



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

**ANTONIA CARLOTA DE SOUZA LIMA**

**LIOFILIZAÇÃO DE EXTRATO FENÓLICO DO COPRODUTO DO**  
**PROCESSAMENTO DO PEDÚNCULO DO CAJU**

**FORTALEZA**

**2019**

ANTONIA CARLOTA DE SOUZA LIMA

LIOFILIZAÇÃO DE EXTRATO FENÓLICO DO COPRODUTO DO PROCESSAMENTO  
DO PEDÚNCULO DO CAJU

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Área de concentração: Produtos de Origem Vegetal.

Orientadora: Profa. Dra. Luciana de Siqueira Oliveira

Coorientadora: Profa. Dra. Kaliana Sítônio Eça

FORTALEZA

2019

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)

---

- L6961 Lima, Antonia Carlota de Souza.  
Liofilização de extrato fenólico do coproduto do processamento do pedúnculo do caju / Antonia Carlota de Souza Lima. – 2019.  
67 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Fortaleza, 2019.  
Orientação: Profa. Dra. Luciana de Siqueira Oliveira.  
Coorientação: Profa. Dra. Kaliana Sitonio Eça .
1. Compostos bioativos. 2. Microscopia Eletrônica de Varredura. 3. Bioacessibilidade. I. Título.  
CDD 664
-

ANTONIA CARLOTA DE SOUZA LIMA

LIOFILIZAÇÃO DE EXTRATO FENÓLICO DO COPRODUTO DO PROCESSAMENTO  
DO PEDÚNCULO DO CAJU

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestra em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Área de concentração: Produtos de Origem Vegetal.

Aprovada em: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_\_\_

BANCA EXAMINADORA

---

Profa. Dra. Luciana de Siqueira Oliveira (Orientadora)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Profa. Dra. Kaliana Sitonio Eça  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof. Dr. Marcos Rodrigues Amorim Afonso  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

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

---

Dra. Marília A. Oliveira  
Embrapa Agroindústria Tropical

A Deus, que é perfeito sempre.

A minha mãe, Rozemere, que me ensina que amor é incondicional.

A minha irmã, Rosielle, que é meu coração em um outro corpo.

Ao meu melhor amigo, Lucas, que me ensina a ser luz na escuridão.

## AGRADECIMENTOS

À CAPES, pelo apoio financeiro com a manutenção da bolsa de mestrado.

Ao Departamento de Engenharia de Alimentos pela oportunidade de participar do programa de pós-graduação e me aperfeiçoar como profissional e pessoa.

A professora Luciana de Siqueira Oliveira por ser minha orientadora e ter me guiado durante essa etapa da minha vida profissional, garantindo apoio e suporte para a realização da pesquisa; e a professora Kaliana Sítonio Eça, que sempre fez mais do que sua obrigação como coorientadora, sempre disposta a ajudar em qualquer situação;

Ao professor Marcos Amorim por sua gentileza em nos ajudar com a parte técnica do experimento, sempre muito solícito e participativo;

Ao Paulo Mendes, que sempre me confortou nos períodos mais difíceis e na parte burocrática do mestrado. Sempre muito calmo e disposto a ajudar;

Ao Junior por sempre me ajudar no Departamento, muito atencioso e prestativo. E a todos os funcionários que da limpeza que fazem nossos dias mais felizes;

A minha família que sempre foi e sempre será minha maior fortaleza. Em especial ao meu querido primo Lucas Elmiro, que aguentou todas as minhas crises e ansiedade com toda essa jornada, sempre me apoiando e incentivando; e aos meus queridos amigos que mesmo com a distância se fizeram presente em minha vida durante esse mestrado, me ajudando a seguir em frente: Lucas Elmiro, Nívia Maria, Shely Oliveira, Andressa Maria, Silvânia Fideles e Márcio Albuquerque.

A minha querida Claudilane, minha irmã de orientação, que é um exemplo de profissional e aluna, e que suportou esses dois anos sempre me impulsionando a seguir em frente;

A minha Ana Caroline, que compartilhou comigo todos os dias de ansiedade ao escrever a dissertação e em cada etapa do mestrado, sendo um exemplo de ser humano e profissional.

A Tayla Maria, por ser tão gentil e legal comigo desde o começo do mestrado e por me acolher como amiga me ajudando e dando suporte emocional sempre que precisou, nunca me deixando sentir desamparada;

A Fernanda que foi desde o começo do mestrado um exemplo de perseverança e amizade, sempre carinhosa e esperançosa, mesmo que as condições estivessem contrárias;

Enfim, aos amigos que fiz neste período e que irei levar para vida: Ana Caroline, Tayla Maria, Fernanda Batista, Claudilane Pontes e Júlia Medeiros. E tantos outros que marcaram esta etapa marcante na minha vida pessoal e profissional.

