinada com antioxidante extraído do abacate utilizando método de secagem por pulverização.

5.3.2 Distribuição do tamanho de partículas; Índice de Polidispersão e Potencial Zeta

Os tamanhos de partículas apresentaram uma distribuição bimodal para todas as formulações, onde os valores de diâmetro, intensidade, o índice de polidispersão e o potencial zeta são apresentados na Tabela 7.

Quanto ao tamanho de partículas estas variaram de 27,12 nm à 308,8nm; apresentando uma distribuição bimodal para todas as formulações. Para Melo et al. (2010) existem muitas controvérsias a respeito da classificação das nanopartículas em relação ao diâmetro, principalmente porque depende do objetivo de aplicação, isto é, para cada área de utilização das nanopartículas, estas podem ter tamanhos distintos.

Tabela 7 – Valores de distribuição de tamanho de partícula, Índice de Polidispersão (PDI) e Potencial Zeta (mV) das nanopartículas de extrato de subprodutos de acerola obtidas via *spray dryer*

Nanopartículas	Distribuição de tamanho de Partículas (nm)	Índice de Polidispersão (PDI)	Potencial Zeta (mV)
A	287,5 ± 144,3 (65,3 %) 36,89 ± 16,2 (31,1 %)	0,898	-23,2 ± 7,98
B	215, 8 ± 38,52 (66,2 %) 27, 12 ± 5,02 (33,8 %)	0,515	-28,3 ± 5,96
C	46,99 ± 21,94 (54,9 %) 291,5 ± 106,3 (38,0 %)	0,745	-15,8 ± 9,25
D	308,8 ± 75,11 (51,4 %) 43,06 ± 12,77 (48,6 %)	0,399	-25,4 ± 4,33
E	266,3 ± 115,0 (51,4 %) 38,06 ± 14,62 (44,8 %)	0,797	-23,8 ± 7,05
F	152,3 ± 38,79 (66,7 %) 30,29 ± 8,18 (33,3 %)	0,569	-15,3 ± 4,28
G	48,43 ± 28,52 (54,5 %) 299,6 ± 129,3 (41,3 %)	0,560	-15,5 ± 8,33

Fonte: Dados da Pesquisa (2017).

Legenda: Relação GA:M:EXT: A (1:1:1); B (2:1:1); C (3:1:1); D (1:2:1); E (1:1:2); F(2:0:1) e G(2:0:2).

Valores de tamanho semelhantes foram encontrados por Herculano et al. (2014), de 27,70 nm a 432,67 nm e superfícies carregadas negativamente, quando estudaram as propriedades físico-químicas de encapsulados de óleo essencial de eucalipto em matriz de goma de cajueiro.

As partículas grandes espalham mais luz do que partículas pequenas (a intensidade do espalhamento da partícula é proporcional à sexta parte do seu diâmetro) (ZETASIZER, 2005).

Valores de tamanho de partículas maiores foram encontrados por Fernandes, Borgesa, Botrel (2014) com partículas produzidas com amido (13,4 μm) e goma arábica (13,5 μm), sendo estes os maiores tamanhos alcançados encapsulando óleo de alecrim por *spray dryer*.

O índice de polidispersão representa a distribuição do tamanho de partículas. Para as nanopartículas analisadas foram observados valores variando de 0,399 à 0,898 para o índice de polidispersão, valores que indica heterogeneidade da distribuição dos tamanhos das partículas, resultado da formação de sistemas polidispersos. Isso já era de se esperar já que os tamanhos das partículas se apresentaram de forma bimodal.

As medidas de tamanho (diâmetro hidrodinâmico) e polidispersão (PDI) das nanopartículas são indicativos de estabilidade em suspensão. O PDI está relacionado com a distribuição de tamanho das nanopartículas e, normalmente, valores menores que 0,2 para suspensões coloidais são considerados bons indicadores de estabilidade (MELO et al., 2010).

O potencial zeta foi medido com o intuito de verificar as cargas na superfície das partículas, o que pode prever a estabilidade do material sendo influenciado pelas mudanças na interface com o meio dispersante, que no caso, foi a água. Ao analisar os resultados para potencial zeta, observa-se que o maior valor, em módulo, foi para a nanopartícula B (28,3 mV) e o menor para a F (15,3 mV) sinalizando para uma boa estabilidade eletrostática quando em suspensão. Isso indica a presença de cargas superficiais negativas, decorrentes de grupos carboxílicos presentes na goma arábica, devido estar dissolvida em líquido polar (água).

Esse potencial reflete a carga efetiva nas partículas, que se correlacionam com a repulsão eletrostática entre elas, e com a estabilidade da suspensão. Quanto maior o potencial zeta, mais provável que a suspensão seja estável, pois as partículas carregadas se repelem, e essa força supera a tendência natural à agregação. O valor ideal deve ser maior ou igual a $\pm 30\text{mV}$ (ZETASIZER, 2005).

Porém, não depende somente da superfície da partícula, mas do dispersante e pode

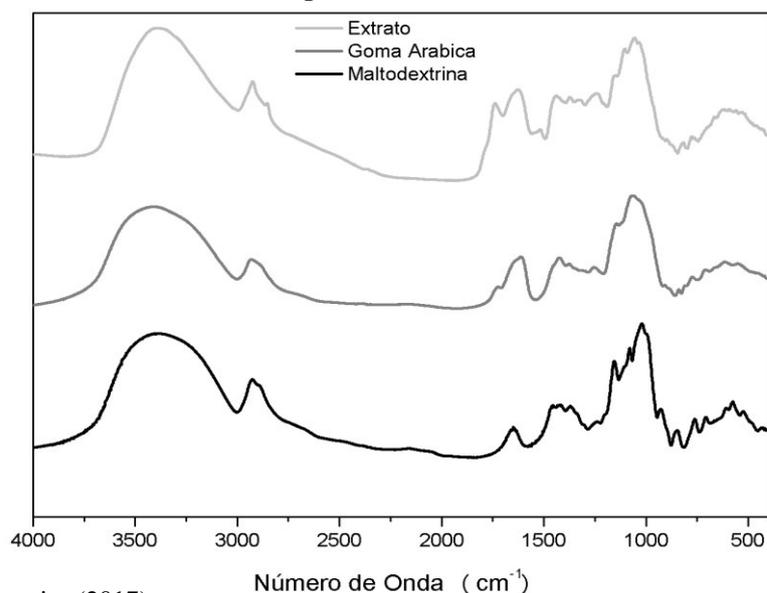
ser afetado pelo pH ou força iônica do meio. O pH afeta as interações eletrostáticas e a estabilidade das emulsões devido a aumentar a movimentação das moléculas, promovendo uma estabilidade dinâmica. A interação das partículas se dá pela sua magnitude de tamanho e não por sua carga superficial, prevendo sua estabilidade.

5.3.3 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FTIR)

A espectroscopia de absorção na região do infravermelho foi realizada para verificar a presença de grupos funcionais nas amostras e as possíveis interações entre os materiais encapsulantes (goma arábica e maltodextrina) empregados no processo de nanoencapsulação e o núcleo (extrato de subprodutos de acerola).

A espectroscopia de infravermelho se baseia no fato de que as ligações químicas das substâncias possuem frequências de vibração específicas, as quais correspondem a níveis de energia da molécula (chamado nesse caso *níveis vibracionais*). Na Figura 7 é possível observar o espectro de infravermelho para a goma arábica (GA), maltodextrina (MA) e o extrato de acerola.

Figura 7 - Espectro de infravermelho da goma arábica (GA), maltodextrina (MA) e extrato de subproduto de acerola



Fonte: Dados da Pesquisa (2017).

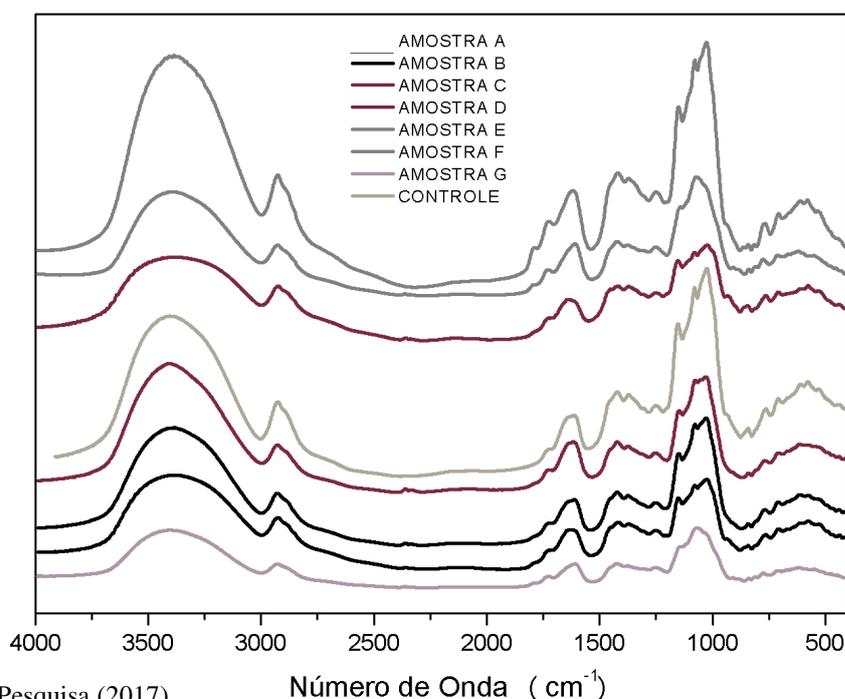
Os espectros dos componentes do material de parede usados para a formulação das nanopartículas são bastante semelhantes, apresentando bandas em torno de 3400 cm^{-1} , característico do estiramento de OH da água (PÉREZ-MASIÁ, LAGARON e LÓPEZ-

RUBIO, 2014). Nessas condições, o estiramento CH aparece em torno de 2924 cm^{-1} (GÓMEZ-MASCARAQUE et al., 2015) e o dobramento OH da água em torno de 1620 cm^{-1} . Também é possível verificar a banda característica da ligação glicosídica de açúcares, em torno de 1054 cm^{-1} (HERCULANO, et al., 2014). Essas bandas identificam ligações químicas presentes que absorvem energia em diferentes comprimentos de onda, determinando a possível presença de alguns compostos.

Monteiro et al. (2015) em seu estudo sobre o efeito da modificação química na solubilidade de microesferas a base de goma de cajueiro e quitosana, descreve que as bandas características de polissacarídeos estão em $3500\text{-}3000\text{ cm}^{-1}$ (estiramento OH) e que entorno de 1640 cm^{-1} , ocorre vibração de O-H de moléculas de água adsorvida e de estiramento da ligação C-O do grupo carboxilato ($-\text{COO}-$). As bandas em torno de $1150\text{-}1030\text{ cm}^{-1}$ são atribuídas à vibração de deformação de C-O-C da ligação glicosídica, C-O de álcool primário e estiramento de O-H de álcool primário e secundário.

Na Figura 8, pode-se observar o espectro para as formulações a base de maltodextrina, goma arábica e extrato de acerola, além do controle (composto por todo o material de parede sem a presença do extrato de acerola).

Figura 8 - Espectros de infravermelho das nanopartículas de extrato de subprodutos de acerola



Legenda nanopartículas: Relação GA:M:EXT: A (1:1:1); B (2:1:1); C (3:1:1); D (1:2:1); E (1:1:2); F(2:0:1) e G(2:0:2).

Para as nanopartículas avaliadas, os espectros apresentaram-se dentro do

esperado, onde em todos os tratamentos apareceram picos característicos dos materiais de parede (goma arábica e maltodextrina) e dos compostos fenólicos e vitamina C. Essas características confirmam que os compostos bioativos presentes nas nanopartículas foram preservados durante o processo de encapsulação e a secagem via *spray dryer*.

Por se tratar de espectro de açúcares, todos possuem perfis de absorção bastante semelhantes, apresentando todas as bandas características dos materiais de parede, não podendo inferir diferenças mesmo com a variação nas proporções de extrato de acerola para as formulações, devido as nanopartículas E e G apresentarem o dobro de extrato de subproduto de acerola e ainda a amostra controle apresentar somente o material de parede.

A amostra controle também apresenta o mesmo perfil de absorção com as bandas características, porém com pouca intensidade, este controle foi formulado com a mesma formulação da nanopartícula A sem a presença do extrato.

Percebe-se que as bandas localizadas entre 1200 e 900 cm^{-1} foram deslocadas para frequências mais altas ou mais baixas, com reduções da intensidade. Essas bandas envolvem ligações de vários compostos, como vitamina C e compostos fenólicos, que se encontram presentes no extrato e podem ter interferido nesses deslocamentos de frequências, sendo também essas bandas características das ligações glicosídicas aos espectros dos materiais de parede e extrato.

A variação na intensidade de algumas bandas também são descritas por Herculano et al. (2014) que descreve que essas variações foram visíveis quando apresentadas no gráfico.

Monteiro et al. (2015) também encontraram semelhança entre os espectros de FTIR dos seus complexos polieletrólitos na formação de microesferas e os espectros dos seus materiais de parede.

Nunes (2008) descreve que bandas entre 1414 e 1372 cm^{-1} são referentes aos estiramentos do anel fenil ($\text{C}=\text{C}$), característico de compostos fenólicos.

