



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

FRANCISCA MAYLA RODRIGUES SILVA

**ENCAPSULAMENTO DE CHÁ VERDE (*Camellia sinensis* var *assamica*) POR
“SPRAY DRYER” COM GOMA DE CAJUEIRO/MALTODEXTRINA**

FORTALEZA

2016

FRANCISCA MAYLA RODRIGUES SILVA

ENCAPSULAMENTO DE CHÁ VERDE (*Camellia sinensis* var *assamica*) POR
“SPRAY DRYER” COM GOMA DE CAJUEIRO/MALTODEXTRINA

Dissertação 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 Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Área de concentração: Produtos de Origem Vegetal.

Orientador: Profa. Dra. Lucicléia Barros de Vasconcelos Torres.

Coorientador: Prof. Dr. Raimundo Wilane de Figueiredo.

FORTALEZA

2016

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)

- S58e Silva, Francisca Mayla Rodrigues.
Encapsulamento de chá verde (*Camellia sinensis* var *assamica*) por “spray dryer” com goma de cajueiro/maltodextrina / Francisca Mayla Rodrigues Silva. – 2016.
111 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, , Fortaleza, 2016.
Orientação: Profa. Dra. Lucicléia Barros de Vasconcelos Torres.
Coorientação: Prof. Dr. Raimundo Wilane de Figueiredo.
1. extrato de chá verde. 2. compostos bioativos. 3. microencapsulação. 4. goma do cajueiro. 5. maltodextrina.. I. Título.

CDD

FRANCISCA MAYLA RODRIGUES SILVA

ENCAPSULAMENTO DE CHÁ VERDE (*Camellia sinensis* var *assamica*) POR
“SPRAY DRYER” COM GOMA DE CAJUEIRO/MALTODEXTRINA

Dissertação 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 Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Área de concentração: Produtos de Origem Vegetal.

Orientador: Profa. Dra. Lucicléia Barros de Vasconcelos Torres.

Coorientador: Prof. Dr. Raimundo Wilane de Figueiredo.

Dissertação aprovada em: 14/01/2016

BANCA EXAMINADORA

Dra. Lucicléia Barros de Vasconcelos Torres
(ORIENTADOR)

Dr. Raimundo Wilane de Figueiredo
(CO-ORIENTADOR)

Dr. Guilherme Julião Zocolo
(MEMBRO)

Dra. Nágila Maria Pontes Silva Ricardo
(MEMBRO)

Dra. Deborah dos Santos Garruti
(MEMBRO)

A Deus e a Nossa Senhora, pela constante presença em minha vida.

Aos meus pais Enedina e Cloves, pelo exemplo de força e dedicação.

Ao meu irmão Hiago pelo apoio e incentivo.

Aos meus amigos, pela compreensão e pelos bons momentos compartilhados.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela sua infinita bondade e misericórdia em todos os momentos de angústias e dificuldades que passei e por ter permitido que eu alcançasse o meu objetivo. E a Nossa Senhora, Maria Santíssima, pela sua proteção e intercessão.

À minha orientadora, Prof^a. Dra. Lucicléia Barros de Vasconcelos Torres, pela orientação, confiança, incentivo, paciência, amizade e ensinamentos que foram importantes para a realização e concretização deste trabalho e para minha formação profissional.

Ao meu co-orientador, Prof. Dr. Raimundo Wilane de Figueiredo por todo auxílio prestado para realização deste trabalho.

Ao Pesquisador da Embrapa Agroindústria Tropical, Dr. Guilherme Julião Zocolo, pela sua importantíssima orientação, dedicação, apoio, paciência e incansável ajuda durante grande parte deste trabalho. Além de ser um grande amigo incentivador, participativo e que não mede esforços para ajudar o próximo.

À Dra. Nágila Maria Pontes Silva Ricardo, pela sua paciência, compreensão, conselhos e ajuda durante todo este trabalho.

À Universidade Federal do Ceará (UFC), em especial ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, pela formação acadêmica e pela oportunidade de realização do mestrado.

À Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FUNCAP), pela bolsa e apoio financeiro concedido.

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), por ter me proporcionado a oportunidade de realizar grande parte deste trabalho, oferecendo todo apoio técnico.

Aos analistas do Laboratório de Química de Produtos Naturais da Embrapa, Dr. Paulo Riceli Vasconcelos Ribeiro e Dra. Lorena Mara Alexandre e Silva, pelos ensinamentos e por me ajudar em algumas análises necessárias para realização deste trabalho.

À Dra. Deborah dos Santos Garruti por me acolher e pela grande ajuda na avaliação sensorial realizada neste trabalho.

À Professora Dra. Evânia Altina de Figueiredo pela atenção e apoio com as análises microbiológicas.

À Professora Dra. Luciana Siqueira Oliveira pela disponibilidade, ensinamentos e auxílio sempre que foi necessário.

À Profa. Dra. Tamara Gonçalves do Departamento de Farmácia, por me ajudar e orientar na realização de algumas análises.

À Profa. Dra. Antoniella Souza Gomes Duarte da Faculdade de Medicina pela ajuda e orientação na análise de citotoxicidade.

Ao amigo Márcio Ootani que me ajudou nas análises estatísticas.

À minha mãe Enedina, que tudo fez e faz por mim, meu porto seguro e meu espelho de mulher forte e batalhadora. Ao meu pai Cloves, que hoje não está entre nós, mas sei que sempre me amou e que está ao lado do Pai cuidando e olhando por mim.

Ao meu irmão Hiago, pelo companheirismo, amor, amizade, apoio e constante torcida. A você meu eterno agradecimento e amor.

À todos os meus amigos da vida e da universidade (Mayrla, Isabela, Natália, Jorgiane, Karine, Patrícia, Mazé, Larissa, Alessandra, Bruno, Cristina, Leilane, Jéssica, Aline, Adriana), pelos momentos de muitas risadas, descontração e de muito companheirismo.

Ao secretário Paulo Mendes, pela disponibilidade e paciência nesses anos de mestrado.

Ao Sr. Luiz, por toda ajuda e por toda disposição em ajudar.

A todos os professores do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Ceará, pelos conhecimentos repassados ao longo da minha graduação e mestrado.

Aos membros da banca pelas valiosas sugestões, as quais foram concedidas e que engrandeceram mais ainda este trabalho.

A todos que fizeram parte da minha vida neste período e que de alguma forma contribuíram para a realização desta pesquisa e para minha formação pessoal e profissional, o meu muitíssimo obrigada.

“Nenhum homem realmente produtivo pensa como se estivesse escrevendo uma dissertação.”

Albert Einstein

RESUMO

Dentre os constituintes do chá verde (*Camellia sinensis*), destacam-se os compostos fenólicos como as catequinas e a cafeína, as quais têm sido relacionadas com algumas atividades biológicas no organismo. A microencapsulação vem sendo bastante empregada com o intuito de proteger compostos sensíveis, além de ajudar na remoção de sabores e odores indesejáveis, dentre outros. Diante disto, este trabalho teve como objetivo a obtenção e caracterização de um extrato das folhas do chá verde (*Camellia sinensis*) contendo altos teores de catequinas e cafeína, bem como a proteção desses compostos bioativos a partir do processo de microencapsulação com goma do cajueiro e maltodextrina utilizadas como material de parede. A partir do extrato obtido das folhas secas de chá verde com solução de etanol (75%) foi realizada análise de citotoxicidade, bem como avaliação das concentrações de catequinas e cafeína, atividade antioxidante, quantidade de compostos fenólicos e flavonoides. O extrato não apresentou ação citotóxica, sendo quantificadas concentrações consideráveis de catequinas e cafeína, bem como elevados níveis de capacidade antioxidante, compostos fenólicos e flavonoides. Foram caracterizadas três formulações de material de parede, bem como a goma do cajueiro e maltodextrina puras: MPA (material de parede A) = 10% goma do cajueiro + 20% maltodextrina; MPB (material de parede B) = 15% goma do cajueiro + 15% maltodextrina; MPC (material de parede C) = 20% goma do cajueiro + 10% maltodextrina; GC (goma do cajueiro) e M (maltodextrina), sendo constatado a partir das análises térmicas que a mistura de GC com M melhorou as características do material de parede utilizado, aumentando a sua estabilidade térmica a temperaturas acima de 100°C. Desta forma, as diferentes formulações de materiais de parede foram capazes de encapsular o extrato de chá verde, tornando-se viável a substituição de parte da maltodextrina utilizada por goma de cajueiro. Foram elaboradas três formulações de microcápsulas: A (10% goma do cajueiro + 20% maltodextrina + 7,5% extrato seco de chá verde); B (15% goma do cajueiro + 15% maltodextrina + 7,5% extrato seco de chá verde) e C (20% goma do cajueiro + 10% maltodextrina + 7,5% extrato seco de chá verde). As microcápsulas foram caracterizadas por MEV, tamanho e distribuição de partícula, solubilidade em água, eficiência de microencapsulação, perfil de dissolução, análise de FT-IR, Difractometria de raios-X (DRX) e análises térmicas (DSC e TGA). As microcápsulas obtidas mostraram formas irregulares com predominância circular e superfície dentada, apresentando diâmetros médios iguais a 2,50, 2,55 e 3,64 µm, respectivamente para A, B e C. Para a solubilidade em água, as amostras de

microcápsulas apresentaram valores que variaram entre 63% a 72,66%. As microcápsulas A, B e C apresentaram baixos valores de eficiência de microencapsulação (33%, 30,75% e 28,25%, respectivamente.) e perfil de dissolução que variou entre 81,44% e 103,81%. Para avaliar o uso das microcápsulas de chá verde, como ingrediente promotor do aumento da capacidade antioxidante e compostos bioativos em alimentos convencionais, o néctar de cajá foi utilizado como sistema modelo, sendo elaboradas duas formulações: néctar de cajá com extrato de chá verde microencapsulado (NCEM) e néctar de cajá (NC). As formulações foram caracterizadas por análises físico-químicas, de compostos funcionais, análise microbiológica e sensorial. As análises mostraram que a adição das microcápsulas de chá verde ao néctar de cajá aumentou consideravelmente os teores de compostos antioxidantes e o de compostos fenólicos. As análises também mostraram que os néctares se apresentaram dentro dos padrões físico-químicos, microbiológicos e sensoriais recomendados, obtendo médias sensoriais dentro da região de aceitação. Desta forma, verifica-se o potencial para a indústria do emprego das micropartículas a base do extrato seco de chá verde como ingrediente alimentício.

Palavras-chave: Extrato de chá verde. Compostos bioativos. Microencapsulação. Goma do cajueiro. Maltodextrina.

ABSTRACT

Among the constituents of green tea (*Camellia sinensis*), phenolic compounds such as catechins and caffeine, which have been related to some biological activities in the body, stand out. Microencapsulation has been widely used to protect sensitive compounds, as well as helping to remove unwanted flavors and odors, among others. The objective of this work was to obtain and characterize an extract of the leaves of green tea (*Camellia sinensis*) containing high levels of catechins and caffeine, as well as the protection of these bioactive compounds from the microencapsulation process with cashew gum and maltodextrin used as wall material. From the extract obtained from dried leaves of green tea with ethanol solution (75%), cytotoxicity analysis was performed, as well as evaluation of catechins and caffeine concentrations, antioxidant activity, amount of phenolic compounds and flavonoids. The extract did not present cytotoxic action, with considerable concentrations of catechins and caffeine being quantified, as well as high levels of antioxidant capacity, phenolic compounds and flavonoids. Three formulations of wall material, as well as cashew gum and pure maltodextrin, were characterized: MPA (wall material A) = 10% cashew gum + 20% maltodextrin; MPB (wall material B) = 15% cashew gum + 15% maltodextrin; MPC (wall material C) = 20% cashew gum + 10% maltodextrin; GC (cashew gum) and M (maltodextrin). It was verified from the thermal analyzes that the mixture of GC and M improved the characteristics of the wall material used, increasing its thermal stability at temperatures above 100 ° C. Thus, different formulations of wall materials were able to encapsulate the green tea extract, making it feasible to replace part of the maltodextrin used by cashew gum. Three formulations of microcapsules were prepared: A (10% cashew gum + 20% maltodextrin + 7,5% dry green tea extract); B (15% cashew gum + 15% maltodextrin + 7,5% dry green tea extract) and C (20% cashew gum + 10% maltodextrin + 7,5% dry green tea extract). Microcapsules were characterized by SEM, particle size and distribution, water solubility, microencapsulation efficiency, dissolution profile, FT-IR analysis, X-ray diffractometry (XRD) and thermal analysis (DSC and TGA). The microcapsules obtained showed irregular shapes with circular predominance and dentate surface, presenting average diameters equal to 2,50, 2,55 and 3,64 μm , respectively for A, B and C. For the solubility in water, the microcapsule samples presented Values ranging from 63% to 72,66%. The microcapsules A, B and C presented low values of microencapsulation efficiency (33%, 30,75% and 28,25%, respectively.) and dissolution profile ranging from 81,44% to 103,81%. In order to evaluate

the use of green tea microcapsules as a promoter of antioxidant capacity and bioactive compounds in conventional foods, the cashew nectar was used as a model system and two formulations were elaborated: cajá nectar with microencapsulated green tea extract (NCEM) and cashew nectar (NC). The formulations were characterized by physical-chemical analysis, functional compounds, microbiological and sensory analysis. The analyzes showed that the addition of microcapsules of green tea to cajá nectar increased considerably the contents of antioxidant compounds and that of phenolic compounds. The analyzes also showed that the nectars presented within the recommended physical-chemical, microbiological and sensorial standards, obtaining sensorial means within the region of acceptance. In this way, the potential for the microparticle employment industry is verified, based on the green tea extract as a food ingredient.

Keywords: Green tea extract. Bioactive compounds. Microencapsulation of cashew gum. Maltodextrin.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Estrutura básica dos flavonoides.....	26
Figura 2 -	Estrutura das principais classes de flavonoides.....	26
Figura 3 -	Estruturas químicas das principais catequinas presentes no chá verde.....	28
Figura 4 -	Possível rota de metabolismo dos polifenóis.....	29
Figura 5 -	Fórmulas estruturais da xantina e de seus três derivados naturais.....	30
Figura 6 -	Formas principais de encapsulamento: cápsulas mononucleares (à esquerda) e agregados (à direita)	34
Figura 7 -	Esquema de um <i>spray dryer</i>	35
Figura 8 -	Representação esquemática da estrutura da goma de cajueiro (R = ramnose, arabinose ou ácido glucurônico).....	37
Figura 9 -	Ensaio de citotoxicidade do extrato seco de chá verde frente a culturas celulares epiteliais. Células epiteliais (cultura IEC 6) expostas a soluções contendo concentração de 100 e 50% do extrato seco de chá verde.....	57
Figura 10 -	Curvas de calibração das soluções padrão de catequinas e cafeína. C = catequina; EC = epicatequina; ECG = epicatequina galato; EGCG = epigalocatequina galato e CAF = cafeína.....	59
Figura 11 -	Cromatogramas de íons totais (TIC) para a análise dos padrões de catequinas por UPLC-QToF-MS ^E no modo negativo e concentração de 6 µg.mL ⁻¹ . Picos: C = catequina; EC= epicatequina; ECG = epicatequina galato; EGCG = epigalocatequina galato.....	60
Figura 12 -	Cromatogramas de íons totais (TIC) para a análise do extrato seco de chá verde por UPLC-QToF-MS ^E no modo negativo e concentração de 6 µg.mL ⁻¹ . Picos: C = catequina; EC = epicatequina; ECG = epicatequina galato; EGCG = epigalocatequina galato.....	61
Figura 13 -	Cromatogramas de íons totais (TIC) para a análise de cafeína por UPLC-QToF-MS ^E no modo positivo e concentração de 6 µg.mL ⁻¹ : solução padrão (A) e extrato seco de chá verde (B). Pico: CAF = cafeína.....	62
Figura 14 -	Curvas GPC para a goma do cajueiro (GC) e maltodextrina (M), mostrando os detalhes da distribuição de massas molares.....	69
Figura 15 -	Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) das formulações de material de parede: MPA (material de parede A); MPB (material de parede B); MPC (material de parede C); GC (goma do cajueiro) e M (maltodextrina) em atmosfera de nitrogênio (10°C.min ⁻¹ , 50 mL.min ⁻¹ , da temperatura ambiente a 400°C, variação	

	do fluxo de calor versus temperatura).....	70
Figura 16 -	TGA e DTG para as três formulações de material de parede testadas: MPA (material de parede A) = 10% goma do cajueiro + 20% maltodextrina; MPB (material de parede B) = 15% goma do cajueiro + 15% maltodextrina; MPC (material de parede C) = 20% goma do cajueiro + 10% maltodextrina; GC (goma do cajueiro) e M (maltodextrina).....	72
Figura 17 -	Micrografias obtidas por MEV das microcápsulas A (10% goma do cajueiro + 20% maltodextrina + 7,5% extrato seco de chá verde); B (15% goma do cajueiro + 15% maltodextrina + 7,5% extrato seco de chá verde) e C (20% goma do cajueiro + 10% maltodextrina + 7,5% extrato seco de chá verde).....	74
Figura 18 -	Distribuição dos tamanhos de partículas da formulação A de microcápsulas de extrato de chá verde (10% goma de cajueiro + 20% maltodextrina + 7,5% extrato seco de chá verde).....	76
Figura 19 -	Distribuição dos tamanhos de partículas da formulação B de microcápsulas de extrato de chá verde (15% goma de cajueiro + 15% maltodextrina + 7,5% extrato seco de chá verde).....	76
Figura 20 -	Distribuição dos tamanhos de partículas da formulação C de microcápsulas de extrato de chá verde (20% goma de cajueiro + 10% maltodextrina + 7,5% extrato seco de chá verde).....	77
Figura 21 -	Perfis de dissolução das formulações A, B e C, respectivamente, utilizando água destilada como meio dissolução ($37 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$), dissolutor com aparato II, velocidade de agitação de 50 rpm e quantificação espectrofotométrica em 272 nm.....	81
Figura 22 -	Espectroscopia FTIR da microcápsula A, em pastilha de KBr.....	82
Figura 23 -	Espectroscopia FTIR da microcápsula B, em pastilha de KBr.....	83
Figura 24 -	Espectroscopia FTIR da microcápsula C, em pastilha de KBr.....	83
Figura 25 -	Espectroscopia FTIR da goma do cajueiro (GC), em pastilha de KBr.....	84
Figura 26 -	Espectroscopia FTIR do extrato seco de chá verde (EXT), em pastilha de KBr.....	84
Figura 27 -	Difratogramas das três formulações de microcápsulas avaliadas. A= 10% de goma	

do cajueiro + 20% de maltodextrina + 7,5% extrato de chá verde; B= 15% de goma do cajueiro + 15% de maltodextrina + 7,5% extrato de chá verde; C= 20% de goma do cajueiro + 10% de maltodextrina + 7,5% extrato de chá verde; EXT = 100% extrato de chá verde; GC = 100% goma do cajueiro; M = 100% maltodextrina..... 86

Figura 28 - Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) das formulações de microcápsulas (A, B e C) e do extrato seco de chá verde (EXT) em atmosfera de nitrogênio ($10^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$, $50\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, da temperatura ambiente a 400°C , variação do fluxo de calor versus temperatura)..... 87

Figura 29 - TGA e DTG para as formulações de microcápsulas A (10% goma do cajueiro + 20% maltodextrina + 7,5% extrato seco de chá verde); B (15% goma do cajueiro + 15% maltodextrina + 7,5% extrato seco de chá verde) e C (20% goma do cajueiro + 10% maltodextrina + 7,5% extrato seco de chá verde) e EXT (extrato seco de chá verde)..... 88

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Formulações utilizadas para o preparo das suspensões.....	49
Tabela 2 -	Padrões de Identidade e Qualidade do néctar de cajá.....	53
Tabela 3 -	Tempo de retenção, linearidade, curvas de calibração, reprodutibilidade, limites de detecção e limites de quantificação para a análise dos compostos estudados UPLC-MS / MS em soluções padrão.....	63
Tabela 4 -	Teores de catequinas e cafeína no extrato seco de chá verde analisado por UPLC-MS / MS.....	64
Tabela 5 -	Polifenóis Extraíveis Totais (PET) e Flavonoides amarelos do extrato seco de chá verde.....	66
Tabela 6 -	Atividade Antioxidante obtida para o extrato seco de chá verde pelos métodos: ABTS e FRAP.....	67
Tabela 7 -	Massas molares médias (M_w e M_n) e polidispersão (M_w/M_n) para as amostras de goma do cajueiro (GC) e maltodextrina (M).....	69
Tabela 8 -	Parâmetros obtidos do TGA para MPA, MPB, MPC, GC e M.....	73
Tabela 9 -	Análise de variância para potencial Zeta referente às formulações de microcápsulas A, B e C.....	78
Tabela 10 -	Médias de solubilidade das formulações de microcápsulas obtidas pelo teste de Tukey.....	79
Tabela 11 -	Médias de eficiência de microencapsulação (%EM) das formulações de microcápsulas obtidas pelo teste de Tukey.....	80
Tabela 12 -	Porcentagem de decaência das formulações de cápsulas A, B e C obtidas no tempo de 30 minutos na seguinte condição: água destilada como meio dissolução ($37 \pm 0,5$ °C), dissolutor com aparato II, velocidade de agitação de 50 rpm.....	82
Tabela 13 -	Parâmetros obtidos do TGA para A, B, C e EXT.....	89
Tabela 14 -	Características físico-químicas dos néctares (NCEM e NC).....	90
Tabela 15 -	Polifenóis Extraíveis Totais (PET), Atividade Antioxidante obtidos para os néctares NCEM e NC.....	91
Tabela 16 -	Médias dos resultados sensoriais das amostras de néctar de cajá (NC e NCEM).....	93

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAT	Atividade Antioxidante Total
ANOVA	Análise de Variância
ABTS ^{•+}	[2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)]
C	Catequina
CF	Cafeína
DE	Dextrose Equivalente
DSC	Calorimetria Diferencial Exploratória
DRX	Difratometria de raios-X
EC	Epicatequina
ECG	Epicatequina galato
EGCG	Epigallocatequina galato
EM	Eficiência de microencapsulação
EtOH	Etanol
FRAP	[2,4,6-tri(2-piridil)-1,3,5-triazina]
FT-IR	Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho
GC	Goma do Cajueiro
KBr	Brometo de Potássio anidro (KBr)
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
MPA	Material de parede A
MPB	Material de parede B
MPC	Material de parede C
MTT	[3-(4,5-dimethylthiazol, 2-yl)- 2,5-diphenyl-212 tetrazolium bromide]
NC	Néctar de cajá
NCEM	Néctar de cajá com extrato de chá verde microencapsulado
PET	Polifenóis Extraíveis Totais
SPE	Extração em fase sólida
TGA	Análise termogravimétrica
TIC	Cromatogramas de íons totais
UPLC	Cromatografia líquida a ultra pressão

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	20
2	OBJETIVOS	22
2.1	Objetivo geral	22
2.2	Objetivos específicos.....	22
3	REVISÃO DE LITERATURA	23
3.1	Chá verde	23
3.2	Composição do chá verde.....	24
3.2.1	<i>Compostos fenólicos</i>	24
3.2.2	<i>Metilxantinas</i>	29
3.3	O chá verde associado à perda de peso	31
3.4	Microencapsulação	33
3.5	Goma do cajueiro	36
3.6	Maltodextrina	38
3.7	Néctar de cajá.....	39
4	MATERIAIS E MÉTODOS	41
4.1	Materiais	41
4.1.1	<i>Chá verde</i>	41
4.1.2	<i>Goma do cajueiro</i>	41
4.1.3	<i>Maltodextrina</i>	41
4.1.4	<i>Polpa de cajá</i>	41
4.2	Métodos	42
4.2.1	<i>Obtenção do extrato seco de chá verde</i>	42
4.2.2	<i>Citotoxicidade do extrato seco de chá verde frente às células epiteliais humanas</i>	42
4.2.3	<i>Quantificação de catequinas e cafeína no extrato seco de chá verde</i>	43
4.2.4	<i>Determinação de compostos bioativos</i>	45
4.2.4.1	<i>Polifenóis Extraíveis Totais (PET)</i>	45
4.2.4.2	<i>Atividade Antioxidante Total (AAT)</i>	46
4.2.4.3	<i>Flavonoides Amarelos</i>	46
4.2.5	<i>Extração da goma de cajueiro</i>	47
4.2.6	<i>Caracterização do material de parede</i>	48

4.2.6.1	<i>Cromatografia de Permeação em Gel</i>	48
4.2.6.2	<i>Calorimetria Diferencial Exploratória (DSC)</i>	48
4.2.6.3	<i>Análise Termogravimétrica (TGA)</i>	48
4.2.7	<i>Obtenção das microcápsulas</i>	48
4.2.8	<i>Caracterização das microcápsulas</i>	50
4.2.8.1	<i>Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)</i>	50
4.2.8.2	<i>Tamanho e Distribuição das partículas e potencial Zeta</i>	50
4.2.8.3	<i>Solubilidade em água</i>	51
4.2.8.4	<i>Eficiência da microencapsulação</i>	51
4.2.8.5	<i>Perfil de dissolução</i>	51
4.2.8.6	<i>Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho (FT-IR)</i>	52
4.2.8.7	<i>Difratometria de raios-X (DRX)</i>	52
4.2.9	<i>Processamento do néctar de cajá</i>	52
4.2.10	<i>Caracterização dos néctares de cajá</i>	53
4.2.10.1	<i>Análises físico-químicas e de compostos funcionais</i>	54
4.2.10.2	<i>Análises Microbiológicas</i>	55
4.2.11	<i>Análise sensorial</i>	55
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	57
5.1	<i>Caracterização do extrato seco de chá verde</i>	57
5.1.1	<i>Citotoxicidade do extrato seco de chá verde frente às células epiteliais humanas</i>	57
5.1.2	<i>Quantificação de catequinas e cafeína</i>	58
5.1.3	<i>Determinação de compostos bioativos</i>	65
5.2	<i>Caracterização do material de parede</i>	68
5.2.1	<i>Cromatografia de Permeação em Gel (GPC)</i>	68
5.2.2	<i>Calorimetria Diferencial Exploratória (DSC)</i>	69
5.2.3	<i>Análise termogravimétrica (TGA)</i>	71
5.3	<i>Caracterização das Microcápsulas</i>	73
5.3.1	<i>Morfologia e tamanho das microcápsulas</i>	73
5.3.2	<i>Diâmetro médio das partículas e Potencial Zeta</i>	75
5.3.3	<i>Solubilidade em água</i>	78
5.3.4	<i>Eficiência da microencapsulação</i>	80
5.3.5	<i>Perfil de dissolução</i>	81

5.3.6	<i>Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho (FT-IR)</i>	82
5.3.7	<i>Difratometria de raios-X (DRX)</i>	85
5.3.8	<i>Calorimetria Diferencial Exploratória (DSC)</i>	86
5.3.9	<i>Análise termogravimétrica (TGA)</i>	88
5.4	Caracterização dos néctares de cajá	89
5.4.1	<i>Análises físico-químicas e de compostos funcionais</i>	90
5.4.2	<i>Análises Microbiológicas</i>	92
5.4.3	<i>Análise sensorial</i>	92
6	CONCLUSÕES	94
	REFERÊNCIAS	95

1 INTRODUÇÃO

O chá verde é originário da China e é cultivado e consumido pelas suas características de aroma e sabor e propriedades medicinais em mais de 160 países, especialmente asiáticos (KUMUDAVALLY *et al.*, 2008). Obtido das folhas da erva *Camellia sinensis*, vem sendo muito estudado por possuir atividade antioxidante e antimicrobiana, além de ação anticancerígena, imunoestimulatória, termogênica e auxiliar na redução dos níveis de colesterol (LUO *et al.*, 2014). O cultivo dessa planta no Brasil se dá em especial no Vale do Ribeira no Estado de São Paulo, sendo a maior parte desse plantio destinado à produção do chá preto. Porém, o aumento da procura dos brasileiros pelo chá verde fez com que a sua produção fosse ampliada, utilizando principalmente a cultivar *C. sinensis var assamica* IAC 259 (DE MOURA *et al.*, 2015; NISHIYAMA *et al.*, 2010).

As propriedades favoráveis atribuídas ao consumo do chá são devidas a sua composição rica em polifenóis, flavonoides e catequinas. As catequinas e outros derivados são capazes de agir diretamente como varredores de radicais e exercer propriedades antioxidantes indiretas através da ativação de fatores de transcrição e enzimas antioxidantes. A epigalocatequina galato (EGCG) tem sido apontada como a principal catequina responsável pelos efeitos benéficos presentes no chá verde, assim como também pelo aumento da termogênese (KHAN; MUKHTAR, 2007; FARIA *et al.*, 2006; WISEMAN; BALENTINE, 1997).

A cafeína é um alcalóide pertencente ao grupo das metilxantinas, que está presente em diversas espécies de plantas e é encontrada em maiores quantidades no café quando comparados às quantidades nas folhas de chá verde, porém possui grande influência no sabor do chá (ALTIMARI *et al.*, 2006; DE MOURA *et al.*, 2015). De acordo com Westerterp-Plantenga (2010), o chá verde também apresenta os efeitos da cafeína e seu possível mecanismo de atuação como termogênico. Segundo o mesmo autor, a cafeína aliada à catequina EGCG, estimula a oxidação de gordura corporal juntamente com a termogênese.

A microencapsulação na área alimentícia vem sendo bastante utilizada com o objetivo de proteger compostos como os antioxidantes, vitaminas, aromatizantes, corantes, antimicrobianos e conservantes, contra condições ambientais desfavoráveis, além de conferir melhoria da solubilidade, reduzir o grau de deterioração, diminuir as perdas de compostos voláteis e ajudar na remoção de sabores e odores indesejáveis (HEYANG *et al.*, 2009; FATHI; MOZAFARI; MOHEBBI, 2012). Dessa forma, visto que os compostos bioativos

sofrem rápida degradação quando estão expostas à luz, ar e calor, perdendo seu valor nutricional, propriedades biológicas e até tecnológicas, faz-se necessário o estudo de sua estabilização aplicando, por exemplo, técnicas de microencapsulação visando sua utilização comercial (MARTINOTTO *et al.*, 2007).

Para o processo de microencapsulação, o material de parede utilizado é tão importante quanto o processo de produção das microcápsulas (ANWAR; KUNZ, 2011). O material de parede pode ser constituído por compostos como polímeros, amidos, gelatinas e gomas, por exemplo, a goma do cajueiro, e geralmente abrigam grupos hidrofílicos e/ou hidrofóbicos (TURCHIULI *et al.*, 2005).

A goma do cajueiro é um polissacarídeo que apresenta características semelhantes à goma arábica e já vem sendo bastante utilizados como substituto em diferentes finalidades na indústria alimentícia, especialmente como suporte para microcápsulas (SARUBBO *et al.*, 2007).

A maltodextrina é um polissacarídeo que vem sendo bastante utilizado na indústria de alimentos devido ao seu valor nutricional e pra atribuir consistência e textura, dentre outras funções, podendo ser utilizada para compor o material de parede na secagem por atomização (WANG; WANG, 2000).

Motivados pela falta de tempo da população, é cada vez mais comum o estudo e elaboração de novos produtos que tragam ao consumidor a possibilidade de adquirir um produto que alie a praticidade com a expectativa de vida mais saudável. A elaboração de microcápsulas de extrato de chá verde tem exatamente o objetivo de conseguir facilitar a vida do consumidor no momento de transformar um alimento convencional como, por exemplo, um néctar de cajá, em um alimento capaz de fornecer compostos bioativos que irão atuar beneficemente em sua saúde. A goma do cajueiro e a maltodextrina podem ser utilizadas para elaborar microcápsulas de extrato de chá verde, podendo ser adicionadas ao néctar de cajá para a obtenção de uma bebida com propriedades bioativas.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

O presente trabalho tem como objetivo a obtenção e caracterização de um extrato das folhas do chá verde (*Camellia sinensis*), bem como a proteção de seus compostos bioativos a partir do processo de microencapsulação com goma do cajueiro e maltodextrina utilizadas como material de parede.

2.2 Objetivos específicos

Obter um extrato seco de chá verde (*Camellia sinensis*) usando solução extratora a base de EtOH / H₂O (75 / 25) como solução extratora.

Avaliar a viabilidade celular do extrato obtido, frente a células epiteliais humanas, a partir da redução celular de MTT.

Verificar se as catequinas, cafeína, polifenóis extraíveis totais, atividade antioxidante total e flavonoides amarelos permanecem presentes em níveis consideráveis no extrato seco de chá verde.

Caracterizar o material de parede constituído por goma do cajueiro e maltodextrina a partir de análises térmicas e cromatografia de permeação em gel.

Obter e caracterizar o extrato de chá verde microencapsulado utilizando como material de parede goma do cajueiro e maltodextrina em três proporções distintas.

Elaborar um néctar de cajá contendo as microcápsulas de extrato de chá verde selecionada, servindo como ingrediente promotor do aumento da capacidade antioxidante e de compostos bioativos.

Avaliar a partir de análise microbiológica, sensorial e de compostos químicos presentes no néctar de cajá utilizado como sistema modelo alimentício para a adição da microcápsula selecionada.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Chá verde

O chá é considerado uma das bebidas mais consumidas no mundo, que remonta há mais de 5000 anos (RAHIM; NOFRIZAL; SAAD, 2014). Há algum tempo os chás vêm sendo estudados devido a sua alta atividade antioxidante, a qual é dependente do perfil de compostos fenólicos extraídos no processo de infusão. Essa atividade desperta interesse, pois há um impacto positivo sobre as condições de saúde, vitalidade celular e corporal (LU *et al.*, 2011; MORAIS-DE-SOUZA *et al.*, 2011).

A partir da década de 2000, houve um crescimento do consumo de chá verde em todo o mundo, dessa forma, deu-se uma maior atenção ao chamado chá verde brasileiro, obtido a partir das folhas de *Camellia sinensis* var. *assamica*. A *Camellia sinensis* é um arbusto de pequeno porte pertencente à família *Theaceae*, a qual possui origem asiática (DUARTE; MENARIM, 2006; SISTI *et al.*, 2015).