## RESUMO

O caju (*Anacardium occidentale* L.) é uma fruta tropical cujo pedúnculo apresenta elevado conteúdo de compostos bioativos associados a benefícios à saúde. Entretanto, a principal forma de aproveitamento dele é pela indústria de sucos e polpas, gerando grande quantidades de coproduto, que é utilizado principalmente para compor ração animal. Por possuir compostos fenólicos em sua composição, o Coproduto do processamento do Pedúnculo do Caju (CPC) é um material promissor para a indústria, tendo em vista estes compostos que são extremamente sensíveis a ambientes oxidantes. Dessa forma, faz-se necessária a utilização de tecnologias para preservá-los possibilitando sua aplicação. O objetivo do estudo foi obter e caracterizar quanto aos parâmetros físicos, químicos e físico-químicos os extratos fenólicos do CPC e avaliar a utilização do processo de liofilização na preservação da capacidade antioxidante através de análise de bioacessibilidade *in vitro*. Extraiu-se os compostos fenólicos através de solução hidroalcoólica e banho ultrassônico à partir do CPC seco. Após a obtenção do extrato, identificou-se os compostos do extrato através de Cromatografia Líquida de Ultra Performance UPLC-QTOF-MS. O extrato foi liofilizado utilizando Maltodextrina (MD), Goma Arábica (GA) e sua mistura (MD) como agentes carreadores. Os extratos antes e depois da liofilização foram avaliados quanto a retenção de compostos fenólicos (CF) e sua atividade antioxidantes (ABTS e FRAP). Nos liofilizados fez-se a caracterização física (solubilidade, higroscopicidade, atividade de água (Aw) e umidade), morfologia (MEV) e cristalinidade (DRX). E por ultimo, fez-se a bioacessibilidade do conteúdo de CF e AA nos extratos não liofilizado e liofilizados. Os resultados demonstraram que o processo de extração contribuiu para o aumento do conteúdo de CF (variando de  $243,32 \pm 14,2$  no pedúnculo seco para  $376,25 \pm 12,3$  mg GAE/100 g no extrato em base seca) e AA ( $12,01 \pm 1,5$  no pedúnculo seco para  $70,35 \pm 2,01$   $\mu$ M Trolox/ g no extrato em base seca). Identificou-se no extrato não liofilizado, os compostos quercetina, ácido gálico e mirecetina, além de seus glicosídeos e derivados, os quais podem ter contribuído com a elevada AA, além de comprovar a presença de importantes fitoquímicos para a saúde no SPC. A utilização dos agentes carreadores possibilitou a proteção dos CF presentes no extrato, apesar de observar-se uma diminuição significativa destes compostos nos extratos liofilizados (variando de  $376,25 \pm 12,3$  mg GAE/100 g de base seca no extrato não liofilizado para  $227,45 \pm 4,7$  mg GAE/100 g de matéria seca para MD). Porém a quantidade de CF nas amostras liofilizadas não diferiram, verificando que os dois tipos de agentes carreadores utilizados ocasionaram igual retenção destes polifenóis. Já os resultados de AA mostraram que os maiores valores ( $178,03 \pm 2,5$  e  $168,12 \pm 3,7$   $\mu$ M  $\text{Fe}_2\text{SO}_4$ / g de matéria seca para MD e MG,

respectivamente) pelo método de FRAP foram das amostras com maltodextrina na formulação. Os pós apresentaram alta solubilidade (> 60%), baixa umidade (< 8%), baixa  $A_w$  e Higroscopicidade (< 4%), características desejáveis a produtos secos. Quanto a morfologia, verificou-se aspecto de serragem ou vidro quebrado para os extratos liofilizados, característico do processo de liofilização, além de estrutura predominantemente amorfa. Nos resultados da bioacessibilidade dos compostos fenólicos (em torno de 30%) e da AA (abaixo de 10%) após a digestão, comprovou-se efeito protetor dos agentes carreadores, uma vez que observou-se alta redução destes compostos no extrato não liofilizado. Logo, a utilização de agentes carreadores associados à liofilização para a proteção do extrato fenólicos de CPC torna possível sugerir o aproveitamento destes compostos pela indústria nutracêutica ou alimentar, podendo ser utilizado como um aditivo no alimento de forma a prolongar a vida útil de produtos, como os embutidos, pois apresenta alta atividade antioxidante.

**Palavras-chave:** Compostos bioativos. UPLC. Microscopia Eletrônica de Varredura. Bioacessibilidade. Fruto Tropical. *Anacardium occidentale*.