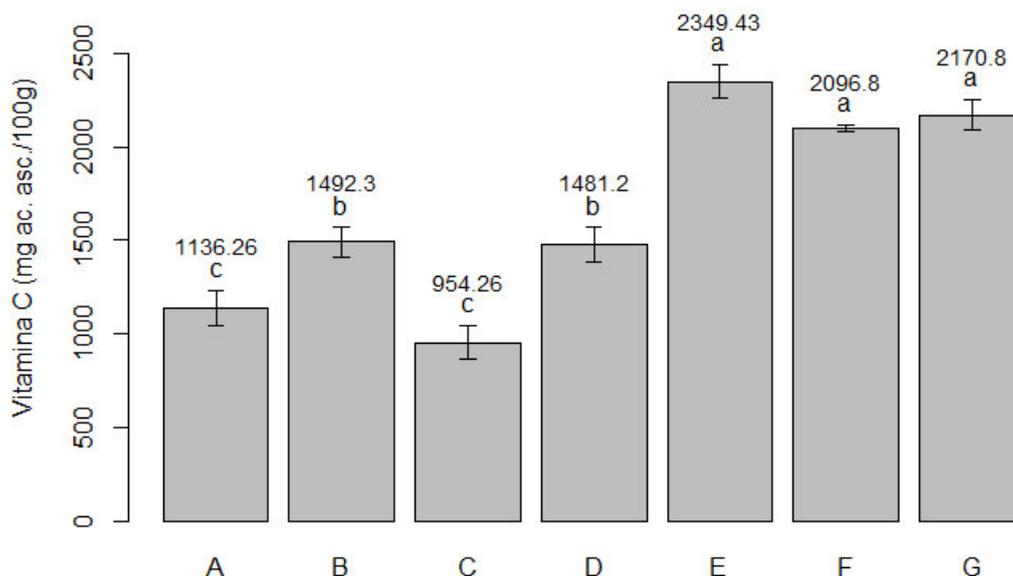
Gómez-Mascaraque et al. (2015) encontraram para a vitamina C, os picos característicos obtidos a $1084,9\text{ cm}^{-1}$ e $1397,2\text{ cm}^{-1}$, referentes aos grupamentos carbonila ($\text{C}=\text{O}$) e hidroxila (OH) presentes na molécula de vitamina C. A presença de compostos fenólicos pode ser observado nessa pesquisa no espectro infravermelho, na banda $1053,1\text{ cm}^{-1}$ a $1063,5\text{ cm}^{-1}$.

5.3.4 Vitamina C, Polifenóis extraíveis totais e Atividade antioxidante

Quanto ao conteúdo de vitamina C, os valores apresentaram-se na faixa de 954,26 mg/100g a 2349,43 mg/100g. O menor valor obtido foi referente à formulação C, que apresentava uma maior concentração de goma arábica. Os maiores valores foram obtidos para as formulações E e G, que apresentavam o dobro da quantidade de extrato, comparando às demais formulações.

Não houve diferença significativa entre as nanopartículas E, F e G (Figura 9), sendo os maiores valores encontrados entre as nanopartículas. Com valores mais baixos, as nanopartículas A e C diferiram significativamente das nanopartículas B e D.

Figura 9 - Vitamina C das nanopartículas de extrato de subprodutos de acerola



Fonte: Dados da pesquisa (2017).

Resultados expressos com média e desvio-padrão.

Médias seguidas de letras diferentes significa que há diferenças significativas entre os grupos (Teste de Tukey, $p < 0,05$).

Legenda nanopartículas: Relação GA:M:EXT: A (1:1:1); B (2:1:1); C (3:1:1); D (1:2:1); E (1:1:2); F(2:0:1) e G(2:0:2).

Através dos resultados obtidos, verifica-se que à medida que há um aumento da concentração de goma arábica não se percebe um aumento linear na quantificação de vitamina C nas nanopartículas A, B e C, o que pode ser sugerido é que quando se aumenta demais a quantidade de goma arábica ela não é capaz de encapsular pelo menos a quantidade de vitamina C da nanopartícula B. Quanto ao efeito do aumento da maltodextrina percebe-se um aumento na quantificação de vitamina C quando se compara as nanopartículas A e D, podendo perceber que o aumento da maltodextrina não apresenta diferença significativa ($p \leq 0,05$)

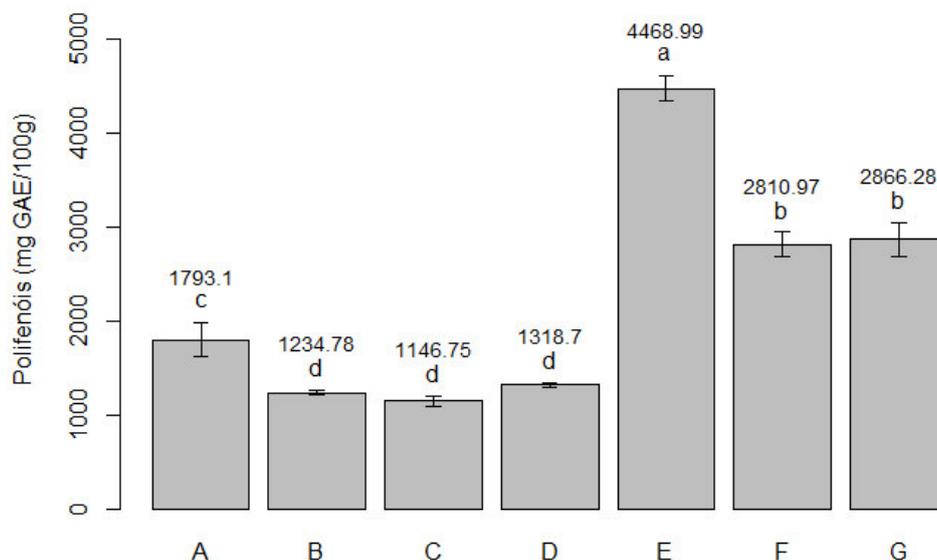
quando comparada a nanopartícula B, já que a mesma apresenta a mesma quantidade de maltodextrina da nanopartícula A com um dobro de goma arábica. Isso pode ser descrito pelo aumento da quantidade do material de parede que retem a vitamina C independente desse aumento ser maltodextrina ou goma arábica. Em relação as nanopartículas A e E, destaca-se que a E apresentava o dobro de extrato de subproduto de acerola, contendo 48,36% a mais do composto bioativo analisado, demonstrando que a o material de parede é capaz de reter uma maior quantidade de extrato mantendo as mesmas condições iniciais.

Vários estudos abordando métodos e diferentes materiais de paredes para encapsulação de vitamina C, ou ácido ascórbico, descrevem que esta é uma tecnologia promissora de proteção, para superar problemas relacionados à sua aplicação e sua instabilidade (MATOS-JR et al., 2015; ALVIM et al., 2016). Isso pode ser confirmado pela manutenção de níveis elevados de vitamina C após a encapsulação, mesmo que o processo de secagem tenha sido a 160°C, mantendo certa estabilidade da vitamina durante o processamento, já que os valores podem ser confirmados a partir da quantificação deste composto nas nanopartículas.

As concentrações de polifenóis extraíveis totais (Figura 10) encontrados nas nanopartículas de extrato de subprodutos de acerola variaram de 1146,75 mg GAE/100g (nanopartícula C, com maior concentração de goma arábica) a 4468,99 mg GAE/100g (nanopartícula E, dobro da adição de extrato quando comparado à nanopartícula A), porém apenas as nanopartículas A e E diferiram de demais formulações.

A análise de compostos fenólicos é influenciada pela natureza dos compostos presentes, o método e o solvente empregado na extração, o tamanho da amostra, o tempo e as condições de estocagem, o padrão utilizado e a presença de interferentes, tais como: ceras, gorduras, terpenos e clorofilas. Um aspecto importante no desenvolvimento de métodos de quantificação de compostos fenólicos é a complexidade das substâncias fenólicas presentes nos alimentos e às diferenças de reatividade entre essas substâncias e os reagentes.

Figura 10 - Polifenóis extraíveis totais das nanopartículas de extrato de subprodutos de acerola



Fonte: Dados da pesquisa (2017).

Resultado expressos com média e desvio-padrão.

Médias seguidas de letras diferentes significa que há diferenças significativas entre os grupos (Teste de Tukey, $p < 0,05$). Legenda nanopartículas: Relação GA:M:EXT: A (1:1:1); B (2:1:1); C (3:1:1); D (1:2:1); E (1:1:2); F(2:0:1) e G(2:0:2).

Observando-se o efeito do aumento da goma arábica percebe-se que ocorreu um decréscimo na quantificação de polifenóis, mesmo que as nanopartículas B, C e D não tenham diferido estatisticamente, embora apresentassem formulações diferentes, os valores quantificados ainda se encontram elevados. Quanto às amostras F e G, as mesmas não diferiram estatisticamente entre si, mesmo a nanopartícula G tendo o dobro de extrato em relação à nanopartícula F, apresentando as duas materiais de paredes iguais, o que pode supor que a quantidade de goma arábica da formulação não é capaz de encapsular uma quantidade superior de extrato e nessas duas formulações não tem em sua formulação maltodextrina. A formulação E demonstrou a maior retenção de polifenóis, o que era de se prevê pela adição do dobro do extrato das demais formulações.

A nanopartícula E demonstrou na quantificação de polifenóis e vitamina C que foi superior às demais formulações demonstrando que esta é a que melhor se adequa a retenção desses bioativos.

Valores inferiores ao dessa pesquisa foram relatados por Turan et al. (2015), quando compararam microencapsulação de compostos bioativos de mirtilo pelo método de secagem em *spray dryer* e liofilização, utilizando como material de parede maltodextrina e goma arábica e, obtendo valores de teores de 1051,6 ± 15,50 mg GAE/100g e 1663,30 ± 82,16 mgGAE/100g de compostos fenólicos, para os métodos avaliados, respectivamente.

O teor de polifenóis extraíveis totais nas nanopartículas foi elevado quando comparados aos resultados do extrato do subproduto liofilizado, que foi de 4392,84 mg GAE/100g. Considerando que as amostras foram formuladas com este mesmo extrato em uma quantidade de sólidos no extrato de 12,6% a 22,3%, percebe-se que a preservação do teor de polifenóis está vinculada tanto a quantidade de extrato adicionado quanto a proteção pelo encapsulamento. Tolun, Altintas e Artik (2016) explicam que uma vez que o material de revestimento (maltodextrina e goma arábica) não contem conteúdo fenólico, o conteúdo de polifenóis total não altera-se com a mistura de revestimento. Estes autores encontram valores variando de 5,2 à 16,5 mg GAE g⁻¹ em pó formulado com resíduo de uva, sendo esses valores semelhantes quando comparados ao dessa pesquisa.

Tolun, Altintas e Artik (2016) descreveram que os conteúdos fenólicos estão bastante concentrados em amostra congelada sem material de revestimento e a adição de diferentes proporções de maltodextrina diminuiu o conteúdo fenólico das microcápsulas, porém em sua pesquisa o resíduo foi seco em câmara de secagem convencional (estufa). Outra percepção desses autores já que estudaram diferentes formulações e diferentes temperaturas de processamento é que o teor de polifenóis diminuiu com o aumento da temperatura, porém, em temperaturas altas (180°C) ocorre uma tendência inversa no conteúdo fenólico do pó, justificado por ser levado à polimerização do polifenol a altas temperaturas.

Saéñz et al.(2009), estudando a microencapsulação por *spray dryer* de compostos bioativos em frutos de cactos, encontraram valores de polifenóis entre 1812 à 2410 mg GAE g⁻¹ pó, valores que se encontram semelhantes aos encontrados nesta pesquisa.

Araújo et al. (2016) e Sousa et al. (2011) encontraram valores de fenólicos de 446,40 e 247,62 de ácido gálico.100g⁻¹ para resíduos secos de acerola, respectivamente. Os valores obtidos por estes autores se encontram bem abaixo dos encontrados para o subproduto de acerola liofilizado analisado neste estudo, que apresentou teor de 4392,84 mg/100g. Vasco, Ruales e Kamal-Eldin (2008) definem uma alta concentração de compostos fenólicos acima de 1000 e abaixo de 100 baixa. Dessa forma, as amostras avaliadas nesta pesquisa se classificam como alta concentração de compostos fenólicos, tanto para o extrato de subproduto de acerola, quanto para as nanopartículas desenvolvidas neste estudo.

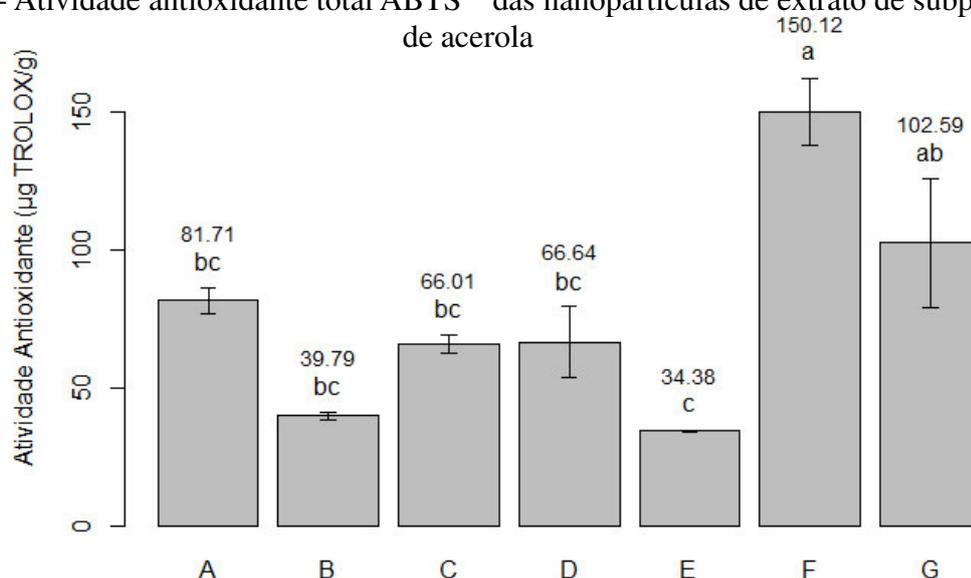
Os polifenóis possuem limitada solubilidade em água. Neste caso, torna-se interessante a utilização de goma arábica como material de parede, devido a sua habilidade de agir como emulsificante. Além disso, esse material de parede possui capacidade de formar soluções de baixa viscosidade em alta concentração, o que o torna importante para facilitar o bombeamento durante o processo de encapsulamento, desta forma melhora o processo

(MUNIN; EDWARDS-LÉVY, 2011).

A Figura 11 apresenta a atividade antioxidante total das nanopartículas de extrato de subprodutos de acerola, avaliadas pelo método ABTS^{•+}, os valores para a atividade antioxidante das nanopartículas variaram de 34,38 μM trolox/g a 150,12 μM trolox/g.

Ali et al. (2013) explicam que as concentrações da atividade antioxidante total em frutos são altamente dependentes dos processos de amadurecimento e, além dos compostos fenólicos influenciarem, alguns outros fatores também alteram como, por exemplo, a quantidade de β -caroteno e vitaminas C e E.

Figura 11 - Atividade antioxidante total ABTS^{•+} das nanopartículas de extrato de subprodutos de acerola



Fonte: Dados da pesquisa (2017).

Resultado expressos com média e desvio-padrão.

Médias seguidas de letras diferentes significa que há diferenças significativas entre os grupos (Teste de Tukey, $p < 0,05$).