A *Camellia sinensis* dá origem a três principais variedades de chás: verde, *oolong* e preto, sendo uma bebida considerada popular e consumida no mundo todo devido ao seu sabor característico e seus potenciais benefícios à saúde (EL-SHAHAWI *et al.*, 2012; HSU; DICKINSON; LAPP, 2005). Caso suas folhas não sejam rapidamente secas depois de colhidas, logo começam a se oxidar. Assim, as diferentes variedades podem também diferir entre si de acordo com o grau de oxidação de seus compostos, processo também chamado de fermentação, embora este termo não reflita a realidade, pois tal processo não envolve ação microbiológica, mas apenas a ação da polifenoloxidase presente naturalmente na planta, que oxida seus constituintes principais, os flavanóis chamados de catequinas (SENGER; SCHWANKE; GOTTLIEB, 2010; DAL'BELO, 2008).

As folhas utilizadas para a comercialização dos diferentes tipos de infusões são preparadas a partir de beneficiamento ou manufatura, passando por uma série de etapas visando o desenvolvimento do aroma e do sabor característicos do chá (GUITIERREZ, 2007). Para a obtenção do chá preto, as folhas passam por fermentação, sendo que as catequinas são oxidadas e transformadas principalmente em teaflavinas e tearrubiginas (MUTHUMANI; KUMAR, 2007). Os chás *oolong* passam por um processo fermentativo parcial e, por isso, têm aroma menos acentuado do que os pretos (NISHIYAMA *et al.*, 2010; MUTHUMANI; KUMAR, 2007). O chá verde não sofre fermentação e provém das folhas que são tratadas

com vapor (método japonês) ou dispostas em bandejas quentes (método chinês) para inativar a enzima polifenol oxidase, preservando seu teor de polifenóis e tornando-o mais rico em catequinas que os demais tipos (DAL'BELO, 2008).

3.2 Composição do chá verde

O chá verde inclui diversas classes de compostos fenólicos ou flavonoides, tais como flavonóis e ácidos fenólicos, além de proteínas, carboidratos, aminoácidos, vitaminas C, B1, B2 e K e sais minerais (flúor, potássio, magnésio, cálcio, ferro, manganês e fósforo). As metilxantinas também estão presentes no chá verde, sendo consideradas potenciais estimulantes do Sistema Nervoso Central e responsáveis pelos efeitos adversos e interações medicamentosas. Essa classe química tem como principais representantes a cafeína, a teobromina e a teofilina. A sua composição varia de acordo com a espécie, época do ano, idade das folhas, clima e práticas agronômicas (HERNÁNDEZ FIGUEROA; RODRÍGUEZ-RODRÍGUEZ; SÁNCHEZ-MUNIZ, 2004; SAITO, 2007; SENGER; SCHWANKE; GOTTLIEB, 2010).

3.2.1 Compostos fenólicos

Os vegetais possuem dois tipos de metabólitos: primários e secundários. Os metabólitos primários são responsáveis pela sobrevivência do vegetal, exercendo função ativa nos processos de fotossíntese, respiração e fixação de nutrientes. Os metabólitos secundários possuem relação com estratégias de defesa das plantas (NASS, 2007). Sendo assim, os principais metabólitos secundários podem ser classificados em três grupos de acordo com sua rota biossintética: terpenos, compostos fenólicos e compostos nitrogenados (TAYZ; ZEIGER, 2004).

Os fenólicos são amplamente distribuídos na natureza, sendo que mais de 8000 compostos fenólicos já foram encontrados em plantas (SILVA *et al.*, 2010a). A quantificação de compostos fenólicos em frutas e hortaliças revela informações a respeito da atividade antioxidante, qualidade do alimento e dos potenciais benefícios à saúde (BRAVO, 1998; TALCOTT *et al.*, 2003, ANGELO e JORGE, 2006). Os compostos fenólicos formam-se em condições de estresse, como por exemplo, ferimentos, infecções, radiação ultravioleta, dentre outros (BRAND-WILLIAMS *et al.*, 1995; NACZK e SHAHIDI, 2004). Podem ainda

contribuir na cor, adstringência, aroma e estabilidade oxidativa dos vegetais (SHAHIDI e NACZK, 1995).

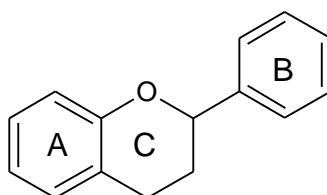
Quimicamente os compostos fenólicos podem ser definidos como substâncias que possuem um anel aromático contendo um ou mais grupos hidroxilas. Nos alimentos, os compostos fenólicos abrangem os ácidos fenólicos, flavonoides, taninos e cumarinas (MORAES; COLLA, 2007; RIBEIRO, SERAVALLI, 2004).

Os compostos fenólicos são excelentes antioxidantes, podendo agir como redutores de oxigênio singlete, atuando nas reações de oxidação lipídica, assim como na quelatação de metais. Eles vêm sendo bastante estudados nos últimos anos devido a seu potencial efeito benéfico percebidos na saúde e estão, sem dúvida, entre o grupo mais investigado de compostos em pesquisa nutricional (HASLAN, 1996; DEL RIO *et al.*, 2010).

- *Flavonoides*

Os flavonoides possuem uma estrutura básica que consiste na distribuição de 15 carbonos em dois anéis aromáticos, A e B (Figura 1) interligados via carbono heterocíclico do pirano (MARTÍNEZ-FLÓREZ; GONZÁLEZ-GALLEGO; CULEBRAS, 2002; VOLP *et al.*, 2008). Essas estruturas polifenólicas possuem um baixo peso molecular, são encontradas naturalmente nos vegetais, constituindo o grupo de compostos fenólicos mais abundante e importante das plantas (HARBORNE; WILLIAMS, 2000; MOON; WANG; MORRIS, 2006). Esses compostos são encontrados em frutas, folhas, sementes e em outras partes da planta na forma de glicosídeos ou agliconas (HARBORNE; BAXTER; MOSS, 1999).

Figura 1 - Estrutura básica dos flavonóides.

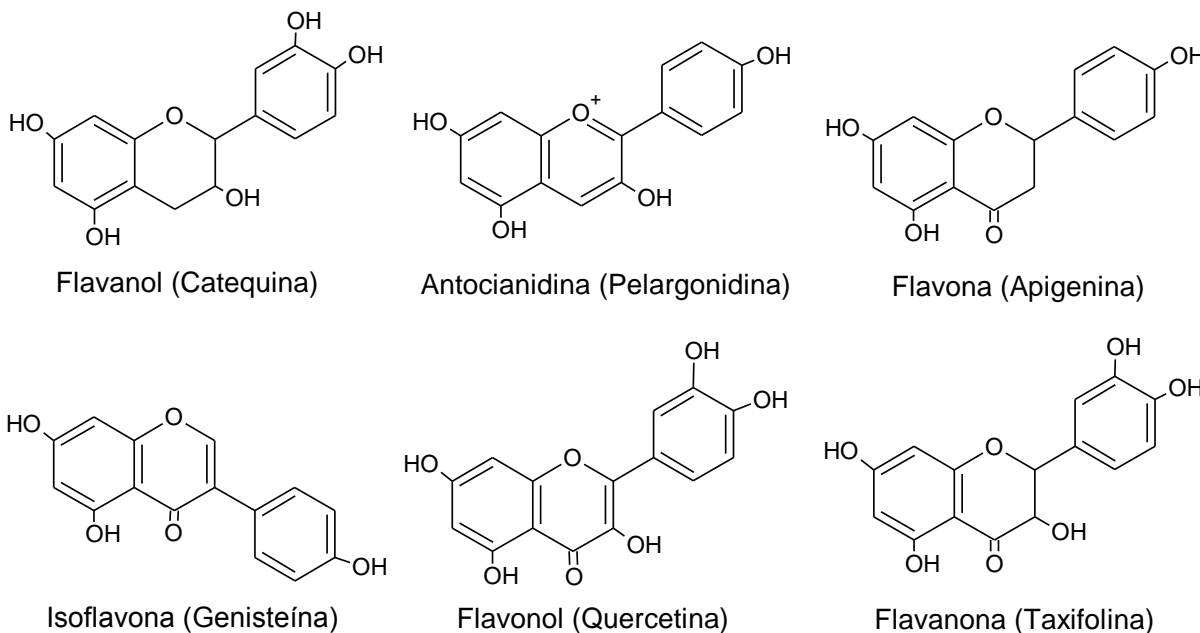


Flavonóides

Fonte: Martínez - Flórez *et al.*, 2002, p. 272

Dentre os compostos fenólicos, os flavonoides constituem o mais importante grupo e se dividem nos seguintes subgrupos: antocianidinas, flavanonas, flavonol, flavonas, isoflavona e flavanol (Figura 2) (YANG *et al.*, 2001). Nas plantas, esses compostos são essenciais para a pigmentação, o crescimento, a reprodução, resistência a patógenos e também como potentes antioxidantes (MORAES; COLLA, 2007).

Figura 2 – Estrutura das principais classes de flavonoides



Fonte: Cerqueira, Medeiros e Augusto, 2007, p. 446.

Os flavonoides possuem, de modo geral, estruturas que são ideais para o sequestro dos radicais livres, sendo considerados antioxidantes mais eficazes que as vitaminas C e E. A atividade antioxidante desses compostos depende da forma da sua estrutura, podendo ser determinada por cinco fatores: reatividade com o agente doador de H e elétrons, estabilidade

do radical flavanoil formado, reatividade frente a outros antioxidantes, capacidade de quelar metais de transição e solubilidade e interação com as membranas (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006; SANTOS, 2011).

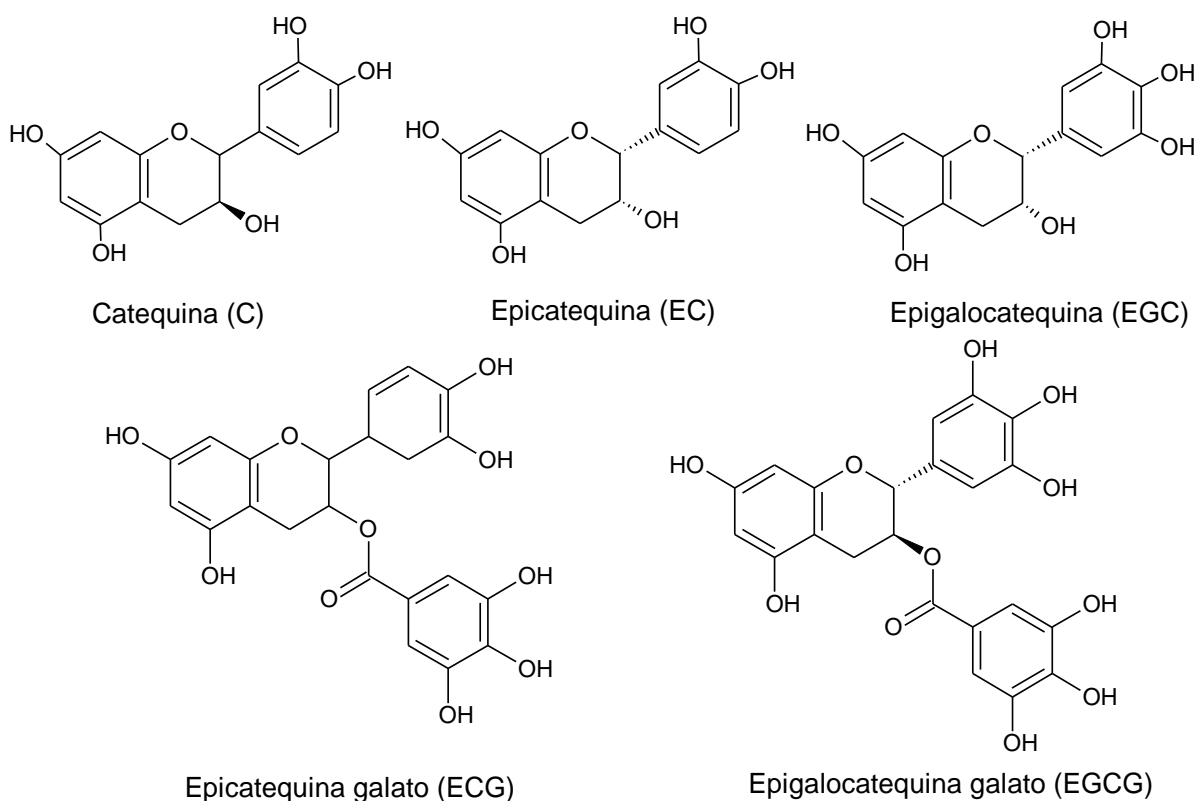
Esses compostos estão distribuídos em todo o reino vegetal, constituindo a maioria dos pigmentos amarelos (flavonas, flavonóis, flavanonas), roxos e azuis (antocianinas) de flores e de alguns frutos (FRESNO, 1999). A distribuição dos flavonoides depende de diversos fatores do vegetal, bem como da variação das espécies. Geralmente, os flavonoides encontrados nas folhas podem ser diferentes daqueles presentes nas flores, nos galhos, raízes e frutos. O mesmo composto ainda pode apresentar diferentes concentrações, dependendo do órgão vegetal em que se encontra (MACHADO *et al.*, 2008; HICHRI *et al.*, 2011; PETRONI; TONELLI, 2011).

- *Catequina*

As folhas da *Camellia sinensis* apresentam uma elevada quantidade de catequinas, chegando a constituir cerca de 30 % do seu peso seco, tendo maiores quantidades nas folhas mais jovens. As catequinas são incolores e solúveis em água, sendo também responsáveis pelo amargor e adstringência do chá verde (LIMA *et al.*, 2009; CAMARGO, 2011).

Dentre as catequinas do chá verde pode-se incluir a catequina (C), epicatequina (EC), epigalocatequina (EGC), epicatequina galato (ECG), epigalocatequina galato (EGCG) e a galocatequina galato (GCG) (NALDI, 2014). A Figura 3 mostra a estrutura química das principais catequinas encontradas no chá verde.

Figura 3 - Estruturas químicas das principais catequinas presentes no chá verde.

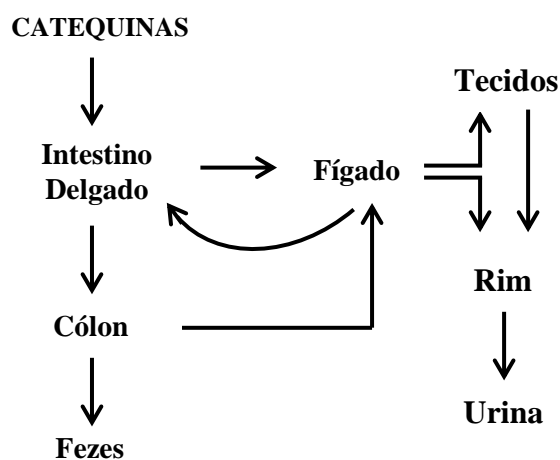


Fonte: Adaptado de NALDI, 2014.

Estudos mostram que os efeitos benéficos do chá verde vêm sendo atribuídos às catequinas, principalmente a epigallocatequina galato (EGCG), a qual geralmente é encontrada em maior teor (YANAGIMOTO *et al.*, 2003, EL-SHAHAWI *et al.*, 2012).

Alguns estudos vêm mostrando resultados importantes sobre o metabolismo das várias catequinas existentes no chá verde, sendo a epigallocatequina e epicatequina as que tiveram uma melhor absorção através do intestino delgado ou pelo cólon, devido à atuação de enzimas de natureza bacteriana. Por outro lado, a epigallocatequina galato apresentou menor absorção e baixa biodisponibilidade durante essa fase de absorção (CHEN *et al.*, 1997; SCALBERT; WILLIAMSON, 2000; LEE *et al.*, 2002). A Figura 4 mostra o esquema da possível rota de metabolismo dos polifenóis.

Figura 4 - Possível rota de metabolismo dos polifenóis.



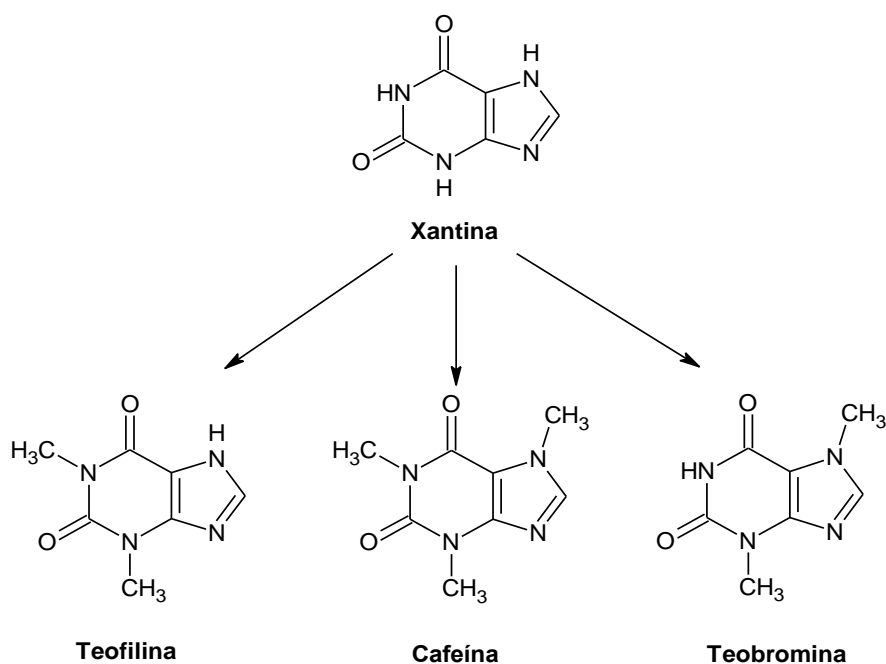
Fonte: Adaptado de SCALBERT e WILLIAMSON, 2000.

Para a fase de eliminação, estudos mostram que apenas 8,9 % e 3,3 % de epicatequina (EC) e epigalocatequina (EGC) ingeridas foram excretadas pela urina e juntamente com elevação da excreção de metabólitos de catequinas. Pesquisas realizadas em ratos demonstraram que a epigalocatequina galato (EGCG) é excretada principalmente pela bile, e a EC e EGC, pela bile e urina (CHEN *et al.*, 1997; LEE *et al.*, 2002).

3.2.2 Metilxantinas

As metilxantinas são denominadas alcalóides, bastante semelhantes quimicamente, diferenciando-se entre si pela potência na ação estimulante sobre o sistema nervoso central (SNC). A cafeína pertence ao grupo das trimetilxantinas, as quais são derivadas da xantina. Também fazem parte desse grupo a teofilina, a teína e a teobromina (RANG; DALE, 1996; ALTIMARI *et al.*, 2001). A Figura 5 demonstra a estrutura química de algumas trimetilxantinas.

Figura 5 - Fórmulas estruturais da xantina e de seus três derivados naturais.



Fonte: Adaptado de RANG e DALE, 1996.

- *Cafeína*

Sabe-se que a cafeína é largamente empregada e aceita no mundo todo, sendo frequentemente consumida por bilhões de pessoas e participando de diversas práticas culturais, sendo até vital para algumas economias (AIS, 2001; DE MOURA *et al.*, 2015).

A cafeína é um alcalóide que não possui valor nutricional e na sua forma pura é uma substância cristalina apresentando sabor amargo. Os teores de cafeína nas folhas de chá verde estão compreendidos entre 2,5 e 5,5 % do extrato seco, tendo grande influência no sabor do chá. A cafeína está presente em diferentes partes da planta e seu teor varia de acordo com a região, sendo maior no gomo terminal e na primeira folha. O teor de cafeína presente nas folhas de chá verde é inversamente proporcional ao seu tamanho, sendo encontrada em maior quantidade em folhas menores (VENTURINI FILHO, 2005).

A cafeína é considerada uma droga estimulante que possui efeito sobre a função mental e comportamental; produz excitação, produz euforia, reduz a sensação de fadiga, aumenta a atividade motora e pode ainda afetar negativamente a qualidade do sono. Essa substância está presente em menores quantidades no chá verde quando comparada ao café,

sendo encontrados aproximadamente 6 % de cafeína em uma xícara de chá, enquanto que uma xícara de café contém até 25 % (VALENZUELA, 2004).

Alguns estudos vêm mostrando que a cafeína auxilia em um melhor condicionamento físico durante práticas de diferentes tipos de exercícios físicos, na dose de apenas 3 a 6 mg de cafeína por quilograma de peso corporal (ALTIMARI *et al.*, 2000).

A cafeína do chá verde também apresenta uma possível atuação na termogênese. Alguns estudos vêm mostrando que essa ação termogênica da cafeína auxilia na oxidação da gordura corporal, assim como EGCG, que ajuda a reduzir a ingestão alimentar, o colesterol, a absorção lipídica e os triglicerídeos sanguíneos, podendo contribuir para uma maior perda de peso e melhora do perfil lipídico (WESTERTERP-PLANTENGA; LEJEUNE; KOVACS, 2005).

3.3 O chá verde associado à perda de peso

A obesidade é uma doença crônica que vem atingindo um grande número de pessoas no mundo todo, sendo considerada hoje como um problema de saúde pública, atingindo cerca de 12,7 % das mulheres e 8,8 % dos homens adultos brasileiros. Essa doença pode ser considerada uma desordem devido ao acúmulo energético nos tecidos, associado a riscos para a saúde. A partir da década de 2000, a obesidade vem sendo bastante estudada pelo meio científico, e estão surgindo pesquisas sobre os potenciais efeitos termogênicos de compostos como as catequinas e a cafeína, presentes em chás e outros alimentos de origem vegetal (DULLOO *et al.*, 1999; KASSIM; FERNANDES; RODRIGUES, 2009).

Segundo alguns estudos, uma típica bebida de chá verde, preparada em uma proporção de 1 g de folhas para 100 mL de água por 3 minutos de fervura, geralmente contém cerca de 35-45 mg de catequinas e 6 mg de cafeína, dentre outros constituintes (BALENTINE; WISEMAN; BOUWENS, 1997).

Shimotoyodome *et al.* (2005) estudaram os efeitos de uma suplementação dietética com extratos de chá verde associada a exercícios regulares sobre o desenvolvimento da obesidade em ratos. A dieta com a suplementação de extratos de chá verde acarretou um aumento da oxidação de gorduras hepáticas tanto no grupo exercitado quanto no grupo não exercitado. Por outro lado, a suplementação com chá verde combinada a exercícios físicos gerou grande oxidação lipídica no músculo esquelético.

Estudos realizados por Dulloo *et al.* (2000) encontraram efeitos positivos na atuação da catequina sobre o peso corporal e concluíram que ela também atua na redução da circunferência abdominal, reduzindo ainda os níveis plasmáticos de colesterol total e triglicérides, estimulando a termogênese, e promovendo assim um maior gasto energético e redução da ingestão alimentar pela interação da EGCG com o receptor da leptina (hormônio da obesidade), o que aumenta a saciedade e proporciona perda de peso.

Dulloo *et al.* (1999) demonstraram que o extrato de chá verde pode atuar promovendo o controle da composição corporal através da ativação simpática da termogênese e oxidação de gordura. Segundo os mesmos autores, o consumo de um extrato que continha 90 mg de epigallocatequina galato (EGCG) e 50 mg de cafeína proporcionou um maior efeito termogênico, o que pode influenciar na perda de peso. Além disso, tem demonstrado um efeito ergogênico em praticantes de atividades físicas de *endurance*, retardando a fadiga muscular e dessa forma melhorando o condicionamento dos atletas.

Em estudos de Westerterp-Plantenga, Lejeune e Kovacs (2005), um grupo de pessoas com maior consumo habitual de cafeína apresentou maior perda de peso e saciedade, no entanto, para esse mesmo grupo não houve a manutenção do peso após o emagrecimento, possivelmente devido à perda de sensibilidade à cafeína.

Estudos evidenciam que para haver redução do apetite e um aumento do catabolismo de gorduras, a ingestão de chá verde deve ser em média de 600 mL por dia. Em pesquisas com seres humanos foi revelado que o consumo de catequinas associado à prática de exercícios físicos aumentou o gasto energético, enquanto que o hábito de consumo em longo prazo de chá verde auxiliou na diminuição da gordura corporal e da relação cintura-quadril. Segundo a American Dietetic Association, para se obter efeitos benéficos à saúde, é sugerido o consumo de 4 a 6 xícaras de chá verde por dia (LAMARÃO; FIALHO, 2009).

Estudos mostram que animais que consumiram extrato de chá verde adquiriram uma maior resistência na natação e, de acordo com o gasto de oxigênio, houve catabolismo lipídico, sendo o extrato de chá verde o responsável por estimular a oxidação lipídica e aumentar a capacidade oxidativa muscular (MURASE *et al.*, 2006).

Venables *et al.* (2008) realizaram estudos a fim de avaliar os efeitos da ingestão de chá verde na tolerância à glicose e na oxidação de gorduras durante a prática de exercícios de moderada intensidade em humanos. Foi verificado que a ingestão de chá verde tanto pode aumentar a oxidação lipídica durante exercícios de intensidade moderada, como também melhorar a sensibilidade à insulina e tolerância à glicose em homens jovens.

3.4 Microencapsulação

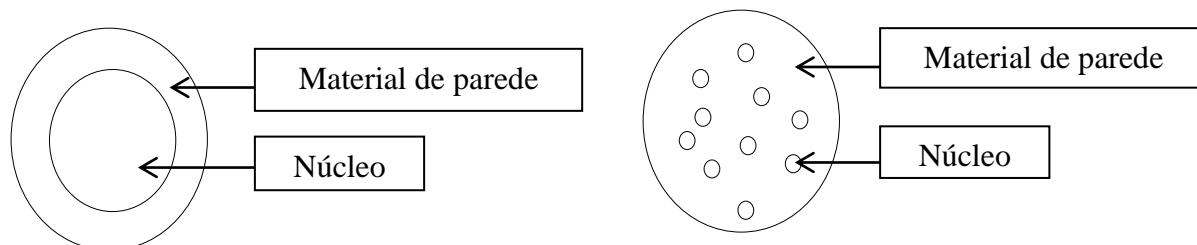
A microencapsulação é definida como um processo onde partículas ou gotas minúsculas são envolvidas por uma cobertura homo ou heterogênea, com o objetivo de formar pequenas cápsulas com muitas propriedades úteis. Essa técnica tem a finalidade de formar uma barreira física, isolando as substâncias sensíveis de indesejáveis fatores do ambiente externo, tornando-se uma ferramenta importante na proteção, estabilidade e solubilidade. O processo também pode ser adotado quando é desejável a liberação controlada dos compostos encapsulados, tanto no alimento quanto em outro local, de forma a aperfeiçoar a absorção de compostos bioativos em alimentos, especialmente os probióticos, minerais, vitaminas, fitoesteróis, ácidos graxos, o licopeno e antioxidantes. É utilizada em alimentos e produtos farmacêuticos (CHAMPAGNE; FUSTIER, 2007; DE VOS *et al.*, 2010; GHARSALLAOUI *et al.*, 2007).

As microcápsulas podem ser obtidas de várias maneiras, tais como *spray dryer*, liofilização, *spray cooling*, coacervação, secagem em leite fluidizado, polimerização, extrusão, formação de lipossomas e nanoencapsulação, quando as partículas apresentam tamanho na ordem 10^{-9} (DE VOS, 2010; DRUSCH; MANINO, 2009; GOUIN, 2004; SURYANARAYANA; RAO; KUMAR, 2008; WEINBRECK; MINOR; KRUIF, 2004).

Na área alimentícia, a microencapsulação é aplicada para proteger vitaminas, pigmentos e compostos bioativos contra oxidação química dos fatores do meio ambiente, tais como pH, temperatura, luz, etc. Esse processo também pode atender a outros objetivos como: mascarar compostos de sabor indesejável; liberar de forma controlada o material que se encontra no núcleo; retardar alterações que podem causar a perda de aroma, alteração de cor ou perda de nutrientes e separar componentes reativos ou incompatíveis (CLARK, 2002; DEPYPERE *et al.*, 2003).

As microcápsulas podem variar em tamanho de poucos nanômetros até vários micrômetros, sendo sua forma também muito variável em função do método e do agente encapsulante empregados para prepará-las. De acordo com Fang e Bhandari (2010), durante o encapsulamento várias morfologias podem ser produzidas, entretanto, duas são comumente observadas: a cápsula mononuclear, que tem um único núcleo envolto por uma concha e os agregados, com muitos núcleos embebidos por uma única matriz (Figura 6).

Figura 6 - Formas principais de encapsulamento: cápsulas mononucleares (à esquerda) e gregados (à direita).



Fonte: FANG e BHANDARI, 2010.

Segundo Rebello (2009), o desenvolvimento de produtos que contenham ingredientes ativos é geralmente mais desafiador na indústria alimentícia do que nas indústrias farmacêutica, agroquímica e cosmética, pois a adição de ingredientes encapsulados não deve comprometer as qualidades sensoriais, além de as matrizes alimentícias serem normalmente muito mais complexas que os meios usados na indústria farmacêutica e na cosmética para introdução dos bioativos encapsulados no corpo (intravenosa, cutânea, muscular, ocular, pulmonar, por exemplo). Deve-se também considerar que os ingredientes encapsulados serão ingeridos via oral, devendo resistir às condições de baixo pH do trato gastrointestinal.

- *Spray dryer*

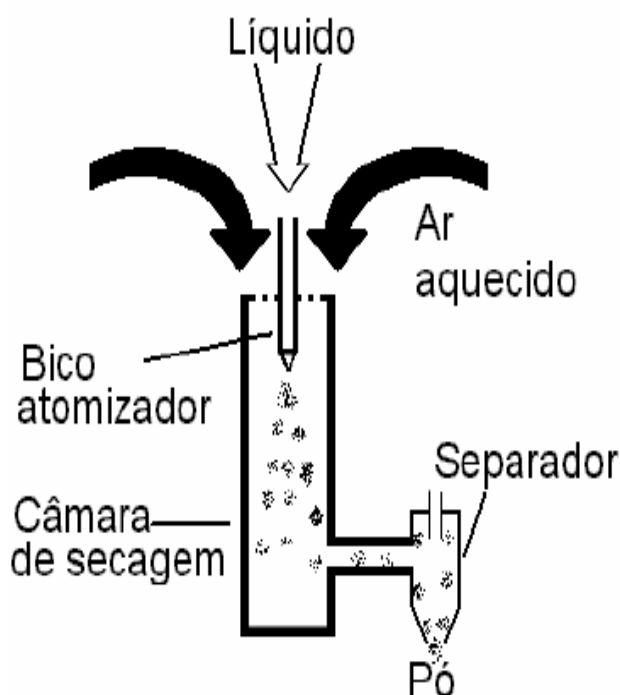
Dentre os vários métodos para a secagem de microcápsulas, o *spray dryer* ou atomização é considerado uma das técnicas mais antigas e utilizadas no encapsulamento. É considerado um processo contínuo, flexível e econômico, além de possibilitar trabalhar com materiais termolábeis e formar microcápsulas de pequenos tamanhos (geralmente menores que 100 μm), o que torna o produto altamente solúvel (BARBOSA; BORSARELLI; MERCADANTE, 2005; NEDOVIC *et al.*, 2011).

Segundo Assis *et al.* (2012), a encapsulação se dá em quatro etapas: preparo da dispersão ou emulsão; homogeneização; atomização e desidratação das partículas atomizadas. Esse processo pode ser aplicado a substâncias sensíveis, já que há riscos mínimos de ocorrer um superaquecimento, uma vez que a secagem é quase instantânea (ALVES, 2012).

Para o preparo da emulsão ou mistura a ser atomizada, deve-se dispersar o núcleo em uma solução do agente de revestimento, sendo algumas vezes necessária a adição de um emulsificante para que haja uma melhor homogeneização (GHARSALLAOUI *et al.*, 2007;

ASSIS *et al.*, 2012). Em seguida a mistura é levada ao *spray dryer*, onde a água é totalmente evaporada pela aplicação do ar quente em contato com o material atomizado, e por fim o material encapsulado é recolhido após cair no fundo do secador (FANG e BHANDARI, 2010). A Figura 7 mostra o esquema de um *spray dryer*.

Figura 7 – Esquema de um *spray dryer*.



Fonte: ROSA; TSUKADA; FREITAS, 2010.

Segundo Jafari (2008), a eficiência de encapsulação pelo método de *spray dryer* pode ser afetada pelas propriedades do material de parede, características da emulsão e parâmetros de secagem. O material de parede pode ser constituído por compostos como polímeros, amidos, gomas, gelatinas, dentre outros, e geralmente abrigam grupos hidrofílicos e/ou hidrofóbicos (TURCHIULI *et al.*, 2005).

Uma das restrições ao uso do *spray dryer* é o número limitado de materiais de parede disponível, uma vez que quase todos os processos na indústria alimentícia são realizados em meio aquoso, devendo o material de parede ser solúvel em água em um nível aceitável (DESAI; PARK, 2005).

Para ser considerado como bom material encapsulante, o agente deve possuir boa solubilidade em água, ter propriedades emulsificantes (para materiais hidrofóbicos), apresentar baixa viscosidade, baixa higroscopicidade, além de ser capaz de reter em sua

matriz os compostos voláteis (HIGUITA, 2013; JUNIOR, 2012). Deve-se ressaltar ainda que um bom material de parede não deve reagir com o material a ser encapsulado, deve possuir viabilidade econômica e possuir aroma agradável para ser aplicado em alimentos (COSTA, 2013). As gomas possuem boas características como agente encapsulante e, portanto, vêm sendo bastante utilizadas como material de parede (MENDES, 2012).