## ABSTRACT

Cashew (*Anacardium occidentale* L.) is a tropical fruit whose peduncle has high content of bioactive compounds associated with health benefits. However, the main way of using it is by the juice and pulp industry, generating large quantities of co-product, which is mainly used to make animal feed. Because it possesses phenolic compounds in its composition, the Cashew Peduncle Coproduct (CPC) is a promising material for the industry, considering these compounds that are extremely sensitive to oxidizing environments. In this way, it is necessary to use technologies to preserve them, allowing their application. The objective of the study was to obtain and characterize the physical, chemical and physicochemical parameters of the CPC phenolic extracts and to evaluate the use of the lyophilization process in the preservation of the antioxidant capacity through in vitro bioaccessibility analysis. The phenolic compounds were extracted by hydroalcoholic solution and ultrasonic bath from dry CPC. After obtaining the extract, the extract compounds were identified by UPLC-QTOF-MS Ultra Performance Liquid Chromatography. The extract was lyophilized using Maltodextrin (MD), Gum arabic (GA) and its blend (MD) as carrier agents. The extracts before and after lyophilization were evaluated for retention of phenolic compounds (CF) and their antioxidant activity (ABTS and FRAP). In the lyophilizates the physical characterization (solubility, hygroscopicity, water activity ( $A_w$ ) and humidity), morphology (SEM) and crystallinity (XRD) were made. Finally, the bioaccessibility of the CF and AA contents was made in the non-lyophilized and lyophilized extracts. The results showed that the extraction process contributed to the increase of CF content (ranging from  $243.32 \pm 14.2$  in dry stalk to  $376.25 \pm 12.3$  mg GAE / 100 g in dry extract) and AA ( $12.01 \pm 1.5$  in the dry peduncle for  $70.35 \pm 2.01$   $\mu$ M Trolox / g in the dry basis extract). Non-lyophilized extract, quercetin, gallic acid and mirecetin, as well as its glycosides and derivatives, which may have contributed to the high AA, were also identified, as well as the presence of important phytochemicals for health in SPC. The use of the carrier agents allowed protection of the CF present in the extract, although a significant decrease of these compounds in lyophilized extracts was observed (ranging from  $376.25 \pm 12.3$  mg GAE / 100 g dry base in the non-lyophilized extract to  $227.45 \pm 4.7$  mg GAE / 100 g dry matter for MD). However, the amount of CF in the lyophilized samples did not differ, verifying that the two types of carrier agents used resulted in the same retention of these polyphenols. The results of AA showed that the highest values ( $178,03 \pm 2,5$  and  $168,12 \pm 3,7$   $\mu$ M  $\text{Fe}_2\text{SO}_4$ / g of dry matter for MD and MG, respectively) by the FRAP method were of the samples with maltodextrin in the formulation. The powders presented high solubility ( $> 60\%$ ), low humidity ( $<8\%$ ), low  $A_w$  and

hygroscopicity (<4%), desirable characteristics for dry products. As for the morphology, sawdust or broken glass was observed for lyophilized extracts, characteristic of the lyophilization process, besides a predominantly amorphous structure. The bioactivity of phenolic compounds (around 30%) and AA (below 10%) after digestion resulted in a protective effect of carrier agents, since a high reduction of these compounds was observed in the non-lyophilized extract. Therefore, the use of carrier agents associated with lyophilization for the protection of CPC phenolic extract makes it possible to suggest the use of these compounds by the nutraceutical or food industry and can be used as an additive in the food in order to prolong the useful life of products, such as because it has high antioxidant activity

**Keywords:** Bioactive compounds. HPLC. Scanning Electron Microscopy. Bioaccessibility. Tropical Fruit. *Anacardium occidentale*.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	Cromatograma UPLC-QTOF-MS em modo negativo do extrato fenólico do coproduto do processamento do pedúnculo caju.....	44
Figura 2 -	Propriedades físicas do pó encapsulado com diferentes agentes carreadores. MD: maltodextrina; GA: goma arábica; MG: maltodextrina + goma arábica (1:1). Resultados expressos em média $\pm$ desvio padrão. Os resultados seguidos da mesma letra nas colunas não diferem significativamente entre si.....	50
Figura 3 -	Microscopia eletrônica de varredura para os extratos encapsulados de CPC com ampliação de 300x (A) e 150x (B). .....	52
Figura 4 -	Difratogramas de raios-X (DRX) dos agentes carreadores (A) e dos extratos encapsulados e secos por liofilização (B). MD: Extrato + Maltodextrina; GA: Extrato + Goma Arábica e MG: Extrato + Malto + Goma (1:1 m/m). .....	54
Figura 5 -	Parâmetros de cor ( $L^*$ , $a^*$ , $b^*$ , $C^*$ , $H^\circ$ e $\Delta E$ ) do extrato de CPC e dos pós encapsulados por liofilização.....	55
Figura 6 -	Fotografias tiradas durante o experimento do extrato de CPC antes e depois de ser encapsulados com maltodextrina (MD), goma arábica (GA) e a mistura de malto + goma (MG). .....	57

## LISTAS DE TABELAS

Tabela 1 -	Caracterização físico-química do extrato de CPC.....	40
Tabela 2 -	Conteúdo de compostos fenólicos e atividade antioxidante do extrato produzido a partir do coproduto do pedúnculo do caju (CPC).....	41
Tabela 3 -	Cromatograma UPLC-QTOF-MS, modo negativo, de extrato etanólico do Coproduto do Processamento do Caju (CPC).....	45
Tabela 4 -	Conteúdo de compostos fenólicos e atividade antioxidante total dos extratos de CPC liofilizados e não liofilizado utilizando diferentes agente adjuvantes....	48
Tabela 5 -	Valores médios de Compostos Fenólicos e Atividade Antioxidante presentes no extrato não liofilizado de CPC e nos extratos liofilizados antes e depois de ser realizada a digestão gastrointestinal simulada in vitro.....	58

## LISTAS DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AA	Atividade Antioxidante
ABTS	Atividade antioxidante total pela captura do radical livre ABTS <sup>•+</sup>
Aw	Atividade de Água
CF	Compostos Fenólicos
CPC	Coproducto do Processamento do Caju
DRX	Difratometria de Raios-X
EX	Extrato não liofilizado (não liofilizado)
FRAP	Atividade Antioxidante Total pelo Método de Redução do Ferro
GA	Goma Arábica
MD	Maltodextrina
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
MF	Massa Fresca
MG	Maltodextrina e Goma Arábica
MS	Massa Seca
QTOF-MS	Espectrometria de Massa de Tempo de Voo
UPLC-MS	Cromatografia de Ultra Performance acoplada a um Espectrogrômetro de Massa