Legenda nanopartículas: Relação GA:M:EXT: A (1:1:1); B (2:1:1); C (3:1:1); D (1:2:1); E (1:1:2); F(2:0:1) e G(2:0:2).

Analisando os resultados expressos na Figura 11, verifica-se que para as nanopartículas A, B, C, D, e E não foi constatada diferença estatística ($p \leq 0,05$), mesmo com a variação na quantidade de goma arábica, maltodextrina e extrato a partir da formulação A. O aumento da atividade antioxidante, pelo método ABTS^{•+} foi evidente na nanopartícula F, seguido da G, em que as duas não diferem estatisticamente, estas apresentam como material de parede somente goma arábica e onde a nanopartícula G tem o dobro de extrato da nanopartícula F. Esse comportamento também foi observado na nanopartícula E, que apresenta a mesma quantidade de extrato da nanopartícula G. Pode-se sugerir que a retenção da atividade antioxidante está diretamente ligada a constituição do material de parede.

Saézn et al.(2009) encontraram valores para microencapsulados de frutos de cactos de 19,2 a 61,7 mmol TEAC/g (atividade equivalente ao TROLOX), mesmo utilizando o método de DPPH. O ABTS^{•+} e o DPPH são métodos para determinar a capacidade antioxidante baseados na captura do radical orgânico, desta forma a expressão dos resultados em equivalentes de Trolox podem ser utilizados a título de comparação.

Tolun, Altintas e Artik (2016) descrevem para atividade antioxidante de micropartículas de resíduo de uva revestidas com maltodextrina e goma arábica que o uso de altas temperaturas para secagem por pulverização provoca rupturas da estrutura fenólica devido à temperatura e resintetiza em diferentes formas, podendo ter alterações nos valores quantificados para a atividade antioxidante. Podem-se apresentar baixos valores como os encontrados nesta pesquisa quando comparados com o conteúdo de polifenóis.

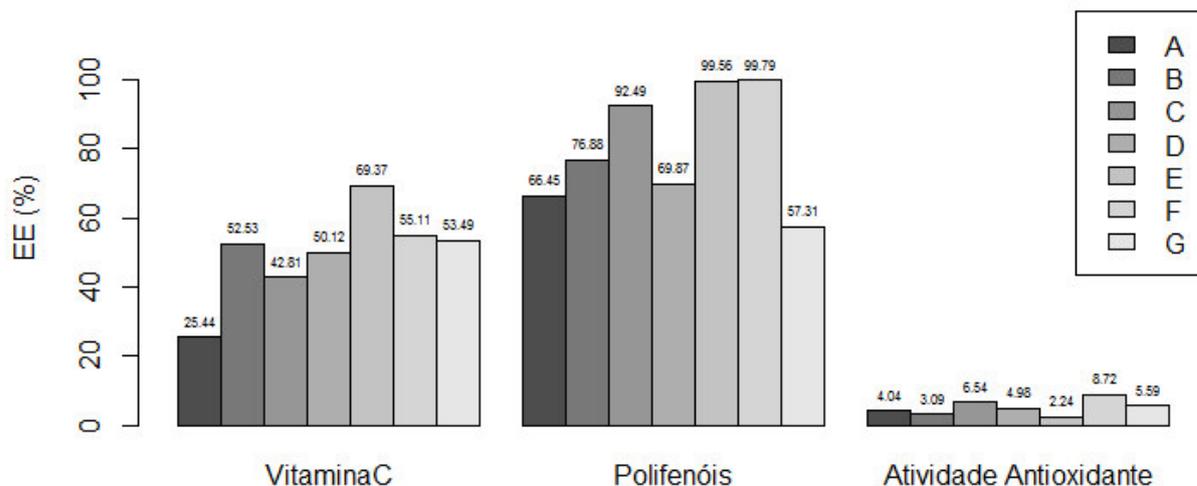
Vale ressaltar, que mesmo que alguns autores descrevam uma correlação entre os polifenóis e a atividade antioxidante, Heim; Tagliaferro e Bobilya (2002), afirmam que a atividade antioxidante dos compostos fenólicos depende do arranjo dos grupos sobre a estrutura nuclear.

5.3.5 Eficiência de encapsulação

Os valores de eficiência de encapsulação estão apresentados na Figura 12. A eficiência de encapsulação para Vitamina C, Polifenóis e Atividade Antioxidante nas nanopartículas A, B, C, D, E, F e G estão nas faixas de 25,44 % a 69,37 %; 57,31 % a 99,79% e 2,24 % a 8,76 %, respectivamente.

Para a Atividade Antioxidante encontraram-se resultados discrepantes dos demais, sendo observados valores muito baixos, o que pode ser devido ao método de preparação da nanopartícula poder desencadear a liberação simultânea de outros compostos presentes que possam ter interferido nesses resultados ou ainda relacionados a baixa solubilidade após a encapsulação.

Figura 12 - Eficiência de encapsulação das nanopartículas de extrato de subprodutos de acerola para Vitamina C, Polifenóis extraíveis totais e Atividade antioxidante total



Fonte: Dados da pesquisa (2017).

Legenda nanopartículas: Relação GA:M:EXT: A (1:1:1); B (2:1:1); C (3:1:1); D (1:2:1); E (1:1:2); F(2:0:1) e G(2:0:2).

A eficiência de encapsulação demonstra a capacidade que o material de parede tem de suportar o composto a ser incorporado, onde este pode ser influenciado pelo processo de encapsulação, método de preparo da amostra, escolha do material de parede e combinações de mais de uma matriz, quantidade de material encapsulante a ser empregado, pois quanto maior a concentração, melhor será a eficiência, até exorbitar a capacidade do material de parede (MATOS-JR et al., 2015). Isso é percebido quanto se quantificou vitamina C, polifenóis e atividade antioxidante, mesmo sendo usadas concentrações de nanopartículas diferentes para cada análise, 5mg/mL para vitamina C, 1mg/mL para polifenóis e 25mg/mL para atividade antioxidante. Silva et al. (2013) salienta que o processo de secagem pode causar perdas das propriedades antioxidantes, mas manter as propriedades dos compostos fenólicos.

Fernandes, Borgesa, Botrel (2014), em seu estudo sobre os efeitos da goma arábica, amido modificado, maltodextrina e inulina na encapsulação de óleo essencial de alecrim, descreve que a eficiência de encapsulação é um dos parâmetros de qualidade mais importantes e que encontrou uma variação de 26,31 a 61,81%.

Já Herculano et al. (2014) encontraram eficiências de encapsulação de 24,89% a 26,80% para o conteúdo de óleo essencial de eucalipto encapsulado com goma de cajueiro. Esses autores inferem que o aumento da proporção da goma de cajueiro aumenta a eficiência de encapsulação embora com menor carga. Conclusões semelhantes foram obtidas por Paula et al. (2010). Essa inferência só pode ser observada neste estudo quando foi quantificado o conteúdo de polifenóis.

Os valores encontrados de EE% para Vitamina C e Polifenóis podem ser compreendidos devido os mesmos se referirem a formulações distintas quanto a quantidade de material de parede e de extrato de subproduto de acerola, apresentando redução do valor inicial. O que se percebe é que a alteração de apenas um componente pode alterar o encapsulamento e a quantificação desses componentes, considerando a concentração dos polissacarídeos do material de parede e suas ligações para a retenção do extrato.

Valores variáveis para polifenóis foram descritos por Saénz et al.(2009) com encapsulação de extrato etanólico do polpa de cactos, mostrando que os valores de EE% podem variar com o tipo de material de parede e o material a ser encapsulado, além do método utilizado para a encapsulação. Esses autores encontraram recuperações de polifenóis acima de 100% descrevendo como justificativa a hidrólise de polifenóis conjugados do fruto de cacto durante o processo de secagem.

Os resultados obtidos por Tolun, Altintas e Artik (2016) indicam que o uso de maltodextrina e goma arábica para encapsulação de compostos fenólicos extraídos do bagaço de uva proporcionaram melhores resultados do que o uso de maltodextrina sozinha como material de revestimento, exibindo eficiências de encapsulação relativamente elevadas, descrevendo que mesmo a maltodextrina sendo incolor proporciona uma boa proteção contra a oxidação.

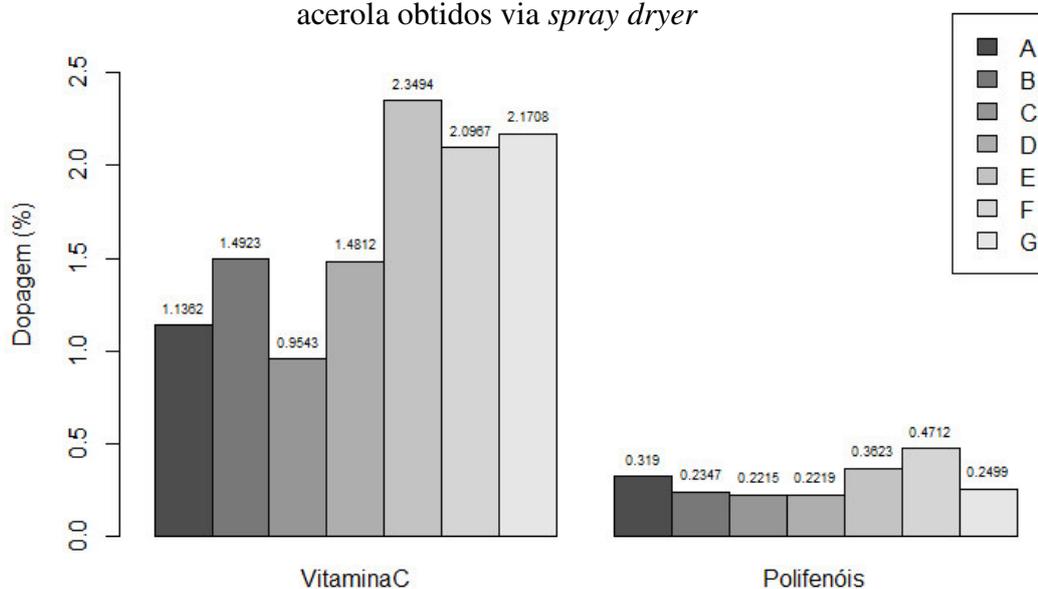
Matos Jr. et al. (2015) relatam que o método de preparação das nanopartículas/micropartículas pode interferir na eficiência de encapsulação e que a emulsificação apresenta limitações como baixa eficiência de encapsulação o que pode ser contornado pela utilização do spray dryer que normalmente obtém eficiência de encapsulação superiores a outros métodos.

5.3.6 Dopagem

A dopagem está relacionada à quantidade, em massa, de compostos bioativos presentes nas nanopartículas após o processo de nanoencapsulação, com resultados expressos em porcentagem. As Figuras 13 e 14 apresentam os resultados de dopagem para Vitamina C, Polifenóis extraíveis totais e Atividade antioxidante.

Quanto aos teores de dopagem para análise de vitamina C, verifica-se variação de 0,95 % a 2,35 %, tendo as nanopartículas C e E apresentado o menor e maior valor, respectivamente.

Figura 13 - Dopagem das nanopartículas de extrato de compostos bioativos de resíduos de acerola obtidos via *spray dryer*



Fonte: Dados da pesquisa (2017).

Legenda nanopartículas: Relação GA:M:EXT: A (1:1:1); B (2:1:1); C (3:1:1); D (1:2:1); E (1:1:2); F(2:0:1) e G(2:0:2).

Os valores para dopagem encontrado por Paula et al. (2010) variaram de 1,2 a 10,7% para microesferas de alginato e goma de cajueiro como agente encapsulante de óleo de croton zehntneri.

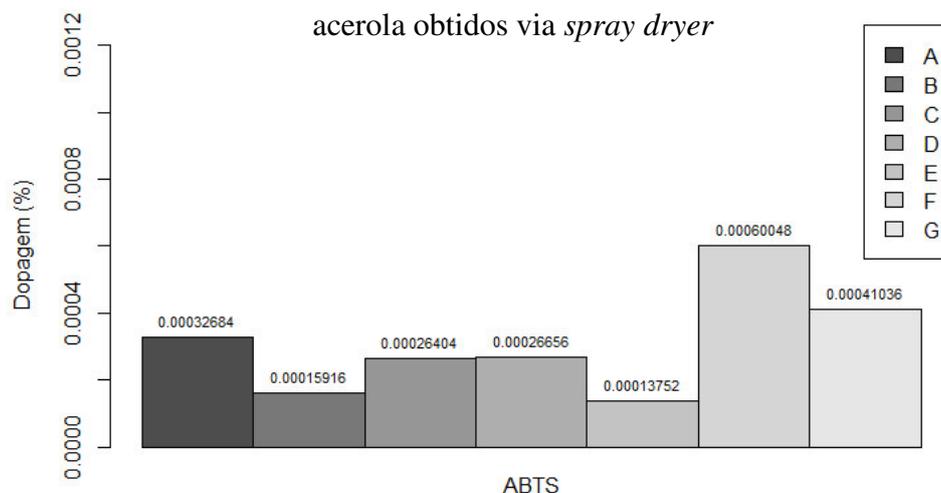
Para análise de polifenóis extraíveis totais, os teores de Dopagem variaram de 0,22 % a 0,47 %, sendo os menores valores para as nanopartículas C e D, e o maior para a nanopartícula F.

As dopagens para vitamina C e polifenóis foram maximizadas quando as nanopartículas foram formuladas com o dobro do extrato do subproduto de acerola utilizando a combinação de goma arábica e maltodextrina como material de parede, apresentando valores de 2,25% para vitamina C e 0,47% para polifenóis.

Os valores de Dopagem para capacidade antioxidante (Figura 14), expressos em porcentagem (%), foram extremamente baixos, o que era previsível já que a quantificação de atividade antioxidante foi baixa quando comparada a Vitamina C e Polifenóis extraíveis totais, devido o cálculo da dopagem ser dependente da massa do bioativo presente. Esses resultados estão estritamente relacionados com a eficiência de encapsulação (EE), onde essas medidas são diretamente proporcionais.

Valores de 0,3 % foram descritos por Istenic et al. (2015) e 0,15 % foram encontrados por Sanna et al. (2012), para encapsulação de resveratrol. Ambos os autores utilizaram alginato como material de parede.

Figura 14 - Dopagem das nanopartículas de extrato de compostos bioativos de resíduos de



Fonte: Dados da pesquisa (2017).

Legenda nanopartículas: Relação GA:M:EXT: A (1:1:1); B (2:1:1); C (3:1:1); D (1:2:1); E (1:1:2); F(2:0:1) e G(2:0:2).