3.5 Goma do cajueiro

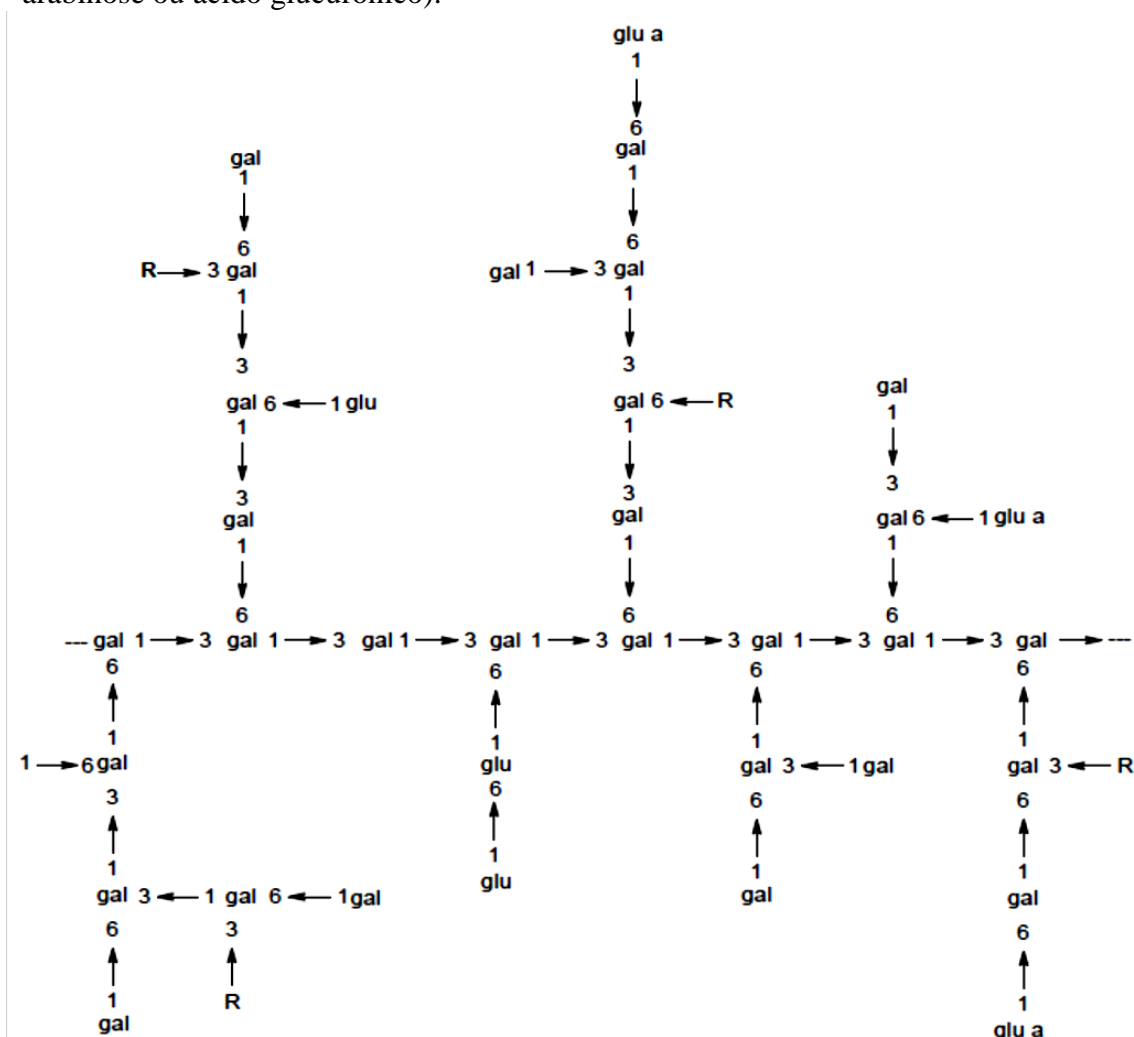
A goma do cajueiro é um polissacarídeo que pode ser obtido a partir de cissuras nas árvores, ou de forma natural pela exsudação da própria planta. Apresenta uma cor amarelada, é solúvel em água formando soluções de baixa viscosidade e é facilmente precipitado com solventes orgânicos polares, tais como etanol, formando substâncias incolores, inodoras, insípidas e atóxicas (MARQUES; ALBUQUERQUE; XAVIER-FILHO, 1992; MOURA NETO, 2008; CUNHA; FEITOSA; PAULA., 2009).

O exsudado do cajueiro é produzido nas células epiteliais da planta, sendo expulso a partir de um corte, natural ou não, em sua forma líquida. O líquido extraído da planta, seca por evaporação da água e torna-se uma resina mais firme, a qual pode ser purificada e transformada em goma (TORQUATO *et al.*, 2004). Segundo Cunha, Feitosa e Paula (2009), os polissacarídeos de exsudados são produzidos como mecanismo de defesa das plantas contra o estresse causado por injúrias físicas ou ataque microbiano.

A goma do cajueiro é classificada como um heteropolissacarídeo ácido ramificado apresentando como constituintes: galactose (70%), glicose (11%), ácido glucurônico (6%), arabinose (5%), ramnose (4%) e manose (1%) (SILVA *et al.*, 2010b).

De acordo com Paula, Gomes e Paula (2002), a goma do cajueiro apresenta uma estrutura química basicamente constituída por unidades de galactose unidas por ligações β (1-3) e cadeias ramificadas unidas por ligações β (1-6). Arabinose, ramnose e ácido glucurônico estão presentes como grupos terminais, porém a glicose pode formar cadeias laterais (PAULA; HEATLEY; BUDD, 1998). A estrutura da goma do cajueiro está esquematizada na Figura 8.

Figura 8 - Representação esquemática da estrutura da goma de cajueiro (R = ramnose, arabinose ou ácido glucurônico).



Fonte: CUNHA *et al.* (2007).

Esse polissacarídeo apresenta características muito semelhantes à goma arábica e já vem sendo bastante utilizado como substituto para diferentes finalidades na indústria. A goma do cajueiro pode ser utilizada como cola líquida pela indústria farmacêutica, em cosméticos e na indústria de alimentos como estabilizantes de sorvetes, sucos e cervejas, sendo também utilizada como emulsificantes para saladas e molhos, espessantes para sucos e refrescos e ainda como suporte para microcápsulas (SARUBBO *et al.*, 2007).

A goma extraída do exsudado do cajueiro é uma matéria prima nativa do Nordeste brasileiro, que vem sendo bastante pesquisada, apresentando crescente possibilidade de produção comercial. Segundo o IBGE, em 2012 a área cultivada com cajueiro era de 779.351 hectares. A exsudação da goma é simples e muitas vezes espontânea. A produção média de

goma/planta/ano é de 700 g, sendo possível uma produção da goma/ano muito superior à importada de goma arábica, o que seria uma forma de agregar valor à cajucultura, desde que houvesse mercado para a goma (CUNHA; FEITOSA; PAULA, 2009).

De acordo com Cunha, Feitosa e Paula (2009), levando em consideração a vasta área de cultivo de cajueiro no Nordeste brasileiro, a exploração da goma extraída dessa cultura representa uma ótima alternativa para se agregar valor à cajucultura, já que esse coproduto poderia acrescer divisas no comércio exterior diminuindo os gastos de importação da goma arábica.

Segundo Oliveira (2008), a exploração do exsudado do cajueiro é considerada mais uma fonte de mercado, além da castanha e do pedúnculo, possibilitando maiores lucros para o produtor. Além disso, torna-se uma alternativa lucrativa para o aproveitamento dos cajueiros improdutivos que se encontram em fase de declínio e senescência.

A literatura vem revelando o uso de novos agentes encapsulantes, como a goma do cajueiro na encapsulação do corante de urucum, amido de mandioca esterificado com ácido esteárico na retenção de ácido oleico e maltodextrina acetilada na encapsulação da propólis (MENDES, 2012; ALVES, 2013; TOSONI; RODRIGUES, 2013).

3.6 Maltodextrina

De acordo com Storz e Steffens (2004), as maltodextrinas se apresentam na forma de pó branco ou soluções concentradas, sendo classificadas como ingrediente geralmente reconhecido como seguro (*Generally Recognized As Safe*, GRAS) pela Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (*Food and Agriculture Organization of the United Nations*, FAO).

As maltodextrinas são utilizadas pelas indústrias alimentícias devido seu valor nutricional; por atribuir consistência e textura sem mascarar sabores; prevenir cristalização e escurecimento não enzimático; controlar doçura, higroscopicidade, osmolaridade e ponto de congelamento; formar substituintes de gordura e filmes comestíveis e para compor o material de suporte na secagem por atomização (WANG; PROVAN; HELLIWELL, 2000).

A obtenção das maltodextrinas ocorre pela hidrólise enzimática ou ácida do amido ou da fécula, possuindo baixa viscosidade e alta solubilidade. Esse material apresenta baixo custo e baixa higroscopicidade, dificultando a aglomeração das partículas. A maltodextrina

apresenta ainda efeito protetor na oxidação, mostrando retenção de voláteis na faixa de 65 a 80 % (ABURTO; TAVARES; MARTUCCI, 1998; ÓBON *et al.*, 2009; TONON *et al.*, 2008).

Segundo Mcpherson e Seib (1997), a DE (dextrose equivalente) é a medida do grau de hidrólise da molécula de amido e é definida pelo conteúdo de AR (açúcares redutores) expresso em percentual de glicose, em base seca. Dependendo do grau de hidrólise da molécula de amido, os produtos obtidos são classificados como maltodextrinas (se o valor de DE for menor que 20) ou xaropes (DE igual ou maior que 20).

3.7 Néctar de cajá

O consumo de bebidas não alcoólicas vem crescendo no mundo todo, tanto *per capita* quanto global. Dessa maneira, as bebidas obtidas de frutas geram um maior consumo já que são fontes ricas em vitaminas e minerais, ideais para a dieta humana, além de possuírem sabores apreciáveis. O setor de bebidas evoluiu com sua segmentação em bebidas esportivas, chá gelado, bebidas nutricionais, funcionais e sucos de frutas (SOARES *et al.*, 2001).

Anualmente, o mercado de sucos, néctares e polpas vem crescendo a taxas superiores a 10% (IBRAF, 2012). A obtenção de sucos e néctares a partir do processamento de frutas visa a transformação de produtos perecíveis em armazenáveis, aumentando assim sua vida de prateleira e agregando valor comercial.

A cajazeira (*Spondias mombin L.*) pertence à família *Anacardiaceae* e pode ser encontrada nas regiões tropicais da América, África e Ásia, sendo no Brasil cultivada principalmente nas regiões Norte e Nordeste. Seus frutos podem ser conhecidos como cajá, cajá verdadeiro, cajá-mirim ou taperebá e são bastante utilizados na produção de polpas, sucos, picolés, sorvetes, geleias e néctares. Mesmo ainda não sendo cultivada em escala comercial, a cada ano a participação das cajazeiras cresce no agronegócio da região Nordeste, devido à comercialização dos seus frutos tanto para consumo *in natura* como para o processamento de sua polpa (CAVALCANTI; DUARTE; ZANINI, 2005).

O cajá vem sendo bastante procurado pela indústria devido as suas ótimas características de aroma e sabor agradáveis, boa aparência e qualidade nutritiva, além de possuir um rendimento médio de 55 a 65% em polpa, com potencial para sua utilização na forma processada como polpa congelada, sucos, néctares e sorvetes (LIMA *et al.*, 2002; MATTIETTO; MATTA; YAHIA, 2011).

A denominação néctar de cajá é utilizada pela legislação para a designação de bebida não fermentada, a qual é obtida a partir da diluição em água potável do cajá e açúcares, destinada ao consumo direto, podendo ainda ser adicionada de ácidos (BRASIL, 1997).

Os néctares são obtidos basicamente a partir da mistura de ingredientes e em seguida é feita a pasteurização do produto. O início do processamento se dá com a seleção das matérias-primas e a formulação. O ingrediente majoritário do néctar é a água, seguido da polpa ou suco de fruta. Para a fabricação do néctar adoçado, pode-se fazer uso de sacarose ou de um xarope composto por sacarose e água, com 30°Brix (SOUZA, 2008).

As bebidas podem ser funcionalizadas a partir da adição de fibras dietéticas, óleos de peixe, esteróis de plantas, minerais, vitaminas, prebióticos e probióticos. Porém, a indústria também vem utilizando outros ingredientes opcionais, como os substitutos de gorduras e edulcorantes, dependendo do tipo de produto que se quer produzir e do público alvo (TAMIME, 1997; FERREIRA, 2001; BERTERRECHE, 2002; FERREIRA, 2002).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Materiais

4.1.1 *Chá verde*

Para a elaboração do extrato seco de chá verde foram utilizadas como matérias-primas, folhas de *Camellia sinensis* var *assamica*, adquiridas no comércio local da cidade de Fortaleza-CE.

4.1.2 *Goma de cajueiro*

A goma de cajueiro foi obtida a partir do exsudado de árvores de cajueiro anão-precoce (*Anacardium occidentale* L.) cultivadas no Campo Experimental de Pacajus, da Embrapa Agroindústria Tropical (CE- Brasil).

4.1.3 *Maltodextrina*

A maltodextrina empregada nos experimentos foi obtida no comércio local de Fortaleza-CE, da marca “Cargill” e dextrose equivalente menor que 20%.

4.1.4 *Polpa de cajá*

Para esta pesquisa foram utilizadas polpas de cajá, sem adição de conservantes, obtidas do comércio local de Fortaleza (CE- Brasil), da marca “Pura”. As polpas foram estocadas em freezer à temperatura de $-18,0 \pm 1^{\circ}\text{C}$ até o momento de serem utilizadas nos experimentos.

4.2 Métodos

4.2.1 *Obtenção do extrato seco de chá verde*

O extrato seco foi obtido seguindo a metodologia de Jacques *et al.* (2010), com adaptações, onde foram pesados 5 g de folhas de chá verde e adicionadas 50 mL de EtOH/H₂O (75/25). Em seguida, as amostras foram homogeneizadas por cerca de 20 minutos em banho de ultrassom, filtradas e concentradas em Rotaevaporador a 50 °C por cerca de 30 minutos até a total remoção do etanol, restando apenas água. Posteriormente as amostras foram submetidas ao processo de liofilização, embaladas a vácuo e armazenadas em dessecador. Neste trabalho, o etanol foi escolhido como solvente extrator devido a sua baixa toxicidade quando comparado ao metanol e/ou acetona.

4.2.2 *Citotoxicidade do extrato seco de chá verde frente às células epiteliais humanas*

O extrato obtido no subitem 4.2.1 foi avaliado por meio de ensaios baseados na redução celular de MTT [3-(4,5-dimethylthiazol, 2-yl)- 2,5-diphenyl-212 tetrazolium bromide]. A quantificação da redução de MTT avalia a viabilidade celular a partir de um método colorimétrico simples. Após redução do MTT, são formados cristais de formazan, de cor azul, que ao serem dissolvidos absorvem na região do visível, podendo ser quantificados por espectrofotometria. A redução do MTT é feita através de enzimas desidrogenases mitocondriais, portanto pode-se avaliar a capacidade redutora da célula através deste método (MOSMANN, 1983).

A citotoxicidade foi medida através da exposição das células epiteliais intestinais (aproximadamente 20000 células - cultura IEC 6), previamente cultivadas, nas concentrações de 100% e 50% (m/v) do extrato seco de chá verde avaliado. Durante o ensaio, os sobrenadantes das culturas celulares, contendo ou não (controle negativo) a amostra testada, foram removidos e as células foram mantidas numa solução de MTT (5 mg.mL⁻¹) em meio de Krebs, a uma temperatura de 37°C, por 20 minutos e protegido da luz. Após o tempo de incubação, os cristais de formazan, resultantes da redução do MTT, foram dissolvidos numa solução de HCL 0,04 N em isopropanol. O valor de absorbância foi medido a um comprimento de onda de 570 nm e frações foram comparadas com o controle positivo

(citotoxina A do *Clostridium difficile*) e negativo (somente cultura celular em meio de cultura), sendo o último considerado como 100% de viabilidade celular.

Os resultados das absorbâncias obtidas foram submetidos ao teste de comparação múltipla de Bonferroni's e os resultados expressos em média e desvio padrão.

4.2.3 Quantificação de catequinas e cafeína no extrato seco de chá verde

- Aparelho

A quantificação das catequinas e cafeína do extrato seco de chá verde foi realizada no Laboratório de Produtos Naturais da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA, em um sistema Waters Acquity de cromatografia líquida a ultra pressão (UPLC), acoplado a um analisador de massas quadrupolo/tempo de voo (TOF, Waters Micromass LCT) com ionização por electro spray (ESI). As separações foram realizadas em Coluna C18 (Waters Acquity UPLC BEH C18, 150 mm × 2,1 mm, 1,7 µm).

- Padrões e reagentes

Os padrões de cafeína (CF) e (+)-catequina (C) foram adquiridos da Sigma-Aldrich (São Paulo, Brasil) e os padrões de (-)-epicatequina (EC), (-)-epicatequina galato (ECG) e (-)-epigallocatequina galato (EGCG) foram adquiridas da Extrasynthese. As soluções-estoque foram preparadas pesando 2 mg de cada padrão separadamente e diluídas em balão de 10 mL com metanol 80 % (grau HPLC adquirido da JT Baker (Edo. de México, México), resultando em soluções com concentrações de 200 µg.mL⁻¹, e armazenadas a -20°C por no máximo dois meses. Para a preparação das soluções-trabalho, pequenos volumes de soluções-estoque foram diluídos a fim de se obter os pontos necessários para a curva de cada padrão.

Para a leitura, utilizou-se água Milli-Q do equipamento de purificação de águas Millipore (Bedford, MA, EUA), acetonitrila adquirida da Tedia (Phillipsburg, United States of America) e ácido fórmico, grau analítico, da Sigma-Aldrich (São Paulo, Brasil).

- Condições cromatográficas

A eluição em gradiente teve como fase móvel os solventes A, água com 0,1% de ácido fórmico e B, acetonitrila com 0,1% de ácido fórmico. O gradiente exploratório seguiu as seguintes condições: (0-15) min (2-95%) de B; (15,1-17) min (100%) de B; (17,1-19,1) min (2%) de B, fluxo de 0,4 mL.min⁻¹ e volume de injeção da amostra de 5 µL.

Utilizou-se fonte ESI em modo negativo de ionização, sendo o intervalo de massa adquirido na faixa de 110-1180 Da, a temperatura da fonte fixa de 120 °C, a temperatura do gás de dessolvatação foi de 350 °C, e fluxo do gás de dessolvatação de 500 L.h⁻¹, cone de extração de 0,5 V, voltagem capilar de 2,6 kV. O modo ESI⁺ foi adquirido na faixa de 110-1180 Da, temperatura da fonte fixa de 120 °C, temperatura de dessolvatação 350 °C, fluxo do gás de dessolvatação de 500 L.h⁻¹. A voltagem capilar foi de 3,2 kV. Leucina encefalina foi utilizada como padrão de calibração interna. Em baixo scan, a tensão de cone foi 35 V para ESI, energia de colisão de 5 eV (trap). O modo de aquisição foi de MS^E. O instrumento foi controlado pelo software Masslynx 4.1 (Waters Corporation).

- Preparo da amostra

O material vegetal seco de chá verde foi submetido a um processo de “clean-up” para obtenção de um extrato sem interferentes de baixa e alta polaridade, adequado as exigências de análise em sistemas de cromatografia a líquido.

Aproximadamente 10 mg do extrato foram dissolvidos em 1 mL de MeOH/H₂O (80:20) e posteriormente cromatografados em um cartucho de extração em fase sólida (SPE, 500 mg da Sigma-Aldrich). O cartucho foi previamente condicionado com 6 mL de metanol e equilibrado com 6 mL de água destilada, seguindo-se posteriormente a aplicação da amostra. Em seguida o cartucho foi “lavado” com 6 mL de MeOH/H₂O (5:95) e em seguida foi eluído com 6 mL de metanol 100%, sendo cada fração resultante foi recolhida em tubos de ensaio. O eluato foi evaporado em rotaevaporador rotativo, redissolvido em 1 mL de MeOH/H₂O (80:20) e filtrado através de um filtro de PTFE de 0,22 µm para análise em UPLC-QToF-MS^E.

4.2.4 Determinação de compostos bioativos

- *Preparo dos extratos*

O extrato líquido foi preparado em triplicata, seguindo a metodologia descrita por Larrauri, Rupérez e Saura-Calixto (1997). Pesou-se 1 g do extrato seco (obtido no subitem 4.2.1), que foi adicionado de 20 mL de etanol 50%, homogeneizado e deixado em repouso por 60 minutos à temperatura ambiente e protegido da luz. Após esse tempo de descanso, os extratos foram centrifugados a 3000 rpm durante 15 minutos e o sobrenadante 1 foi filtrado em um balão volumétrico de 50 mL. A partir do resíduo da primeira extração, foram adicionados 20 mL de acetona 70%, homogeneizadas e deixados em repouso por mais 60 minutos à temperatura ambiente e protegidos da luz. Em seguida, as amostras foram novamente centrifugadas a 3000 rpm durante 15 minutos e o sobrenadante 2 foi filtrado no mesmo balão volumétrico do sobrenadante 1. Após a filtração, os volumes dos balões foram completados com água destilada.

Os extratos líquidos obtidos foram utilizados para todas as análises de compostos bioativos, porém foi necessário realizar outras diluições para que as alíquotas usadas entrassem corretamente nas curvas, uma vez que os extratos encontravam-se bastante concentrados. Foi usada a mesma diluição de 1:50 (extrato:água) tanto para a determinação de polifenóis extraíveis totais como para a determinação da atividade antioxidante pelo método de captura do radical livre ABTS^{•+}. Já para a determinação da atividade antioxidante total pelo método de redução do ferro (FRAP), foi usada a diluição 1:100 (extrato:água).

4.2.4.1 Polifenóis Extraíveis Totais (PET)

O conteúdo de polifenóis extraíveis totais dos extratos foi determinado de acordo com o método de Folin-Ciocalteu (LARRAURI; RUPÉREZ; SAURA-CALIXTO, 1997). Alíquotas de 100 µL do extrato líquido diluído foram adicionadas em tubos de ensaio, seguidas de 400 µL de água destilada, 500 µL de Folin Ciocalteu, 1 mL de carbonato 20% e 1 mL de água destilada. Em seguida as amostras foram homogeneizadas e lidas após 30 minutos em espectrofotômetro a 700 nm. O branco foi preparado da mesma forma, substituindo-se apenas a amostra por água destilada. Os dados de absorbância e concentração

da curva de ácido gálico foram plotados e linearizados. Os resultados foram expressos em mg de ácido gálico/100g de chá verde. As análises foram realizadas em triplicata.

4.2.4.2 Atividade Antioxidante Total (AAT)

A capacidade de sequestro de radicais livres dos extratos foi determinada pelo poder antioxidante de redução do ferro (FRAP) e pela capacidade de sequestro dos radicais livres cátion (ABTS^{•+}). Todas as análises foram feitas em triplicata.

A determinação da capacidade antioxidante total através do FRAP seguiu a metodologia descrita por Benzie e Strain (1999) adaptado por Rufino *et al.* (2006). Para a análise, utilizaram-se 3 alíquotas diferentes (90 µL, 70 µL e 50 µL) do extrato diluído. As alíquotas foram adicionadas em tubos de ensaio diferentes e em seguida foram adicionadas 270 µL de água destilada e 2,7 mL do reagente FRAP, nessa ordem. Os tubos foram homogeneizados e mantidos em banho-maria a 37 °C. Após 30 minutos da mistura com o reagente FRAP foi feita a leitura em espectrofotômetro a 595 nm, sendo usada como referência uma curva padrão entre 500-2000 µM de sulfato ferroso. Como branco, foi utilizado o reagente FRAP para calibrar o equipamento. Os resultados foram expressos em µM sulfato ferroso/g de amostra.

O método da captura do radical 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (ABTS^{•+}) também seguiu a metodologia descrita por Benzie e Strain (1999) adaptado por Rufino *et al.* (2006). Em tubos de ensaio diferentes, foram adicionadas alíquotas de 30 µL, 20 µL e 10 µL do extrato diluído e completados com água destilada para o volume de 30 µL. Em cada tubo de ensaio, foram adicionados 3 mL do radical ABTS^{•+}, homogeneizados e lida a absorbância após 6 minutos em espectrofotômetro a 734 nm. O álcool etílico foi usado como branco. Foi utilizada como referência uma curva padrão entre 100-1500 µM de Trolox (6-Hidroxi-2,5,7,8-tetrametilchroman-2-ácido carboxílico). Os resultados foram expressos como capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (µM Trolox/g de amostra).

4.2.4.3 Flavonoides Amarelos

A determinação de flavonoides amarelos seguiu a metodologia de Francis (1982). Primeiramente foi preparada uma solução extratora a partir da adição de um pouco de água

em um balão de 500 mL, seguida de 62,1 mL de HCl e completado com água. Em seguida, foi retirado 150 mL dessa solução e transferido para um balão volumétrico de 1000 mL e completado com álcool etílico 95%. As amostras foram preparadas pesando 1 g de extrato seco (obtido no subitem **4.2.1**) em balões volumétricos de 50 mL. Os balões foram aferidos com a solução extratora, homogeneizados e transferidos para béckeres de 50 mL protegidos com papel alumínio e deixados descansando por 16 horas. Após o tempo de repouso, as amostras foram filtradas e lida a absorbância em espectrofotômetro a 374 nm. Como branco, foi usada a solução extratora. Os resultados foram expressos em mg de flavonoides/100 mL. O experimento foi realizado em triplicata.

4.2.5 Extração da goma de cajueiro

A goma do cajueiro foi obtida seguindo a metodologia adaptada de Torquato *et al.* (2004), a partir da purificação do exsudado do cajueiro (*Anacardium occidentale L.*). O material foi primeiramente fragmentado em partículas menores, pesou-se 50 g desse material e em seguida foi adicionado 150 mL de água destilada na proporção de 1:3 m/v (resina:água) e mantida sob agitação até a completa dissolução do material sólido. Em seguida, a solução foi filtrada para a remoção de possíveis fragmentos de madeira, e posteriormente precipitada com álcool etílico na proporção 1:5 v/v (filtrado:etanol). O precipitado foi deixado sob refrigeração por em média 20 horas, para que houvesse uma melhor precipitação. Após esse período, o precipitado foi separado por filtração a vácuo, em funil de placa sintetizada e, ainda no sistema a vácuo, foi purificado com 100 mL de acetona. Após a purificação, o material obtido foi seco com auxílio de um secador manual para a remoção do etanol e da acetona adicionados. Para que houvesse uma maior purificação, a goma seca foi redissolvida em água destilada e transferida para uma membrana de diálise onde permaneceu durante uma semana, a fim de ser removida qualquer impureza ainda restante. A solução foi seca com o auxílio de um mini *spray dryer* da marca BÜCHI, modelo B-290 (Suiça) e armazenada à temperatura ambiente em recipiente plástico devidamente tampado, livre de oxigênio e umidade.

4.2.6 Caracterização do material de parede

4.2.6.1 Cromatografia de Permeação em Gel

A massa molar média e a polidispersão dos polímeros foram determinados em um sistema SHIMADZU LC-10AD com detector de índice de refração RID-10A a 40°C. Esta análise foi realizada utilizando uma coluna Ultrahydrogel linear 7,8 x 300 mm, fase móvel de NaNO₃ 0,1 mol.L⁻¹, fluxo de 1,0 mL.min⁻¹ e o volume de amostra injetada foi de 20 µL. As amostras foram preparadas em água na concentração de 1 mg/mL (0,1 % m/v) e filtradas em membrana Milipore® 0,45 µm. Os padrões foram de pululanas (Shodex Denko®) (MM de 5.9 x 10³ a 7.88 x 10⁵ g.mol⁻¹).

4.2.6.2 Calorimetria Diferencial Exploratória (DSC)

As curvas DSC foram obtidas através do DSC Q20, da TA instruments, sob as seguintes condições experimentais: atmosfera dinâmica de nitrogênio com vazão de 50 mL.min⁻¹; razão de aquecimento de 10°C/min, da temperatura ambiente até 400°C; cápsula de alumínio hermeticamente fechada e massa de amostra de 1,5-2 mg. A célula DSC foi calibrada antes dos ensaios no eixo de temperatura utilizando padrões de índio (T_{fusão} = 156,6°C) e zinco (T_{fusão} = 419,5 °C) metálicos com pureza de 99,99%. Para a quantidade de calor foi empregado o ΔH_{fusão} do índio metálico (28,7 Jg⁻¹) (BAZZO; SEGATTO SILVA, 2005).

4.2.6.3 Análise termogravimétrica (TGA)

As curvas de TGA foram obtidas com um STA-6000 (Perkin Elmer), a uma taxa de aquecimento de 10°C.min⁻¹ em uma variação de temperatura de 25 a 900°C, onde a taxa de ar foi mantida a 50 mL.min⁻¹ e o peso inicial da amostra utilizada foi em torno de 18 mg.

4.2.7 Obtenção das microcápsulas

Os ensaios foram realizados seguindo o método sugerido por Paula *et al.* (2012), na proporção 1:4 m/m (extrato: material de parede). Foram testadas combinações de dois

encapsulantes (goma do cajueiro e maltodextrina), em três proporções diferentes. O extrato seco de chá verde foi usado como núcleo e sua massa foi mantida constante nas três formulações preparadas. Utilizou-se 30% de sólidos nas formulações das emulsões para as paredes das microcápsulas, conforme sugerido por Heinzelmann e Franke (1999). Para os testes preliminares, foram preparadas soluções com as concentrações de material de parede descritas conforme a Tabela 1.

Tabela 1 - Formulações utilizadas para o preparo das suspensões.

Amostra	Goma do cajueiro (%)	Maltodextrina (%)	Extrato seco de chá verde (%)
A	10	20	7,5
B	15	15	7,5
C	20	10	7,5

Fonte: Autora.

- Preparo das emulsões

As microcápsulas foram obtidas a partir da metodologia adaptada de Paula *et al.* (2012). As formulações seguiram as proporções mostradas na Tabela 1, sendo primeiramente preparadas as soluções do material de parede (goma do cajueiro+maltodextrina+água) e homogeneizadas durante 20 minutos em banho ultrassônico. Após a mistura do material de parede, o extrato foi adicionado em cada formulação e novamente levado ao banho de ultrassom por mais 30 minutos, até a obtenção de uma emulsão estável do material do núcleo (extrato seco de chá verde) com a solução do material de parede (goma do cajueiro+maltodextrina+água). Para uma melhor estabilidade da solução, foi necessária a adição de 3 gotas de um agente emulsificante (Tween 40) para cada 10 mL de solução. Posteriormente, as dispersões foram então homogeneizadas, utilizando um Ultra-Turrax (Turratec, TE-102, Tecnal, Brasil) durante 5 minutos a 14 000 rpm, sendo em seguida filtradas e submetidas ao processo de secagem por atomização.

- Condições do *spray dryer*

O processo de secagem foi realizado através de um mini *spray-dryer* da marca BÜCHI, modelo B-290 (Suíça), com bico injetor de orifício de 1,5 mm de diâmetro, vazão de ar de $73 \text{ m}^3\text{h}^{-1}$ e pressão do ar de 600 mBar ($\approx 0,6 \text{ atm}$). A alimentação do sistema foi realizada através de uma bomba peristáltica, com velocidade de rotação ajustada a 20% de bombeamento ($3 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$). A temperatura do ar de entrada foi de $170\pm 10^\circ\text{C}$ com pressão manométrica positiva. Imediatamente após a atomização, as microcápsulas obtidas foram acondicionadas em embalagens plásticas devidamente seladas a vácuo e armazenadas em dessecador para evitar a exposição à luz e umidade.

4.2.8 Caracterização das microcápsulas

4.2.8.1 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

O estudo morfológico das microesferas foi realizado na Central Analítica da Universidade Federal do Ceará, através do equipamento de microscopia eletrônica de varredura de Modelo Inspect S50 da marca FEI. As amostras foram montadas com fita de carbono em suporte de aço e recobertas com ouro.

4.2.8.2 Tamanho e distribuição das partículas e potencial Zeta

A determinação do diâmetro médio de partículas das amostras foi realizada utilizando o equipamento ZetaPlus (Brook haven Instruments Company, EUA), por espectroscopia de correlação de fótons (GOMES, 2011). O potencial Zeta das amostras foi obtido através de medidas de mobilidade eletroforética a 25°C . As amostras foram dissolvidas em água deionizada, formando soluções de concentração 0,5% (m/v). As análises foram realizadas em quintuplicata.

Os resultados foram analisados estatisticamente pelo método ANOVA, comparando-se as médias do ângulo de contato pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade, através do software estatístico SISVAR (FERREIRA, 2000).

4.2.8.3 Solubilidade em água

Foram pesadas em triplicata, 0,25 g de microcápsulas e adicionada 25 mL de água destilada. As soluções foram centrifugadas a 3000 rpm por 5 minutos e em seguida foram coletadas 20 mL do sobrenadante e adicionadas em placas de Petri secas e limpas, com massa computada anteriormente. As placas foram então levadas à estufa de circulação de ar a 105 °C por 5 h. A solubilidade foi calculada pela diferença de massa e os resultados foram expressos em percentual de solubilidade (CANO-CHAUCA *et al.*, 2005).

4.2.8.4 Eficiência da microencapsulação

A eficiência de microencapsulação (EM) foi realizada a partir da concentração de cafeína total encapsulada, seguindo a metodologia de Santos (2014) com adaptações. Foram pesados 0,2 g de cada formulação (A, B e C) de microcápsulas, sendo em seguida adicionadas em um Desintegrador (SP Labor 301). Adicionou-se 250 mL de água destilada. O tempo total de desintegração foi de 10 minutos. Após esse tempo, foi retirada uma alíquota de 2 mL, filtrado em filtros de 0,45 µm e quantificado por UV VIS, sendo a %EM determinada pela equação 1:

$$\%EM = \frac{CT - CM}{CT} \times 100 \quad (\text{eq. 1})$$

Onde: CT representa a concentração de cafeína total e CM a concentração de cafeína microencapsulada.