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	17
<b>2</b>	<b>OBJETIVO GERAL</b> .....	19
<b>2.1</b>	<b>Objetivos Específicos</b> .....	19
<b>3</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	20
<b>3.1</b>	<b>Compostos bioativos em coprodutos de frutas</b> .....	20
3.1.1	Compostos bioativos do coproduto do caju.....	22
<b>3.2</b>	<b>Extração de compostos bioativos assistida por ultrassom</b> .....	23
<b>3.3</b>	<b>Liofilização</b> .....	24
<b>3.4</b>	<b>Agentes Carreadores</b> .....	26
3.4.1	Maltodextrina.....	26
3.4.2	Goma Arábica.....	27
<b>3.5</b>	<b>Utilidade de compostos bioativos encapsulados</b> .....	28
<b>4</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	31
<b>4.1</b>	<b>Matéria-prima</b> .....	31
<b>4.2</b>	<b>Obtenção do extrato</b> .....	31
<b>4.3</b>	<b>Caracterização química e físico-química do extrato não liofilizado de CPC</b>	31
4.3.1	Análises físico químicas do extrato não liofilizado de CPC.....	32
4.3.2	Caracterização de Compostos Fenólicos.....	32
4.3.3	Método de Sequestro do radical livre ABTS <sup>•+</sup> .....	32
4.3.4	Método do poder de redução do ferro (FRAP).....	33
4.3.5	Determinação do perfil fenólico do extrato de CPC por Cromatografia Líquida de Alta Performance UPLC-QTOF-MS <sup>E</sup> .....	34
<b>4.4</b>	<b>Preparo dos extratos de CPC com agentes carreadores e secos por liofilização</b> .....	35
<b>4.5</b>	<b>Determinação dos compostos fenólicos e atividade antioxidante após liofilização</b> .....	35
<b>4.6</b>	<b>Caracterização física e estrutural dos extratos de CPC liofilizados</b> .....	36
4.6.1	Umidade e Atividade de água (Aw).....	36
4.6.2	Solubilidade.....	36
4.6.3	Higroscopicidade.....	36
<b>4.7</b>	<b>Análise colorimétrica do extrato antes e depois da encapsulação</b> .....	37
<b>4.8</b>	<b>Biocessibilidade <i>in vitro</i> por digestão simulada</b> .....	38

4.9	Análises estatísticas.....	39
5	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	40
5.1	<b>Caracterização físico-química, compostos fenólicos totais e atividade antioxidante do extrato não liofilizado de CPC.....</b>	40
5.2	<b>Perfil fenólico do extrato não liofilizado de CPC por UPLC-QTOF-MS<sup>E</sup>....</b>	42
5.3	<b>Compostos fenólicos totais e Atividade Antioxidante dos extratos de CPC liofilizados.....</b>	47
5.4	<b>Umidade, atividade de água, solubilidade e higroscopicidade dos extratos de CPC liofilizados.....</b>	48
5.5	<b>Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....</b>	51
5.6	<b>Potencial Zeta.....</b>	53
5.7	<b>Difratometria de raios-X.....</b>	53
5.8	<b>Análise Calorimétrica.....</b>	54
5.9	<b>Bioacessibilidade <i>in vitro</i> por digestão simulada</b>	57
6	<b>CONCLUSÕES.....</b>	60
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	61

## 1 INTRODUÇÃO

Há um grande interesse pelo aproveitamento de coprodutos do processamento de frutas devido ao seu elevado conteúdo de compostos bioativos, pois são considerados excelentes fontes de antioxidantes naturais, os quais são reconhecidos por suas atividades biológicas implicadas diretamente com benefícios à saúde (GONZÁLEZ-CENTENO *et al.*, 2015; SAHPAZIDOU *et al.*, 2014). Além disso, seu aproveitamento promove a diminuição dos custos de produção, permite a utilização integral do fruto fazendo uso de todo o seu potencial como auxiliador na saúde. Por isso, a caracterização da composição química dos coprodutos do processamento de frutas é amplamente estudada, e sua conversão de forma segura e econômica em produto comercial é de grande relevância.

Nessa visão, a cajucultura é uma atividade de elevada expressão econômica no Nordeste do Brasil, sendo um dos principais cultivos sustentáveis dessa região. Sendo o caju (*Anacardium occidentale* L.) um fruto tropical que possui alto conteúdo de compostos bioativos, como os carotenoides (DE ABREU *et al.*, 2013), vitamina C (RODRÍGUEZ *et al.*, 2017) e compostos fenólicos (BATAGLION *et al.*, 2015; DE BRITO *et al.*, 2007), além de minerais, aminoácidos e fibras alimentares (DAS; ARORA, 2017). Com estes compostos encontrados tanto na polpa/fibras quanto na película do pedúnculo (SCHWEIGGERT *et al.*, 2016). Entretanto, a elevada perecibilidade do pedúnculo do caju faz com que seja destinado, principalmente, para a produção de suco e polpa, gerando altas quantidades de coproduto, conhecido como bagaço, que não possui um destino específico, podendo ser usado pela indústria de ração ou, caso não seja aproveitado, torna-se contaminante ambiental e, conseqüentemente, gera custos operacionais às empresas, pois necessitam de amostra para o descarte (INFANTE *et al.*, 2013).