Diante dos resultados anteriores, foi possível perceber que todas as formulações tiveram a capacidade de retenção de compostos bioativos, considerando vitamina C e polifenóis.

5.4 Etapa 4: Estudo das melhores formulações: Atividade antimicrobiana e Estabilidade acelerada da nanopartícula

A escolha da melhor nanopartícula se deu através de uma análise multivariada utilizando as variáveis: vitamina C, polifenóis e atividade antioxidante. Foi feita uma análise de componentes principais com estas três variáveis selecionando somente a primeira componente que explica 63,63% da variância dos dados originais.

Os escores da componente principal escolhida foram gerados a partir da função:

$$E1_i = 0,699 * Z_{i \text{ Vitamina C}} + 0,678 * Z_{i \text{ Polifenóis}} + 0,227 * Z_{i \text{ Atv. Antioxidante}}$$

Onde Z são os valores originais das variáveis subtraídas da sua média e divididos pelo seu desvio padrão.

Utilizando os escores da componente escolhida aplicou-se uma análise de variância para identificar se existia diferença entre as nanopartículas ($p \leq 0,05$), posteriormente aplicou-se o teste de Tukey, ao nível de significância de 5%, e encontrou-se que a

nanopartícula que gerava maiores valores de vitamina C, polifenóis e atividade antioxidante conjuntamente foi a nanopartícula E.

Para a continuação da próxima etapa deste trabalho, foi escolhida a nanopartícula E. Porém, como a diferença entre a nanopartícula A e E era somente a quantidade de extrato, sendo mantida a mesma proporção para a matriz, decidiu-se avaliar as duas nanopartículas. Ressaltando que a nanopartícula A é a base para as outras formulações. Essa decisão se deu para que houvesse um critério de comparação entre a melhor formulação (E) e a formulação base (A).

As nanopartículas A e E foram avaliadas quanto a atividade antimicrobiana, sua estabilidade ao longo do tempo e a bioacessibilidade quando aplicadas em um néctar. Estes resultados promovem mais informações para sua futura aplicabilidade em alimentos a fim de potencializar características funcionais.

5.4.1 Atividade antimicrobiana

As nanopartículas A e E apresentaram potencial antimicrobiano contra *Escherichia coli* ATCC 11775, e *Listeria monocytogenes* ATCC 19115, nas concentrações de 40, 50, 55, 60, 75, 80 e 100 mg/mL.

A Tabela 8 apresenta os resultados da atividade antimicrobiana das nanopartículas A e E, considerando para cada uma a concentração inibitória mínima e a concentração bactericida mínima.

Tabela 8- Atividade antimicrobiana das nanopartículas A e E.

Nanopartículas	Parâmetros mg/mL	Microrganismos	
		<i>L. monocytogenes</i>	<i>E. coli</i>
A	¹ CIM	40	40
	² CBM	-	100
E	¹ CIM	40	40
	² CBM	-	60

¹Concentração inibitória mínima; ²Concentração bactericida mínima.
Fonte: Dados da pesquisa (2017).

Não foi observada presença de crescimento bacteriano para *L. monocytogenes* e *E. coli* em todas as concentrações testadas para as nanopartículas A e E. Com isso foi determinada a Concentração inibitória mínima para as duas nanopartículas contra os dois microrganismos e tanto a A quanto a E apresentaram inibição mínima na concentração de 40 mg/ml. Em relação a Concentração bactericida mínima, as nanopartículas A e E foram

efetivas para a bactéria Gram-negativa *E. coli* (apresenta efeito protetor da camada de lipopolissacarídeo).

Como a RDC Nº 12, DE 02 DE JANEIRO DE 2001 tolera para padrões microbiológicos de frutas, produtos de frutas e similares uma carga de *E. coli* (Coliformes a 45°C/g) entre $10^2/g$ à $10^3/g$, as nanopartículas podem ser consideradas eficientes já que tem além de uma capacidade bacteriostática, uma capacidade bactericida, se apresentando como potencial para adição em alimentos.

Herculano et al. (2014), encontraram para CBM de nanopartículas de óleo de eucalípto em matriz de goma de cajueiro os valores de 4 g / L para *S. Enteritidis* (Gram-negativo) e de 3 g / L para *L. monocytogenes* (Gram-positivo), indicando ação bactericida mais efetiva para Gram-positivo do que para Gram-negativo. Valores inferiores aos encontrados nesta pesquisa.

Herculano et al. (2014) descrevem ainda que, os dados de CBM mostram que o óleo nanoencapsulado exibiu atividade intensificada contra *S. Enteritidis*, porém demonstrou efeito oposto para *L. monocytogenes*, o que os autores justificam devido aos cations divalentes agirem reduzindo a repulsão entre moléculas de lipopolissacarídeos (LPS), que são altamente aniônicos, presentes na membrana externa da parede celular de bactérias Gram-negativas.

O potencial antibacteriano das nanopartículas A e E pode ser devido ao efeito sinérgico entre os vários compostos fenólicos presentes, já que ambas são excelentes fontes dessas substâncias. Ignat, Volf, Popa (2011) e Silva (2014) ressaltam os polifenóis como substância com propriedades antimicrobianas.

Moreira (2014) descreve que certas classes de polifenóis apresentam atividade antimicrobiana e estudos promovem o desenvolvimento de novos alimentos com o uso de polifenóis como conservantes, devido à crescente exigência dos consumidores por alimentos livres de conservantes sintéticos.

Mesmo que a *L.monocytogenes* apresente baixo risco para o consumidor e raramente infectando indivíduos através de alimentos, de acordo com a Comissão do Codex Alimentarius a concentração dessa bactéria deverá ser inferior a 100 células por grama de alimento consumido (FORSYTHE, 2013).

No Brasil e em outros países em desenvolvimento não há estatísticas oficiais de casos de listeriose, pois sua notificação não é obrigatória. No Brasil, a única legislação que exige o controle de listéria em alimentos processados é destinada a queijos de alta umidade, como ricota, meia cura e minas. Devendo está ausente em 25g do produto de acordo com Brasil (2001).

Donsi et al. (2011) descrevem que os agentes microbianos encapsulados em nanoemulsões de D-Limoneno e *Malaleuca alternifolia* foram capazes de reforçar o mecanismo de transporte através da membrana celular de microrganismos como *E. coli*, *L. delbrueckii* e *S. cerevisiae*, apresentando valores para o MIC de 5 a 10 g/l e para CBM de 5 a 25 g/l.

Niu et al. (2016) estudando a atividade antimicrobiana de emulsões de óleo de tomilho estabilizadas com ovoalbumina e goma arábica, perceberam que as emulsões apresentaram uma inibição de longo prazo para o crescimento de *E. coli*, e as emulsões com um pH final de 4,0 mostrou-se com propriedades antibacterianas mais longas. Os resultados demonstraram que as emulsões simples ou emulsões complexas de ovoalbumina e goma arábica podem ser utilizados na concepção e utilização de sistemas de distribuição antimicrobiana, sendo útil em alimentos industriais.

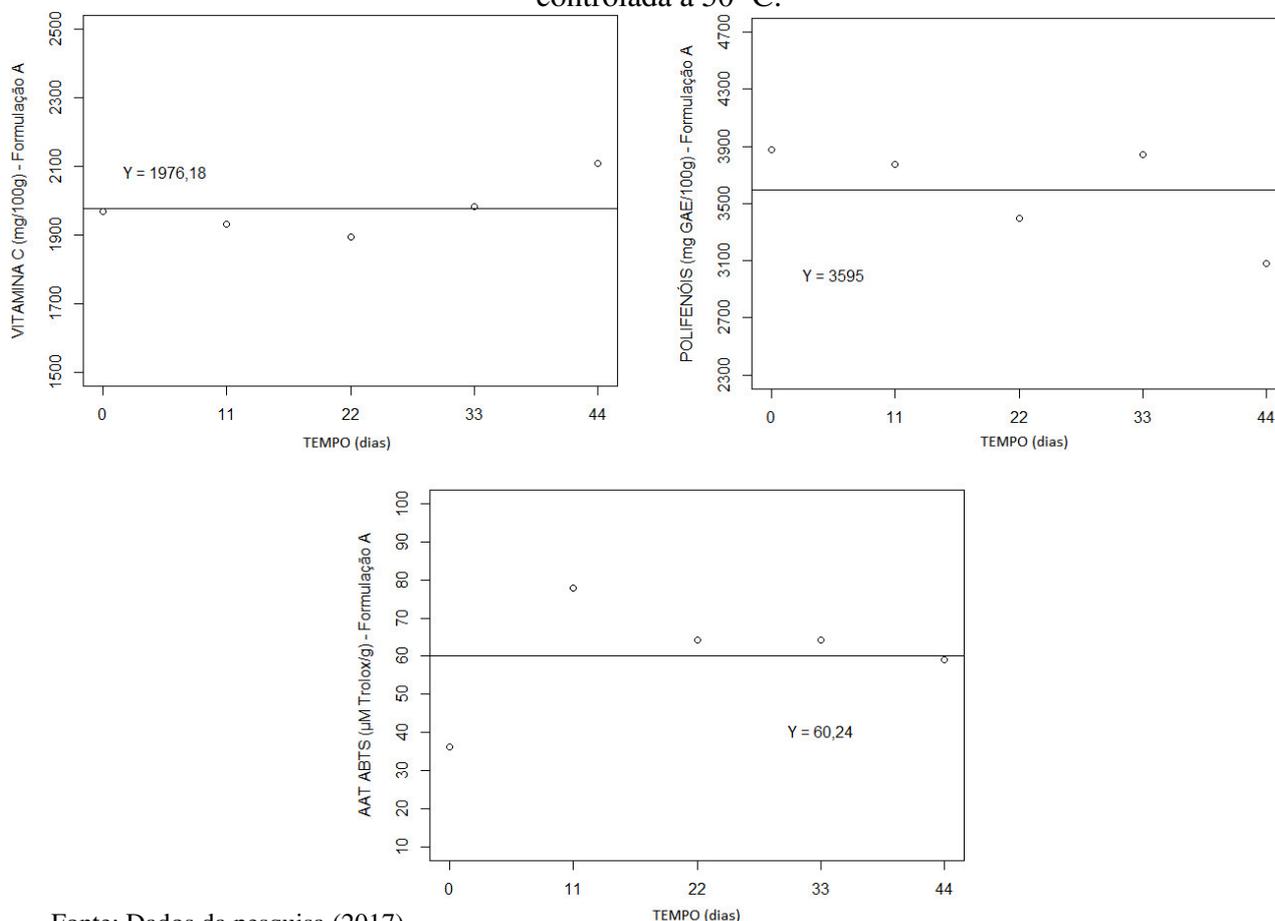
5.4.2 Estabilidade acelerada

A evolução da quantificação dos conteúdos de Vitamina C, Polifenóis extraíveis totais e atividade antioxidante das nanopartículas A e E obtidas com as condições ótimas e armazenamento a 50° C são mostrados nas Figuras 15 e 16.

Esta análise sinaliza um tempo de armazenamento de aproximadamente 6 meses (CHEONG, TAN e NYAM, 2017) o que favoreceria o armazenamento das nanopartículas durante o período garantindo condições aceitáveis para sua utilização como enriquecedora no processamento de alimentos.

Para a nanopartícula A em todos os sistemas estudados, vitamina c, polifenóis e atividade antioxidante, verificou-se que nenhum apresentou degradação durante o tempo de armazenamento a 50° C ao nível de significância de 5%, mesmo com a variação de dados estes de mantiveram constantes para Vitamina C, Polifenóis extraíveis totais e Atividade antioxidante com valores de 1976,18 mg ác. Ascórbico/100g, 3595 mg GAE/100g e 60,24µM trolox/g, respectivamente.

Figura 15 – Registro do conteúdo de Vitamina C, Polifenóis extraíveis totais e Atividade antioxidante da nanopartícula A em função do tempo, mantida por 44 dias em temperatura controlada a 50° C.



Fonte: Dados da pesquisa (2017).

Legenda nanopartículas: Relação GA:M:EXT: A (1:1:1); B (2:1:1); C (3:1:1); D (1:2:1); E (1:1:2); F(2:0:1) e G(2:0:2).

Esses resultados demonstram a capacidade do material de parede em manter protegido as propriedades do extrato de subproduto de acerola. Khazaei et al. (2014) em seu estudo sobre a estabilidade de antocianinas de flor de açafrão por liofilização, utilizando goma arábica e maltodextrina como material de parede, e ressaltam que os materiais de parede são obstáculos físicos que podem diminuir os efeitos do oxigênio, luz, calor e umidade nos ingredientes encapsulados. Eles afirmam que o encapsulamento feito em seu estudo pode proteger antocianinas durante o armazenamento.

Sanchez, Baeza e Chirife (2015) estudaram a estabilidade das antocianinas monoméricas e a retenção de cor durante o armazenamento a 38°C em sucos de cereja, sucos de cereja concentrados e suco de cereja encapsulado por liofilização usando como material de parede goma arábica e maltodextrina. Os autores descrevem que os melhores resultados foram encontrado no suco encapsulado e enfatizam a importância da proteção do material de parede sobre a retenção da cor.

Para a nanopartícula E, o conteúdo de polifenóis e atividade antioxidante, estatisticamente, não apresentaram diferença significativa ($p \leq 0,05$) mantendo-se praticamente estável durante 44 dias de armazenamento a 50° C, com valores próximos a 4920,19mg GAE/100g e 59,17 μ M trolox/g, respectivamente.

Para a análise estatística dos valores obtidos para a variação de vitamina C em função do tempo de armazenamento, verificou-se diferença significativa ($p \leq 0,05$), com ajuste ao modelo linear. Verificou-se uma redução da vitamina C, cujos valores variaram de 2446,11 a 1663,16 mg de ácido ascórbico/100g da nanopartícula E.

Khazaei et al. (2014), estudaram a estabilidade de antocianinas encapsuladas com goma arábica e maltodextrina, por 10 semanas, mantendo as partículas em frascos escuros a 35°C. Os autores encontraram uma redução de antocianinas em média de 32%, sendo essa perda bem menor que a amostra controle, enfatizando a importância da proteção do material.