4.2.8.5 Perfil de dissolução

O ensaio de dissolução das formulações de microcápsulas A, B e C foi realizado em água destilada a $37 \pm 0,5$ °C, sob condições *sink*, durante 30 minutos, utilizando dissolutor (Erweka, modelo DT 800), com aparato II (pá), velocidade de agitação de 50 rpm e volume do meio de dissolução de 250 mL. A metodologia foi adaptada a partir do método descrito por Azevedo (2008). Foram retiradas alíquotas do meio de dissolução de 10 mL nos tempos de 3, 5 e 10 minutos. Para a análise foram utilizados 200 mg de cada formulação de cápsula e

diluídas em água destilada, sendo as leituras realizadas em espectrofotômetro (Genesys, modelo 10 UV) em 272 nm. O ensaio foi realizado em triplicata.

4.2.8.6 Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho (FT-IR)

As análises de FT-IR foram realizadas nas três formulações de microcápsulas, bem como na goma de cajueiro. Primeiramente foram pesados cerca de 200 µg de amostra, misturada e prensada junto com 250 mg de brometo de potássio anidro (KBr) até formar uma pastilha translúcida. Os espectros FT-IR foram analisados entre 4000 a 400 cm⁻¹, em uma resolução de 4 cm⁻¹, através de um FT-IR espectrômetro (Varian 660-IR). Os espectros foram apresentados na forma de transmitância (%) x número de onda (cm⁻¹). A análise permite identificar frequências características das ligações químicas das amostras pesquisadas.

4.2.8.7 Difratometria de raios-X (DRX)

As análises das três formulações de micropartículas contendo o extrato seco de chá verde foram realizadas no Laboratório de Raios-X – UFC, no equipamento AXS D2 Phaser (Bruker – Karlsruhe, Alemanha) com potencial elétrico de 30 kV e corrente elétrica de 20 mA e radiação CuK α com comprimento de onda de 0,154 nm. A análise se baseou na metodologia de Wu *et al.* (2010), com intervalo de varredura do ângulo de difração de 3° a 40° com passo de 0,02 e taxa de 1°/6 min.

4.2.9 Processamento do néctar de cajá

As polpas de cajá foram descongeladas na embalagem original do produto, em geladeira (5 °C) por um período de 18 horas. As polpas passaram por um balanceamento de massa para que fossem acrescidos água potável e açúcar a fim de se obter um produto com os padrões de identidade e qualidade estipulados por Brasil (2003) (Tabela 2).

Tabela 2 - Padrões de Identidade e Qualidade do néctar de cajá.

	Mín.	Máx.
Suco ou polpa de cajá (g/100g)	25,00	-
Sólidos solúveis em °Brix, a 20 °C	11,00	-
Acidez total em ácido cítrico (g/100g)	0,20	-
Açúcares totais (g/100g)	7,00	-

Fonte: Brasil (2003).

Foram elaboradas duas formulações de néctar de cajá: néctar de cajá com extrato de chá verde microencapsulado (NCEM) e néctar de cajá sem o extrato (NC). Devido à falta de estudos que comprovem o valor mínimo e máximo de chá verde que deve ser consumido por dia, as quantidades adicionadas de extrato de chá verde microencapsulado foram baseadas em recomendações encontradas em literatura. Neste trabalho foi levada como base a recomendação da American Dietetic Association, que sugere o consumo de 4 a 6 xícaras de chá verde por dia, bem como a recomendação dada por Lamarão e Fialho (2009) que dizem que para satisfazer a dose diária devem ser consumidas cerca de 240 mg de catequinas.

Segundo a European Food Safety Authority (EFSA), é recomendado um consumo de até 400 mg ao dia de cafeína (cerca de 4 xícaras de café) por indivíduos adultos com peso médio 70 kg e que não estejam gestantes, não representando riscos significativos de saúde. Para mulheres grávidas ou lactantes, o valor supostamente seguro seria de 200 mg de cafeína ao dia, uma vez que consumida em maiores quantidades pode atrapalhar o desenvolvimento cerebral intrauterino e representar um fator de risco para doenças como epilepsia (TOLEDO, 2015).

Diante do exposto e das concentrações de catequinas e de cafeína encontradas no subitem 4.2.3, para se obter um total de 240 mg de catequinas a partir do extrato seco de chá verde estudado, foi necessário acrescentar 4,6 g de microcápsulas de chá verde para cada 240 mL (1 xícara) de néctar de cajá e, conseqüentemente, o valor total de cafeína contido nas cápsulas adicionadas foi de 205,8 mg, não excedendo o teor recomendado diariamente para pessoas adultas e não gestantes.

4.2.10 Caracterização dos néctares de cajá

Com base nas análises instrumentais das microcápsulas, visando a proteção dos compostos bioativos do extrato de chá verde, assim como a viável utilização da goma do

cajueiro como material de parede, foi escolhida apenas uma amostra de microcápsula a ser utilizada como ingrediente promotor do aumento da capacidade antioxidante e compostos bioativos em alimentos convencionais, utilizando o néctar de cajá como sistema modelo.

As formulações de néctares: néctar de cajá com extrato de chá verde microencapsulado (NCEM) e néctar de cajá (NC) foram caracterizados a partir de análises físico-químicas, de compostos funcionais e análises microbiológicas descritas a seguir. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

4.2.10.1 Análises físico-químicas e de compostos funcionais

- pH

O pH foi determinado utilizando um potenciômetro calibrado com soluções tampão de pH 7,0 e pH 4,0 conforme descrito por AOAC (1995).

- Sólidos solúveis (°Brix)

Foi utilizado um refratômetro digital AR200, Reichert Ophthalmic Instruments, USA com escala variando de 0 a 32 ° Brix e os resultados foram expressos em °Brix, a 20 °C e (IAL, 2008).

- Acidez total

A acidez total foi obtida por titulação do néctar com solução de NaOH 0,1 N e expressa como percentagem de ácido cítrico, segundo metodologia do IAL (2008).

- Açúcares redutores

Foram determinados pelo método do ácido dinitrosalicílico (DNS), segundo Miller (1959). A leitura foi realizada em espectrofotômetro, utilizando-se um comprimento de onda a 540 nm, sendo os resultados expressos em percentual de glicose.

- Açúcares totais

Foi feita uma inversão ácida prévia nos extratos das amostras, de acordo com IAL (2008), e determinados os açúcares totais, pelo método do DNS (MILLER, 1959), sendo os resultados expressos em percentual de glicose.

- Polifenóis Extraíveis Totais (PET) e Atividade Antioxidante Total (AAT)

As determinações de polifenóis extraíveis totais e atividade antioxidante total seguiram o método descrito no item **5.2.4**.

4.2.10.2 Análises Microbiológicas

A análise microbiológica foi realizada no Laboratório de Microbiologia de Alimentos da Universidade Federal do Ceará, a qual seguiu a metodologia descrita por Apha (2001), sendo realizada contagem de coliformes a 45°C.

4.2.11 Análise sensorial

Consumidores de suco foram recrutados entre funcionários e colaboradores da Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza-CE, conforme especificado por Meilgaard *et al.* (2006) e Stone e Sidel (1993). O público, constituído de 58 indivíduos não-treinados, foi caracterizado quanto a gênero e idade e solicitado a assinar um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Os protocolos dos testes sensoriais foram previamente aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual do Ceará, sob parecer nº 147.279.

Os testes sensoriais foram realizados no Laboratório de Análise Sensorial da Embrapa Agroindústria Tropical, em Fortaleza – CE. Foram aplicados testes afetivos de aceitação e de intensidade de sabor estranho com as duas formulações de néctares (NC e NCEM). A análise das bebidas foi realizada em cabines individuais climatizadas (24°C), sob iluminação controlada (luz branca, fluorescente) e equipada com terminais de computadores para registro/coleta de dados de maneira automática por meio do software FIZZ. Cerca de 30

mL de cada amostra foram servidas em taças de vidro de 100 mL, codificadas com números aleatórios de três dígitos, tampadas com vidro de relógio e apresentadas de forma monádica e balanceada (MACFIE *et al.*, 1989) para minimizar os efeitos de posição das amostras. Um copo de água mineral foi oferecido entre as amostras para eliminar o sabor residual na boca.

Os testes afetivos compreenderam a análise da aceitação global e aceitação dos atributos aparência, aroma e sabor, sendo utilizada a escala hedônica verbal de 9 pontos, variando de “gostei muitíssimo” a “desgostei muitíssimo” (PERYAM e PILGRIM, 1957). Na avaliação da intensidade de sabor estranho foi utilizada uma escala estruturada de 9 pontos, ancoradas em seus extremos com termos referentes à intensidade (0 = nenhum e 9 = Forte).

Para efeito de análise estatística, as categorias da escala hedônica foram associadas a valores numéricos, sendo 9 = “gostei muitíssimo”, 8 = “gostei muito”, 7 = “gostei”, 6 = “gostei pouco”, 5 = “nem gostei/nem desgostei”, 4 = “desgostei pouco”, 3 = “desgostei”, 2 = “desgostei muito” e 1 = “desgostei muitíssimo”. Os dados dos testes de aceitação, bem como de intensidade do sabor estranho foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e teste F com nível de 5 % de significância para comparação das médias, utilizando-se o programa estatístico *Statistical Analytical Systems – SAS Use's Guide: Version 6.11* (SAS, 1996).

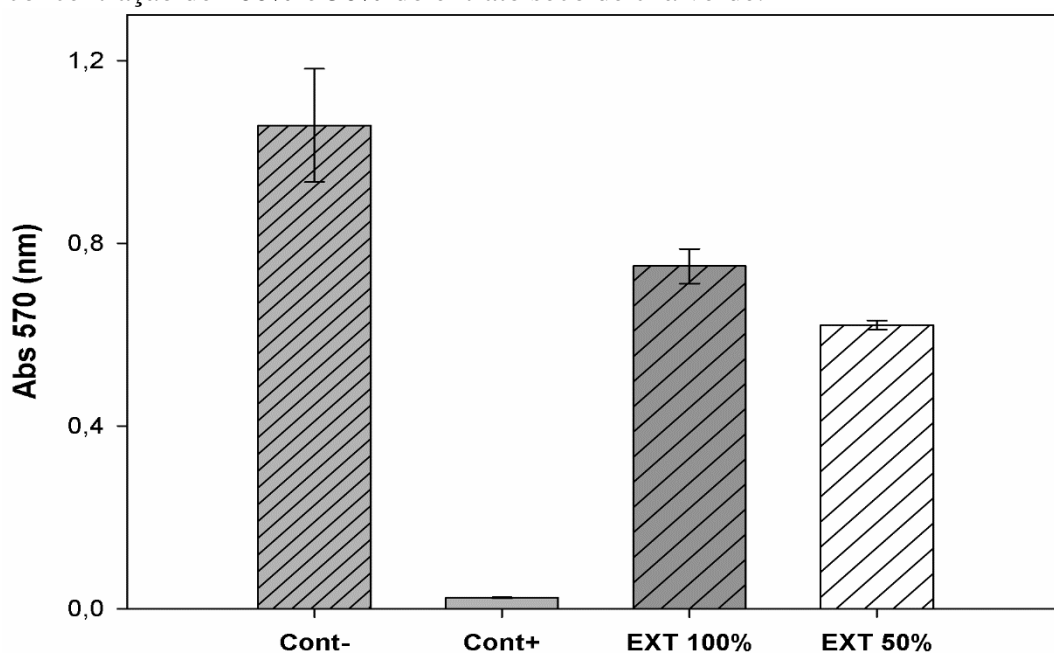
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização do extrato seco de chá verde

5.1.1 Citotoxicidade do extrato seco de chá verde frente às células epiteliais humanas

A citotoxicidade do extrato seco de chá verde foi realizada estudando seu efeito tóxico sobre células epiteliais intestinais (cultura) utilizando o ensaio com o MTT [tetrazólio (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil-brometo de tetrazólio)]. O resultado da análise citotoxicológica está na Figura 9.

Figura 9 - Ensaio de citotoxicidade do extrato seco de chá verde frente a culturas celulares epiteliais. Células epiteliais (cultura IEC 6) expostas a soluções contendo concentração de 100% e 50% do extrato seco de chá verde.



*As médias foram comparadas com os controles negativo e positivo sendo significativo pelo teste t a 5 % de probabilidade.

O objetivo da análise de citotoxicidade celular foi de avaliar se o extrato seco de chá verde estudado afetaria a integridade da cultura celular.

Através da aplicação do teste com o MTT pode-se observar uma relação direta entre a integridade física e funcional da membrana plasmática e do metabolismo mitocondrial das células expostas a diferentes concentrações (100 e 50%) do extrato seco de chá verde estudado.

Observando a Figura 9, podemos afirmar que não foi encontrada ação citotóxica para as amostras estudadas, comparando-se as absorvâncias do controle negativo e positivo com aquelas obtidas para a cultura exposta ao extrato seco de chá verde.

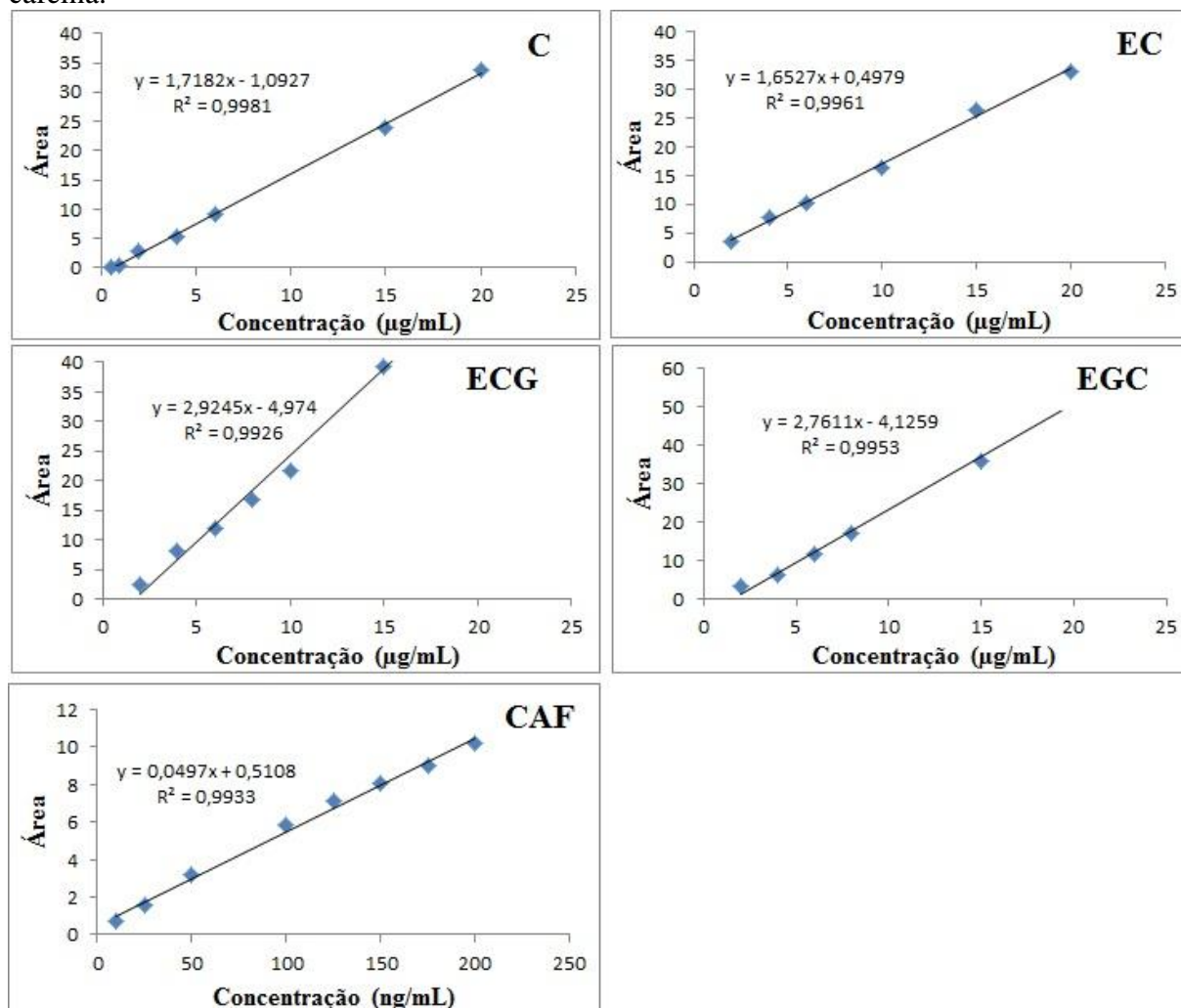
A absorvância determinada para o controle positivo (toxina A do *Clostridium difficile*) foi em média $0,024 \pm 0,001$, sendo esta quase 98 % inferior ao observado para o controle negativo de $1,058 \pm 0,124$. Os extratos nas concentrações de 100% e 50% apresentaram valores semelhantes de $0,750 \pm 0,038$ e $0,621 \pm 0,010$, respectivamente. Todas as concentrações apresentaram absorvâncias superiores ao controle negativo, indicando que o extrato não apresentou percentual de inibição, ou seja, as amostras não são citotóxicas.

Metodologia semelhante ao presente estudo foi utilizada por Majewski (2011), que avaliou a citotoxicidade do extrato de *Camellia sinensis* em cultura de macrófagos de camundongos. O autor utilizou metodologia do MTT para verificar a viabilidade celular e assim como este trabalho concluiu que os extratos avaliados não apresentaram citotoxicidade para as células estudadas.

5.1.2 Quantificação de catequinas e cafeína

As análises foram realizadas usando UPLC-QToF-MS^E, tendo na Figura 10 a representação das curvas analíticas das soluções padrão de catequinas (C, EC, ECG e EGCG) e de cafeína (CAF).

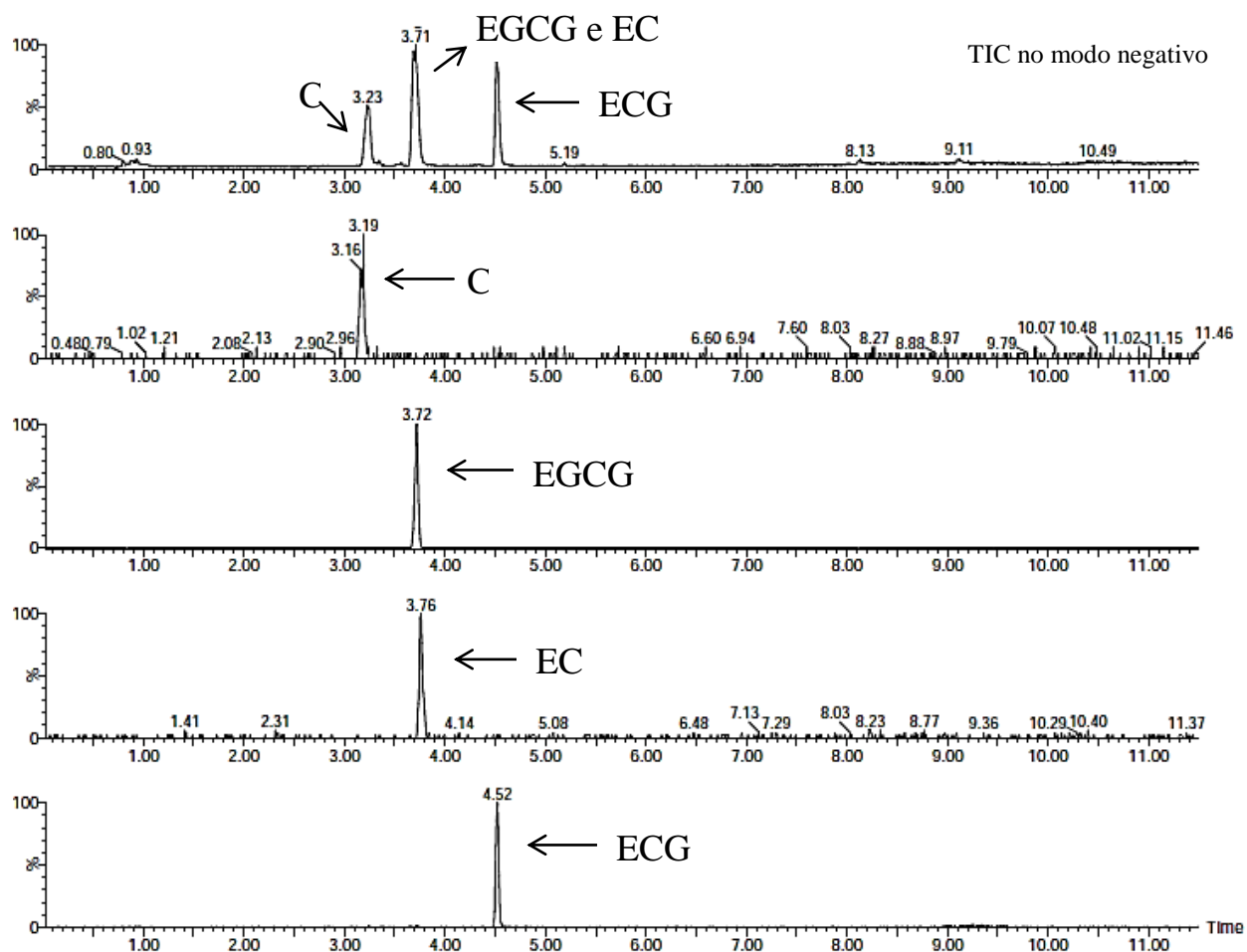
Figura 10 – Curvas de calibração das soluções padrão de catequinas e cafeína. C = catequina; EC = epicatequina; ECG = epicatequina galato; EGCG = epigalocatequina galato e CAF = cafeína.



Fonte: Autora.

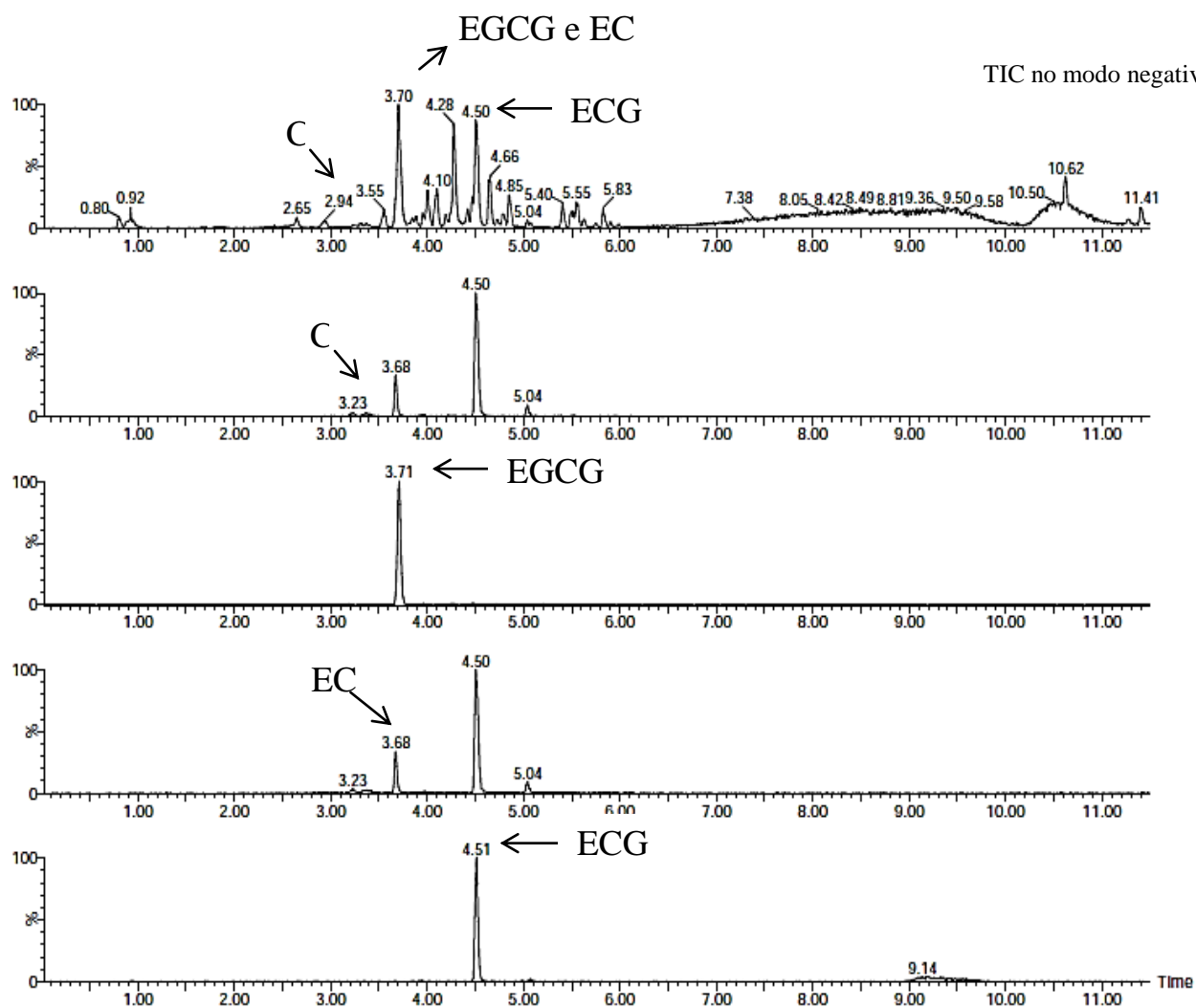
As Figuras 11 e 12 mostram os cromatogramas de íons totais (TIC) para a análise dos compostos das quatro soluções padrão de catequinas no modo negativo adquiridas por UPLC-QToF-MS^E. A Figura 13 representa os cromatogramas de íons totais (TIC) para a análise da cafeína no modo positivo adquiridas por UPLC-QToF-MS^E.

Figura 11 - Cromatogramas de íons totais (TIC) para a análise dos padrões de catequinas por UPLC-QToF-MS^E no modo negativo e concentração de 6 µg.mL⁻¹. Picos: C = catequina; EC= epicatequina; ECG = epicatequina galato; EGCG = epigalocatequina galato.



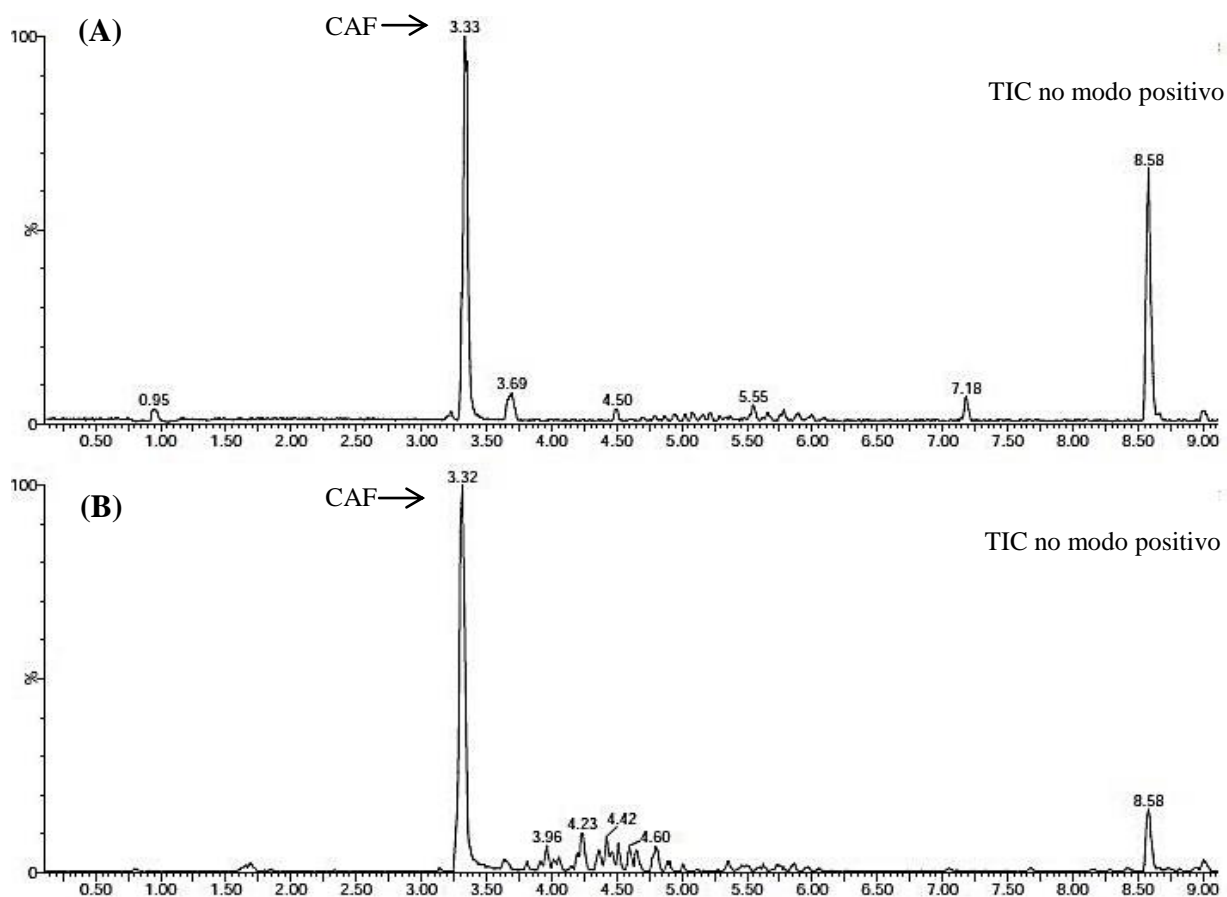
Fonte: Autora.

Figura 12 - Cromatogramas de íons totais (TIC) para a análise do extrato seco de chá verde por UPLC-QToF-MS^E no modo negativo e concentração de 6 µg.mL⁻¹. Picos: C = catequina; EC = epicatequina; ECG = epicatequina galato; EGCG = epigallocatequina galato.



Fonte: Autora.

Figura 13 - Cromatogramas de íons totais (TIC) para a análise de cafeína por UPLC-QToF-MS^E no modo positivo e concentração de 6 µg.mL⁻¹: solução padrão (A) e extrato seco de chá verde (B). Pico: CAF = cafeína.



Fonte: Autora

Analisando o cromatograma de íons totais (TIC) para a análise do extrato seco de chá verde (Figura 12), podemos observar que a catequina C apresentou o menor tempo de retenção de 2,94 min, enquanto que a ECG mostrou o maior tempo de retenção em 4,50 min. Pode ser observado ainda, que a EGCG e a EC apresentaram o mesmo tempo de retenção em torno de 3,70 min, demonstrando que houve uma coeluição entre os dois compostos, porém não sendo problemático uma vez que os mesmos têm massas moleculares distintas, sendo possível identificar os compostos em questão. A utilização da espectrometria de massas de alta resolução permitiu obter dados de massa exata de todos os padrões utilizados, levando assim à atribuição estrutural inequívoca dessas moléculas. A partir dos cromatogramas de íons totais (TIC) para a análise da solução padrão de cafeína (A) e para o extrato seco de chá verde (B) (Figura 13), podemos observar que o tempo de retenção da cafeína para o extrato seco foi

de 3,33 min, confirmando desta forma com seu padrão de cafeína. A análise das amostras foi feita usando o coeficiente de variação a 2%, sendo todos os padrões e o extrato abaixo deste valor.

As curvas padrão apresentaram-se lineares nas faixas de concentração em que se encontraram as amostras. A Tabela 3 mostra os dados obtidos para a análise dos compostos em soluções padrão.

Tabela 3 - Tempo de retenção, linearidade, curvas de calibração, reprodutibilidade, limites de detecção e limites de quantificação para a análise dos compostos estudados UPLC-MS / MS em soluções padrão.

Composto	Tr (min)	Intervalo de Linearidade ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Curva de calibração*	R^2	CV % (n=3) ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)		LD ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	LQ ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)
					10	2		
C	3,18	0,5 - 20	$y = 1,7182x - 1,0925$	0,9981	1,62	5,50	0,25	0,5
EGCG	3,65	2,0 - 20	$y = 2,9245x - 4,974$	0,9926	13,99	9,84	0,25	2
EC	3,76	2,0 - 20	$y = 1,6527x + 0,4978$	0,9961	5,72	3,18	0,25	2
ECG	4,45	2,0 - 20	$y = 0,0497x + 0,5108$	0,9933	11,8	16,40	0,25	2

Composto	Tr (min)	Intervalo de Linearidade (ng.mL^{-1})	Curva de calibração*	R^2	CV % (n=3) (ng.mL^{-1})		LD (ng.mL^{-1})	LQ (ng.mL^{-1})
					150	10		
CAF	3,33	10 - 200	$y = 2,7611x - 4,1259$	0,9953	6,86	15,82	5	10

Fonte: Autora. *Curva de calibração: $y=ax + b$, onde y é a área do pico integrada e x é a concentração em $\mu\text{g.mL}^{-1}$. Tr: Tempo de retenção. R^2 : coeficiente de correlação. CV %: coeficiente de variação. LD: Limite de detecção. LQ: Limite de quantificação.

O método validado permitiu a quantificação de catequinas e cafeína obtidas a partir do método de padronização externa, no qual tem como finalidade comparar as áreas dos compostos do extrato com as áreas obtidas a partir das soluções padrão. Essas soluções foram preparadas em várias concentrações, obtendo-se um cromatograma correspondente a cada uma delas, onde em seguida, a partir de um gráfico, foram relacionadas as áreas obtidas nas leituras com as concentrações. As concentrações das catequinas e cafeína foram calculadas a partir da equação da curva resultante, onde foi usada a área de cada substância no cromatograma resultante de uma injeção separada.

Um dos parâmetros de validação avaliado, coeficiente de correlação (R^2), que expressa a estimativa da qualidade da curva obtida, determina que quanto mais próximo o valor de R^2 estiver de 1,0, menor será a dispersão do conjunto de pontos experimentais e

menor a incerteza dos coeficientes de regressão estimados. Na presente pesquisa, os valores de R^2 foram superiores a 0,99 para todas as curvas de calibração. Segundo a ANVISA, é recomendado um valor igual a 0,99 para o coeficiente de correlação e segundo o INMETRO este valor deve estar acima de 0,90 (RIBANI, 2004).