Entretanto, embora seja comprovado que este coproduto apresente ainda elevado potencial para uso; pois mantém parte dos compostos constituídos no fruto *in natura*; é pouco explorado com a finalidade de aproveitar sua riqueza de compostos químicos benéficos à saúde, como os compostos fenólicos, importante classe de fitoquímicos presentes no caju. Portanto, é possível explorar a viabilidade da utilização deste material na sua aplicação para uso como aditivo natural em alimentos, bem como para a produção de alimentos com alegação funcional (FONTELES *et al.*, 2016). (BALLESTEROS *et al.*, 2017; DA FONSECA MACHADO *et al.*, 2018; FONTELES *et al.*, 2016)

Contudo, devido a presença de ligações insaturadas em sua estrutura molecular, os compostos fenólicos se tornam extremamente sensíveis a ambientes oxidantes, como a presença de luz, oxigênio e umidade (BALLESTEROS *et al.*, 2017). Desta forma, faz necessário a utilização de tecnologias que diminuam essa sensibilidade, como por exemplo, o uso de agentes carreadores que funcionam como barreira à estes fatores, preservando o composto. Sua utilização, seguida de processos de secagem; devido à natureza líquida dos extratos de compostos fenólicos; promove sua transformação em um produto final em pó, podendo ser utilizado de inúmeras formas dentro da indústria de alimentos. Tendo-se em destaque, a liofilização uma opção promissora para o processo, pois é uma tecnologia utilizada na indústria de alimentos, principalmente, para a secagem de compostos sensíveis ao calor, preservando suas propriedades funcionais.

Logo, a escolha do agente material de parede é muito importante, pois a eficiência e a proteção das partículas geradas será diretamente afetada por este fator (YAMASHITA *et al.*, 2018). Então, trabalhos anteriores demonstram a utilização da maltodextrina (FANG; BHANDARI, 2011) e a goma arábica (MAHDAVEE KHAZAEI *et al.*, 2014), ou mesmo a mistura das duas (DAG; KILERCIOGLU; OZTOP, 2017; RAMÍREZ; GIRALDO; ORREGO, 2015) como bons agentes carreadores, pois garantem ao produto final características adequadas para produtos em pó, como alta solubilidade em água, baixa viscosidade e capacidade de formar soluções estáveis (PEREIRA SOUZA; DEYSE GURAK; DAMASCENO FERREIRA MARCZAK, 2017), além de uma boa retenção de compostos bioativos quando aplicados com esta finalidade.

Logo, o objetivo do estudo foi obter e caracterizar os extratos fenólicos do coproduto do pedúnculo do processamento do caju e avaliá-los quanto aos parâmetros físicos, químicos e físico-químicos e utilizar dois agentes carreadores somados ao processo de liofilização na preservação da capacidade antioxidante através de análise de bioacessibilidade *in vitro*.

## 2 OBJETIVO GERAL

O objetivo do estudo foi obter e caracterizar quanto aos parâmetros físicos, químicos e físico-químicos os extratos fenólicos do Coproduto do Pedunculo do Processamento do Caju (CPC) e avaliar a utilização do processo de liofilização na preservação da capacidade antioxidante através de análise de bioacessibilidade *in vitro*.

### 2.1. Objetivos Específicos

- Extrair os compostos fenólicos de Coproduto do Processamento do Pedúnculo do Caju CPC através de solução hidroalcoólica e utilização de ultrassom;
- Caracterizar físico e físico-química e determinação dos Compostos Fenólicos (CF) e Atividade Antioxidante (AA) do extrato não liofilizado de CPC;
- Identificação do perfil fenólico do extrato não liofilizado de CPC por UPLC-QTOF-MS<sup>E</sup>;
- Realizar a secagem através de liofilização do extratos de CPC utilizando dois agentes carreadores diferentes: maltodextrina, goma arábica, nas seguintes concentrações; maltodextrina + goma arábica em uma proporção de 1:1 m/m;
- Determinação de CF e AA dos extratos liofilizados de CPC;
- Avaliar as características físicas, morfologia e cristalinidade dos extratos secos de CPC;
- Avaliação da bioacessibilidade *in vitro* quanto a capacidade antioxidante com CF e AA presentes no extrato não liofilizado e nos extratos secos de CPC;

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 Compostos bioativos em coprodutos de frutas

No cenário atual, o Brasil está no ranking como o terceiro maior produtor de frutas do mundo, atrás da China e da Índia, respectivamente (IBGE, 2016), tornando-se um dos setores mais importantes dentro do agronegócio. Essa posição reflete diretamente na geração de resíduos agroindustriais por empresas de processamento de frutas, que desperdiçam grande quantidade de materiais, como cascas e sementes, devido à falta de tecnologias que aproveitem os compostos nutricionais e funcionais presentes nestes materiais (FORSTER-CARNEIRO *et al.*, 2013).

Os compostos bioativos são metabólitos secundários produzidos pelos vegetais que apresentam elevado potencial terapêutico, por contribuir para a sua atividade antioxidante, sendo os compostos fenólicos, carotenoides, e vitamina C importantes fitoquímicos presentes em frutas e hortaliças que contribuem na manutenção da saúde humana devido sua comprovada propriedade antioxidante que está associada à prevenção de doenças, como o câncer (DIREITO *et al.*, 2017; SAENGLER *et al.*, 2016), doenças cardiovasculares (DU *et al.*, 2016), e ainda, Mal de Alzheimer (SUGIMOTO *et al.*, 2012).