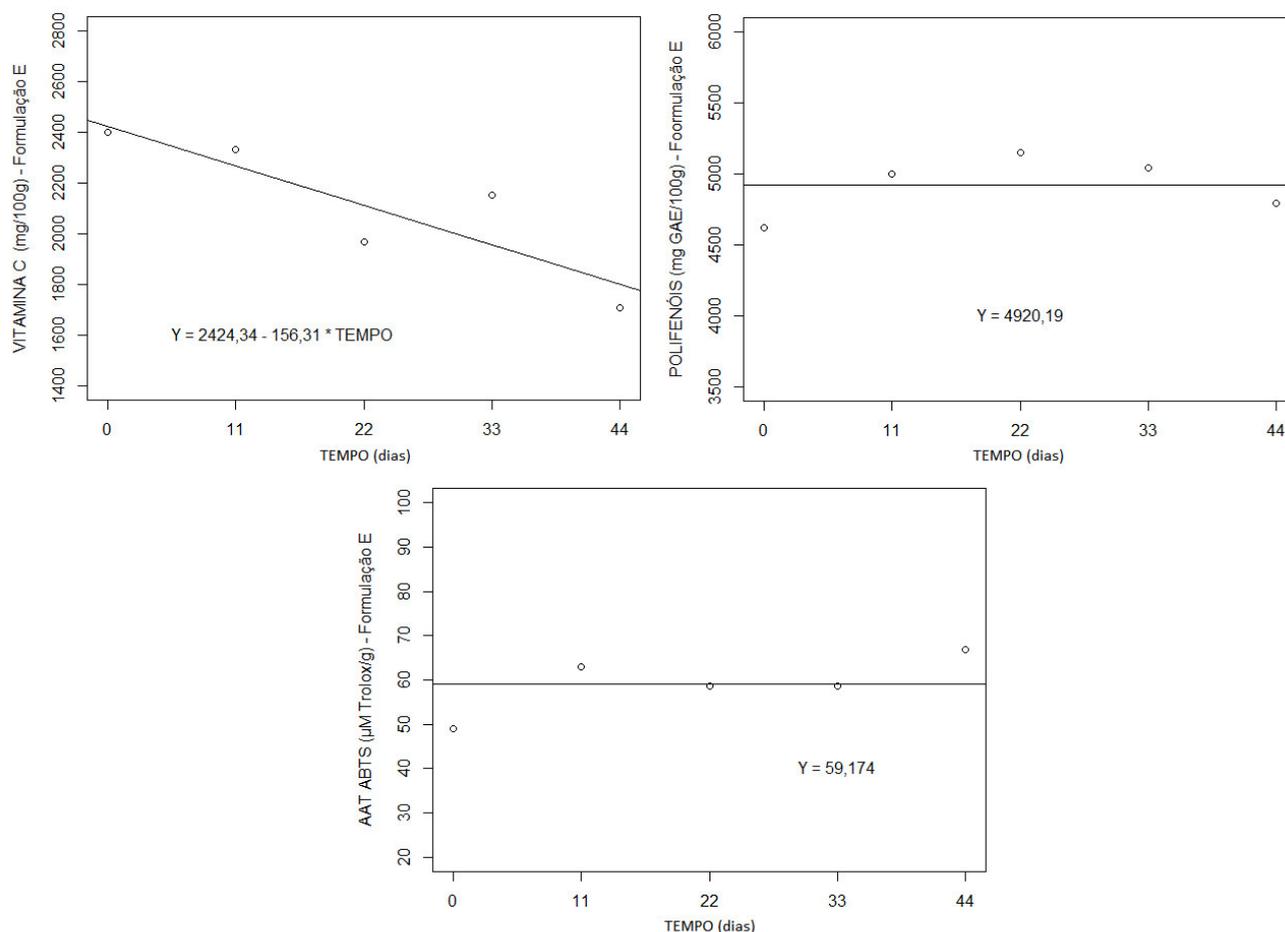
Outukia et al. (2016) descrevem que os antioxidantes têm grande utilidade no aumento da vida de prateleira de produtos alimentares.

A estabilidade dos extratos de beterraba e de açafrão microencapsulados por liofilização foi avaliada por Chranioti, Nikoloudaki e Tzia (2015) por 10 semanas de armazenamento a 40 ° C, e foi observada uma degradação da coloração tanto da beterraba quanto do açafrão de forma linear durante o tempo de armazenamento.

Com esses resultados, as nanopartículas A e E apresentam estabilidade ao longo do tempo, o que sugere sua produção e armazenamento para uso posterior na incorporação em alimentos processados.

Em suco de cereja encapsulado com goma arábica e maltodextrina utilizando liofilização, armazenado a 38°C por 60 dias, Sanchez, Baeza e Chirife (2015), descrevem que as características do encapsulado permaneceram em 90%, devido sua baixa atividade de água, boa estabilidade das antocianinas e parâmetros de cor. Sendo mantida uma cor vermelha estável durante o armazenamento, considerado um ótimo resultado para a qualidade desse produto.

Figura 16 – Registro do conteúdo de Vitamina C, Polifenóis extraíveis totais e Atividade antioxidante da nanopartícula E em função do tempo, mantida por 44 dias em temperatura controlada a 50° C.



Fonte: Dados da pesquisa (2017).

Legenda nanopartículas: Relação GA:M:EXT: A (1:1:1); B (2:1:1); C (3:1:1); D (1:2:1); E (1:1:2); F(2:0:1) e G(2:0:2).

Sàenz et al. (2009) estudando a estabilidade de compostos bioativos em polpa de cactos em matriz de maltodextrina e inulina por spray dryer durante armazenamento a 60°C por 44 dias, constatou uma pequena redução no conteúdo de polifenóis de 1,8,mg/g a 1,41mg/g de extrato de polpa de cactos encapsulado com maltodextrina durante o armazenamento. Os resultados obtidos por esses autores foram inferiores aos encontrados nesta pesquisa, tanto para a nanopartícula A como para a nanopartícula E.

Com esses resultados as nanopartículas A e E apresentam estabilidade ao longo do tempo o que sugere sua produção e armazenamento para uso posterior na incorporação em alimentos processados.

5.4.3 Etapa 5: Adição de nanopartículas em néctar de acerola

Para a realização desta análise foi adicionada 0,5mg/ml de cada nanopartícula em néctar de acerola. Os valores médios encontrados de Polifenóis extraíveis totais e Atividade antioxidante em néctar de acerola adicionado de nanopartículas contendo extrato do subproduto do processamento da acerola em matriz de Goma arábica e Maltodextrina antes e após a digestão gastrointestinal simulada *in vitro*, encontram-se apresentados na Tabela 9.

Tabela 9 - Valores das médias para os teores de polifenóis totais para o néctar de acerola com adição de nanopartículas antes e após a digestão gastrointestinal simulada *in vitro*.

Parâmetro	Néctar de acerola - nanopartícula A	Néctar de acerola - nanopartícula E
Polifenóis totais mg AG/100g-1 (Antes da DGS <i>in vitro</i>)	6585,31±219,66	6427,51±458,87
Polifenóis totais mg AG/100g-1 (Após a DGS <i>in vitro</i>)	631,19±25,13	554,13±38,72
Bioacessibilidade (%)	9,59	8,62

Valores da média±desvio padrão. AG: Ácido gálico. DGS: Digestão gastrointestinal simulada *in vitro*.
Fonte: Dados da pesquisa (2017).

Neste estudo, para compostos fenólicos totais foram encontrados valores de 6585,31 mg de ácido gálico/100g e 6427,51 mg de ácido gálico/100g, respectivamente, para os néctares de acerola contendo nanopartículas A e E antes da digestão gastrointestinal simulada *in vitro*.

Tolun, Altintas e Artik (2016), salientam em seu estudo de microencapsulação de extratos de uva em matriz de goma arábica e maltodextrina que os extratos de semente de uva são sensíveis à variação de pH, à presença de íons metálicos, à luz, à temperatura, ao oxigênio e às atividades enzimáticas, que podem ser facilmente afetadas por fatores físicoquímicos que criam um grande desafio para a incorporação destes compostos nos produtos alimentares. O que pode ter ocorrido devido o néctar onde foi adicionada as nanopartículas apresentar uma matriz alimentar complexa.

Para a composição de polifenóis totais após a digestão gastrointestinal simulada *in vitro*, foram encontrados valores de 631,19 mg de ácido gálico/100g e 554,13 mg de ácido gálico/100g, respectivamente, para os néctares de acerola contendo nanopartículas A e E, conforme pode ser observado nas Tabela 9. Os níveis bioacessíveis de absorção foram de 9,59% e 8,62%, respectivamente, de polifenóis totais, para os néctares de acerola contendo nanopartículas A e E, conforme pode ser observado na mesma tabela.

O baixo percentual bioacessível de polifenóis pode ser justificado pelo fato de que alguns polifenóis estão ligados a compostos macromoleculares que são não dialisáveis, ou ainda que possam formar complexos minerais, diminuindo ainda mais sua solubilidade, explica Bouayed, Hoffmann e Bohn (2011). Porém quando se observa o valor correspondente a essa porcentagem percebe-se que ainda são valores considerados altos para polifenóis.

Para a atividade antioxidante total foram encontrados valores de 10,86 μM de trolox/g e 14,27 μM de trolox/g, respectivamente, para os néctares de acerola contendo nanopartículas A e E antes da digestão gastrointestinal simulada *in vitro* (Tabela 10).

Tabela 10 - Valores das médias para os teores de atividade antioxidante total para o néctar de acerola com adição de nanopartículas antes e após a digestão gastrointestinal simulada *in vitro*.

Parâmetro	Néctar de acerola - nanopartícula A	Néctar de acerola - nanopartícula E
Atividade antioxidante total μg trolox/g-1 (Antes da DGS <i>in vitro</i>)	10,86 \pm 1,465	14,27 \pm 0,495
Atividade antioxidante total μg trolox/g-1 (Após da DGS <i>in vitro</i>)	8,47 \pm 0,658	11,26 \pm 2,424
Bioacessibilidade (%)	77,99	78,91

* Valores da média \pm desvio padrão. AG: Ácido gálico. DGS: Digestão gastrointestinal simulada *in vitro*.
Fonte: Dados da pesquisa (2017).

Deve-se considerar que, estruturas polifenólicas que apresentam uma elevada atividade antioxidante *in vitro*, não necessariamente terão esta mesma atividade após a ação das enzimas gastrointestinais durante a digestão, salienta Lima et al. (2014).

Para a composição da atividade de antioxidante total após a digestão gastrointestinal simulada *in vitro*, foram encontrados valores de 8,47 μM de trolox/g e 11,26 μM de trolox/g, respectivamente, para os néctares de acerola contendo nanopartículas A e E, conforme pode ser observado nas Tabela 10. Os níveis bioacessíveis de absorção foram de 77,99% e 78,91%, respectivamente, da atividade antioxidante, para os néctares de acerola contendo nanopartículas A e E, conforme pode ser observado na mesma tabela. Percebe-se que mesmo a capacidade antioxidante tenha apresentado valores baixos eles tem o indicativo de bioacessibilidade alto, e consequentemente de uma boa absorção.

Existem relatos na literatura demonstrando o potencial dos compostos fenólicos e suas propriedades biológicas. No entanto, não existem estudos sobre a bioacessibilidade *in*

vitro de compostos fenólicos de um produto pronto como um néctar sendo este adicionado de nanopartículas para potencializar seu conteúdo de polifenóis aumentando sua funcionalidade.

A aplicabilidade industrial de nanopartículas dispersas em meio aquoso de uma matrix alimentar complexa como é um néctar pode ser limitada, devido aos problemas de baixa estabilidade físico-química, em períodos de armazenamento prolongados. As principais limitações são a agregação das partículas, a estabilidade química do polímero e, ainda, a liberação prematura da substância ativa, demandando novas pesquisas que tratem desse assunto.

A aplicação de digestão simulada gastrointestinal *in vitro* demonstra segundo Lima et al. (2014) que, em alguns casos, apenas uma fração da quantidade total de nutrientes nos alimentos é potencialmente bioacessível. Os resultados obtidos com relação aos polifenóis extraíveis totais e atividade antioxidante, mostram que a percentagem de absorção destes compostos varia muito dependendo dos componentes do alimento e dos elementos da matrix.

He et al. (2017) testaram a liberação de nanopartículas com antocianinas em matrix de quitosana em fluido intestinal ($\text{pH} = 7,2 \pm 0,1$) e constataram a liberação de 30,61% a 360 min.

6 CONCLUSÃO

A polpa de acerola apresentou qualidade em suas características físico-químicas e compostos bioativos, bem como os subprodutos do processamento da polpa de acerola obtidos por despulpadeira e filtro rotativo, que se apresentaram como ótimas fontes de compostos fenólicos e capacidade antioxidante, representando grande potencial para utilização em formulações de nanopartículas para enriquecimento de produtos alimentícios.

Os subprodutos de acerola podem ser considerados boa fonte de compostos bioativos, apresentando-se como uma alternativa bastante promissora para obtenção de produtos encapsulados, ricos em compostos bioativos com atividade antioxidante, confirmando seu potencial para ser empregado como aditivos na indústria alimentícia. Dessa forma, a utilização deste subproduto, abundante e proveniente de fonte de baixo custo, pode ser realizada por indústrias alimentícias, como oportunidades de desenvolvimento de novos produtos funcionais, além de redução de subprodutos agroindustriais e custo industrial, promovendo positivo impacto econômico e ambiental.

As nanopartículas produzidas neste estudo tem potencial como aditivo alimentar para ser incorporado como ingrediente funcional numa gama de alimentos e também melhorar a sua estabilidade de armazenamento, tendo um imenso impacto na indústria e no setor da saúde.

A matriz de goma arábica e maltodextrina se mostrou eficiente pela retenção de compostos como vitamina C, polifenóis extraíveis totais e atividade antioxidante em todas as formulações, além de apresentar tamanho e distribuição das partículas com certa estabilidade, o que demonstra pouca tendência a agregação quando em solução.

Todas as nanopartículas apresentaram-se como boa fonte de vitamina C, polifenóis e atividade antioxidante, o efeito dos agentes de encapsulação sobre esses parâmetros apresentaram baixa taxa de degradação, sugerindo que os outros componentes do extrato do subproduto liofilizado de acerola desempenham um papel no processo de encapsulação. Recomenda-se o uso inicial das nanopartículas A (1GA:1MA:1EXT) e E (1GA:1MA:2EXT) por apresentarem resultados mais constantes, não se subestimando os resultados encontrados para as outras nanopartículas.