O Intervalo de Linearidade (Tabela 3) é um intervalo de concentrações no qual se é possível construir uma curva analítica linear a partir da equação $y = ax + b$. Sendo assim, foi feita uma verificação cuidadosa para que os coeficientes de regressão das curvas analíticas ficassem na faixa linear dinâmica correspondente.

O Limite de detecção (LD) é o valor equivalente à menor concentração da substância analisada que pode ser detectada, mas não necessariamente quantificada. Por outro lado, o Limite de quantificação (LQ) corresponde a menor concentração da substância de interesse que pode ser medida com uma incerteza máxima de 10% (INMETRO, 2003; ICH, 1997). O LD e LQ foram determinados a partir do método visual e pelo método da relação sinal-ruído (RIBANI, 2004).

Para as análises, foram usados em média seis níveis de concentração para cada solução padrão, onde os pontos da curva analítica foram igualmente espaçados sobre as faixas de concentração que compreendeu entre 0 e 150% do valor esperado (ANVISA, 2003; ICH, 1995).

Os resultados apresentados foram adequados aos principais guias de validação analítica citados pelo INMETRO e ANVISA, assim como também as concentrações de catequina e cafeína apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 - Teores de catequinas e cafeína no extrato seco de chá verde analisado por UPLC-MS / MS.

Amostra	Concentração (mg.g^{-1} de folha seca)*				
	C	EGCG	ECG	EC	CAF
Extrato seco de chá verde	2,63±0,1	17,95±0,19	31,16±0,43	13,74±0,73	56,03±2,73

Fonte: Autora. *Média e desvio padrão da amostra analisada em triplicata.

Na literatura há uma grande diferença dos níveis de catequinas encontrados por diferentes autores (OLIVEIRA, 2012; MATSUBARA, 2006; NALDI *et al.*, 2014), indicando que há influência quando se trata de origem das folhas, bem como as condições de fabricação

do chá. Estudos mostram que, em geral, há uma grande variação dos níveis de catequinas dos chás verdes produzidos na China contendo maiores teores desses compostos (C, EC, EGCG e ECG) que os chás verdes japoneses (NOVAK; ŠERUGA; KOMORSKY-LOVRIĆ, 2010).

Pode ser observado a partir da Tabela 4 que as catequinas com maiores níveis encontrados foram a ECG e a EGCG com 31,16 e 17,95 mg.g⁻¹, respectivamente. Assim como a presente pesquisa, Pelillo *et al.* (2002) encontraram maiores níveis para a ECG e EGCG, no entanto esta última apresentou maior teor que a ECG.

Neste trabalho os resultados foram expressos em mg.g⁻¹ de folha seca, pois há uma melhor concordância entre os valores obtidos em diferentes pesquisas da literatura. Matsubara e Rodriguez-Amaya (2006) encontrou teores semelhantes para C e EGCG, porém determinaram menores valores para ECG e EC. Assim como o presente estudo, Shao *et al.* (1995) também encontraram ECG como a principal catequina, seguida da EGCG, porém esses autores obtiveram valores superiores aos da presente pesquisa.

A cafeína (CAF) apresentou-se como o composto de maior concentração, com 56,03 mg.g⁻¹, valor muito próximo ao encontrado por Pelillo *et al.* (2002), de 60,04 mg.g⁻¹. Provavelmente, por estar em maior quantidade, a cafeína poderia apresentar maior impacto sob a capacidade termogênica do extrato estudado.

Foi observado que o solvente EtOH/H₂O (75:25) foi bastante eficiente na extração das catequinas e cafeína das folhas, já que há uma concordância dos presentes resultados, em mg.g⁻¹ de folha seca, com alguns resultados publicados anteriormente em literatura. O uso de soluções extratoras para a extração de catequinas e cafeína é de suma importância para a obtenção de extratos com maior disponibilidade desses compostos. Oliveira (2012) estudando as concentrações de catequinas e cafeína em extrato de chá verde, sachês de chá verde e chá verde pronto, determinou maiores concentrações desses compostos no extrato de chá verde, seguido dos sachês e chá pronto, sendo este último praticamente não detectado níveis de catequinas e cafeína em sua composição.

5.1.3 Determinação de compostos bioativos

- Determinação de compostos fenólicos totais e flavonoides amarelos

Os resultados das análises de polifenóis extraíveis totais (PET) e flavonoides amarelos dos extratos secos de chá verde estão apresentados na Tabela 5.

Tabela 5 – Polifenóis Extraíveis Totais (PET) e Flavonoides amarelos do extrato seco de chá verde.

Amostra	Polifenóis Extraíveis Totais (mg GAE*/100 g)	Flavonoides amarelos (mg/100g)
Extrato seco de chá verde	84233,85±1060,01	191,40±5,72

Fonte: Autora. *Valores representam a média das triplicatas ± desvio padrão. GAE: Equivalente em ácido gálico.

Podemos observar a partir da Tabela 5 que foi encontrado um alto teor de polifenóis no extrato seco de chá verde de 84233,85 mg/100g. Pesquisas sugerem uma ingestão diária mínima de 1 g de fenólicos, o que corresponde a aproximadamente 1,19 g do extrato, demonstrando o potencial a ser explorado do extrato seco de chá verde como fonte de compostos de interesse (SILBERBERG *et al.*, 2006).

Em estudo com extratos de romã obtidos a partir de etanol 60%, Morzelle (2012) também obteve uma ótima extração, encontrando um valor de 109943 mg/100g de polifenóis em suas amostras.

Turkmen, Sari e Velioglu (2006) avaliaram os efeitos de diferentes solventes na determinação da concentração de compostos fenólicos em chá verde, também pelo método de Folin-Ciocalteu e obtiveram 9240 mg/100 g utilizando o extrato a 50% acetona, valores bem inferiores ao encontrado neste estudo. Vale ressaltar que os extratos usados na presente pesquisa foram concentrados e liofilizados, o que pode ter contribuído para uma maior concentração dos compostos em questão. Outro fator que pode ter influenciado de forma positiva no teor de compostos fenólicos presentes no extrato pode ser dado ao uso de um solvente extrator diferente, bem como a concentração do mesmo (etanol a 75%).

Rababah *et al.* (2010) detectaram uma forte influência do solvente na extração dos compostos fenólicos em romã. A influência de diferentes solventes na extração de compostos fenólicos totais é resultado das diferenças de polaridade e de solubilidade entre os diferentes componentes fenólicos presentes nas plantas (HAYOUNI *et al.*, 2007). A otimização do método de extração é uma etapa importante para a obtenção de maior eficiência e rentabilidade do processo, atributos essenciais para a indústria.

De acordo com Rice-Evans *et al.* (1997), para a determinação da capacidade antioxidante é necessária a extração dos compostos fenólicos e, em geral, o uso de soluções de

etanol ou metanol contendo um pouco de água são mais efetivos na extração de compostos fenólicos do que solventes puros (RICE-EVANS *et al.*, 1997).

Não foram encontrados trabalhos na literatura que determinam flavonoides amarelos em extratos de chá verde, caracterizando a importância dessa análise no presente estudo, já que as catequinas pertencem a essa classe de flavonoides. De acordo com a Tabela 5, o valor encontrado para flavonoides amarelos foi de 191,40 mg/100g, valor considerado relevante tendo como base frutos ricos em flavonoides amarelos como caju e a murta. Moura (1998) em estudo com nove clones de cajueiro anão precoce, obteve valores para flavonoides amarelos entre 80,62 a 129 mg/100 g e Rufino *et al.* (2010) reportaram um valor de 207,0 mg/100g para flavonoides amarelos em polpa de murta.

- Determinação da atividade antioxidante pelos métodos ABTS⁺⁺ e FRAP.

Para a determinação da atividade antioxidante, dois métodos distintos (ABTS⁺⁺ e FRAP), com diferentes princípios foram utilizados, visando caracterizar a atividade biológica da amostra. Os resultados obtidos nessas análises indicaram que o extrato seco de chá verde em questão pode ser considerado como boa fonte de compostos com atividade antioxidante e trazer possíveis benefícios à saúde. Os resultados estão expressos na Tabela 6.

Tabela 6 - Atividade Antioxidante obtida para o extrato seco de chá verde pelos métodos: ABTS e FRAP.

Amostra	Atividade antioxidante total/ ABTS ⁺⁺ (μM de Trolox.g ⁻¹)	Atividade antioxidante total/ FRAP (μM de Sulfato ferroso.g ⁻¹)
Extrato seco de chá verde	8816,43±123,82	9484,28±109,06

Fonte: Autora. *Valores representam a média das triplicatas \pm desvio padrão.

Para a atividade antioxidante determinada pelo método ABTS⁺⁺, o valor encontrado foi de 8816,43 μM de Trolox.g⁻¹ de extrato seco de chá verde (Tabela 6). Valores próximos foram encontrados por Manian (2008), que avaliando a capacidade antioxidante de extratos de chá verde obtidos a partir de dois solventes diferentes, obteve 8076.9 μM de Trolox.g⁻¹ para o extrato obtido com metanol a 100 % e 13499,9 μM de Trolox.g⁻¹ para o extrato obtido com acetona a 70%. Em outro estudo, Cai *et al.* (2004) encontraram valores de

5268.6 μM de Trolox. g^{-1} em extratos de *Camellia sinensis* obtidos a partir de extração utilizando metanol a 80%, valores inferiores ao encontrado no estudo em questão que utilizou etanol a 75%.

Hagerman *et al.* (1998) relataram que o elevado peso molecular dos compostos fenólicos possuem muita capacidade de eliminação dos radicais livres (ABTS^{•+}) e sua eficácia depende do peso molecular, número de anéis aromáticos e natureza da substituição do grupo hidroxila. A atividade de eliminação de radicais livres (ABTS^{•+}) no chá verde pode ser devido à presença de compostos fenólicos de elevado peso molecular, tais como as catequinas e seus derivados, além dos flavonoides.

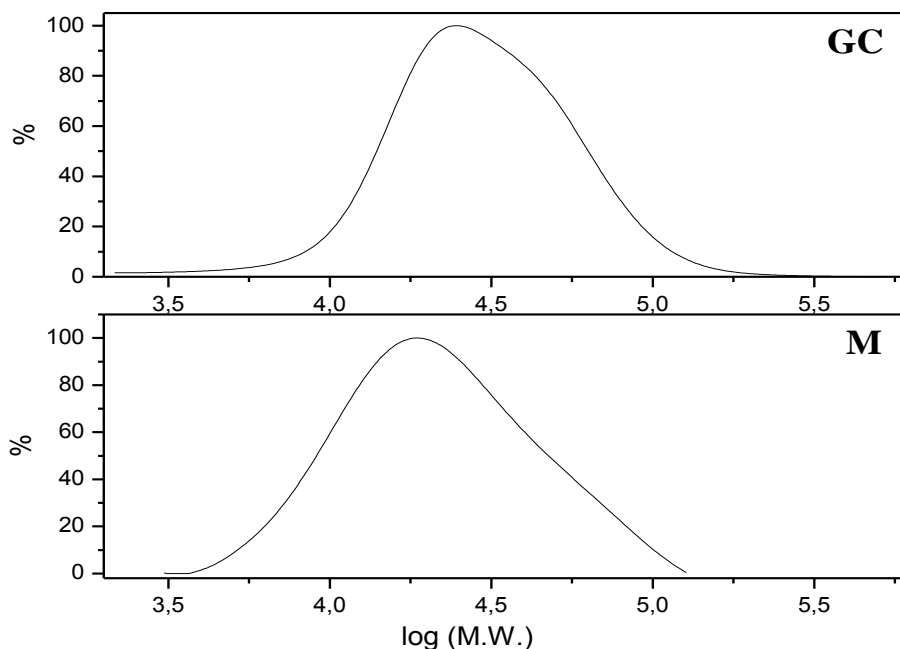
O resultado da atividade antioxidante pela redução do ferro para o extrato seco de chá verde foi de 9484,28 μM de Fe^{2+}/g de extrato (Tabela 6). Ku *et al.* (2009), estudando a atividade antioxidante de infusões de chá verde obtido a partir de folhas colhidas em diferentes estações do ano, encontraram valores de 784 μM de Fe^{2+}/g para amostras colhidas em abril e 1006 μM de Fe^{2+}/g para amostras colhidas em julho do mesmo ano. Os resultados inferiores encontrados por estes autores demonstram a eficácia e a importância da otimização do método de extração dos compostos antioxidantes.

5.2 Caracterização do material de parede

5.2.1 Cromatografia de Permeação em Gel (GPC)

A Figura 14 mostra as curvas cromatográficas para as amostras de goma do cajueiro (GC) e maltodextrina (M). Podemos observar que as curvas de distribuição de massas moleculares para as duas amostras apresentaram uma característica monomodal e apresentaram valores de massa molecular média (M_w) na ordem de 10^4 Daltons (Tabela 7).

Figura 14 – Curvas GPC para a goma do cajueiro (GC) e maltodextrina (M), mostrando os detalhes da distribuição de massas molares.



Fonte: Autora.

Tabela 7 – Massas molares médias (M_w e M_n) e polidispersão (M_w/M_n) para as amostras de goma do cajueiro (GC) e maltodextrina (M).

Amostra	$M_w \times 10^4$	$M_n \times 10^4$	M_w/M_n
GC	3,73	2,39	1,56
M	2,77	1,78	1,56

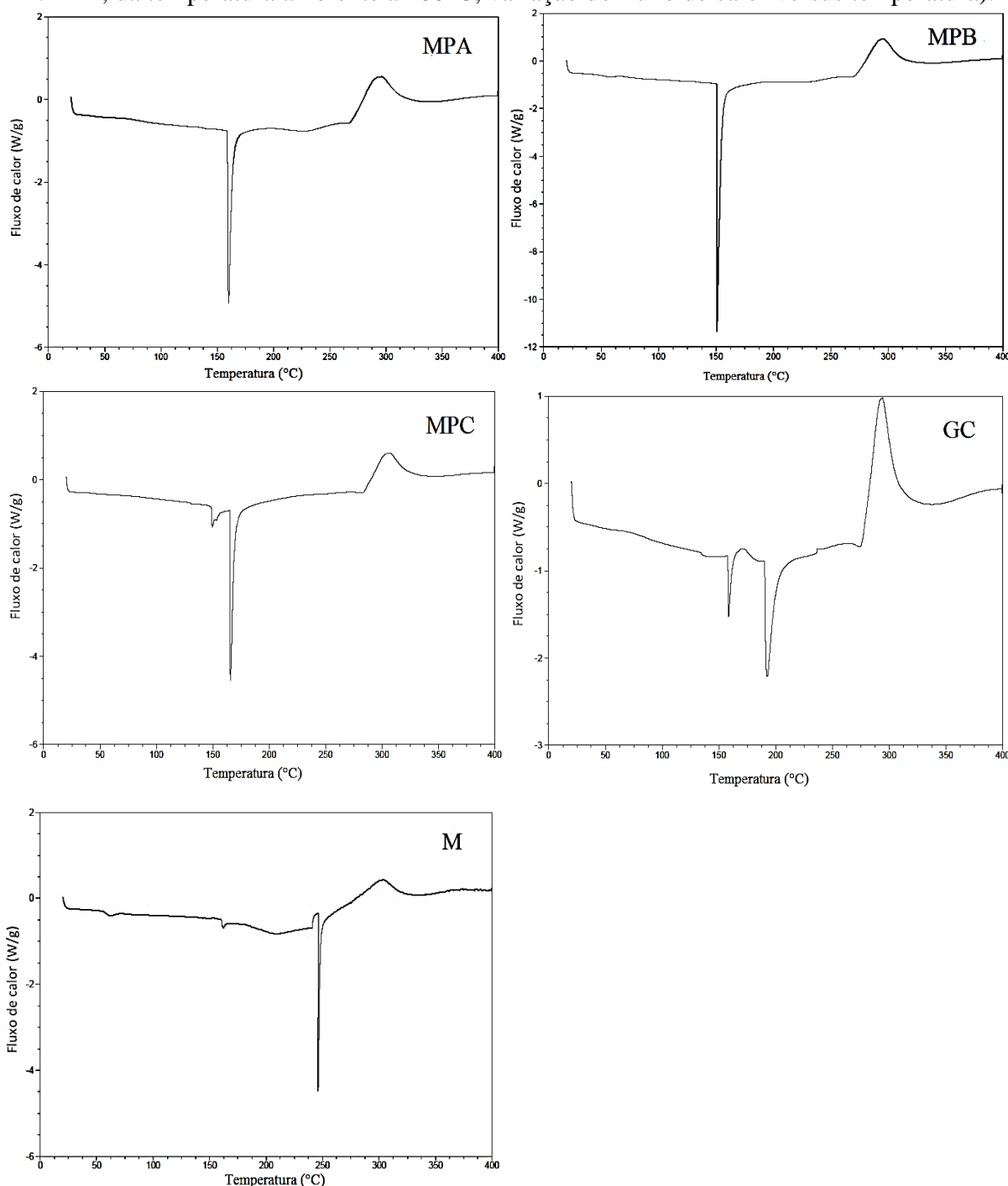
Fonte: Autora.

Analisando os dados da Tabela 7 observa-se que os valores de massas molares médias (M_w e M_n) foram superiores para GC ($3,73 \times 10^4$ e $2,39 \times 10^4$) em relação aos encontrados para a amostra M ($2,77 \times 10^4$ e $1,78 \times 10^4$), porém a polidispersão (M_w/M_n) foi igual para as duas amostras ($\sim 1,56$), comprovando a viabilidade da substituição de parte de maltodextrina por goma do cajueiro na composição do material de parede das microcápsulas.

5.2.2 Calorimetria Diferencial Exploratória (DSC)

Os difratogramas das três formulações de material de parede (MPA, MPB e MPC), goma do cajueiro (GC) e maltodextrina (M) estão apresentados na Figura 15.

Figura 15 - Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) das formulações de material de parede: MPA (material de parede A); MPB (material de parede B); MPC (material de parede C); GC (goma do cajueiro) e M (maltodextrina) em atmosfera de nitrogênio ($10^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$, $50\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, da temperatura ambiente a 400°C , variação do fluxo de calor versus temperatura).



Fonte: Autora. * MPA = 10% goma do cajueiro + 20% maltodextrina; MPB = 15% goma do cajueiro + 15% maltodextrina; MPC = 20% goma do cajueiro + 10% maltodextrina; GC = 100% goma do cajueiro e M = 100% maltodextrina.

A análise de DSC (Figura 15) mostra que as três formulações de material de parede (MPA, MPB e MPC) possuem comportamentos térmicos semelhantes. Podemos observar que as amostras MPA e MPB apresentaram um evento endotérmico bem definido e simétrico em 169°C e 149°C, respectivamente, característico de transição de fase da fusão e que denota uma transição à temperatura constante. Diferentemente das duas amostras citadas anteriormente, a amostra GC (goma do cajueiro) apresentou dois eventos endotérmicos significativos durante o ciclo de aquecimento, sendo o primeiro em 158°C e o segundo em 192°C, o que explica o aparecimento de dois eventos desse tipo em 149°C e 166°C na amostra MPC que possui maior quantidade de goma do cajueiro em sua formulação. Por outro lado, foi observada uma alta decomposição do material de todas as amostras na faixa de 294°C a 306°C, o que por sua vez é indicado pelo intenso pico exotérmico. Pode também ser observado um pico exotérmico bastante expressivo na temperatura de 294°C na amostra GC (goma do cajueiro), aparecendo com menor intensidade em M e conseqüentemente nas amostras de material de parede testadas. Isso sugere que a maltodextrina (M) utilizada nas formulações dos materiais de parede auxilia diminuindo a decomposição térmica das amostras e aumentando a estabilidade térmica em temperaturas de processamento bem superiores a 100°C.

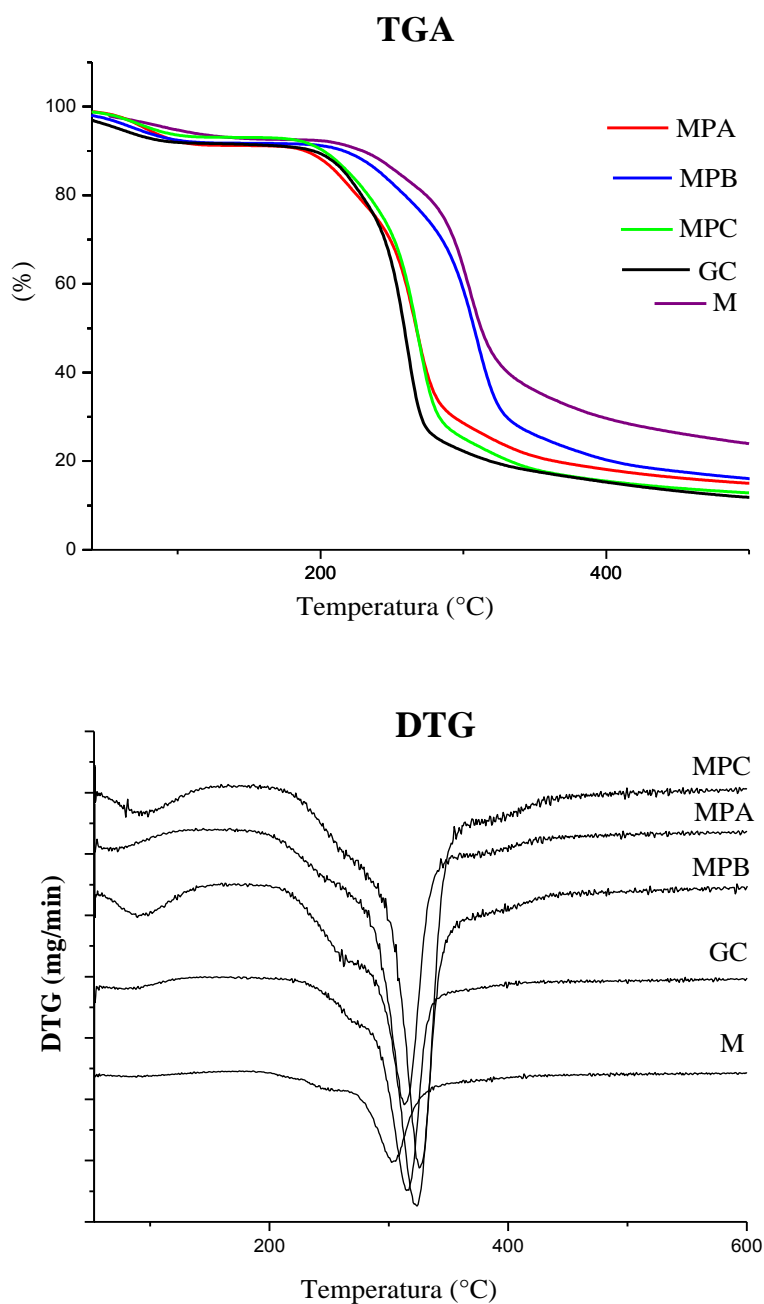
Müller (2011) avaliou o comportamento térmico do material de parede elaborado com 23% de maltodextrina e 6,5% de amido modificado, obtendo um evento endotérmico de 121,9°C, menor temperatura comparada a este estudo. Essa temperatura inferior pode estar relacionada com a diferença na proporção dos materiais de parede, bem como no uso do amido modificado no lugar da goma do cajueiro usada no presente trabalho.

5.2.3 Análise termogravimétrica (TGA)

As curvas termogravimétricas do material de parede (MPA, MPB e MPC), goma do cajueiro (GC) e maltodextrina (M) encontram-se na Figura 16. A análise termogravimétrica (TGA) e a derivada termogravimétrica (DTG) dos materiais de parede (MPA, MPB e MPC) mostram o aparecimento de dois estágios de decomposição, sendo o primeiro estágio entre as temperaturas de 0 a 100°C, representado a evaporação de água livre e água ligada por ligação de hidrogênio. Podemos observar que todas as amostras apresentaram comportamentos de perda de massa semelhantes que ocorre em torno de 320°C

e uma porcentagem residual entre 9,0 e 16,9% (Tabela 8). De um modo geral, a decomposição de polissacarídeos inicia-se em temperaturas superiores a 200°C.

Figura 16 - TGA e DTG para as três formulações de material de parede testadas: MPA (material de parede A) = 10% goma do cajueiro + 20% maltodextrina; MPB (material de parede B) = 15% goma do cajueiro + 15% maltodextrina; MPC (material de parede C) = 20% goma do cajueiro + 10% maltodextrina; GC (goma do cajueiro) e M (maltodextrina).



Fonte: Autora.

Tabela 8 - Parâmetros obtidos do TGA para MPA, MPB, MPC, GC e M.

Amostra	Temperatura Máxima (°C)		Resíduo (%) em 800°C
	1° evento	2° evento	
MPA	42	314	12,9
MPB	90	321	11,6
MPC	70	313	10,8
GC	-	314	9,0
M	-	303	16,9

Fonte: Autora.

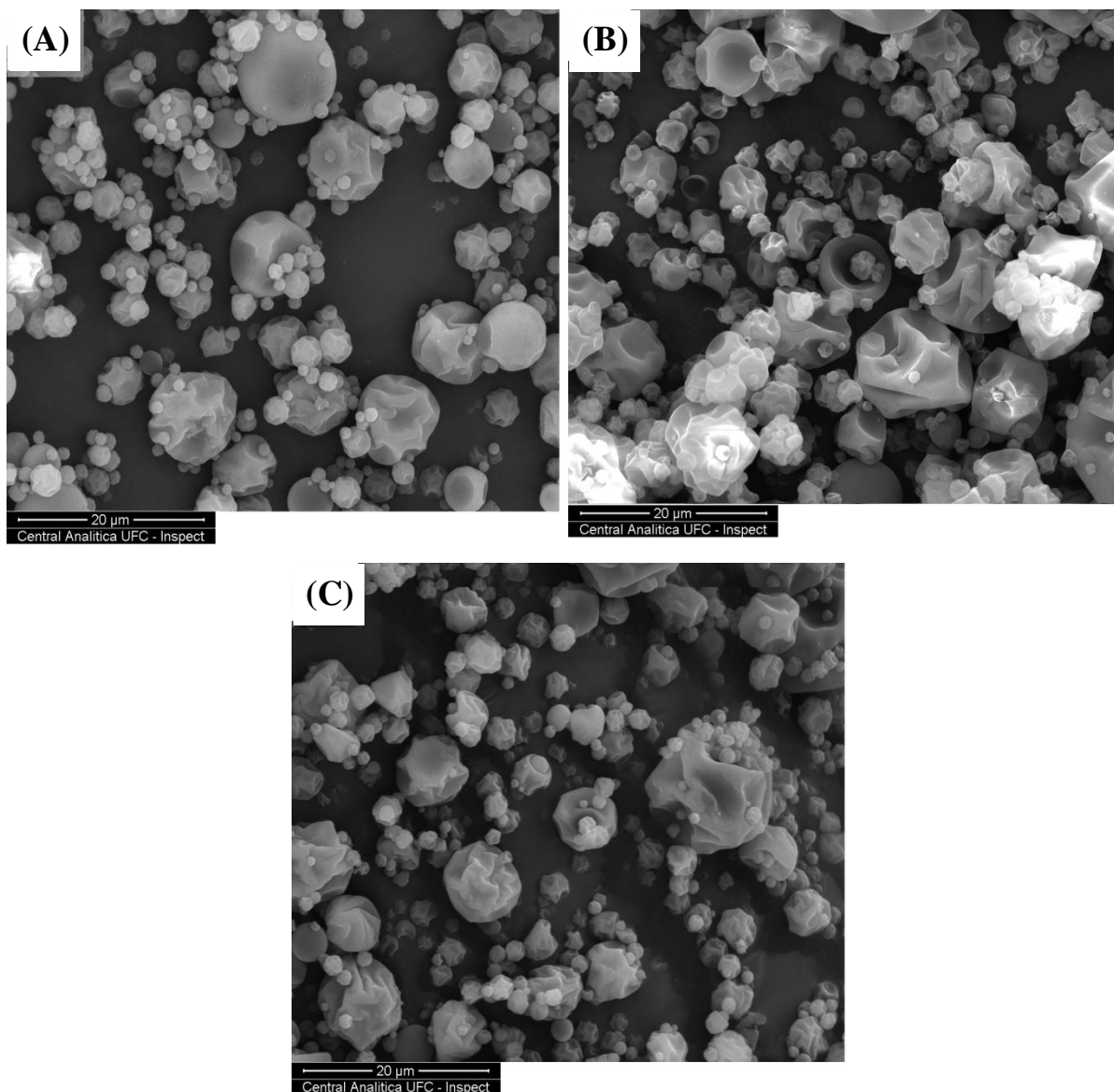
5.3 Caracterização das Microcápsulas

A partir dos resultados das análises térmicas do material de parede, em especial a DSC, podemos concluir que a goma do cajueiro constitui um material mais instável, quando comparada com as formulações com maltodextrina em sua formulação. Partindo desse princípio, apenas os materiais de parede MPA, MPB e MPC foram usados para o preparo das microcápsulas A, B e C.

5.3.1 Morfologia e tamanho das microcápsulas

A micrografia das microcápsulas de extrato seco de chá verde obtidas está apresentada na Figura 17. Todas as imagens estão exibidas com aumento de 5000x, justificado para uma melhor visualização das microcápsulas.

Figura 17 – Micrografias obtidas por MEV das microcápsulas A (10% goma do cajueiro + 20% maltodextrina + 7,5% extrato seco de chá verde); B (15% goma do cajueiro + 15% maltodextrina + 7,5% extrato seco de chá verde) e C (20% goma do cajueiro + 10% maltodextrina + 7,5% extrato seco de chá verde).



Fonte: Autora.

Pode ser observado que, em geral, as três formulações de microcápsulas analisadas revelaram semelhança quanto à morfologia, apresentando forma esférica, depressões irregulares, concavidades, superfície dentada, e principalmente, não apresentaram rachaduras, fissuras ou rompimentos, características fundamentais para garantir uma maior

proteção e retenção do extrato de chá verde encapsulado. Não foi observada uniformidade no tamanho, que variou de 10 μm até tamanhos muito menores, porém esse valor se encontra dentro do limite de 0,2 a 5000 μm , característico de micropartícula (ALVES, 2014).

Nota-se que a maioria das partículas estão aglomeradas, ocorrendo o posicionamento de partículas menores na superfície de partículas maiores. Esse fenômeno provavelmente ocorre devido ao processo de secagem por atomização, sendo uma característica que proporciona uma melhor estabilidade do extrato de chá verde encapsulado, pois as partículas externas do aglomerado protegem as partículas internas e, conseqüentemente, o extrato presente nos mesmos (MENDES, 2012).

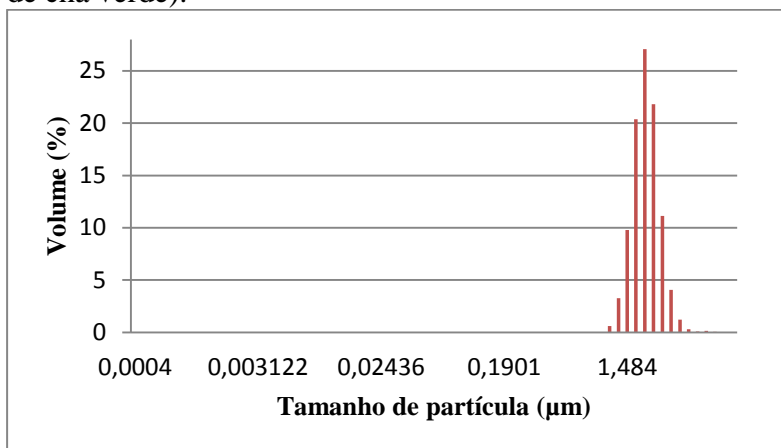
A superfície dentada pode ser decorrente da velocidade de secagem do *spray dryer*, somada às propriedades viscoelásticas das emulsões (TEIXEIRA *et al.*, 2004), podendo também ser atribuída ao resfriamento das microcápsulas após o entumescimento com saída de vapor de água (SHU *et al.*, 2006). Essa morfologia também foi observada por Mendes (2012) para microcápsulas formadas com goma do cajueiro e por Robert *et al.* (2010) para microcápsulas produzidas com maltodextrina.

Em um estudo onde se obteve micropartículas de óleo de café utilizando como material de parede a maltodextrina, goma arábica e proteínas do soro de leite, foram observadas micropartículas com morfologia altamente rugosa e micropartículas agregadas e atribuiu-se esse efeito às propriedades da suspensão e ao método de homogeneização, sendo que suspensões homogeneizadas em Ultra-Turrax apresentaram piores resultados quando comparadas às homogeneizadas em alta pressão (FRASCARELI, 2012).

5.3.2 Diâmetro médio das partículas e Potencial Zeta

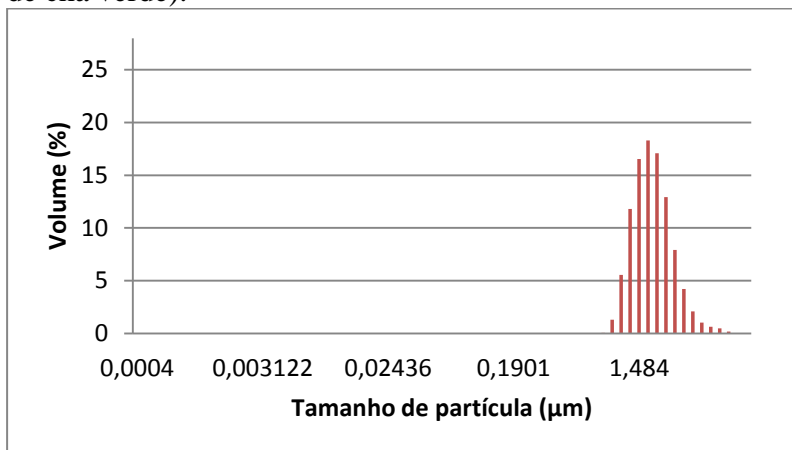
As Figuras 18 a 20 correspondem aos valores obtidos para as três formulações de microcápsulas (A, B e C).

Figura 18 - Distribuição dos tamanhos de partículas da formulação A de microcápsulas de extrato de chá verde (10% goma de cajueiro + 20% maltodextrina + 7,5% extrato seco de chá verde).