Entre os compostos citados, os fenólicos são bioativos envolvidos no processo de defesa dos vegetais contra radiação UV e parasitas, além de contribuírem para a cor de flores e frutos, sendo conhecido mais de 8000 estruturas fenólicas que incluem desde moléculas simples, como os fenóis simples, até as complexas, como os taninos (DAI; MUMPER, 2010).

Dessa forma, estudos têm demonstrado o efeito benéfico dos compostos fenólicos na saúde relacionado a sua ação antioxidante provavelmente atribuída a sua característica redutora e estrutura química composta de hidroxilas e anéis aromáticos, que são capazes de neutralizar ou sequestrar radicais livres (ANGELO; JORGE, 2007; BURRI *et al.*, 2017; CHHOUK *et al.*, 2017; DEGÁSPARI; WASZCZYNSKYJ, 2004; LORDÊLO CARDOSO SILVA *et al.*, 2010; SINGH *et al.*, 2017).

Devido estas propriedades funcionais, os compostos fenólicos são alvos constante de estudos voltados para a obtenção de fontes de forma natural. Por isso, a busca por métodos mais eficazes de sua extração são foco de pesquisa atual, sendo os coprodutos do processamento de frutas uma alternativa viável e importante como fonte desses fenólicos. Principalmente pois

seu elevado conteúdo de bioativos e ainda o fato de seu aproveitamento contribuir para a redução dos custos de produção, promove o aumento do aproveitamento total do fruto e do impacto desses coprodutos que são muitas vezes descartados erroneamente no ambiente. Além disso, é uma forma de agregar valor aos coprodutos que seriam descartados pela indústria através de sua aplicação no desenvolvimento de novos produtos ou enriquecimento daqueles já existentes no mercado (FORSTER-CARNEIRO *et al.*, 2013).

Muitos estudos evidenciaram o potencial do uso de coprodutos do processamento de frutas para a extração de compostos bioativos. Barros *et al.*, (2017) estudaram a capacidade antioxidante de coprodutos de frutos tipicamente brasileiro, como achachairu (*Garcinia humilis*), araçá-boi (*Eugenia stipitata*) e bacaba (*Oenocarpus bacaba*) que foram determinados quanto ao seu teor de compostos fenólicos totais, flavonoides e carotenoides, encontrando entre os resíduos de frutos, o achachairu continha os principais compostos de ácido ferúlico ( $96,01 \pm 7,72 \mu\text{g} / \text{g}$ ) e epicatequina ( $96,01 \pm 7,72 \mu\text{g} / \text{g}$ ); araçá-boi continha os principais compostos como ácido cinâmico ( $44,61 \pm 0,76 \mu\text{g} / \text{g}$ ) e ácido gálico ( $30,18 \pm 5,46 \mu\text{g} / \text{g}$ ) e bacaba continha catequina ( $135,15 \pm 1,11 \mu\text{g} / \text{g}$ ) e epicatequina ( $123,86 \pm 7,15 \mu\text{g} / \text{g}$ ). Sousa *et al.*, (2011) avaliaram coprodutos do processamento de acerola (*Malpighia glabra L.*), goiaba (*Psidium Guayaba L.*), abacaxi (*Ananas comosus L.*), cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*), bacuri (*Platonia insignis*) e graviola (*Annona muricata L.*) e também foram investigados quanto ao teor de antioxidantes e identificaram valores elevados de vitamina C e carotenoides. Quanto aos carotenóides, destacaram-se o resíduo de acerola com  $881,56 \pm 9,01 \mu\text{g}/100 \text{ g}$  e o resíduo de goiaba, com  $644,9 \pm 10,02 \mu\text{g}/100 \text{ g}$ . Os resíduos analisados apresentaram baixas concentrações de antocianinas e flavonóides, com relação aos teores de fenólicos totais se destacou o resíduo da polpa de acerola (BARROS *et al.*, 2017; SOUSA *et al.*, 2011). O que resulta em dizer que os coprodutos ou resíduos de frutas agroindustriais são fontes com grande potencial de compostos benéficos à saúde que podem ser extraídos e aproveitados em alimentos industrializados com baixo teor desses compostos.

No coproduto, geralmente a maior quantidade desses compostos são atribuídos a casca das frutas presente no resíduo. Por isso, ao se analisar os extratos das cascas de onze frutas tropicais, determinaram-se um elevado teor de bioativos associados a elevada atividade antioxidante, sendo fontes promissoras de ingredientes bioativos com propriedades antioxidantes, que foram extraídos e transformados em pó por processo de liofilização e pode ser aplicado no projeto de alimentos funcionais ou como conservantes naturais de alimentos (CAN-CAUICH *et al.*, 2017, p.).