As nanopartículas A e E foram estáveis durante o tempo de armazenamento de 44 dias à 50°C, correspondendo aproximadamente a 6 meses de armazenamento. Para a atividade antimicrobiana ambas apresentaram atividade bacteriostática para *L. monocytogenes* e *E. coli* e bactericida para *E. coli*, além de apresentar boa bioacessibilidade para polifenóis e atividade

antioxidante quando utilizada em nectar de acerola.

REFERÊNCIAS

- ABIA. **Associação Brasileira das Indústrias da Alimentação**. 2017. Disponível em: <<http://www.abia.org.br/vsn/>>. Acesso em: 25 abr. 2017.
- AGRONEGÓCIO FRUTICULTURA. **Boletim de inteligência**. SEBRAE, 2015. Disponível em: <[http://www.bibliotecas.sebrae.com.br/chronus/ARQUIVOS_CHRONUS/bds/bds.nsf/64ab878c176e5103877bfd3f92a2a68f/\\$File/5791.pdf](http://www.bibliotecas.sebrae.com.br/chronus/ARQUIVOS_CHRONUS/bds/bds.nsf/64ab878c176e5103877bfd3f92a2a68f/$File/5791.pdf)>. Acesso em: 25 mar. 2017.
- ALI, A.; MAQBOOL, M.; ALDERSON, P. G.; ZAHID, N. Effect of gum arabic as an edible coating on antioxidant capacity of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) fruit during storage. **Postharvest Biology and Technology**, Elsevier, v. 76, p. 119-124, feb., 2013.
- ALVIM, I. D.; STEIN, M. A.; KOURY, I. P.; DANTAS, F. B. H.; CRUZ, C. L. C. V. Comparison between the spray drying and spray chilling microparticles contain ascorbic acid in a baked product application. **Food Science and Technology**, Campinas, v. 65, n.1, 2016. p. 689-694.
- ALISHAHI, A.; MIRVAGHEFI, A.; TEHRANI, M. R.; FARAHMAND, H.; SHOJAOSADATI, S. A.; DORKOOSH, F. A.; ELSABEE, M. Z. Shelf life and delivery enhancement of vitamin C using chitosan nanoparticles. **Food Chemistry**, Elsevier. v. 126, 2011. 935-940p.
- ANTOIGNONI, M. T.; SIEPI, D.; PORCIELLO, F.; RUECA, F.; FRUGANTI, G. Serum cystatin-C evaluation in dogs affected by different diseases associated or not with renal insufficiency. **Veterinary Research Communications**, Amsterdam, v. 31, n. 1, 2007. p. 269-271.
- ANTUNES, A. E. C.; LISERRE, A. M.; COELHO, A. L. A.; MENEZES, C. R.; MORENO, I.; YOTSUYANAGI, K.; AZAMBUJA, N. C. Acerola nectar with added microencapsulated probiotic. **LWT - Food Science and Technology**, Campinas, v.54. 2013. p.125-131.
- ANUÁRIO BRASILEIRO DA FRUTICULTURA. Santa Cruz do Sul: Ed. Gazeta, 2017. 90p.: il. Disponível em: <http://www.editoragazeta.com.br/wp-content/uploads/2017/03/PDF-Fruticultura_2017.pdf>. Acesso em: 25 marc. 2017.
- AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 16. ed. Arlington: AOAC, 1995.
- APHA - AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. 4. ed. Washington: APHA, 2001. 676 p.
- ARARUNA, S.M.; SILVA, A.H.; CANUTO, K.M. Influence of process conditions on the physicochemical characteristics of cumaru (*Amburana cearensis*) powder produced by spray drying. **Rev. Bras. Farmacogn.**, Elsevier, v. 23, n. 1, 2013.
- ARAÚJO, J. M. A.; **Química de Alimentos – Teoria e Prática**. 4. ed. Viçosa: editora: UFV,

2008.

ARAÚJO, K. O.; MONTES, A. C. R.; MARTINS, C. Z.; MASTA, I. B.; SILVA, P. B.; BARROZO, M. A. S. Caracterização das sementes de acerola. **XIX Jornada em Engenharia Química**. Minas Gerais. ISSN 2318-1508. Ago. 2014.

ARAÚJO, A. P. O.; SANTOS, E. C. C.; DAMASCENO, F. S.; DEBONI, T. M.; CUEVAS, M. S.; MOTA, R. V. Utilização de planejamento experimental no estudo da pasteurização do suco de acerola. **Scientia Plena**, [S.l.], v. 12, n. 6, p. 1-8, may, 2016.

AYALA-ZAVALA, J. F.; ROSAS-DOMPINGUEZ, C.; VEJA-VEGA, V.; GONZÁLEZ-AGUILAR, G. A. Antioxidant enrichment and antimicrobial protection of fresh-cut fruits using their own byproducts: Looking for integral exploitation. **Journal of Food Science**, [S.l.], v. 25, n. 8, p.175–181, 2010.

AYALA-ZAVALA, J. F. et al. Agro-industrial potential of exotic fruit byproducts as a source of food additives. **Food Res. Int.**, Elsevier, v. 44, p. 1866-1874, 2011.

BALASUNDRAM, N. et al. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: antioxidant activity, occurrence and potential uses. **Food Chemistry**, Barking, v.99, p.191-203, 2006.

FERNANDES, R. V. B.; BORGESA, S. V.; BOTREL, D. A. Gum arabic/starch/maltodextrin/inulin as wall materials on the microencapsulation of rosemary essential oil. **Carbohydrate Polymers**, Elsevier, 101. 2014. p. 524– 532.

BARRETO, G. P. M., BENASSI, M. T.; MERCADANTE, A. Z. Bioactive compounds from several tropical fruits and correlation by multivariate analysis to free radical scavenger activity. **Journal of Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 20, n. 10, p. 1856-1861, 2009.

BOROS, B.; DÖRNYEI, A.; JAKABOVÁ, S.; FELLINGER, A. Determination of polyphenolic compounds by liquid chromatography-mass spectrometry in *Thymus* species. **Journal of Chromatography**, [S.l.], v. 51, n. 1217, 2010. p. 7972-80.

BOTREL, D. A.; FERNANDES, R. V.B.; BORGES, S. V.; YOSHIDA, M. I. Influence of wall matrix systems on the properties of spray-dried microparticles containing fish oil. **Food Res. Inst.** v. 62, 2014. p. 344-352.BR

BOUAYED, J., HOFFMANN, L., BOHN, T. Total phenolics, flavonoids, anthocyanins and antioxidant activity following simulated gastrointestinal digestion and dialysis of apple varieties: Bioaccessibility and potential uptake. **Food Chemistry**, Barking, v. 128, p. 14–21, 2011.

BRASIL, 2010. Lei n. 12.305, de 2 de agosto de 2010. Institui a Política Nacional de Subprodutos Sólidos. **Diário Oficial**, Brasília, 03 de agosto de 2010. Seção 1, p.3-6.

BRASIL. ANVISA - AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução nº 19, de 30 de abril de 1999. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, 03 maio 1999.

BRASIL, Instrução normativa nº 1 de 7 de Janeiro de 2000. Regulamento técnico geral para

fixação dos Padrões de Identidade e Qualidade para polpa de fruta. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 10 jan. 2000. Seção 1, p. 54-55.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução no. 12, de 2 de janeiro de 2001. Dispõe sobre o Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos, revogando a Portaria SVS/MS no. 451, de 19 de setembro de 1997. **Diário Oficial da União**, Brasília, Jan. 2001.

BRASIL, Instrução normativa nº 12, de 4 de setembro de 2003. Regulamento técnico geral para fixação dos Padrões de Identidade e Qualidade para néctar. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 04 set. 2003.

BRASIL, Regulação da nanotecnologia no Brasil e na União Européia. 2014. Disponível em <http://sectordialogues.org/sites/default/files/acoes/documentos/dialogos_setoriais_-_nanotecnologia_portugues.pdf>. Acesso em: 25. Abr. 2017.

BRANEN, J. K.; DAVIDSON, P. M. Enhancement of nisin, lysozyme, and monolaurin antimicrobial activities by ethylenediaminetetraacetic acid and lactoferrin. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 90, p. 63-74, 2004.

BRANDT, A. L.; CASTILLO, A.; HARRIS, K. B.; KEETON, J. T.; HARDIN, M. D.; TAYLOR, T. M. Inhibition of *Listeria monocytogenes* by food antimicrobials applied singly and in combination. **Journal of Food Science**, Hoboken, v. 75, n. 9, p. 557-563, 2010.

BHUSARI, S. N.; MUZAFFAR, K.; KUMAR, P. Effect of carrier agents on physical and microstructural properties of spray dried tamarind pulp powder. **Powder Technology**, [S.l.], v. 266, 2014. p. 354-364.

BUBONJA-SONJE, M.; GIACOMETTI, J.; ABRAM, M. Antioxidant and antilisterial activity of olive oil, cocoa and Rosemary extract polyphenols. **Food Chemistry**, Barking, v.27, 2011. p. 1821-1827.

CAMPOS, C. A.; GLIEMMO, M. F.; CASTRO, M.P. Strategies for controlling the growth of spoilage yeasts in foods. **Microbial Food Safety and preservation techniques**, [S.l.], 2015. p. 497-511.

CANUTO, G. A. B.; XAVIER, A. A. O.; NEVES, L. C.; BENASSI, M. T. Caracterização físico-química de polpas de frutos da Amazônia e sua correlação com a atividade anti-radical livre. **Rev. Bras. Frutic.** Jaboticabal - SP, Dez. v. 32, n. 4, 2010. p. 1196-1205.

CARMO, E. L.; FERNANDES, R. V. B.; BORGES, S. V. Microencapsulação por spray drying, novos polímeros e aplicações na tecnologia de alimentos. **Journal of Chemical Engineering and Chemistry**. [S.l.] ISSN: 244-9416. Vol. 01. n. 02. 2015. p. 030-044.

CARNEIRO, H. C. F.; TONON, R. V.; GROSSO, C. R. F.; HUBINGER, M. D. Encapsulation efficiency and oxidative stability of flaxseed oil microencapsulated by spray drying using different combinations of wall materials. **Journal of Food Engineering**, [S.l.], v. 115, 2013. p. 443-451.

CARVALHO, W. M. de. **Encapsulação de subprodutos de acerola (*Malpighia emarginata*)**

- D.C.) em matriz de goma para revestimento de melão minimamente processado.** 2014. 103f. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Fortaleza, 2014.
- CASSANO, A.; WALTER CABRI, W.; MOMBELLI, G.; PETERLONGO, F.; GIORNO, L. Recovery of bioactive compounds from artichoke brines by nanofiltration. **Food and Bioproducts Processing**, v. 98, n. 1, p. 257–265, apr., 2016.
- ÇAM, M.; IÇYER, N. C.; ERDOGAN, F. Pomegranate peel phenolics: Microencapsulation, storage stability and potential ingredient for functional food development. **LWT - Food Science and Technology**, Campinas, vol. 55, 2014. p. 117-123.
- CHAUDRY, Q.; CASTLE, L. Food applications of nanotechnologies: An overview of opportunities and challenges for developing countries. **Trends in Food Science & Technology**. v. 22, 2011. p. 595-603.
- CHARANIOTI C. et al. Saffron and beetroot extracts encapsulated in maltodextrin, gum Arabic, modified starch and chitosan: Incorporation in a chewing gum system. **Carbohydrate Polymers**. v. 127. 2015. p. 252–263.
- CHEONG A. A. M.; TAN B. C. P.; NYAM A. K. L. Physicochemical, oxidative and anti-oxidant stabilities of kenaf seedoil-in-water nanoemulsions under different storage temperatures. **Industrial Crops and Products**, v. 95, 2017. p.374–382.
- CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio**. Lavras: UFLA. 2005.785p.
- COSTA, J. M. C.; FELIPE, E. M. F.; MAIA, G. A.; BRASIL, I. M.; HERNANDEZ, F. F. H. Comparação dos parâmetros físico-químicos e químicos de pós alimentícios obtidos de subprodutos de abacaxi. **Rev. Ciên. Agron.**, v.38, n.2, 2007. p.228-232.
- COZZOLINO, S. M. **Biodisponibilidade de Nutrientes**, 4ª ed. São Paulo: Manole, 2012, 172p.
- COZZOLINO, S. A. F.; COMINETTI, C. **Bases bioquímicas e fisiológicas da nutrição**: nas diferentes fases da vida, na saúde e na doença. Barueri, SP: Manole, 2013. 1257 p.
- CUSHEN, M.; KERRY, J.; MORRIS, M.; RUZ-ROMERO, M.; CUMMINS, E. Nanotechnologies in the food industry e Recent developments, risks and regulation. **Trends in Food Science & Technology**, Campinas, 2011. p.1-17.
- DAMIANI, C.; BOAS, E.V.B.V.; JUNIOR, M.S.S.; CALIARI, M.; PAULA, M.L.; PEREIRA, D.E.P.; SILVA, A.G.M. Análise física, sensorial e microbiológica de geléias de manga formuladas com diferentes níveis de cascas em substituição à polpa. **Ciência Rural**, v.38, n.5, 2008. p.1418-1423.
- DEL-VALLE, E. M. M. Cyclodextrins and their uses: a review. **Process Biochemistry**, Amsterdam, v. 39, 2004. p. 1033-1046.

DEPYRENE, F., DEWETTINCK, K., RONSSE, F. e PIETERS, J. G. Food powder microencapsulation : principles, problems and opportunities. **Applied Biotechnology Food Science and Policy**, v. 1, n. 2, 2003. p. 75-94.

DONSI, F.; ANNUNZIATA, M.; SESSA, M.; FERRARI, G. Nanoencapsulation of essential oils to enhance their antimicrobial activity. **Food Science and Technology**, Campinas, v. 44, 2011. p. 1908-1914.

DRUSCH, S.; REGIER, M.; BRUHN, M. Recent advances in the microencapsulation of oils high in polyunsaturated fatty acids. In: **Novel Technologies in Food Science**, Nova Iorque, Springer, v. 7, 2012. p. 159-181.

ENGEL, B.; BACCAR, N. M.; MARQUARDT, L.; OLIVEIRA, M. S. R.; ROHLFES, A. L. B. Tecnologias de atomização e desidratação: alternativas para a produção de farinhas a partir de vegetais. **Revista Jovens Pesquisadores**, v. 6, n. 1, 2016. p. 31-44.

FATHI, M.; MOZAFARI, M. R.; MOHEBBI, M. Nanoencapsulation of food ingredients using lipid based delivery systems. **Trends in Food Science & Technology**, Campinas, v. 23, 2012. p.13-27.