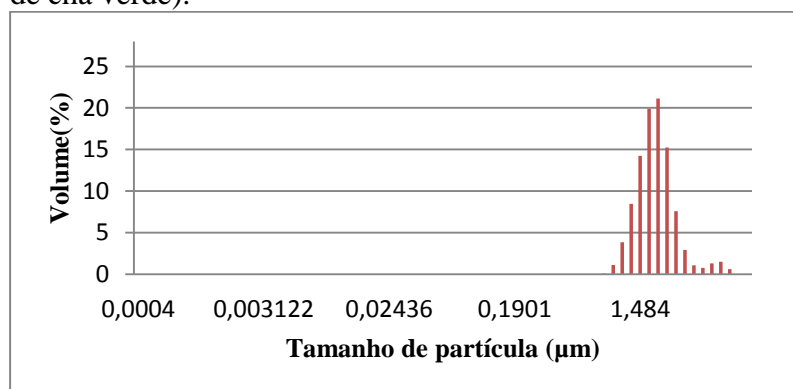
Fonte: Autora.

Figura 19 - Distribuição dos tamanhos de partículas da formulação B de microcápsulas de extrato de chá verde (15% goma de cajueiro + 15% maltodextrina + 7,5% extrato seco de chá verde).



Fonte: Autora.

Figura 20 - Distribuição dos tamanhos de partículas da formulação C de microcápsulas de extrato de chá verde (20% goma de cajueiro + 10% maltodextrina + 7,5% extrato seco de chá verde).



Fonte: Autora.

As partículas apresentam diâmetros variando de 0,95 a 5,56 µm. Higuíta (2013), estudando oleoresina de cúrcuma microencapsulada em misturas de goma arábica, maltodextrina e amido modificado, encontrou valores de diâmetro entre 0,1 e 316 µm, variação bem maior do que a determinada neste trabalho.

Através das figuras pode-se observar que as formulações A e B de microcápsulas (Figuras 18 e 19) apresentaram uma distribuição monomodal, ou seja, apresentaram apenas um pico predominante sugerindo uma distribuição uniforme das partículas e uma melhor estabilidade das microcápsulas. Pode-se observar na Figura 20 que a formulação C de microcápsula apresentou comportamento bimodal com dois picos, sendo um dos picos bem mais predominante em relação ao outro. De acordo com Higuíta (2013), a presença de partículas de menor tamanho pode ser atribuída às partículas que não encapsularam o extrato, enquanto que a presença de partículas de maior tamanho pode ser atribuída a um possível início de processo de aglomeração, onde ocorre a formação de pontes de ligação irreversíveis entre as partículas e, conseqüentemente, a formação de partículas maiores.

Os diâmetros médios das partículas foram calculados a partir de médias estatísticas e expressos como D[4,3] (diâmetro médio de De Brouckere), que indica o ponto central em torno do qual gira a frequência de volume da distribuição. As partículas produzidas nas três formulações de microcápsulas A, B e C apresentaram diâmetros médios iguais a 2,50, 2,55 e 3,64 µm, respectivamente.

Tabela 9 - Análise de variância para potencial Zeta referente às formulações de microcápsulas A, B e C.

Tratamentos*	Potencial Zeta (mV)
A	-0,71 ^{b**}
B	-0,29 ^c
C	-1,12 ^a
Média	-0,70
DMS	0,12
CV (%)	-5,83

Fonte: Autora. *A= 10 % de goma do cajueiro + 20 % maltodextrina + 7,5 % extrato de chá verde; B: 15 % de goma do cajueiro + 15 % maltodextrina + 7,5 % extrato de chá verde; C: 20 % de goma do cajueiro + 10 % maltodextrina + 7,5 % extrato de chá verde. **Médias com letras iguais, na mesma coluna, não diferem entre si ao nível de 5 % de significância para o teste de Tukey.

A partir da Tabela 9 podemos observar que as amostras de microcápsulas tiveram diferenças significativas no potencial Zeta a 1 e 5% de significância para análise de variância e pelo teste de Tukey.

Os valores de potencial Zeta podem ser positivos ou negativos, dependendo da natureza do polímero e do material usado para modificação de sua superfície. No presente trabalho, todas as partículas apresentaram potencial Zeta negativo, variando entre -0,29 e -1,12 mV, indicando que a carga residual das cadeias presentes no material de parede é negativa, independente das proporções utilizadas de GC e maltodextrina. Observa-se ainda que, o aumento da concentração de GC leva a um aumento do potencial Zeta, indicando a formação de partículas com maior densidade de carga superficial.

De acordo com Mishra *et al.* (2009), para se obter um potencial Zeta fisicamente estável, deve se apresentar superior a 30 mV (valor absoluto), podendo-se verificar agregação rápida de partículas para valores de potencial Zeta na ordem de -5 mV a +5 mV. Os baixos valores obtidos neste trabalho indicam que as microcápsulas obtidas são fisicamente instáveis, apresentando tendência a criar agregados devido à baixa repulsão entre partículas (DELGADO, 2013).

5.3.3 Solubilidade em água

A análise de interação não detectou diferenças significativas ($p > 0,05$) entre as formulações avaliadas para a solubilidade das microcápsulas (A, B e C). Dessa forma, foram

estudadas as diferenças entre as formulações pelo teste de médias (Tukey) ao nível de 5 % de probabilidade.

De acordo com a Tabela 10, podemos observar que as amostras A e B de microcápsulas não apresentaram diferenças significativas ($p>0,05$), não sendo, portanto detectada a influência das diferentes formulações de obtenção. Por outro lado, a amostra C de microcápsula apresentou valor significativamente menor ($p>0,05$) quando comparada com as amostras A e C.

Tabela 10 - Médias de solubilidade das formulações de microcápsulas obtidas pelo teste de Tukey.

Formulação	Solubilidade (%)
A	72,66 ^a ±2,7
B	72,00 ^a ±2,82
C	63,00 ^b ±0,02

Fonte: Autora. *A= 10% de goma do cajueiro + 20% maltodextrina + 7,5% extrato de chá verde; B: 15% de goma do cajueiro + 15% maltodextrina + 7,5% extrato de chá verde; C: 20% de goma do cajueiro + 10% maltodextrina + 7,5% extrato de chá verde. ** Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade ($p>0,05$).

A partir da Tabela 10 pode-se observar que as microcápsulas obtidas apresentaram uma solubilidade que variou de 63% a 72,66%, valores muito próximos ao encontrado por Mendes (2012), que obteve a solubilidade do material de 74,01% para microcápsulas obtidas no processo de microencapsulação de urucum, no qual a goma do cajueiro e goma arábica foram utilizadas como material de parede.

Oliveira (2008) observou valores de solubilidade em água superiores ao desse estudo, variando entre 91,27% e 96,41% para microcápsulas cujo núcleo era suco de caju e como material de parede a maltodextrina e goma de cajueiro. Sabe-se que a goma de cajueiro e a maltodextrina são solúveis em água, portanto a solubilidade inferior encontrada no presente estudo pode estar associada, em grande parte, a uma possível hidrofobicidade do extrato seco de chá verde. De acordo com Rosa *et al.* (2010), a solubilidade dos produtos atomizados depende, entre outros fatores, da temperatura do ar de secagem: quanto mais elevada a temperatura, maior será o tamanho das partículas, promovendo assim maior solubilidade do pó.

5.3.4 Eficiência da microencapsulação

A análise de interação não detectou diferenças significativas ($p > 0,05$) entre as formulações avaliadas para a eficiência de microencapsulação (%EM) das microcápsulas (A, B e C) obtidas. Dessa forma, foram estudadas as diferenças entre as formulações pelo teste de médias (Tukey) ao nível de 5% de probabilidade (Tabela 11).

Tabela 11 - Médias de eficiência de microencapsulação (%EM) das formulações de microcápsulas obtidas pelo teste de Tukey.

Formulação	(%EM)
A	33,00±0,77 ^a
B	30,75±0,58 ^b
C	28,25±0,77 ^c

Fonte: Autora. *A= 10% de goma do cajueiro + 20% maltodextrina + 7,5% extrato de chá verde; B= 15% de goma do cajueiro + 15% maltodextrina + 7,5% extrato de chá verde; C= 20% de goma do cajueiro + 10% maltodextrina + 7,5% extrato de chá verde.

** Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade ($p > 0,05$).

Os percentuais de eficiência de microencapsulação (%EM) para as formulações de microcápsulas A, B e C foram de 33,00%, 30,75% e 28,25%, respectivamente. Uma vez que os polissacarídeos são facilmente hidrolisados em água, as drogas/ativos encapsulados com baixa massa molecular, como é o caso do extrato de chá verde, podem ser difusas rapidamente, podendo desta forma ter levado a uma baixa eficiência de microencapsulação.

De acordo com a Tabela 11, podemos observar que todas as amostras de microcápsulas apresentaram diferenças significativas ($p > 0,05$), sendo, portanto detectada a influência das diferentes formulações de obtenção na %EM. Quanto maior o teor de maltodextrina nas formulações, maior é a EM. Segundo Jafari *et al.* (2008), para um processo de microencapsulação ser dito como eficiente, o material deve resultar em um pó encapsulado apresentando máxima retenção no interior do núcleo, bem como valores mínimos de superfície nas microcápsulas.

Os valores de %EM encontrados neste trabalho foram próximos aos de Mendes (2012) na microencapsulação de urucum, sendo encontrados valores de 26,93% nos materiais de parede constituídos apenas por goma do cajueiro e 31,21% nos materiais de parede constituídos por uma combinação de goma do cajueiro e goma arábica. Caleffi (2014) encontrou 31,6% para a %EM em microcápsulas formadas por maltodextrina como material

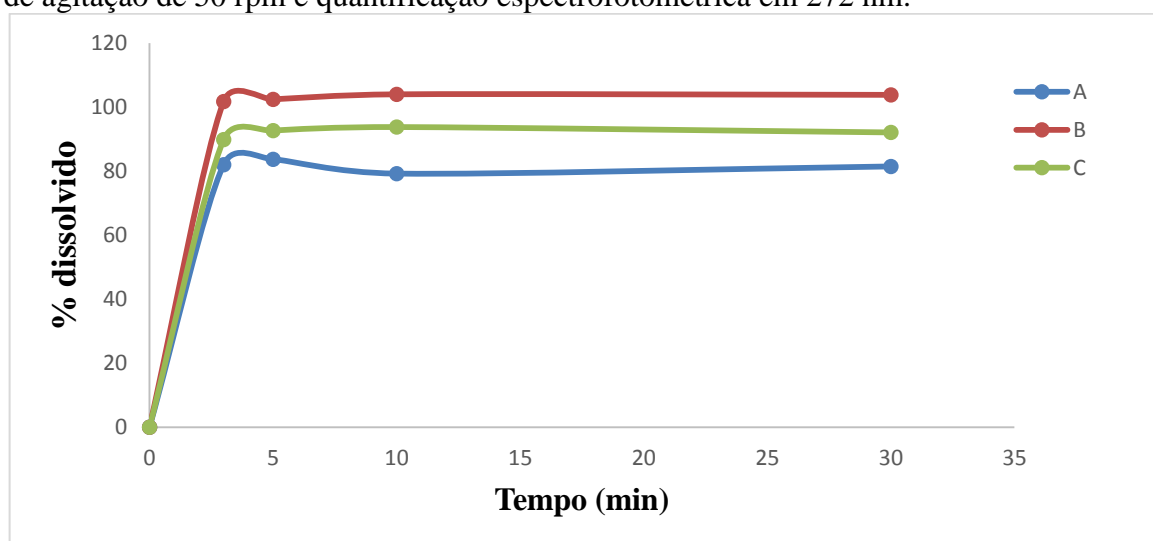
de parede e polpa de amora-preta como núcleo. Almeida (2014), estudando a %EM de microcápsulas formadas por maltodextrina e amido modificado como material de parede e tomilho como núcleo, encontrou um percentual de 68%.

5.3.5 Perfil de dissolução

Os perfis de dissolução das microcápsulas foram determinados baseando-se na cafeína, pois esse composto destacou-se dos demais quanto a sua concentração no extrato seco de chá verde quantificado por UPLC.

Com base nos resultados obtidos, as condições otimizadas do ensaio de dissolução da cafeína contida no extrato de chá verde microencapsulado estão descritas na Tabela 12 e representadas na Figura 21.

Figura 21 - Perfis de dissolução das formulações A, B e C, respectivamente, utilizando água destilada como meio dissolução ($37 \pm 0,5$ °C), dissolutor com aparato II, velocidade de agitação de 50 rpm e quantificação espectrofotométrica em 272 nm.



Fonte: Autora. *A= 10% de goma do cajueiro + 20% maltodextrina + 7,5% extrato de chá verde; B: 15% de goma do cajueiro + 15% maltodextrina + 7,5% extrato de chá verde; C: 20% de goma do cajueiro + 10% maltodextrina + 7,5% extrato de chá verde.

Analisando a Figura 21 podemos observar que as três formulações apresentaram basicamente o mesmo perfil de dissolução, havendo uma estabilização a partir de 5 minutos. A amostra B foi a que apresentou maior percentagem de dissolução, seguida das amostras C e A, liberando respectivamente 103,81%, 92,09% e 81,44% (Tabela 11). Esses altos percentuais de dissolução podem estar relacionados à espessura da parede, usada na proporção 4:1

(parede/núcleo), como também ter ligação com o baixo peso molecular da cafeína, que é um polímero hidrofílico, ocorrendo desta forma uma rápida dissolução no meio.

Tabela 12 - Percentagem de decaência das formulações de cápsulas A, B e C obtidas no tempo de 30 minutos na seguinte condição: água destilada como meio dissolução ($37 \pm 0,5$ °C), dissolutor com aparato II, velocidade de agitação de 50 rpm.

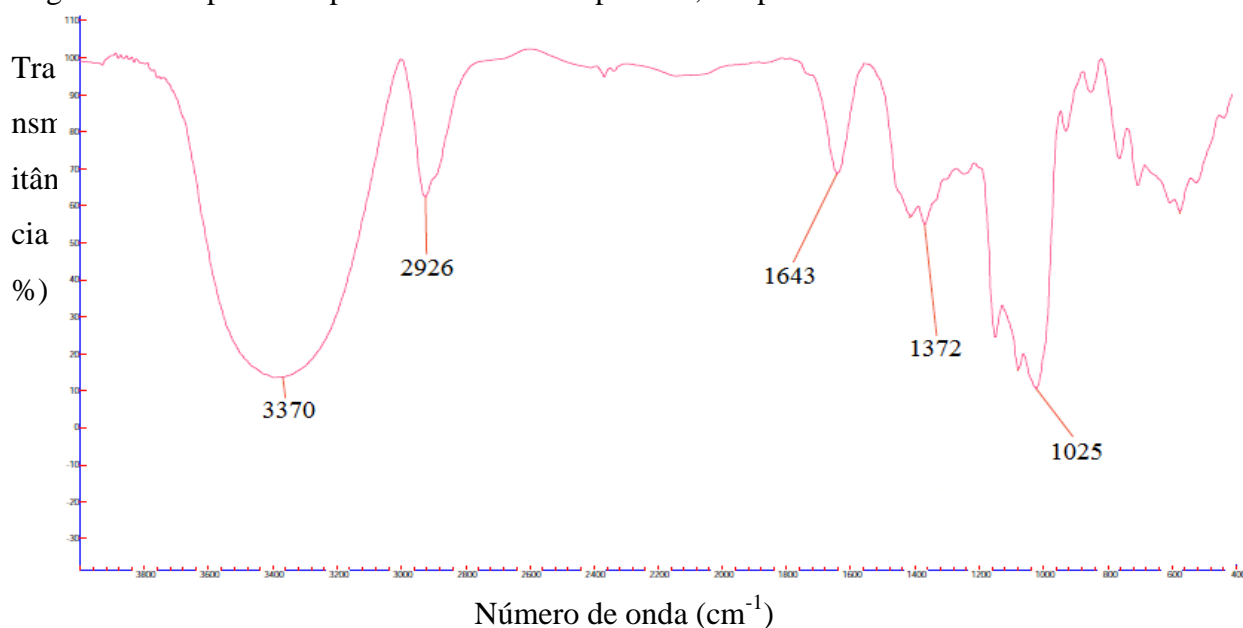
Quantificação	Percentagem de cafeína dissolvida no tempo de 30 minutos		
	Amostra A	Amostra B	Amostra C
Espectrofotométrica	81,44	103,81	92,09

Fonte: Autora.

5.3.6 Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho (FT-IR)

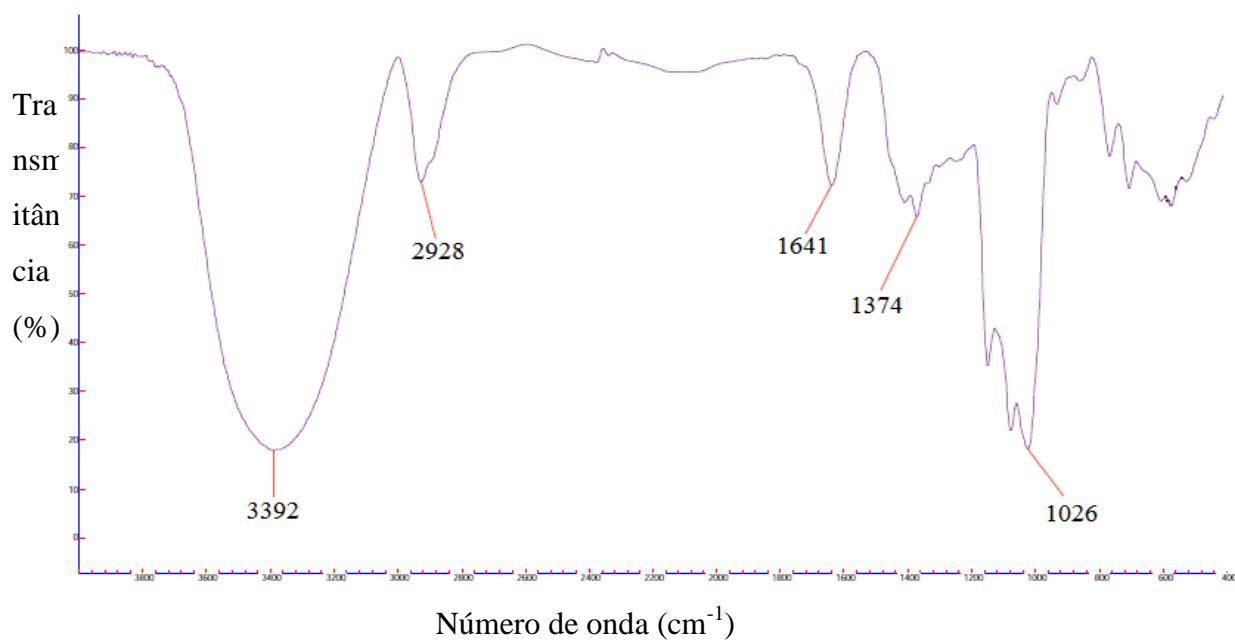
Para valores mais específicos em relação à estrutura das três formulações de microcápsulas (A, B e C), da goma do cajueiro (GC) e do extrato seco de chá verde (EXT), utilizou-se espectros de infravermelho entre 4000 e 400 cm^{-1} . As Figuras 22, 23 e 24 apresentam os espectros infravermelhos das microcápsulas (A, B e C) e as Figuras 25 e 26 representam os espectros da goma do cajueiro (GC) e do extrato seco de chá verde (EXT), respectivamente.

Figura 22 – Espectroscopia FTIR da microcápsula A, em pastilha de KBr.



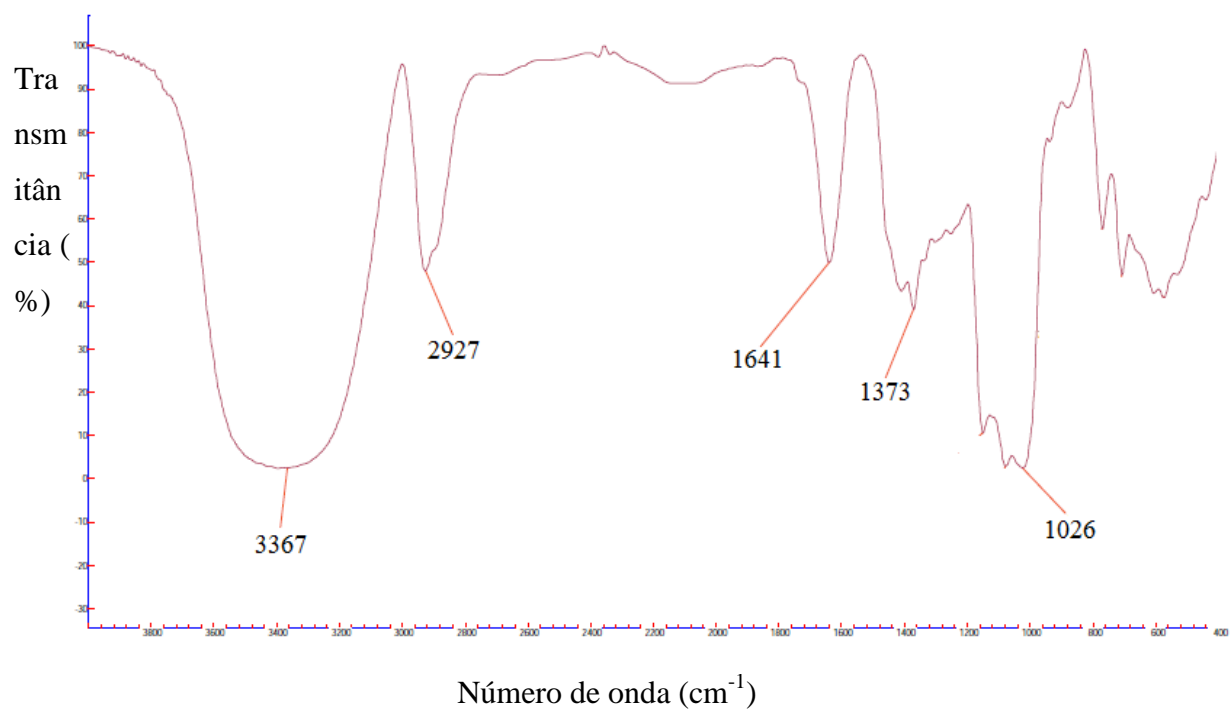
Fonte: Autora. *A= 10% gomado cajueiro + 20% maltodextrina + 7,5% extrato de chá verde.

Figura 23 - Espectroscopia FTIR da microcápsula B, em pastilha de KBr.



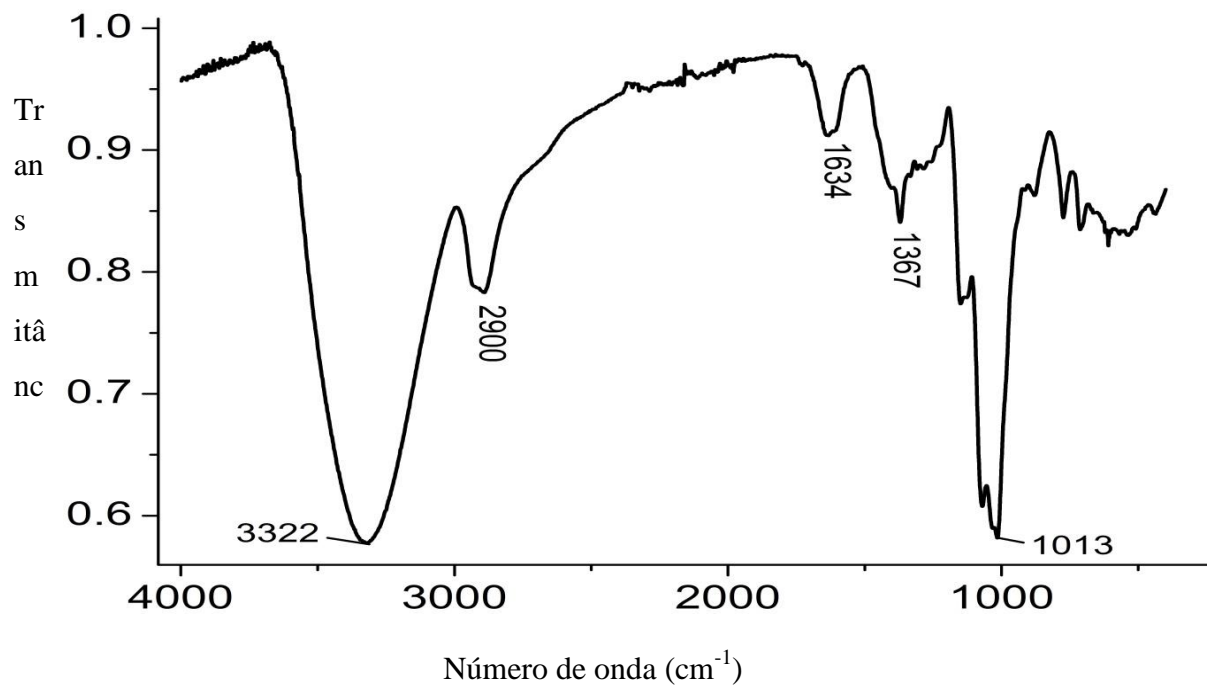
Fonte: Autora. *B= 15% de gomado cajueiro + 15% de maltodextrina + 7,5% extrato de chá verde.

Figura 24 - Espectroscopia FTIR da microcápsula C, em pastilha de KBr.



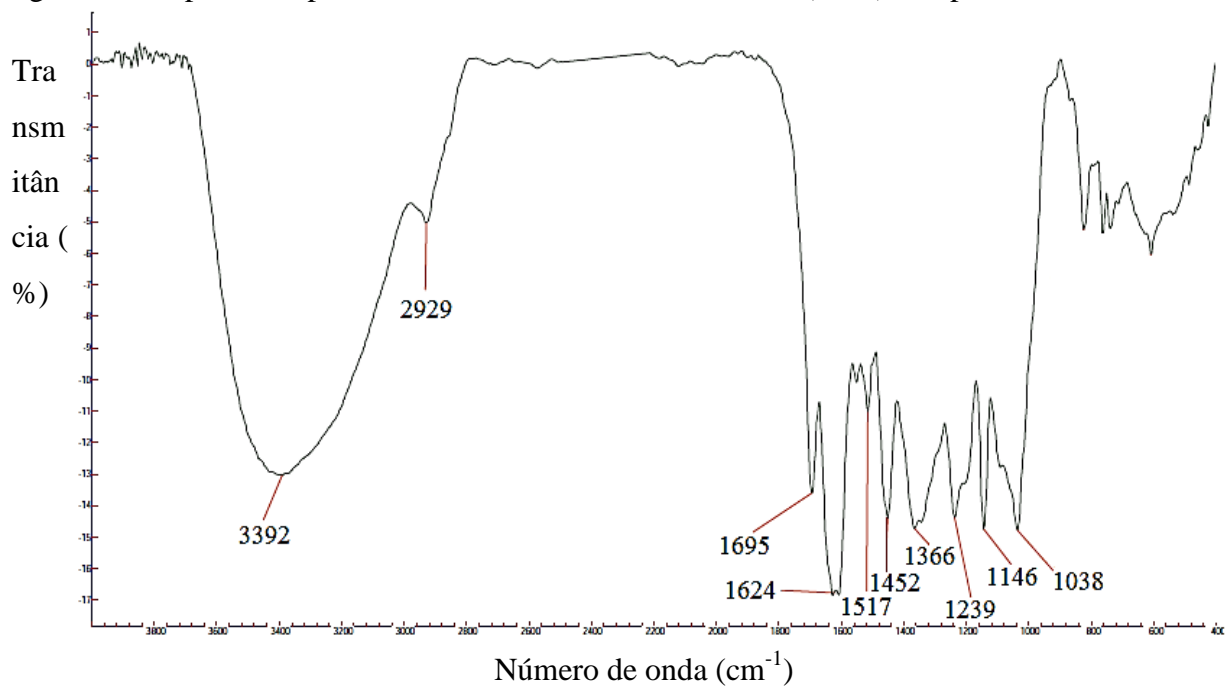
Fonte: Autora. *C= 20% de gomado cajueiro + 10% de maltodextrina + 7,5% extrato de chá verde.

Figura 25 - Espectroscopia FTIR da goma do cajueiro (GC), em pastilha de KBr.



Fonte: Autora.

Figura 26 - Espectroscopia FTIR do extrato seco de chá verde (EXT), em pastilha de KBr.



Fonte: Autora.

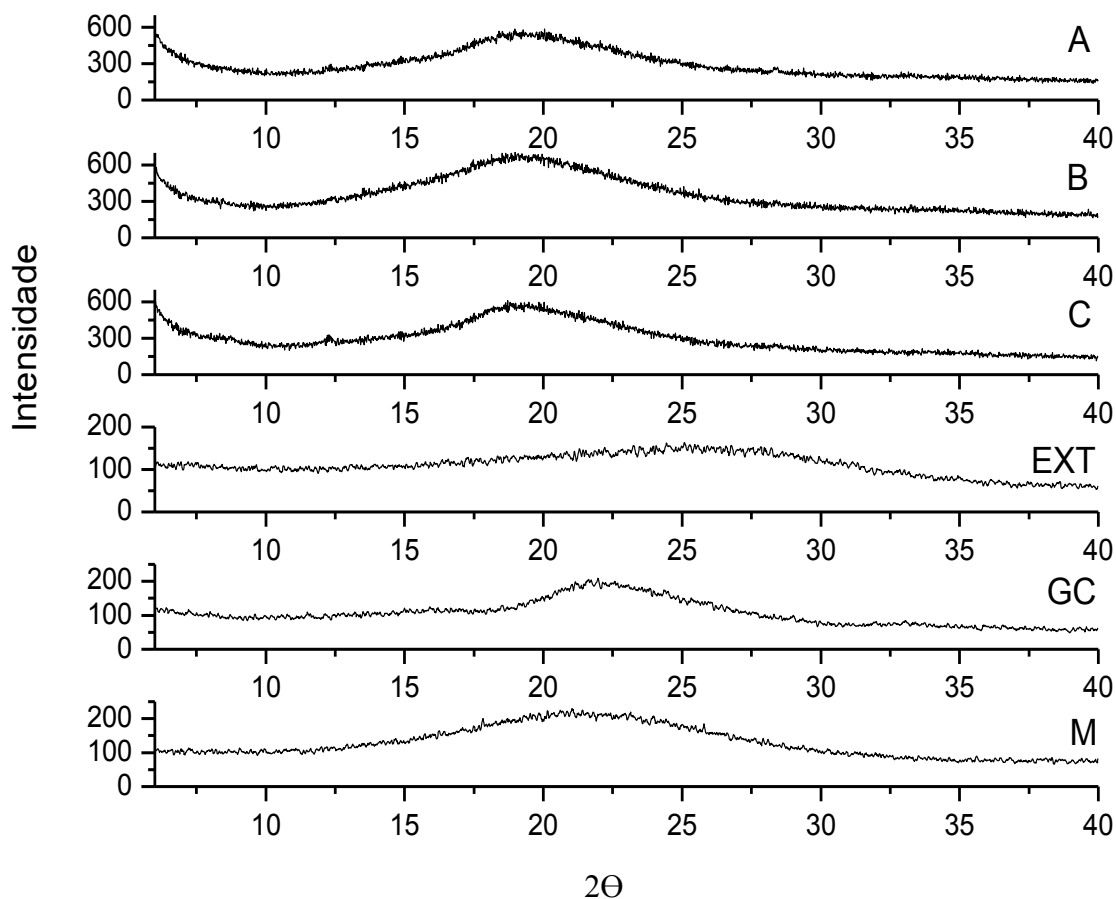
A espectroscopia de infravermelho (Figura 22 a 26) mostra que as três formulações de microcápsulas (A, B e C), bem como a goma do cajueiro (GC) e o extrato de seco de chá verde (EXT) possuem espectros bastante semelhantes. Pode-se observar em todos os espectros o aparecimento de uma ampla banda entre 3322 e 3392 cm^{-1} referente às ligações O-H das hidroxilas dos carboidratos. Podemos observar também bandas em torno de 2930 cm^{-1} assinalados principalmente para ligações C-H dos carbonos do anel glicosílico. Na região de impressão digital dos carboidratos (1200 –800 cm^{-1} para ligações tipo C-OH, C-O-C, C-O e C-C) foram observados picos entre 1013 e 1026 cm^{-1} já descrito como característico de polissacarídeos com alto teor de arabinose (KAČURÁKOVÁ *et al.*, 2000; ZHOU *et al.*, 2009). Todas as amostras de microcápsulas apresentaram bandas de absorção de goma do cajueiro correspondente aos grupos COO- e água em torno de 1640 cm^{-1} . O espectro também apresenta bandas típicas de proteínas em torno de 1373 cm^{-1} em amida III (1450 –1200 cm^{-1} ligação C- N e N-H) e picos em amida I (1720 –1600 cm^{-1} ligações C=O) (KAČURÁKOVÁ, *et al.*, 2000; ZHOU *et al.*, 2009; ESPINOSA-ANDREWS, *et al.*, 2010).

5.3.7 Difratometria de raios-X (DRX)

A difração de raios-X foi realizada com o objetivo de verificar as propriedades de cristalinidade dos polissacarídeos utilizados e das micropartículas que poderiam afetar a cinética de liberação do extrato de chá verde e a velocidade de degradação da matriz polissacarídica (CANEVAROLO, 2004).

A partir das análises de difração de raios-X (Figura 27), observou-se que todas as amostras analisadas apresentaram-se amorfas, ou seja, nenhuma região cristalina foi definida. Podemos observar que o processo de microencapsulação ocasionou um ligeiro deslocamento do pico das amostras A, B e C para valores menores em 2Θ , uma vez que o pico principal em EXT aparece em torno de 25,9° e nas microcápsulas A, B e C o pico principal aparece em torno de 19°. Características amorfas também foram encontradas por Müller (2011) em microcápsulas formadas com amido modificado e maltodextrina como material de parede e óleo essencial como núcleo.