O consumo de frutas e hortaliças pelos brasileiros ainda está muito abaixo do recomendado pela Organização Mundial da Saúde (OMS); 100kg/habitante/ano. A grande maioria (75,9%) consome apenas cerca de 33kg/habitante/ano aumentando o risco de doenças cardíacas, câncer e obesidade; a utilização de tecnologias que visem implementar compostos químicos de origem natural na dieta dessas pessoas é uma boa alternativa para a ingestão desses constituintes presentes em vegetais, no caso, os fenólicos. Por isso, a extração de compostos bioativos do coproduto do processamento de frutas para serem aplicados em diversos projetos alimentares da indústria é um grande avanço como pensamento de mercado e ecológico. Embora seja conhecido a propriedade antioxidante de muitos coprodutos, mais estudos precisam ser realizados para determinar de forma mais precisa seus mecanismos de ação e estabelecimento de doses terapêuticas, além, de melhores e mais simples métodos de extração (MARTINS; BARROS; FERREIRA, 2016), além de promover o incentivo ao estudo de novas tecnologias que utilizem esses compostos de forma adequada e mais estudos que ampliem a gama de atuação destes.

### 3.1.1 Compostos bioativos do coproduto do caju

Dentre as culturas de grande expressão econômica no Brasil está o cajueiro (*Anacardium occidentale L.*), pois é um dos principais cultivos sustentáveis no Nordeste. Sua produção é cerca de 2,0 a 2,5 milhões de toneladas por ano, perdendo cerca de 1,5 milhões de toneladas devido ao maior enfoque industrial se destinar à castanha do caju, com o pedúnculo aproveitado principalmente na produção de suco, onde obtém-se um grande volume de resíduo a partir deste, conhecido popularmente como bagaço do caju (ROESLER *ET AL.*, 2007).

No caju encontramos uma grande quantidade de compostos fenólicos, além de flavonóides, como já foi abordado, estes atuam como agentes antioxidantes no sequestro de radicais livres no organismos, demonstrando alta atividade. Em um estudo realizado com cinco frutos tropicais brasileiros, pode-se observar que o caju ficou em segundo lugar de quantidade de compostos fenólicos e atividade antioxidante (VIEIRA *et al.*, 2011).

O bagaço é o coproduto do pedúnculo do caju que é dispensado na indústria de castanha, utilizado no processamento de suco virando muitas vezes um resíduo para ser descartado no ambiente ou sendo subutilizado na indústria de ração. Porém, existe uma vasta quantidade de nutrientes nesse material que o confere grande potencial para ser explorado pelo mercado, seja para a elaboração de produtos enriquecidos com os compostos bioativos presentes nessa

matéria-prima, ou como aditivo alimentar na preservação de alimentos contra a oxidação, Ambos são focos em estudos para encontrar uma forma de aproveitamento de uma fonte tão rica em compostos antioxidantes (DAS; ARORA, 2017).

A riqueza de fenólicos no resíduo do caju faz dele uma matéria-prima de enfoque na atualidade devido ao desejo da indústria de atender os consumidores mais preocupados com a saúde a desenvolver alimentos funcionais provenientes de um coproduto da indústria que é riquíssimo em compostos promotores da saúde, contendo um perfil com 11 carotenóides (DE ABREU *et al.*, 2013), fenóis simples, miricetina e quercetina (MICHODJEHOUN-MESTRES *et al.*, 2009a).

### **3.2 Extração de compostos bioativos assistida por ultrassom**

Existem diferentes formas de extração de compostos bioativos documentadas, devido a tentativa de recuperação máxima desses compostos de maneira eficaz e viável. Por exemplo, a extração por fluidos supercríticos (DA SILVA; ROCHA-SANTOS; DUARTE, 2016), ainda pouco abordada. E a mais utilizada atualmente, extração com o auxílio do ultrassom, metodologia bastante utilizada para máxima recuperação desses compostos principalmente retirados de coprodutos, como por exemplo do coproduto da uva, obtendo alto rendimento com esse processo (GOULA; THYMIATIS; KADERIDES, 2016). Além de outros métodos como micro-ondas e extração supercrítica (DA SILVA; ROCHA-SANTOS; DUARTE, 2016; GOULA; THYMIATIS; KADERIDES, 2016; XU *et al.*, 2017).

O equipamento de ultrassom emite uma onda com frequência acima de 16 kHz e não podem ser detectadas pelos ouvidos humanos, porém em alta intensidade pode causar rompimento físico de tecidos, criar emulsões, limpar equipamentos e até promover reações químicas (FELLOWS, 2006). A extração de compostos fenólicos utilizando essa técnica para melhorar e otimizar o processo é bastante promissora, pois esse amostra promove uma liberação mais eficiente dos compostos presente nos tecidos vegetais, devido as ondas que rompem as estruturas que os armazena para que se possa utilizá-los para os demais fins, como encapsulação através de agentes carreadores e secagem para elaboração de um produto final seco utilizando diferentes métodos de secagem dependendo do objetivo e aplicação (FONTELES *et al.*, 2016).

O coproduto da azeitona foi utilizado como fonte de aproveitamento de polifenóis para reduzir parte desse resíduo que é perigoso ao ambiente, através da extração assistida por

ultrassom, desenvolvendo uma condição para uma extração mais eficiente desses compostos, resultando um produto com alta atividade antioxidante (GOLDSMITH *et al.*, 2018). A extração destes para sua quantificação em frutos é de grande importância para a pesquisa, pois a determinação de antocianinas e compostos fenólicos em frutas, como por exemplo, a amora, que é uma fruta vermelha de grande potencial bioativo, é fundamental, como foi determinado uma formulação ótima de parâmetros para esta extração com o auxílio do ultrassom, obtendo-se um método altamente reprodutível para frutos semelhantes (ESPADA-BELLIDO *et al.*, 2017; GOLDSMITH *et al.*, 2018).