FIPA FALSH. Boletim Informativo da Federação das indústrias Portuguesas Agroalimentares, n. 95, 2007.

FERNANDES, R. V. B.; BORGES, S. V.; BOTREL, D. A. Gum arabic/starch/maltodextrin /inulin as wall materials on the microencapsulation of rosemary essential oil. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 101, jan. 2014. p. 524–532.

FREIRE, J. M.; ABREU, C. M. P.; ROCHA, D. A.; CORRÊA, A. D.; MARQUES, N. R. Quantificação de compostos fenólicos e ácido ascórbico em frutos e polpas congeladas de acerola, caju, goiaba e morango. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.43, n.12, dez, 2013. p.2291-2296.

FREITAS, C. A. S.; VIEIRA, I. G. P.; SOUSA, P. H. M.; MUNIZ, C. R.; GONZAGA, M. L. C.; GUEDES, M. I. F. Carnauba wax p-methoxycinnamic diesters: Characterisation, antioxidant activity and simulated gastrointestinal digestion followed by in vitro bioaccessibility. **Food Chemistry**, Barking, v. 196, 2016. p. 1293–1300.

FOLEGATTI, M. I. S.; MATSUURA, F. C. A. U. Produtos. In: RITZINGER, R. et al. A cultura da acerola. Cruz das Almas, BA: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2003. 198p.

FOOD INGREDIENTS BRASIL. Agentes antimicrobianos químicos e naturais, n.15, 2010. Disponível em: < <http://www.revista-fi.com/materias/155.pdf>>. Acesso em: 03agos2016.

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança dos alimentos**. 2.ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 607p.

FURTADO, A. A. L. et al. Pasteurização da Polpa de Acerola Cultivada sob Sistema Orgânico. **Comunicado Técnico 149** - Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Rio de Janeiro, RJ, 2009.

FUCHS, M; TURCHIULI, C; BOHIM, M; CUVELIER, M. E; ORDONNAUD, C; PEYRAT-MAILLARD, M. N; DUMOULIN, E. Encapsulation of oil in powder using spray drying and fluidized bed agglomeration, **Journal of Food Engineering**, [S.l.], v. 75 , 2006. p. 27-35.

GALLEANO, M.; VERSTRAETEN, S. V.; OTEIZA, P. I.; FRAGA, C. G. Antioxidant actions of flavonoids: Thermodynamic and kinetic analysis. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 501, 2010. p. 23–30.

GARCÍA-RUIZ, A.; BARTOLOMÉ, B.; MARTÍNEZ- RODRIGUES, A.J.; PUEYO, E.; ALVAREZ, P.J.M.; MORENO-ARRIBAS. Nuevas perspectivas de la aplicación de los polifenoles como antimicrobianos en enología, **ACE: Revista de enología**, n. 83, 2007.

GARTI, N.; MCCLEMENTS, J. Encapsulation Technologies and Delivery Systems for **Food Ingredients and Nutraceuticals**. Woodhead, 2012. 612 p.

GIADA, M. L. R.; MANCINI FILHO, J. Importância dos compostos fenólicos da dieta na promoção da saúde humana. **Ciencias Biológicas e da Saude**, v. 12, n. 4, 2006. p. 7-15.

GÓMEZ-MASCARAQUE, L. G.; LAGARÓN, J. M.; LÓPEZ-RUBIO, A. Electrosprayed gelatin submicroparticles as edible carriers for the encapsulation of polyphenols of interest in functional foods. **Food Hydrocolloids**, v. 49, July, 2015. p. 42-52.

GONZÁLEZ-CENTENO, M. R.; COMAS-SERRA, F.; FEMENIA, A.; ROSSELLÓ, C.; SIMAL, S. Effect of power ultrasound application on aqueous extraction of phenolic compounds and antioxidant capacity from grape pomace (*Vitis vinifera* L.): Experimental kinetics and modeling. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 22, 2015. p. 506–514.

HE, B.; GE, J.; YUE, P.; YUE, X. Y.; FU, R.; LIANG, J.; GAO, X. Loading of anthocyanins on chitosan nanoparticles influences anthocyanin degradation in gastrointestinal fluids and stability in a beverage. **Food Chemistry**, Barking, v. 221, 2017. p.1671–1677.

HEIM, K.; TAGLIOFERRO, A.; BOBILYA, D. Flavonoid Antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. **J. Nutr. Biochem.**, v.13, n.10, 2002. p. 572-584.

HERCULANO, E. D.; PAULA, H. C. B.; FIGUEIREDO, E. A. T.; DIAS, F. G. B.; PEREIRA, V. A. Physicochemical and antimicrobial properties of nanoencapsulated *Eucalyptus staigeriana* essential oil. **LWT - Food Science and Technology**, 2014. p.1-8.

HIJO, A. A. C. T., COSTA, J. M. G., SILVA, E. K., AZEVEDO, V. M., YOSHIDA, M. I., BORGES, S. V. Physical and thermal properties of oregano (*Origanum vulgare* L.) essential oil microparticles. **Journal of Food Process Engineering**, [S.l.], v. 38, n. 1, 2015. p. 1-10.

HOFFMANN RIBANI, R. **Compostos fenólicos em erva mate e frutas**. 2006. 138f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, São Paulo.

HUANG, J.; GU, M.; LAI, Z.; FAN, B.; SHI, K.; ZHOU, Y.; YU, J.; CHEN, Z. Functional analysis of the Arabidopsis PAL gene family in plant growth, development, and response to environmental stress. **Plant Physiology**, v. 153, n. 4, p. 1526- 1538, ago. 2010.

HUBER, L.S.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Flavonóis e flavonas: fontes brasileiras e fatores

que influenciam a composição em alimentos. **Alimentos e Nutrição**, Campinas, v.19, n.1, p.97-108, 2008.

IAL - INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. ODAIR ZENEON, O.; PASCUET, N. S.; TIGLEA, P. (Coord). São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1020 p.

IGNAT, I.; VOLF, I.; POPA, V.I. A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. **Food Chemistry**, Barking, v. 126, 2011. p. 1821–1835.

ISTENIČ, K.; BALANČ, B. D.; DJORDJEVIĆ, V. B.; BELE, M.; NEDOVIĆ, V. A.; BUGARSKI, B. M.; ULRIH, N. P. Encapsulation of resveratrol into Ca-alginate submicron particles. **Journal of Food Engineering**, [S.l.], v. 167, dec., 2015. p. 196-203.

IKEDA, M.; HIROSE, Y.; TAKASHI, T.; SHIBATA, Y.; YAMAMURA, T.; KOMURA, T.; DOI, K.; ASHIKARI, M.; MATSUOKA, M.; KITANO, H. Analysis of rice panicle traits and detection of QTLs using an image analyzing method. **Breed Sci.** v, 60, 2010. p. 55–64.

JACQUES, A. C.; PERTUZATTI, P. B.; BARCIA, M. T.; ZAMBIAZI, R. C.; CHIM J. F. Estabilidade de compostos bioativos em polpa congelada de amora-preta (*Rubus fruticosus*) cv. Tupy. **Química Nova**, v.33, n.8, 2010. p. 1720-1725.

JAESCHKE, D. P.; MARCZAK, L. D. F.; MERCALI, G. D. Evaluation of non-thermal effects of electricity on ascorbic acid and carotenoid degradation in acerola pulp during ohmic heating. **Food Chemistry**, Barking, v. 199, n. 15, may, 2016. p. 128–134.

JORNAL DO BRASIL. Ciência e tecnologia: Consumo de produtos funcionais crescem no Brasil. Set. 2015. Disponível em: <<http://www.jb.com.br/ciencia-e-tecnologia/noticias/2015/09/06/consumo-de-produtos-funcionais-crescem-no-brasil/>>. Acesso em: 25 mar. 2017.

KALTA, W. Effects of production and processing factors on major fruit and vegetable antioxidants. **Journal of Food Science**, v 70, n.1, 2005. p.11–19.

KHAZAEIA, K. M.; JAFARIA, S. M.; GHORBANIA, M.; KAKHKIB, A. H. Application of maltodextrin and gum Arabic in microencapsulation of saffron petal's anthocyanins and evaluating their storage stability and color. **Carbohydrate Polymers**, v. 105, 2014. p.57–62.

KUHN, O. J.; NUNES, R. V.; STANGARLIN, J. R.; RAMPIM, L. FEY, R.; DA COSTA, N. V.; COSTA, P. B.; GUIMARÃES, V. L.; ZAMBOM, M. A. **Ciências agrárias: tecnologias e perspectivas**. Marechal Cândido Rondon: Universidade Estadual do Oeste do Paraná, 2015. 360 p.

LARRAURI, J.A.; RUPÉREZ, P.; SAURA-CALIXTO, F. Effect of drying temperature on the stability of polyphenols and antioxidant activity of red grape pomace peels. **Journal Agriculture and Food Chemistry**, v. 45, 1997. p. 1390-1393.

LEMONS, D.M.; SILVA, S.F.; LIMA, J.C.B.; SILVA, F.B.; SOUSA, E.P. Parâmetros químicos, físicos e físico-químicos de resíduos da manga. **Revista Verde de Agroecologia e**

Desenvolvimento Sustentável, v.8, n.2, p.01-03, 2013.

LIMA, R. M. T. **Avaliação da estabilidade química, físico-química e microbiológica de polpas de acerola orgânica pasteurizada e não-pasteurizada**. 2010. 94 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade federal do Ceará, Fortaleza, 2010.

LIMA, V. L. A. G.; MÉLO, E. A.; LIMA, L. S.; NASCIMENTO, P. P. Flavonóides em seleções de acerola (*Malpighia* sp. L.). 1- Teor de antocianinas e flavonóis totais. **Ciência Rural**, v. 30, n. 6, 2000. p. 1063-1064.

LIMA, R. M. T.; FIGUEIREDO, R. W. de; MAIA, G. A.; SOUSA, P. H. M. de; FIGUEIREDO, E. A. T. de; RODRIGUES, C. S. Estabilidade química, físico-química e microbiológica de polpas de acerola pasteurizadas e não-pasteurizadas de cultivo orgânico. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 42, n.2, 2012. p 367-373.

LIMA, A. C. S.; SOARES, D. J.; SILVA, L. M. R.; FIGUEIREDO, R. W.; SOUSA, P. H. M.; MENESES, E. A. In vitro bioaccessibility of copper, iron, zinc and antioxidant compounds of whole cashew apple juice and cashew apple fibre (*Anacardium occidentale* L.) following simulated gastro-intestinal digestion. **Food Chemistry**, Barking, 161. 2014. p. 142–147.

LIU, W.; WU, D. W.; SELOMULYA, C.; CHEN, D. X. Spray drying of monodispersed microencapsulates: implications of formulation and process parameters on microstructural properties and controlled release functionality. **Journal of Microencapsulation**, p. 1–8, 2012.

MAIA, G.A.; SOUSA, P.H.M.; LIMA, A.S.; CARVALHO, J.M.; FIGUEIREDO, R.W. **Processamento de Frutas Tropicais: nutrição, produtos e controle de qualidade**. Fortaleza: Editora UFC, 2009. 277p.

MANSOUR, H. M.; SOHN, M. J.; AL-GHANANEEM, A.; DELUCA, P. Materials for Pharmaceutical Dosage Forms: Molecular Pharmaceutics and Controlled Release Drug Delivery Aspects, **International Journal of Molecular Sciences**, v. 11, 2010. p. 3298-3322.

MARQUES, R. M. **Aproveitamento tecnológico de resíduos de acerola: farinha e barras de cereais**. 2013. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2013.

MARQUES, T. R.; CORREA, A. D.; ALVES, A. P. C.; SIMAO, A. A.; PINHEIRO, A. C. M.; RAMOS, V. O. Cereal bars enriched with antioxidant substances and rich in fiber, prepared with flours of acerola residues. **Journal of Food Science and Technology**, Campinas, v. 52, sept, 2015. p. 5084-5092.

MATOS-JR, F. E.; DI SABATINO, M. ; PASSERINI, N. ; FÁVARO-TRINDADE, C. S. F. ; ALBERTINI, B. . Development and characterization of solid lipid microparticles loaded with ascorbic acid and produced by spray congealing. **Food Research International**, v. 67, 2015. p. 52-59.

MATOS-JR, F. E.; DI SABATINO, M. ; PASSERINI, N. ; FÁVARO-TRINDADE, C. S. F. ; ALBERTINI, B. . Development and characterization of solid lipid microparticles loaded with

ascorbic acid and produced by spray congealing. **Food Research International**, v. 67, 2015. p. 52-59.

MELO, N. F. S.; GRILLO, R.; ROSA, A. H.; FRACETO, L. F.; FILHO, N. L. D.; PAULA, E.; ARAÚJO, D. R. Desenvolvimento e caracterização de nanocápsulas de poli (L-lactídeo) contendo benzocaína. **Química Nova**, v. 33, n. 1, 2010. p. 65-69.

MERCALI, G. D.; JAESCHKE, D. P.; TESSARO, I. C.; MARCZAK, L. D. F. Study of vitamin C degradation in acerola pulp during ohmic and conventional heat treatment. **Food Science and Technology**, Campinas, v. 47, n. 1, June, 2012. p. 91-95.

MEZQUITA, P.C., VIGOA, Y.G. La acerola. Fruta marginada de América con alto contenido en ácido ascórbico. **Alimentaria**. v. 1, n. 309, 2000. p.113–125.

MOREIRA, S. P. **Avaliação da qualidade e segurança de melão minimamente processado revestido em matriz de quitosana adicionada de compostos bioativos microencapsulados extraídos de subprodutos de acerola**. 2014. 117f. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Fortaleza, 2014.

MONTEIRO, A. A. S.; RICHTER, A. R.; MACIEL, J. S.; FEITOSA, J. P. A.; PAULA, H. C. B.; PAULA, R. C. M. Efeito da modificação química na solubilidade e intumescimento de microesferas à base de goma do cajueiro carboximetilada e quitosana Effect of chemical modification on the solubility and swelling of microspheres based on carboxymethyl cashew gum and chitosan. **Polímeros**, v. 25(número especial), 2015. p.31-39.

MUNIN, A.; EDWARDS-LÉVY, F. Encapsulation of Natural Polyphenolic Compounds; a Review. **Pharmaceutics**, v. 3, nov., 2011. p. 793-829.