Figura 27 - Difratoigramas das três formulações de microcápsulas avaliadas. A= 10% de goma do cajueiro + 20% de maltodextrina + 7,5% extrato de chá verde; B= 15% de goma do cajueiro + 15% de maltodextrina + 7,5% extrato de chá verde; C= 20% de goma do cajueiro + 10% de maltodextrina + 7,5% extrato de chá verde; EXT = 100% extrato de chá verde; GC = 100% goma do cajueiro; M = 100% maltodextrina.

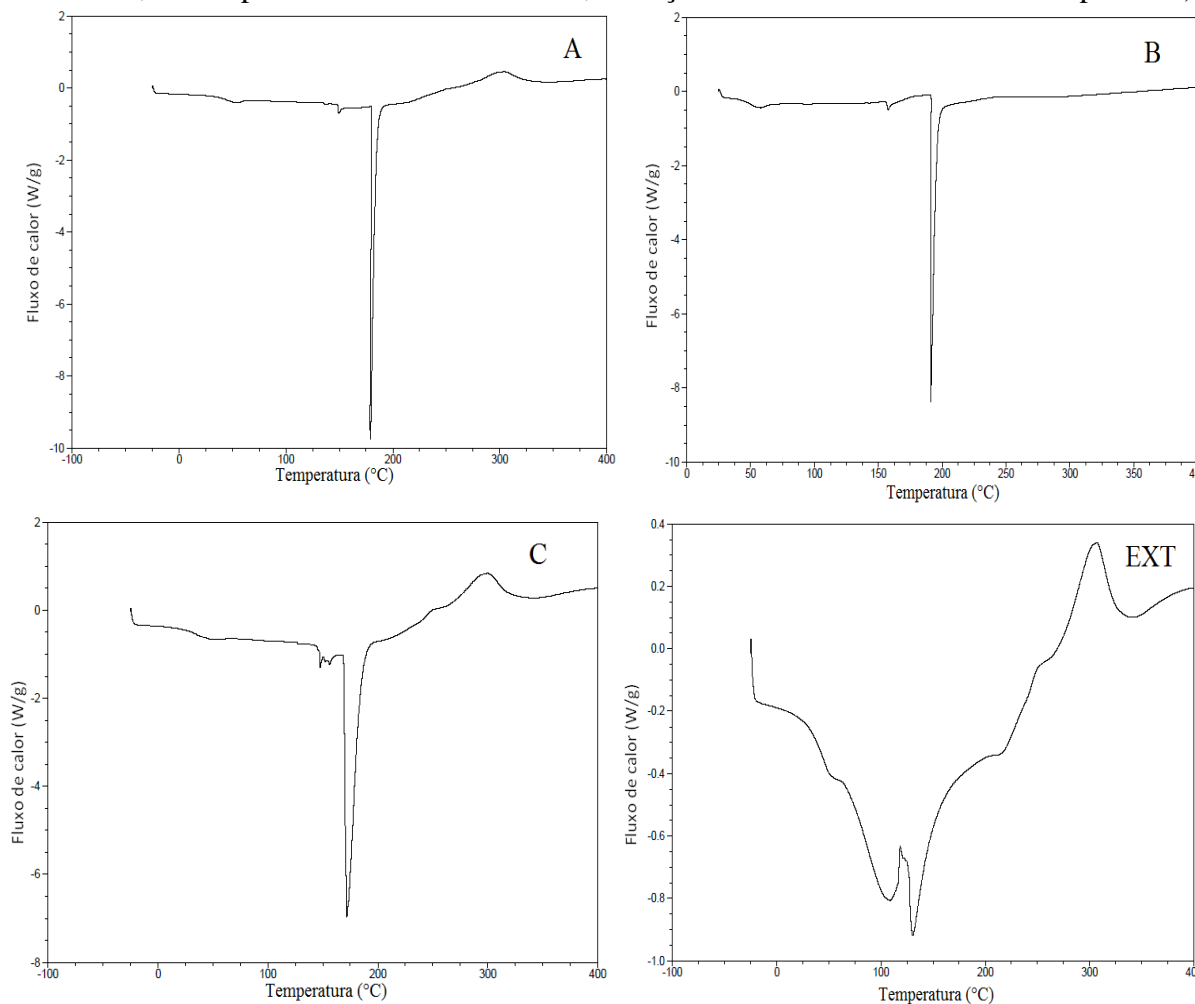


Fonte: Autora.

5.3.8 Calorimetria Diferencial Exploratória (DSC)

Os difratogramas das três formulações de microcápsulas (A, B e C) e do extrato seco de chá verde (EXT) estão apresentados na Figura 28.

Figura 28 - Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) das formulações de microcápsulas (A, B e C) e do extrato seco de chá verde (EXT) em atmosfera de nitrogênio ($10^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$, $50\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, da temperatura ambiente a 400°C , variação do fluxo de calor versus temperatura).



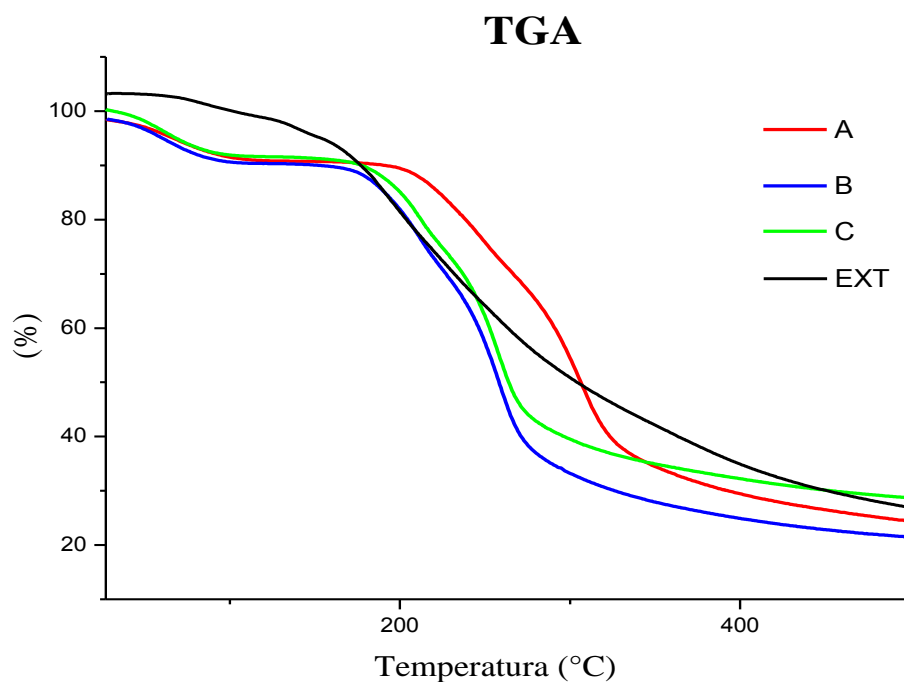
Fonte: Autora. *A= 10% de goma do cajueiro + 20% maltodextrina + 7,5% extrato de chá verde; B: 15% de goma do cajueiro + 15% maltodextrina + 7,5% extrato de chá verde; C: 20% de goma do cajueiro + 10% maltodextrina + 7,5% extrato de chá verde; EXT: 100% extrato seco de chá verde.

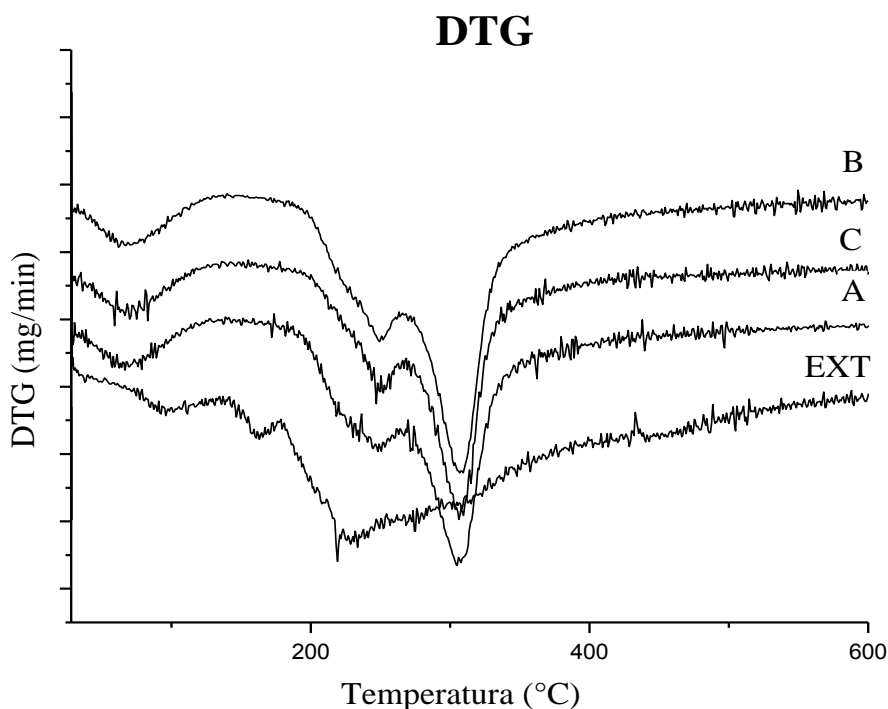
Podemos observar na Figura 28 que as amostras de microcápsulas (A, B e C) apresentaram comportamentos térmicos semelhantes, apresentando um evento endotérmico significativo em 178 , 157 e 171°C , respectivamente, enquanto que o extrato seco de chá verde (EXT) apresentou dois eventos endotérmicos significativos em 109 e 121°C , referentes às altas concentrações de catequina e cafeína presentes no extrato. Podemos observar também o aparecimento de um evento exotérmico em 307°C com alteração do perfil calorimétrico, sugerindo que o processo de microencapsulação conferiu uma maior estabilidade ao material de núcleo (EXT) utilizado no processo, já que este evento não apareceu na microcápsula B e se mostrou pouco expressivo nas temperaturas 304 e 300°C das microcápsulas A e C, respectivamente.

5.3.9 Análise termogravimétrica (TGA)

As curvas termogravimétricas das microcápsulas (A, B e C) e do extrato seco de chá verde (EXT) encontram-se na Figura 29. Pode-se observar que a análise termogravimétrica (TGA) e a derivada termogravimétrica (DTG) mostraram três estágios de decomposição para todas as amostras analisadas. Podemos observar que todas as amostras de microcápsulas tiveram o mesmo comportamento de perda de massa, sendo o primeiro estágio em torno de 68°C, representado a evaporação de água livre e água ligada por ligação de hidrogênio. Observamos ainda que, para todas as amostras, os estágios dois e três ocorrem respectivamente em torno de 249 e 308°C e um percentual residual entre 17,5 e 19,2%. Para a amostra de extrato seco de chá verde (EXT), os eventos de perda de massa ocorrem em 95, 162 e 319°C, enquanto que o percentual de perda de massa foi de 38,3% (Tabela 13). De um modo geral, a decomposição de polissacarídeos inicia-se em temperaturas superiores a 200°C.

Figura 29 - TGA e DTG para as formulações de microcápsulas A (10% goma do cajueiro + 20% maltodextrina + 7,5% extrato seco de chá verde); B (15% goma do cajueiro + 15% maltodextrina + 7,5% extrato seco de chá verde) e C (20% goma do cajueiro + 10% maltodextrina + 7,5% extrato seco de chá verde) e EXT (extrato seco de chá verde).





Fonte: Autora.

Tabela 13 - Parâmetros obtidos do TGA para A, B, C e EXT.

Amostra	Temperatura Maxima (°C)			Residuo (%) em 800°C
	1° evento	2° evento	3° evento	
A	67	248	305	19,2
B	68	249	308	18,9
C	69	250	305	17,5
EXT	95	162	319	38,3

Fonte: Autora.

5.4 Caracterização dos néctares de cajá

A microcápsula selecionada para a aplicação no néctar de cajá e posterior caracterização, foi a amostra C (20% goma do cajueiro + 10% maltodextrina + 7,5% extrato seco de chá verde), uma vez que esta amostra, assim como as demais, conseguiu atingir o objetivo de encapsular e proteger os compostos bioativos do extrato de chá verde e por se tratar de uma amostra a qual foi formulada com maior percentual de goma do cajueiro, um produto barato e facilmente encontrado na natureza.

5.4.1 Análises físico-químicas e de compostos funcionais

As características físico-químicas dos néctares (NCEM e NC) encontram-se na Tabela 14.

Tabela 14 – Características físico-químicas dos néctares (NCEM e NC).

Amostra	pH	Sólidos solúveis °Brix (20°C)	Acidez Total em ácido cítrico (%)	Açúcares totais (g/100g)	Açúcares redutores (g/100g)
NC	3,08±0,006	11,0±0,1	0,21±0,0007	7,46±0,46	5,06±0,13
NCEM	3,14±0,01	17,3±0,06	0,28±0,02	11,12±0,14	6,85±0,44

Fonte: Autora. *NCEM= Néctar de cajá com extrato de chá verde microencapsulado e NC= Néctar de cajá. Valores representam a média das triplicatas ± desvio padrão.

A partir da Tabela 14 podemos observar que a adição das microcápsulas ao néctar de cajá não causou grande variação para os valores de pH que foram de 3,14 para NCEM e 3,08 para NC. Mattietto *et al.* (2007) obtiveram um pH de 3,07 para néctar misto de cajá e umbu. Valores próximos também foram encontrados por Morzelle *et al.* (2011) em néctar misto de maracujá e araticum tendo pH por volta de 3,3. Neste estudo os valores de pH obtidos ficaram abaixo de 4,5, conforme recomendado para néctares de frutos (DA SILVA *et al.*, 2009a). Valores mais baixos de pH possuem preferência pela indústria, uma vez que bactérias patogênicas não encontram condições favoráveis para se desenvolver, sendo desta forma um produto de mais fácil conservação (HOFFMANN, 2001).

Os teores de sólidos solúveis totais foram de 17,3 e 11,0 °Brix para NCEM e NC, respectivamente, conforme proposto pela legislação brasileira para néctar de cajá que preconiza um valor mínimo de 11 °Brix (BRASIL, 2003). Em estudos com formulações de néctar de cajá, De Souza *et al.* (2000) encontraram valores que variaram entre 12,2 e 14 °Brix e um valor de 16,3 °Brix para o néctar de araçá-boi, valores próximos aos obtidos neste estudo.

Os valores encontrados para o parâmetro em percentual de acidez titulável em ácido cítrico foi de 0,28% e 0,21%, respectivamente para NCEM e NC. Esses valores estão de acordo com o Padrão de Identidade e Qualidade para néctar de cajá (BRASIL, 2003), o qual estabelece um valor mínimo de 0,20% para acidez total em ácido cítrico. Valores próximos ao deste estudo foram obtidos por De Castro *et al.* (2014) que encontraram valores de acidez titulável por volta de 0,25% em formulações de néctar misto de abacaxi e seriguela.

O percentual de açúcar total foi de 11,12% e 7,46% para NCEM e NC, respectivamente. Os resultados encontrados nesse estudo estão de acordo com o Padrão de Identidade e Qualidade para néctar de cajá (BRASIL, 2003) que estabelece o mínimo de 7,0% de açúcares totais. Os açúcares redutores (% de glicose) foram de 6,85 e 5,06% para NCEM e NC, respectivamente. Damiani *et al.* (2011) em estudo com néctar misto de cajá-manga com hortelã encontraram valores de 14,24 e 6,62% para açúcares totais e redutores, respectivamente.

Os valores obtidos para as análises de compostos funcionais das formulações dos néctares NCEM e NC estão dispostos na Tabela 15.

Tabela 15 - Polifenóis Extraíveis Totais (PET), Atividade Antioxidante obtidos para os néctares NCEM e NC.

Amostra	Polifenóis Extraíveis Totais (mg GAE*/100 g)	Atividade antioxidante total/ ABTS ⁺⁺ (µM de Trolox.g ⁻¹)	Atividade antioxidante total/ FRAP (µM de Sulfato ferroso.g ⁻¹)
NCEM	302,56±4,20	10,90±1,68	17,63±1,19
NC	159,60±4,47	2,97±0,19	11,03±1,02

Fonte: Autora. *NCEM= Néctar de cajá com extrato de chá verde microencapsulado e NC= Néctar de cajá. Valores representam a média das triplicatas ± desvio padrão.

Podemos observar a partir da Tabela 15 que a adição do extrato de chá verde microencapsulado ao néctar de cajá acarretou um aumento significativo nos níveis de todos os compostos funcionais avaliados nas amostras.

Os valores obtidos para polifenóis extraíveis totais foi de 302,56±4,20 e 159,60±4,47 mg/100g, respectivamente, para NCEM e NC. Observamos que o valor obtido no NCEM praticamente dobrou quando comparado com o determinado no NC, o que demonstra que a adição das microcápsulas ao néctar é uma boa opção para melhor disponibilizar esses compostos em uma bebida. Da Silva *et al.* (2009b), em estudo com formulações de bebida mista a base de água de coco, polpa de abacaxi e acerola, encontraram valores variando de 29,60 a 150,79 mg/100g.

Para a atividade antioxidante obtida a partir do método ABTS⁺⁺ foram encontrados valores de 10,90 e 2,97 µM de Trolox/g, respectivamente, para NCEM e NC (Tabela 13), podendo observar que a adição das microcápsulas ao suco aumentou significativamente o teor de compostos antioxidantes ao néctar de cajá. Van Den Berg *et al.* (1999) avaliando sucos de uva e laranja pelo método ABTS, encontraram valores médios de 5,57 e 6,63 µM de Trolox/g, respectivamente. Da Silva *et al.* (2009b) encontraram valores variando de 1,32 a 12,67 µM de

Trolox/g em formulações de bebida mista a base de água de coco, polpa de abacaxi e acerola.

De acordo com a Tabela 15, os valores obtidos para a atividade antioxidante determinada a partir da redução do ferro foi de 17,63 μM de Fe^{2+}/g para NCEM e 11,03 μM de Fe^{2+}/g para NC. Cheuczuk e Rocha (2014) encontraram um valor de 9,43 μM de Fe^{2+}/g em amostras de polpa de cajá-manga.

5.4.2 Análises Microbiológicas

Quanto à análise microbiológica para coliformes a 45°C, os resultados indicaram ausência desses microrganismos ($<1,0$ NMP/mL) tanto para NCEM quanto para NC, indicando assim um excelente resultado em termos de condições higiênico-sanitários. De acordo com Brasil (2001), os valores permitidos para este grupo de microrganismos deve ser de até 10^2 NMP/mL.

5.4.3 Análise sensorial

A Tabela 16 apresenta os resultados da análise sensorial obtidos para as amostras de néctar de cajá avaliadas. Pode-se observar que o tratamento estatístico revelou diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre as amostras em relação à intensidade do sabor estranho, sendo que o néctar de cajá com extrato de chá verde microencapsulado (NCEM) apresentou maior intensidade que o néctar sem o extrato (1,06). Isso demonstra que a adição de extrato de chá verde, mesmo microencapsulado, conferiu um sabor estranho ao néctar de cajá, o qual pode ser classificado como moderado, pois seu valor médio (4,42) ficou no meio da escala utilizada (9 cm).

A presença do sabor estranho prejudicou a aceitabilidade do néctar que contém as microcápsulas de chá verde (NCEM), pois, em relação à “aceitação global”, essa amostra obteve menor média que a amostra sem o extrato (NC). No entanto, isso não foi um critério de rejeição do néctar, visto que a amostra atingiu a média 6,27, valor hedônico correspondente a “gostei ligeiramente”, e, portanto, na região de aceitação da escala hedônica.

O teste de aceitação por atributos mostra quais foram os atributos sensoriais mais afetados pela adição do extrato de chá verde. Para a aparência, foram obtidas médias de 7,89 e 7,32 respectivamente para NC e NCEM. Embora essa diferença tenha sido estatisticamente significativa, o produto formulado com as microcápsulas perdeu apenas 0,57 pontos na sua

aceitabilidade, indicando uma ótima aceitação dos néctares pelos provadores. Já o aroma sofreu um pouco mais, visto que sua aceitação caiu de 7,53 (NC) para 6,48 (NCEM), ou seja, cerca de 1 ponto na escala hedônica.

Tabela 16 - Médias dos resultados sensoriais das amostras de néctar de cajá (NC e NCEM).

Amostra	Sabor estranho	Aceitação global	Aceitação da aparência	Aceitação do aroma	Aceitação do sabor
NC	1,06 ^b	7,93 ^a	7,89 ^a	7,53 ^a	8,01 ^a
NCEM	4,42 ^a	6,27 ^b	7,32 ^b	6,48 ^b	5,79 ^b

*NCEM= Néctar de cajá com extrato de chá verde microencapsulado e NC= Néctar de cajá. Médias seguidas de letras iguais em uma mesma coluna não diferem significativamente para o teste F ($p > 0,05$).

No entanto, quanto ao sabor, foi observada uma queda mais acentuada na aceitação da amostra NCEM pelos provadores (5,79) em relação ao néctar de cajá não adicionado das microcápsulas (8,01), indicando que esse foi o atributo mais influenciado pelo extrato de chá verde no néctar de cajá, impactando também na aceitabilidade global do produto.

6 CONCLUSÕES

O extrato seco de chá verde possui viabilidade celular, não apresentando citotoxicidade para as células estudadas, sendo possível sua utilização na elaboração de novos produtos alimentícios.

O extrato de chá verde é rico em compostos termogênicos, sendo a cafeína identificada em maior concentração, seguida da epicatequina galato, epigallocatequina galato, epicatequina e catequina.

O extrato de chá verde representa uma fonte potencial de compostos antioxidantes, compostos fenólicos e flavonoides amarelos.

As três formulações de material de parede (MPA, MPB e MPC) testadas apresentaram boa estabilidade térmica a temperaturas acima de 100°C.

As três formulações de microcápsulas testadas (A, B e C) foram capazes de encapsular o extrato seco de chá verde, tornando viável a substituição de parte da maltodextrina por goma de cajueiro.

O sistema modelo de néctar de cajá, utilizado para adição das microcápsulas de chá verde, comprova a capacidade que elas possuem de tornar um alimento convencional em fonte potencial de compostos antioxidantes e fenólicos sem causar rejeição ao produto.

Desta forma, verifica-se o potencial para a indústria do emprego das micropartículas a base do extrato seco de chá verde como ingrediente alimentício.

REFERÊNCIAS

ABURTO, L. C.; TAVARES, D. Q. MARTUCCI, E. T. Microencapsulação de óleo essencial de laranja. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.18, n.1, p.45-48, 1998.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA); **Resolução RE nº 899**, de 29/05/2003.

AIS (Australian Institute of Sport). **Caffeine and Sport Performance: An informal summary of a workshop held at the Australian Institute of Sport**. December, 2001.

Disponível em: <www.ausport.gov.au/ais/nutrition/suppcaffws.htm> Acesso em: 05 de julho de 2015.

ALMEIDA, J. D. F. **Atividade antioxidante e microencapsulação de extrato etanólico de tomilho (Thymus vulgaris L.)**. 2014. 70f. Monografia (Bacharelado em Química) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba, 2014.

ALTIMARI, L. R.; CYRINO, E. S.; ZUCAS, S. M.; BURINI, R. C. Efeitos ergogênicos da cafeína sobre o desempenho físico. **Revista Paulista de Educação Física**, São Paulo, v. 14, n. 2, p. 141-158, 2000.

ALTIMARI, L. R.; CYRINO, E. S.; ZUCAS, S. M.; OKANO, A. H.; BURINI, R. C. Cafeína: ergogênico nutricional no esporte. **Revista Brasileira de Ciência e Movimento**, Brasília, v. 9, n. 3, p. 57-64, 2001.

ALTIMARI, L. R.; MORAES, A. C.; TIRAPEGUI, J.; MOREAU, R. L. M. Cafeína e performance em exercícios anaeróbicos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v. 42. n. 1. p. 17-27, 2006.

ALVES, N. N. **Desidratação de suco de laranja probiótico por spray-dryer**. 2012. 59f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2012.

ALVES, F. C. G. B. **Propriedades funcionais do amido de mandioca esterificado com ácido esteárico**. 2013. 41f. Monografia (Tecnólogo em Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, 2013.

ALVES, A. I. **Obtenção de extrato de carotenoides de polpa de pequi (*Caryocar brasiliense Camb.*) encapsulado pelo método de secagem por atomização**. 2014. 95f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais. 2014.

ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – uma breve revisão. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, n. 1, p. 1-9, 2006.

ANWAR, S. H.; KUNZ, B. The influence of dryer methods on the stabilization of fish oil microcapsules: Comparison of spray granulation, spray dryer, and freeze dryer. **Journal of Food Engineering**, v. 105, n. 2, p. 367-378, 2011.

AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 16. ed. Arlington: AOAC, p. 1058-1059, 1995.

APHA - AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. 4. ed. Washington: APHA, 2001. 676 p.

ASSIS, L. M.; ZAVAREZE, E. R.; PRENTICE-HERNÁNDEZ, C.; SOUZA- SOARES, L. A. Características de nanopartículas e potenciais aplicações em alimentos. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 15, n. 2, p. 99-109, 2012.

AZEVEDO, R. C. P.; RIBEIRO, G. P.; ARAÚJO, M. B. Desenvolvimento e validação do ensaio de dissolução para captopril em cápsulas magistrais por CLAE. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 2, p. 261-269, 2008.

BALENTINE, D. A; WISEMAN, S. A; BOUWENS, L. C. M. The chemistry of tea flavonoids. **Critical Reviews in Food Science & Nutrition**, v. 37, n. 8, p. 693-704, 1997.

BARBOSA, M. I. M. J.; BORSARELLI, C. D.; MERCADANTE, A. Z. Light stability of spraydried bixin encapsulated with different edible polysaccharide preparations. **Food Research International**, v.38, n. 8, p.989–994, 2005.

BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 1, p. 113-123, 2006.

BAZZO, G. C.; SEGATTO SILVA, G. C. Estudo termoanalítico de comprimidos revestidos contendo captopril através de termogravimetria (TG) e calorimetria exploratória diferencial (DSC). **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 41, n. 3, p. 315-322, 2005.

BENZIE, I. F.; STRAIN, J. J. Ferric reducing/antioxidant power assay: direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. **Methods in Enzymology**, v. 299, p. 15-27, 1999.

BERTERRECHE, J. Prebióticos e probióticos em produtos lácteos. **2º Simpósio de Tecnologia de Produtos Lácteos – Germinal**, 2002.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensm-Wiss Technology**, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.

BRASIL. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Decreto nº 2314 de 4 de setembro de 1997. Regulamento Técnico que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, 5 de setembro de 1997.

BRASIL. **Ministério Da Saúde**. Resolução RDC nº 12 de 12 de Janeiro de 2001. Brasília: ANVISA.

BRASIL. **Ministério da Agricultura e do Abastecimento**. Instrução Normativa n. 12, de 04 de setembro de 2003. Regulamento técnico para fixação dos padrões de identidade e qualidade gerais para suco tropical de abacaxi, acerola, cajá, caju, goiaba, graviola, mamão, manga, mangaba, maracujá e pitanga; e os padrões de identidade e qualidade dos néctares de abacaxi, acerola, cajá, caju, goiaba, graviola, mamão, manga, maracujá, pêssego e pitanga. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, 09 de setembro de 2003. Seção 1, p. 2.

BRAVO L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutrition significance. **Revista de Nutrição**, v. 56, n. 11, p. 317-333, 1998.

CAI, Y.; LUO, Q.; SUN, M.; CORKE, H. Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. **Life Sciences**, v. 74, n. 17, p. 2157-2184, 2004.

CALEFFI, T. S. L. **Microencapsulação de polpa de amora preta por coacervação e spray dryer**. 2014. 107f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 2014.

CAMARGO, L. E. A. **Avaliação das atividades antioxidante e antifúngica da *Camellia sinensis* (L.) Kuntze obtida por diferentes formas de produção**. 2011. 83 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Concentração de Ciências da Saúde, Universidade Estadual do Centro Oeste. Guarapuava, 2011.

CANEVAROLO, J. R.; SEBASTIÃO, V. Técnicas de caracterização de polímeros. **Artliber**, São Paulo, v. 430, p. 263-285, 2004.

CANO-CHAUCA, M.; STRINGHETA, P. C.; RAMOS, A. M.; CAL-VIDAL, J. Effect of the carriers on the microstructure of mango powder obtained by spray dryer and its functional characterization. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**. v. 6, p. 428-429, 2005.

CAVALCANTI, M. E. R. M.; DUARTE, M. E. M.; ZANINI, H. L. H. T. Calor específico e densidade da polpa de cajá (*Spondias lutea* L.) com diferentes concentrações de sólidos solúveis sob baixas temperaturas. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v. 25, n. 2, p. 488-498, 2005.

CERQUEIRA, F. M.; DE MEDEIROS, M. H. Gennari; AUGUSTO, Ohara. Antioxidantes dietéticos: controvérsias e perspectivas. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 441-449, 2007.

CHAMPAGNE, C. P.; FUSTIER, P. Microencapsulation for the improved delivery of bioactive compounds into foods. **Current opinion in biotechnology**, v. 18, n. 2, p. 184-90, 2007.

CHEN, L.; LEE, M.; LI, H.; YANG, C.S. Absorption, Distribution, and Elimination of Tea Polyphenols in Rats. **The American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics**. v. 25, n. 9, p. 1045-1050, 1997.

CHEUCZUK, F.; ROCHA, L., A. **Propriedades antioxidantes de bebida láctea fermentada prebiótica incorporada de polpa de cajá-manga**. 2014. 43 f. Monografia (Tecnologia em Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR. Paraná, 2014.

CLARK, J. P. Food Encapsulation: Capturing One Substance by Another Processing. **Food technology**, v. 56, n. 11, p. 63-65, 2002.

COSTA, J. M. G. **Eficiência de diferentes encapsulantes e condições operacionais de secagem por atomização na produção e aplicação de micropartículas de bioaroma de queijo suíço**. 2013. 151 f. Tese (Doutorado em Ciências de Alimentos), Universidade Federal de Lavras, Lavras. 2013.

CUNHA, P. L. R.; MACIEL, J. S.; SIERAKOWSKI, M. R.; DE PAULA, R. C. M.; FEITOSA, J. P. A. Oxidation of cashew tree gum exudate polysaccharide with TEMPO reagent. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 18, n. 1, p. 85-92, 2007.

CUNHA, P. L. R.; FEITOSA, J. P. A.; PAULA, R. C. M. Polissacarídeos da biodiversidade brasileira: Uma oportunidade de transformar conhecimento em valor econômico. **Química nova**, v.32, n.3, p. 649-660, 2009.

DAL'BELO, S. E. **Avaliação da eficácia fotoprotetora, penetração cutânea e segurança de formulações cosméticas contendo extratos de chá verde e *Ginkgo biloba***. 2008. 192 f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2008.

DAMIANI, C.; SILVA, F. A.; AMORIM, C. C. M.; SILVA, S. T. P.; BASTOS, I. M.; ASQUIERI, E. R.; VERA, R. Néctar misto de cajá-manga com hortelã: caracterização química, microbiológica e sensorial. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 13, n. 3, p. 299-307, 2011.

DA SILVA, R. A.; DE OLIVEIRA, A. B.; FELIPE, É. M. D. F.; NERES, F. P. D. T. J.; MAIA, G. A.; DA COSTA, J. M. C. Avaliação físico-química e sensorial de néctares de manga de diferentes marcas comercializadas em Fortaleza/CE. **Publicatio UEPG-Ciências Exatas e da Terra, Agrárias e Engenharias**, v. 11, n. 03, 2009a.

DA SILVA, P. C.; DE ABREU, S. A. M.; DE FARIAS, J. M.; MAIA, G. A.; DE FIGUEIREDO, R. W.; DE SOUSA, P. H. M. Desenvolvimento de bebida mista à base de água de coco, polpa de abacaxi e acerola. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, v. 59, n. 4, p. 441-447, 2009b.

DE CASTRO, D. S.; NUNES, J. S.; DA SILVA, F. B.; DE OLIVEIRA, T. K. B.; DE MELO SILVA, L. M. Desenvolvimento e avaliação físico-química de néctar misto de abacaxi (*Ananas comosus*) e Seriguela (*Spondias purpurea*). **Revista Verde de Agroecologia e desenvolvimento Sustentável**, v. 9, n. 1, p. 06-09, 2014.

DELGADO, J. M. F. **Preparação e caracterização de nanotransportadores (nanocápsulas, nanoesferas, lipossomas e transportadores lipídicos nanoestruturados) sem substância ativa.** 2013. 117 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Biomédica) - Instituto Politécnico de Bragança, Goiás, 2013.

DE MOURA, C.; NOGUEIRA, B.A.; DA SILVA, R.C.O.; GUZ, R.; OLDONI, T. L. C. Determinação de cafeína em chá preto (*Camellia sinensis*) por cromatografia líquida de alta eficiência. **Synergismus scyentifica UTFPR**, Pato Branco, v. 10, n. 1, p. 1-6, 2015.

DE PAULA, R; HEATLEY, F; BUDD, P. M. Characterization of Anacardiumoccidentale exudate polysaccharide. **Polymer International**, v. 45, n. 1, p. 27-35, 1998.

DE SOUZA, M. D. S. M.; LIMA, J. R.; NASSU, R. T.; MOURA, C. F. H.; BORGES, M. D. F. Formulações de néctares de frutas nativas das regiões Norte e Nordeste do Brasil. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 18, n. 2, 2000.

DE VOS, P.; FAAS, M. M.; SPASOJEVIC, M; SIKKEMA, J. Encapsulation for preservation of functionality and targeted delivery of bioactive food components. **International Dairy Journal**, v. 20, n. 4, p. 292-302, 2010.

DEL RIO, D.; STALMACH, A.; CALANI, L.; CROZIER, A. Bioavailability of coffee chlorogenic acids and green tea flavan-3-ols. **Nutrients**, v. 2, n. 8, p. 820-833, 2010.

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

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

DRUSCH, S.; MANNINO, S. Patent-based review on industrial approaches for the microencapsulation of oils rich in polyunsaturated fatty acids. **Trends in Food Science & Technology**, v. 20, n. 6-7, p. 237-244, 2009.

DUARTE, M. R.; MENARIM, D. O. Morfodiagnose da anatomia foliar e caulinar de *Camellia sinensis* (L.) Kuntze, Theaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, n. 4, p. 545-551, 2006.

DULLOO A. G.; DURET C.; ROHER D.; GIRARDIER L.; MENSIN.; FATHI M.; CHANTRE P.; Vandremander J. Efficacy of a green tea extract rich in polyphenols and caffeine in increasing 24-h energy expenditure and fat oxidation in humans. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 70, n. 6, p. 1040-1045, 1999.

DULLOO A. G.; SEYDOUX J.; GIRARDIER L.; CHANTRE P.; VANDREMANDER J. Green tea and thermogenesis: interactions between catechinpolyphenols, caffeine and sympathetic activity. **International Journal Obesity and Related Metabolic Disorders**, v. 24, n. 2, p. 252-258, 2000.

EL-SHAHAWI, M. S.; HAMZA, A.; BAHAFFI, S. O.; AL-SIBAALI, A. A.; ABDULJABBAR, T. N. Analysis of some selected catechins and caffeine in green tea by high performance liquid chromatography. **Food chemistry**, v. 134, n. 4, p. 2268-2275, 2012.

ESPINOSA-ANDREWS, H.; SANDOVAL-CASTILLA, O.; VÁZQUEZ-TORRES, H.; VERNON-CARTER, E. J.; LOBATO-CALLEROS, C. Determination of the gum Arabic–chitosan interactions by Fourier Transform Infrared Spectroscopy and characterization of the microstructure and rheological features of their coacervates. **Carbohydrate Polymers**, v. 79, n. 3, p. 541-546, 2010.

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

FARIA, F.; SANTOS, R. D. S.; VIANNA, L. M. Consumo de *Camellia sinensis* em população de origem oriental e incidência de doenças crônicas. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 19, n. 2, p. 275-279, 2006.

FATHI, M.; MOZAFARI, M. R.; MOHEBBI, M. Nanoencapsulation of food ingredients using lipid based delivery systems. **Trends in Food Science & Technology**, v. 23, n. 1, p. 13-27, 2012.

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do SISVAR para Windows versão 4.0. In: Reunião anual da região brasileira da sociedade internacional de biometria, São Carlos, SP. **Anais...** São Carlos: UFSCar. p. 255-258, 2000.

FERREIRA, C. L. L. F. Tecnologia para produtos lácteos funcionais: probióticos. In: **PORTUGAL, J.A.B.; CASTRO, M. C. D.; SILVA, P. H. F. O Agronegócio do Leite e os Alimentos Lácteos Funcionais**. Juiz de Fora: EPAMIG – Centro Tecnológico – ILCT, 2001. p. 183-203, 2001.

FERREIRA, A. C. Breve história e perspectivas para a indústria de laticínios no Brasil. **2º Simpósio de Tecnologia de Produtos Lácteos – Germinal**, 2002.

FRANCIS, F. J. Analysis of anthocyanins. In: MARKAKIS, P. (ed.). *Anthocyanins as food colors*. New York: **Academic Press**, p. 181-207, 1982.

FRASCARELI, E. C.; SILVA, V.M.; TONON, R.V.; HUBINGER, M.D. Determination of critical storage conditions of coffee oil microcapsules by coupling water sorption isotherms and glass transition temperature. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 47, n. 5, p. 1044-1054, 2012.

FRESNO, A. M. V. *Farmacognosia General*. Madrid: **Editorial Sintesis**, S. A., Cap. 13, p. 191-208. 1999.

GHARSALLAOUI, A.; ROUDAUT, G.; CHAMBIN, O.; VOILLEY, A.; SAUREL, R. Applications of spray-dryer in microencapsulation of food ingredients: An overview. **Food Research International**, Amsterdam, v. 40, n. 9, p. 1107-1121, 2007.

GOMES, G. V. L. **Produção e caracterização microestrutural de sistemas lípidicos sólidos micro e nanoparticulados utilizados na encapsulação de beta-caroteno.** 2011. 121 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2011.

GOUIN, S. Microencapsulation. **Trends in Food Science & Technology**, v. 15, n. 7-8, p. 330-347, 2004.

GUITIERREZ, L. E. Aula "**Biociencia de alimentos e bebidas**" da disciplina de **Biociencia de Alimentos e Bebidas.** 2007. Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz da Universidade de São Paulo. Disponível em: <http://www.esalq.usp.br/lan/biotec3/biotec3.htm>. Acesso em 23 de agosto de 2015.

HAGERMAN, A. E.; RIEDL, K. M.; JONES, G. A.; SOVIK, K. N.; RITCHARD, N. T.; HARTZFELD, P. W.; RIECHEL, T. L. High molecular weight plant polyphenolics (tannins) as biological antioxidants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, n. 5, p. 1887-1892, 1998.

HARBORNE J. B.; BAXTER H.; MOSS G. P. **Phytochemical dictionary: handbook of bioactive compounds from plants.** 2nd ed. London: **Taylor & Francis**, 1999, 791p.

HARBORNE, J. B.; WILLIAMS, C. A. Advances in flavonoid research since 1992. **Phytochemistry**, v. 55, n. 6, p. 481-504, 2000.

HASLAN, E. Natural polyphenols as drugs: possible modes of action. **Journal of Natural Products, Cincinnati**, v. 59, n. 2, p. 205-215, 1996.

HAYOUNI, E.; ABEDRABBA, M.; BOUIX, M.; HAMADI, M. The effects of solvents and extraction methods on the phenolic contents and biological activities in vitro of *Tunisian Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. **Food Chemistry**, Barking, v. 105, n. 3, p. 1126–1134, 2007.

HEINZELMANN, K.; FRANKE, K. Using freezing and dryer techniques of emulsions for the microencapsulation of fish oil to improve oxidation stability. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 12, n. 3, p. 223-229, 1999.

HERNÁNDEZ FIGUEROA, T. T.; RODRÍGUEZ-RODRÍGUEZ, E.; SÁNCHEZ-MUNIZ F. J.; The green tea, a good choice for cardiovascular disease prevention? **Archivos latinoamericanos de nutrición**, v. 54, n. 4, p. 380-394, 2004.

HEYANG, J.; FEI, X.; CUILAN, J.; YAPING, Z.; LIN, H. Nanoencapsulation of lutein with hydroxypropylmethyl cellulose phthalate by supercritical antisolvent. **Chemical Engineering Journal**, v. 17, n. 4, p. 672-677, 2009.

HICHRI, I.; BARRIEU, F.; BOGS, J.; KAPPEL, C.; DELROT, S.; LAUVERGEAT, V. Recent advances in the transcriptional regulation of the flavonoid biosynthetic pathway. **Journal of Experimental Botany**, v. 62, n. 8, p. 2465–2483, 2011.

HIGUITA, D. M. C. **Microencapsulação de oleoresina de cúrcuma (*Curcuma longa*.) em misturas de goma arábica, maltodextrina e amido modificado.** 2013. 87 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) - Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, 2013.

HOFFMANN, F. L. Fatores limitantes à proliferação de micro-organismos em alimentos. **Brasil Alimentos**, São Paulo, v. 9, n. 1, p.23-30, 2001.

HSU, S.; DICKINSON, H. Q.; LAPP, C. Inhibition of Autoantigen Expression by (-)-Epigallocatechin-3-gallate (the Major Constituent of Green Tea) in Normal Human Cells. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics Fast Forward**, v. 315, n. 2, p. 805-811, 2005.

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

Instituto Brasileiro de Frutas – IBRAF (2012). **Panorama da cadeia produtiva das frutas em 2012 e projeções para 2013.** p. 2; 23, 2012.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE (2012) **Levantamento sistemático da produção agrícola.** Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/estatistica/indicadores/agropecuaria/Ispa/Ispa_201208.pdf>. Acesso em 15 de julho de 2015.

Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO); **Orientações sobre Validação de Métodos de Ensaios Químicos**, DOQ-CGCRE-008, 2003.

International Conference on Harmonisation (ICH); **Validation of Analytical Procedures: Methodology**, Q2B (CPMP/ICH/281/95), 1995.

International Conference on Harmonisation (ICH); **Validation of Analytical Procedures: Methodology**, Q2B, 1997.

JACQUES, A. C.; CHIM, J. F.; GANDRA, E. A.; ZAMBIAZI, R. C.; ALICIEO, T. V. R.; RICHTER, H.; RODRIGUES, R. S. Conteúdo de (-)catequina em chás comerciais (*Camellia sinensis*): preto e verde. In: **XIX CIC - XII ENPOS - II Mostra Científica**, 2010, Pelotas-RS.

JAFARI, S. M.; ASSADPOOR, E.; BHANDARI, B. Encapsulation Efficiency of Food Flavours and Oils during Spray Dryer. **Dryer Technology**, Nova Iorque, v. 26, n. 7, p. 816–835, 2008.

JUNIOR, W. T. **Efeito das modificações no processo de encapsulação de óleo de alho por spray dryer.** 2012. 81f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Processos) - Universidade da Região de Joinville. Joinville, 2012.

KAČURÁKOVÁ, M.; WILSON, R. H.; SMITH, A. C.; SAUNDERS, P. K.; WELLNER, N.; WALDRON, K. W. The mechanical properties and molecular dynamics of plant cell wall

polysaccharides studied by Fourier-transform infrared spectroscopy. **Plant Physiology**, v. 124, n. 1, p. 397-406, 2000.

KASSIM, A. L. O.; FERNANDES, C.; RODRIGUES, K. Efeitos da suplementação de chá verde em indivíduos praticantes de atividade física. **Revista Brasileira de Nutrição Esportiva**, São Paulo, v. 3, n. 17, p. 442-467, 2009.

KHAN, N.; MUKHTAR, H. Tea polyphenols for health promotion. **Life sciences**, v. 81, n. 7, p. 519-533, 2007.

KU, K. M.; CHOI, J. N.; KIM, J.; KIM, J. K.; YOO, L. G.; LEE, S. J.; HONG, Y.; LEE, C. H. Metabolomics analysis reveals the compositional differences of shade grown tea (*Camellia sinensis* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 1, p. 418-426, 2009.

KUMUDAVALLY, K. V.; PHANINDRAKUMAR, H. S.; TABASSUM, A.; RADHAKRISHNA, K.; BAWA, A. S. Green tea - a potential preservative for extending the shelf life of fresh mutton at ambient temperature (25 ± 2 °C). **Food Chemistry**, v. 107, n. 1, p. 426-433, 2008.

LAMARÃO, R. C.; FIALHO, E. Functional Aspects of Green Tea Catechins in The Cellular Metabolism and their relationship with body fat reduction. **Revista de Nutrição**, v. 22, n. 2, p. 257-269, 2009.

LARRAURI, J. A.; RUPÉREZ, P.; SAURA-CALIXTO, F. Effect of dryer temperature on the stability of polyphenols and antioxidant activity of red grape pomace peels. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, n. 4, p. 1390-1393, 1997.

LEE, M.; MALIAKAL, P.; CHEN, L.; MENG, X.; BONDOC, F. Y.; PRABHU, S.; LAMBERT, G.; MOHR, S.; YANG, CHUNG. S. Pharmacokinetics of Tea Catechins after Ingestion of Green Tea and (-)-Epigallocatechin-3-gallate by Humans: **Formation of Different Metabolites and Individual Variability**, v. 11, n. 10, p. 1025-1032, 2002.

LIMA, E. D. P. A.; LIMA, C. A. A.; ALDRIGUE, M. L.; GONDIM, P. J. S. Caracterização física e físico-química dos frutos da umbu-cajazeira (*Spondias* spp) em cinco estádios de maturação, da polpa congelada e néctar. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal-SP, v. 24, n. 2, p. 338-343, 2002.

LIMA, J.D.; MAZZAFERA, P.; MORAES, W.S.; SILVA, R.B.; Chá: aspectos relacionados à qualidade e perspectivas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 4, p. 1270-1278, 2009.

LU, X.; WANG, J.; AL-QADIRI, H. M.; ROSS, C. F.; POWERS, J. R.; TANG, J.; RASCO, B. A. Determination of total phenolic content and antioxidant capacity of onion (*Allium cepa*) and shallot (*Allium oschaninii*) using infrared spectroscopy. **Food Chemistry**, v. 129, n. 2, p. 637-644, 2011.

LUO, K. W.; KO, C. H.; YUE, G. G. L.; LEE, J. K. M.; LI, K. K.; LEE, M.; BIK-SAN LAU, C. Green tea (*Camellia sinensis*) extract inhibits both the metastasis and osteolytic components of mammary cancer 4T1 lesions in mice. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 25, n. 4, p. 395-403, 2014.

MACFIE, H. J.; BRATCHELL, N.; GREENHOFF, K.; VALLIS, L. V. Designs to balance the effect of order of presentation and first-order carry-over effects in hall tests. **Journal of sensory studies**, v. 4, n. 2, p. 129-148, 1989.

MACHADO, H.; NAGEM, T. J.; PETERS, V. M.; FONSECA, C. S.; OLIVEIRA, T. T. Flavonoides e seu potencial terapêutico. **Boletim do Centro de Biologia Reprodução**, Juiz de Fora, v. 27, n. 1-2, p. 33-39, 2008.

MAJEWSKI, M. **Avaliação antifúngica e citotoxicidade do ácido peracético e extrato de Camellia sinensis (chá verde) em Candida spp.** 2011. 73 f. Tese (Doutorado em Biopatologia Bucal) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), São José dos Campos, 2011.

MANIAN, R.; ANUSUYA, N.; SIDDHURAJU, P.; MANIAN, S. The antioxidant activity and free radical scavenging potential of two different solvent extracts of Camellia sinensis (L.) O. Kuntz, Ficus bengalensis L. and Ficus racemosa L. **Food Chemistry**, v. 107, n. 3, p. 1000-1007, 2008.

MARQUES, M. R.; ALBUQUERQUE, L. M. B.; XAVIER-FILHO, J. Antimicrobial and insecticidal activities of cashew tree gum exudate. **Annals of Applied Biology**, v. 121, n. 2, p. 371-377, 1992.

MARTINOTTO, C.; PAIVA, R.; SANTOS, B. R.; SOARES, F. P.; NOGUEIRA, R. C.; SILVA, A. A. N. Efeito da escarificação e luminosidade na germinação in vitro de sementes de cagaiteira (*Eugenia dysenterica* DC.). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, n. 6, p. 1668-1671, 2007.

MARTÍNEZ-FLÓREZ, S.; GONZÁLEZ-GALLEGO, J.; CULEBRAS, J. M. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. **Nutición Hospitalaria**, León, v. 17, n. 6, p. 271-278, 2002.

MATSUBARA, S.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Teores de catequinas e teaflavinas em chás comercializados no Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 2, p. 401-407, 2006.

MATTIETTO, R. D. A.; LOPES, A. S.; DE MENEZES, H. C. Estabilidade do néctar misto de cajá e umbu. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 3, p. 456-463, 2007.

MATTIETTO, D. A.; MATTA, V. M.; YAHIA, E. M. **Postharvest Biology and Technology of Tropical and Subtropical Fruits**. Volume 1: Fundamental issues, 2011. 485p.

MCPHERSON, A. E.; SEIB, P. A. Preparation and Properties of Wheat and Corn Starch Maltodextrins with a Low Dextrose Equivalent 1. **Cereal chemistry**, v. 74, n. 4, p. 424-430, 1997.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. **Sensory Evaluation Techniques**. 2. ed. Florida: CRC Press, 1991. 354 p.

MENDES, L. G. **Microencapsulação do corante natural de urucum: uma análise da eficiência da goma do cajueiro como material de parede.** 2012. 130 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2012.

MILLER, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analitical Chemistry**, v. 31, n. 3, p. 426-428, 1959.

MISHRA, P. R.; AL SHAAL, L.; MÜLLER, R. H.; KECK, C. M.. Production and characterization of Hesperetin nanosuspensions for dermal delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 371, n. 1, p. 182-189, 2009.

MOON, Y. J.; WANG, X.; MORRIS, M. E. Dietary flavonoids: effects on xenobiotic and carcinogen metabolism. **Toxicology in Vitro**, v. 20, n. 2, p.187-210, 2006.

MOURA, C. F. H. **Qualidade de pedúnculos de clones de cajueiro anão-precoce (Anacardium occidentale L. var nanum) irrigados.** 1998. 96 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/ Fitotecnia) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 1998.

MORAIS-DE-SOUZA, R. A.; OLDONI, T. L. C.; CABRAL, I. S. R.; DE ALENCAR, S. M. Compostos fenólicos totais e atividade antioxidante de chás comercializados no Brasil. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 29, n. 2, p. 229-236, 2011.

MORAES, F. P.; COLLA, L. M. Alimentos funcionais e nutracêuticos: definições, legislação e benefícios a saúde. **Revista Eletrônica de Farmácia**, Goiânia, v. 2, n. 2, p. 109-122, 2007.

MORZELLE, M. C.; SOUZA, E.; ASSUMPÇÃO, C. F.; BOAS, B. M. V. Desenvolvimento e avaliação sensorial de néctar misto de maracujá (*Passiflora edulis* Sims) e araticum (*Annona crassiflora*). **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande–PB, v. 13, n. 2, p. 131-135, 2011.

MORZELLE, M. C. **Resíduos de romã (Punica granatum) na prevenção da doença de Alzheimer.** 2012. 72 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade de São Paulo. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, São Paulo, 2012.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of Immunological Methods**, v. 65, n. 1, p. 55–63, 1983.

MOURA NETO, E. **Desenvolvimento de Novos Materiais à base de Goma do Cajueiro (Anacardium occidentale): Derivados e Microesferas com Gelatina.** 2008. 92 f. Dissertação (Mestrado em Química Orgânica) - Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências - Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, Fortaleza, 2008.

MÜLLER, P. S. **Microencapsulação de óleo essencial de laranja.** 2011. 98 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2011.

MURASE, T.; HARAMIZU, S.; SHIMOTOYDOME, A.; TOKIMITSU, I.; HASE, T. Green tea extract improves running endurance in mice by stimulating lipid utilization during exercise **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 290, n. 6, p. 1550-1556, 2006.

MUTHUMANI, T.; KUMAR, R.S.S. Influence of fermentation time on the development of compounds responsible for quality in black tea. **Food Chemistry**, v. 101, n. 1, p. 98-102, 2007.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of Chromatography A**, v. 10, n. 54, p. 95-111, 2004.

NALDI, M.; FIORI, J.; GOTTI, R.; PÉRIAT, A.; VEUTHEY, J. L.; GUILLARME, D.; ANDRISANO, V. UHPLC determination of catechins for the quality control of green tea. **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**, v. 88, p. 307-314, 2014.

NASS, L. L. Recursos genéticos vegetais. Brasília: **Embrapa Recursos Genéticos Vegetais e Biotecnologia**, 2007, 858p.

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

NISHIYAMA, M. F.; COSTA, M. A. F.; COSTA, A. M. D.; SOUZA, C. G. M. D.; BÔER, C. G.; BRACHT, C. K.; PERALTA, R. M. Chá verde brasileiro (*Camellia sinensis* var *assamica*): efeitos do tempo de infusão, acondicionamento da erva e forma de preparo sobre a eficiência de extração dos bioativos e sobre a estabilidade da bebida. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 30, n. 1, p. 191-196, 2010.

NOVAK, I.; ŠERUGA, M.; KOMORSKY-LOVRIĆ, Š. Characterisation of catechins in green and black teas using square-wave voltammetry and RP-HPLC-ECD. **Food Chemistry**, v. 122, n. 4, p. 1283-1289, 2010.

OLIVEIRA, M. A. **Avaliação da influência de adjuvantes de secagem sobre as propriedades de suco de caju atomizado**. 2008. 63 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2008.

OLIVEIRA, R. M. M. D. Quantification of catechins and caffeine from green tea (*Camellia sinensis*) infusions, extract, and ready-to-drink beverages. **Food Science and Technology (Campinas)**, v. 32, n. 1, p. 163-166, 2012.

ÓBON, J. M.; CASTELLAR, M. R.; ALACID, M.; FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J. A. Production of red-purple food colorant from *Opuntia stricta* fruits by spray dryer and its application in food model system. **Journal of Food Engineering**, v. 90, n. 4, p. 471-479, 2009.

PAULA, R. C. M.; HEATLEY, F.; BUDD, P. M. Characterization of *Anacardium occidentale* exudate polysaccharide. **Polymer International**, v. 45, n. 1, p. 27-33, 1998.

PAULA, H. C. B.; GOMES, F.J.S.; PAULA, R.C.M. Swelling studies of chitosan/cashew gum physical gels. **Carbohydrate Polymers**, v. 48, n. 3, p. 313-318, 2002.

PAULA, H. C. B.; RODRIGUES, M. L.L.; RIBEIRO, W. L. C.; STODLER, A. S.; PAULA, R. C. M.; ABREU, F. O. M. S. Protective effect of cashew gum nanoparticles on natural larvicide Moringa oleífera seeds. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 124, n. 3, p. 1778-1784, 2012.

PELILLO, M.; BIGUZZI, B.; BENDINI, A.; TOSCHI, T. G.; VANZINI, M.; LERCKER, G. Preliminary investigation into development of HPLC with UV and MS-electrospray detection for the analysis of tea catechins. **Food Chemistry**, v. 78, n. 3, p. 369-374, 2002.

PERYAM, DAVID R.; PILGRIM, FRANCIS J. Hedonic scale method of measuring food preferences. **Food technology**, 1957.

PETRONI, K.; TONELLI, C. Recent advances on the regulation of anthocyanin synthesis in reproductive organs. **Plant Science**, v. 181, n. 3, p. 219-229, 2011.

RABABAH, T.M.; BANAT, F.; RABABAH, A.; EREIFEJ, K.; YANG, W. Optimization of Extraction Conditions of Total Phenolics, Antioxidant Activities, and Anthocyanin of Oregano, Thyme, Terebinth, and Pomegranate. **Journal of Food Science**, Malden, v. 75, n. 7, p. 626-632, 2010.

RAHIM, A. A.; NOFRIZAL, S.; SAAD, B. Rapid tea catechins and caffeine determination by HPLC using microwave-assisted extraction and silica monolithic column. **Food Chemistry**, v. 147, p. 262-268, 2014.

RANG, H. P.; DALE, M. M. **Farmacologia**. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, Cap. 42, 1996, 691p.

REBELLO, F. D. F. Microencapsulação de ingredientes alimentícios. **Revista Agrogeoambiental**, v. 1, n. 3, p. 134-144, 2009.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F.; MELO, L. F. C. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, v. 27, p. 771-780, 2004.

RIBEIRO, E. P.; SERAVALLI, E. A. G. **Química de Alimentos**. São Paulo: E. Blücher, 2004. 157 p.

RICE-EVANS, C.; MILLER, N.; PAGANGA, G. Antioxidant properties of phenolic compounds. **Trends in Plant Science**, v. 2, n. 4, p. 304-309, 1997.

ROBERT, P.; GORENA, T.; ROMERO, N.; SEPULVEDA, E.; CHAVEZ, J.; SAENZ, C. Encapsulation of polyphenols and anthocyanins from pomegranate (*Punica granatum*) by spray dryer. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 45, n. 7, p. 1386-1394, 2010.

- ROSA, E. D.; TSUKADA, M.; FREITAS, L. A. P. **Secagem por atomização na indústria alimentícia: Fundamentos e Aplicações**. 2010. Disponível: [http://www.fcf.usp.br/Ensino/Graduacao/Disciplinas/Exclusivo/Inserir/Anexos/LinkAnexos/s/ecag %20de %20materiais.pdf](http://www.fcf.usp.br/Ensino/Graduacao/Disciplinas/Exclusivo/Inserir/Anexos/LinkAnexos/s/ecag%20de%20materiais.pdf). Acesso em: 13 de maio de 2014.
- RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; PÉREZJIMÉNEZ J.; SAURA-CALIXTO, F.; MANCINIFILHO, J. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, Kidlington, v. 121, n. 4, p. 996- 1002, 2010.
- SAITO, S. T. **Estudo químico e avaliação da atividade antioxidante de chá verde brasileiro (Camellia sinensis var. assamica) Cultivar IAC-259**. 2007. 108 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007.
- SANTOS, C. M. D. **Atividade antioxidante dos frutos de quatro cultivares de pessegueiro de região subtropical**. 2011. 66 f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) - Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, 2011.
- SANTOS, M. G. D. **Desenvolvimento e caracterização de microcápsulas de xilitol e mentol por coacervação complexa e sua aplicação em gomas de mascar**. 2014. 210 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.
- SARUBBO, L. A.; CAMPOS-TAKAKI, G. M.; PORTO, A. L. F.; TAMBOURGI, E. B.; OLIVEIRA, L. A. A goma do cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) como sistema inovador de extração líquido-líquido. **Exacta**, São Paulo, v. 5, n. 1, p. 145-154, 2007.
- SCALBERT, A.; WILLIAMSON, G. Dietary Intake and Bioavailability of Polyphenols. **American Society for Nutritional Sciences**, v. 130, n. 8, p. 2073- 2085, 2000.
- SENGER, A. E. V.; SCHWANKE, C. H.; GOTTLIEB, M.G.V. Chá verde (*Camellia sinensis*) e suas propriedades funcionais nas doenças crônicas não transmissíveis. **Scientia Medica**, v. 20, n. 4, p. 292-300, 2010.
- SHAHIDI, F; NACZK, M. Food phenolics: sources, chemistry, effects and applications. Lancaster: **Technomic Publishing**, p. 281-391, 1995.
- SHAO, W.; POWELL, C.; CLIFFORD, M.N. The analysis by HPLC of green, black and pu'er teas produced in Yunnan. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 69, n. 4, p. 535-540, 1995.
- SHIMOTOYODOME, A.; HARAMIZU, S.; INABA, M.; MURASE, T.; TOKIMITSU, I. Exercise and green tea extract stimulate fat oxidation and prevent obesity in mice. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 37, n. 11, p. 1884-1892, 2005.
- SHU, B.; YU, W.; ZHAO, Y.; LIU, X. Study on microencapsulation of lycopene by spray-dryer. **Journal of Food Engineering**, v. 76, n. 4, p. 664-669, 2006.

SILBERBERG, M.; MORAND, C.; MATHEVON, T.; BESSON, C.; MANACH, C.; SCALBERT, A.; REMESY, C. The bioavailability of polyphenols is highly governed by capacity of the intestine and of the liver to secrete conjugated metabolites. **European Journal of Nutrition**, Heidelberg, v. 45, n. 2, p. 88-96, 2006.

SILVA, M. L. C.; COSTA, R. S.; DOS SANTOS SANTANA, A.; & KOBLITZ, M. G. B. Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 3, p. 669-682, 2010a.

SILVA, T. M.; SANTIAGO, P. O.; PURCENA, L. L. A.; FERNANDES, K. F. Study of the cashew gum polysaccharide for the horseradish peroxidase immobilization—Structural characteristics, stability and recovery. **Materials Science and Engineering C**, v. 30, n. 4, p. 526–530, 2010b.

SISTI, T.; ZANIN, G.; MORAES, F.; GOMES, R.; BERGAMASCO, R. Efeito da adição de β -ciclodextrina no preparo e armazenamento da bebida de chá verde. **Blucher Chemical Engineering Proceedings**, v. 1, n. 2, p. 4435-4442, 2015.

SOARES, L. C.; OLIVEIRA, G. S. F.; MAIA, G. A.; MONTEIRO, J. C. S.; JUNIOR, A. S. Obtenção de bebida a partir de suco de caju (*anacardium occidentale*, l.) e extrato de guaraná (*paullinia cupana sorbilis* mart. ducke). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 23, n. 2, p. 387-390, 2001.

SOUZA, D. **Estudo das propriedades físicas de polpas e néctares de pequenos frutos**. 2008. 191 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.

STONE, H.; SIDEL, J.L. **Sensory evaluation practices**. New York: Academic Press, 2ed., 1993. 338p.

MEILGAARD, M. C.; CARR, B. T.; CIVILLE, G. V. **Sensory evaluation techniques**. CRC Press, 4ed, 2006. 442p.

STORZ E.; STEFFENS, K. Feasibility Study for Determination of the Dextrose Equivalent (DE) of Starch Hydrolysis Products with Near-Infrared Spectroscopy (NIRS). **Starch-Stärke**, v. 56, n. 2, p. 58-62, 2004.

SURYANARAYANA, C.; RAO, K.; KUMAR, D.; Preparation and characterization of microcapsules containing linseed oil and its use in self-healing coating. **Progress in Organic Coatings**, Lausanne, v. 63, n. 1, p.72-78, 2008.

TAMIME, A. Y. Culturas “starters” lácticas e probióticas. **Leites fermentados e bebidas lácticas: tecnologia e mercado**, ITAL, Campinas, p. 211-222, 1997.

TALCOTT, S. T.; PECIVAL, S. S.; PITTET – MOORE, J.; CEORIA, C. Phytochemical composition and antioxidant stability of fortified yellow passion fruit (*Passiflora edulis*). **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 4, p. 935-941, 2003.

TAYZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004, 719p.

TEIXEIRA, M. I.; ANDRADE, L. R.; FARINA, M.; ROCHA -LEÃO, M. H. M. Characterization of short chain fatty acid microcapsules produced by spray dryer. **Materials Science and Engineering: C**, v. 24, n. 5, p. 653-658, 2004.

TOLEDO, K. **Caféina: remédio ou veneno?** 2015. Agência FAPESP. Disponível em: http://agencia.fapesp.br/cafeina_remedio_ou_veneno/21533/ Acesso em 31 de Julho de 2015.

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

TOSONI, S. F.; RODRIGUES, V. C. **Características físico-químicas e antioxidantes de própolis microencapsulada com diferentes tipos de materiais encapsulantes**. 2013. 33 f. Monografia (Tecnólogo em Alimentos), Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, 2013.

TORQUATO, D. S.; FERREIRA, M. L.; SÁ, G. C.; BRITO, E. S.; PINTO, G. A. S.; AZEVEDO, E. H. F. Evaluation of antimicrobial activity of cashew tree gum. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, v. 20, n. 5, p. 505–507, 2004.

TURCHIULI, C.; FUCHS, M.; BOHIN, M.; CUVELIER, M. E.; ORDONNAUD, C.; PEYRAT-MAILLARD, M. N.; DUMOULIN, E. Oil encapsulation by spray dryer and fluidised bed agglomeration. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**. v. 6, n. 1, p. 29-35, 2005.

TURKMEN, N.; SARI, F.; VELIOGLU, Y. S. Effects of extraction solvents on concentration and antioxidant activity of black and black mate tea polyphenols determined by ferrous tartrate and Folin–Ciocalteu methods. **Food chemistry**, v. 99, n. 4, p. 835-841, 2006.

VALENZUELA, A. B. El consumo te y la salud: características y propiedades benéficas de esta bebida milenaria. **Revista Chilena de Nutrición**, Santiago, v. 31, n. 2, p. 72-82, 2004.

VAN DEN BERG, R., HAENEN, G. R., VAN DEN BERG, H., & BAST, A. A. L. T. Applicability of an improved Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay for evaluation of antioxidant capacity measurements of mixtures. **Food Chemistry**, v. 66, n. 4, p. 511-517, 1999.

VENABLES, M. C.; HULSTON, C. J.; COX, H. R.; JEUKENDRUP, A. E. Green tea extract ingestion, fat oxidation, and glucose tolerance in healthy humans. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 87, n. 3, p. 778-784, 2008.

VENTURINI FILHO, W. *Tecnologia de Bebidas*. São Paulo: **Edgard Blucher**, 2005. 550p.

VOLP, A. C. P.; RENHE, I. R. T.; BARRA, K.; STRINGUETA, P. C. Flavonoides antocianinas: características e propriedades na nutrição e saúde. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**, v. 23, n. 2, p. 141-149, 2008.

WANG, H.; PROVAN, G. J.; HELLIWELL, K. Tea flavonoids: their functions, utilization and analysis. **Trends in Food Science and Technology**, v. 11, n. 4-5, p. 152-160, 2000.

WANG, J.; WANG, L. Structures and properties of commercial maltodextrins from corn, potato, and rice starches. **Starch/Starke**, v. 52, p. 296-304, 2000.

WEINBRECK, F.; MINORI, M.; KRUIF, C.G.; Microencapsulation of oils using protein/gum arabic coacervates. **Journal Microencapsulation**, Londres, v. 21, n. 6, p. 667-679, 2004.

WESTERTERP-PLANTENGA, M. S.; LEJEUNE, M. P.; KOVACS, E. M. Body weight loss and weight maintenance in relation to habitual caffeine intake and green tea supplementation. **Obesity Research**, v. 13, n. 7, p. 1195-204, 2005.

WESTERTERP-PLANTENGA, M. S. Green tea catechins, caffeine and body-weight regulation. **Physiology & Behavior**, v. 100, n. 1, p. 42-46, 2010.

WISEMAN, S. A.; BALENTINE, D. A.; FREI, B. Antioxidants in tea. **Critical Reviews in Food Science & Nutrition**, v. 7, n. 8, p. 705-718, 1997.

WU, Y.; CHEN, Z.; LI, X.; WANG, Z. Retrogradation properties of high amylose rice flour and rice starch by physical modification. **LWT-Food Science and Technology**, v. 43, n. 3, p. 492-497, 2010.

YANAGIMOTO, K.; OCHI, H.; LEE, K. G.; SHIBAMOTO, T. Antioxidative activities of volatile extracts from green tea, oolong tea, and black tea. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 51, n. 25, p. 7396-7401, 2003.

YANG, C. S.; LANDAU, J. M.; HUANG, M. T.; NEWMARK, H. L. Inhibition of carcinogenesis by dietary polyphenolic compounds. **Annual Review Nutrition**, v. 21, n. 1, p. 381-406, 2001.

ZHOU, Z.; PENG, X.; INSOLERA, R.; FINK, D. J.; MATA, M. IL-10 promotes neuronal survival following spinal cord injury. **Experimental neurology**, v. 220, n. 1, p. 183-190, 2009.