NANOREG. Portal Brasil, 2015. Disponível em: < <http://www.brasil.gov.br/ciencia-e-tecnologia/2015/06/pais-integra-lista-de-paises-do-projeto-europeu-nanoreg>>. Acesso em: 25 abr. 2017.

NESTERENKO, A.; ALRIC, I.; SILVESTRE, F.; DURRIEU, V. Vegetable proteins in microencapsulation: A review of recent interventions and their effectiveness. **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, v. 42, mar. 2013. p. 469– 479.

NEVES, M.V. M; LIMA, V. L. A. G. **Efeito do congelamento sobre a estabilidade de polpa de acerola adicionada de extrato comercial de própolis**. Alim Nutr. v. 20, n. 1, 2009. p. 87-94.

NIU, F.; PAN, W.; SU, Y.; YANG, Y. Physical and antimicrobial properties of thyme oil emulsions stabilized by ovalbumin and gum arabic. **Food Chemistry**, Barking, v. 212, 2016. p.138–145.

NUNES, K. M. **Caracterização química e físico-química e estudos preliminares de planejamento da formulação fitoterápica semi-sólida contendo tintura de *Calendula officinalis* L.** 2008. 141f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Farmácia/Universidade Federal do Pará, Belém, 2008.

OLDONI, T. L. C. **Prospecção e identificação de compostos bioativos de subprodutos**

agroindustriais. 2010. 165f. Tese (Doutorado em Ciências) – Universidade de São Paulo, São Paulo.

OLIVEIRA, M. E. B.; FEITOSA, T.; BASTOS, M. S. R.; FREITAS, M. L.; MORAIS, A. S. Qualidade de polpas congeladas de frutas comercializadas nos estados do Ceará e Rio Grande do Norte. **B.CEPPA**, v. 16, n. 1, 1998. p. 13-22.

OLIVEIRA, A.L.; BRUNINI, M.A.; SALANDINI,C.A.R.; BAZZO, F.R. Caracterização tecnológica de jaboticabas ‘sabará’ provenientes de diferentes regiões de cultivo. **Rev. Bras. Frutic.** 25(3): 397- 400, 2003.

OLIVEIRA, F. M. N.; FIGUEIRÊDO, R. M. F.; QUEIROZ, A. J. M. Análise comparativa de polpas de pitanga integral, formulação e em pó. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**. Campina Grande, PB. v. 8, n. 1, 2006. p.25-33.

OLIVER, M. C.; PEDROZA-ISLAS, R.; ESCALONA-BUEMDÍA, H.; PEDRAZA-CHAVERRI, J.; PONCE-ALQUICIRA, E. Comparative study of the microencapsulation by complex coacervation of nisin in combination with an avocado antioxidante extract. **Food Hydrocolloids**, v. 62, 2017. p.49e57.

OUTUKIA, P. M.; FRANCISCO, L. M. B.; HOSCHEIDA, J.; BONIFÁCIO, K. L.; BARBOSA, D. S.; CARDOSO, M. L. C. Development of arabic and xanthan gum microparticles loaded with an extract of *Eschweilera nana* Miers leaves with antioxidant capacity. **Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects**, v. 499, 2016. p.103–112.

PAULA, H. C. B.; PAULA, R. C. M.; MORAIS, S. M.; FORTE, M. C. Esferas (**Beads**) de alginato como agente encapsulante de óleo de Croton Zehntneri Pax et Hoffm. **Polímeros**. v. 20, n. 2, 2010. p. 112-120.

PEREIRA, C. T. M.; SILVA, C. R. P.; LIMA, A.; PEREIRA, D. M.; COSTA, C. N.; NETO, A. A. C. Obtenção, caracterização físico-química e avaliação da capacidade antioxidante in vitro da farinha de resíduo de acerola (*Malpighia glabra* L.). **Acta Tecnológica**, v. 8, n.2, 2013. p. 50-56.

PÉREZ-MASIÁ, R.; LAGARON, J. M.; LÓPEZ-RUBIO, A. Development and Optimization of Novel Encapsulation Structures of Interest in Functional Foods Through Electrospraying. **Food Bioprocess Technol.** New York. 2014.

PHISUT, N. Spray drying technique of fruit juice powder: some factors influencing the properties of product. **International Food Research Journal**, v. 19, n. 4, 2012. p. 1297-1306.

PUERTA, A. A.; FARIA, I. L.; PENTEADO FILHO, R. C. Desenvolvimento científico em nanotecnologia para o agronegócio: indicadores bibliométricos de produção científica a partir da Web of Science (2001-2010). **Em Questão**, Porto Alegre, v. 18, Edição Especial, 2012. p. 145-160.

R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.2016.

RAYBAUDI-MASSILA, R.M.; MOSQUEDA-MELGAR, J.; SOLLVA-FORTUNY, R.; MATIN-BELOZO, O. Control of pathogenic and spoilage microorganisms in fresh-cut fruits and fruit juices by tradicional and alternative natural antimicrobians. **Comprehensive reviews in food science and food safety**, v.8, 2009. p. 157-180.

REINHARDT, D. H.; OLIVEIRA, J. R. P. Manejo pós-colheita. In: R. Ritzinger, A. K. Kobayashi et al., (Ed.) **A cultura da aceroleira. Cruz das Almas**, BA: Emprapa Mandioca e Fruticultura, 2003. Manejo pós-colheita, 198p..

RIPA - REDE DE INOVAÇÃO E PROSPECÇÃO TECNOLÓGICA PARA O AG RONEGÓCIO. Cenários do Ambiente de Atuação das Instituições Públicas e Privadas de PD&I para o Agronegócio e o Desenvolvimento Rural Sustentável Horizonte 2023. 2008. Disponível em: http://www.cpac.embrapa.br/publico/usuarios/uploads/nap/orientacoes/29_documento_ripa.pdf f. Acesso em: 27 nov. 2017.

RITZINGER, R. et al. A cultura da acerola. Cruz das Almas, BA: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2003. 198p.

ROBSON, A. A. Food nanotechnology: water is the key to lowering the energy density of processed foods. **Nutrition and Health**, v. 20, 2011. p. 231–236.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. A. Guide to Carotenoid Analysis in Foods, 2001. 64p.

ROSA, E. D.; TSUKADA, M.; FREITAS, L. A. P. Secagem por atomização na indústria alimentícia: fundamentos e aplicações. Disponível em <http://www.fazu.br/hd2/jornada2006/PALESTRAS/ENGE/palestra2.pdf>. Acessado no dia 27/02/2016.

ROSA, Cleonice G.; BORGES, Caroline D.; ZAMBAZI, Rui C.; RUTZ, Josiane K.; LUZ, Suzane R. da; KRUMREICH, Fernanda D.; BENVENUTTI, Edilson V.; NUNES, Michel R. Encapsulation of the phenolic compounds of the blackberry (*Rubus fruticosus*). **Food Science and Technology**, Campinas, v. 58, 2014. p.527-533.

ROCKENBACH, Ismael I.; RODRIGUES, Eliseu; GONZAGA, Luciano V.; CALIARI, Vinícius; GENOVESE, Maria I.; GONÇALVES, Any E. S. S.; FETT, Roseane. Phenolic compounds content and antioxidant activity in pomace from selected red grapes (*Vitis vinifera* L. and *Vitis labrusca* L.) widely produced in Brazil. **Food Chemistry**, Barking, v. 127, 2011.p. 174–179.

RUFINO, M. S. M.; RICARDO, E.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; JIMÉNEZ, J. P.; CALIXTO, F. S. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, Barking, v.121, 2010. p. 996–1002.

RUFINO, M.S.M.; ALVES, R.E.; BRITO, E.S.; MORAIS, S.M.; SAMPAIO, C.G; PÉREZ-JIMENEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F.D. Metodologia Científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre ABTS+. **Comunicado Técnico, 128**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2007.

RUFINO, M. S. M.; FERNANDES, F. A. N.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S. Free radical-scavenging behaviour of some north-east Brazilian fruits in a DPPH system. **Food Chemistry**, Columbus, v.114, n.2, 2009. p.693-695.

RUIZ-RICO, M.; PÉREZ-ESTEVE, E.; LERMA-GARCÍA, M. J.; MARCOS, M. D.; MARTÍNEZ-MÁÑEZ, R.; BARAT, J. M. Protection of folic acid through encapsulation in mesoporous sílica particles included in fruit juices. **Food Chemistry**, Columbus, v. 218, 2017. p.471–478.

SAÈNZ, C.; TAPIA, S.; CHÁVEZ, J.; ROBERT, P. Microencapsulation by spray drying of bioactive compounds from cactus pear (*Opuntia ficus-indica*). **Food Chemistry**, Columbus, n.114, 2009. p.616–622.

SALDAÑA, M. D. A.; COIMBRA, J. S. R.; CARDOZO-FILHO, L. Recovery, encapsulation and stabilization of bioactives from food residues using high pressure techniques. **Current Opinion in Food Science**, v. 5, 2015. p.76–85.

SANNA, V.; ROGGIO, A. M.; SILIANI, S.; PICCININI, M.; MARCEDDU, A.; MARIANI, A.; SECHI, M. Development of novel cationic chitosan- and anionic alginate-coated poly(D, L-lattice-co-glycolide) nanoparticles for controlled release and light protection of resveratrol. **International Journal of nanomedicine**, 2012. p. 5501-5516.

SANTIAGO, A.V.C. Fenoles contra patógenos intestinales como *Helicobacter pylori*. ACE: **Revista de enología**, nº. 82, 2007.

SARI, T. P.; MANN, B.; KUMAR, R.; SINGH, R. R. B.; SHARMA, R.; BHARDWAJ, M.; ATHIRA, S. Preparation and characterization of nanoemulsion encapsulating curcumin. **Food Hydrocolloids**, v. 43, 2015. p. 540-546.

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

SEATON, A.; DONALDSON, K. Nanoscience, nanotoxicology, and the need to think small. **Lancet**. v. 365, 2005. p. 923–924.

SILVA, W. S. **Qualidade e atividade antioxidante em frutos de variedades de aceroleira**. 2008. 134f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceara, Fortaleza, 2008.

SILVA, L. M. R. da. **Compostos bioativos em polpa e subprodutos de frutas tropicais: quantificação, atividade antimicrobiana e encapsulamento**. 2014. 109f. Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Fortaleza, 2014.

SILVA, P. I.; STRINGHETA, P. C.; TEÓFILO, R. F.; OLIVEIRA, I. R. N. Parameter optimization for spray-drying microencapsulation of jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) peel extracts using simultaneous analysis of responses. **Journal of Food Engineering**, [S.l.], Essex, v. 117, n. 4, aug. 2013. p. 538–544.

SILVA, L. M. R. da; FIGUEIREDO, E. A. T. de; RICARDO, N. M. P. S.; VIEIRA, I. G. P.; FIGUEIREDO, R. W. de; BRASIL, I. M.; GOMES, C. L. Quantification of bioactive compounds in pulps and by-products of tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**,

Columbus, v.143, 2014. p. 398–404.

SILVA, P. S. L.; SÁ, W. R.; MARIGUELE, K. H.; BARBOSA, A. P. R.; OLIVEIRA, O. F. Distribuição do teor de sólidos solúveis totais em frutos de algumas espécies de clima temperado. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 15, n. 1/2, 2002. p.19-23.

SONG, Y. Y.; BARLOW, P. J. Antioxidant activity and phenolic content of selected fruit seeds. **Food Chemistry**, Columbus, v. 88, n. 3, 2004. p. 411–417.

SOUSA, J. B. A. S. P. **Atividade biológica de derivados do ácido cafeico: efeito antioxidante e anti-inflamatório**. 2008. 78f. Dissertação (Mestrado em Controle de Qualidade) Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto, Lisboa.

SOUSA, M. S. B.; VIEIRA, L. M.; SILVA, M. J. M.; LIMA, A. Caracterização nutricional e compostos antioxidantes em sub-produtos de polpas de frutas tropicais. **Ciênc. agrotec.**, v. CA35, n. 3, 2011. p. 554-559.

SOUZA, V. B.; FUJITA, A.; THOMAZINI, M.; DA SILVA, E. R.; LUCON Jr, J. F.; GENOVESE, M. I.; FAVARO-TRINDADE, C. S. Functional properties and stability of spray-dried pigments from Bordo grape (*Vitis labrusca*) winemaking pomace. **Food Chemistry**, Columbus, v. 164, 2014. p. 380–386.

SUCUPIRA, N. R.; SILVA, A. B.; PEREIRA, G.; COSTA, J. N. Métodos Para Determinação da Atividade Antioxidante de Frutos. **Revista Unopar Científica Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 14, n. 4, 2012. p. 263-9.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**, 2006. [s.l.:s.n.].

TOLUN, A.; ALTINTAS, Z.; ARTIK, N. Microencapsulation of grape polyphenols using maltodextrin and gum arabic as two alternative coating materials: Development and characterization. **Journal of Biotechnology** . n.239. 2016. p. 23–33.

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

TURAN, F. T.; CENGIZ, A.; KAHYAOGU, T. Evaluation of ultrasonic nozzle with spray-drying as a novel method for the microencapsulation of blueberry's bioactive compounds. **Innov. food sci. & emerg. technol.** v. 32, Dec. 2015. P. 136–145.

TRINDADE, C. S. F., PINHO, S. C. e ROCHA, G. A. Review: Microencapsulation of food ingredients. **Braz J Food Technol.** v. 1, 2008. p. 103-109.

UCHOA, A. M. A.; COSTA, J. M. C.; MAIA, G. A.; SILVA, E. M. C.; CARVALHO, A. F. F. U.; MEIRA, T.R. Parâmetros físico-químicos, teor de fibra bruta e alimentar de pós alimentícios obtidos de sub-produtos de frutas tropicais. **Segurança Alimentar e Nutricional**, v.15, n.2, 2008. p. 58-65.

VASCO, C.; RUALES, J.; KAMAL-ELDIN, A. Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. **Food Chemistry**, Columbus, v. 111, 2008. p. 816–823.

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

YAMAGISHI, M.; SHUMYOYAMADA, Y.; NAKATSUKA, T.; MASUDA, K. Two R2R3-MYB genes, homologs of *Petunia AN2*, regulate anthocyanin biosyntheses in flower Tepals, tepal spots and leaves of asiatic hybrid lily. *Plant Cell Physiol.*, v. 51, n. 3, p. 463-474, mar. 2010.

ZETASIZER nano series. **User manual**, 3 ed. Malvern Instrument. England, 2005.