O bagaço do caju também foi testado quanto a máxima extração de seus compostos utilizando a técnica de ultrassom, constatando nos resultados, maiores valores para atividade antioxidante, compostos fenólicos totais e vitamina C quando comparadas as amostras sem o amostra com o ultrassom, além de melhorar a qualidade do produto depois de seco para preservar seus compostos (FONTELES *et al.*, 2016).

Além disso, a utilização de técnicas combinadas potencializa a preservação do produto e a eficiência de seus processos. Ou seja, o ultrassom em conjunto com uma técnica de secagem, como a liofilização, percebe-se uma melhor retenção de compostos fenólicos e conseqüentemente maior atividade antioxidante, como no caso da cebola, que obteve maior retenção de biotivos, principalmente da quercetina, ao ser tratada previamente com ultrassom (BRINES *et al.*, 2015; REN *et al.*, 2017).

### **3.3 Liofilização**

A liofilização consiste em uma secagem que tem como princípio físico a sublimação de um material previamente congelado, com o auxílio do vácuo onde a água presente no alimento em forma de gelo, passa para estado de vapor sem se fundir, como não há a utilização de temperatura elevadas, tem-se uma maior preservação das características do alimento, sendo utilizada principalmente para secar alimentos mais caros de aromas ou texturas delicados onde se tem um público que aprecia e aceitar pagar o valor pelo produto (FELLOWS, 2006). Podendo também ser chamada de criodesidratação, é um tipo especial de desidratação, onde os equipamentos constam de uma câmara de vácuo, onde se introduz o alimento, uma fonte de calor, um condensador e por fim uma bomba à vácuo, onde pode se operar em lotes ou fase contínua (ORDÓÑEZ, 2005).

Muitas são as vantagens da liofilização sobre os processos convencionais de secagem, é um processo bem-sucedido para a maioria dos alimentos testados, com temperaturas abaixo do ponto de congelamento e pressões reduzidas o que diminui os danos causados aos compostos nutricionais dos alimentos, pouca mudança estrutural ou encolhimento e rápida reidratação, além dos nutrientes retidos em maior proporção (FELLOWS,2006).

É um processo que abrange várias áreas da indústria com a finalidade de se obter melhores resultados se comparado a secagens convencionais. Inúmeros produtos são secos por liofilização hoje, devido as vantagens relacionadas a não utilização do calor, preservação da integridade do material e por fim, rápida e fácil desidratação.

O método da liofilização foi ainda considerado seguro para o pó seco de pequenos ácidos nucleicos para tratar doenças pulmonares, sendo que a barreira para a utilização desses ácidos era a falta de formulação inalada segura e eficiente, que foi conseguida através da liofilização desse material, conseguindo-se otimizar uma formulação para ser usada contra essas doenças (LIANG *et al.*, 2017)

Polpas de frutas que não estão disponíveis o ano inteiro para comercialização podem ser liofilizadas para prolongar sua vida de prateleira para que seu consumo possa ser apreciado durante todo o período independente de sua época de produção, um exemplo é o cajá, fruta tropical bastante apreciada no Brasil, que liofilizada, possibilita um mercado mais abrangente e duradouro para esse produto.

Enfim, muitas estruturas alimentares utilizam a técnica como forma de melhorar a conservação de determinados alimentos como a retirada da umidade de materiais encapsulados formando um pó como produto final que armazena compostos benéficos a saúde, desse modo, prolonga a vida útil desse material encapsulado, podendo assim ser empregado em novos produtos na indústria de alimento, como por exemplo a adição de pós com ação antioxidante em alimentos variados que auxiliariam na redução de doenças, presentes em alimentos (BALLESTEROS *et al.*, 2017).

### **3.4 Agentes carreadores**

A escolha do material de parede, ou agente carreador do material é de fundamental importância para o produto final, pois este vai depender da substancia que irá carrear e das

características que se busca no produto final, geralmente utilizando-se polímeros, naturais ou sintéticos. Sendo os carboidratos os mais utilizados para esta finalidade, devido a sua capacidade de se ligar a diversos componentes a serem encapsulados e protegidos. Além de seu custo relativamente baixo. Logo, maltodextrina, amido e gomas, as quais são constituídas majoritariamente por carboidratos, são os materiais mais comumente utilizados em processos de encapsulamento e proteção de diversos compostos (CARVALHO, 2017).

Os compostos fenólicos são substâncias hidrofílicas e especificamente compatíveis com uma formulação em gel à base de água, como goma ou maltodextrina, e amidos como moléculas de revestimento para matrizes sólidas polares, desse modo, tanto a maltodextrina como a goma arábica são agentes carreadores que formam géis em soluções aquosas, tornando-se viáveis para sua utilização como agente carreador destes compostos (GIADA, 2006; MAHDAVEE KHAZAEI *et al.*, 2014).

#### 3.4.1. Maltodextrina

As maltodextrinas são produtos convertidos da hidrólise ácida ou enzimática do amido de milho com valores de dextrose equivalente (DE) menor que 20, utilizada para inúmeras finalidades, sendo uma delas o aumento da viscosidade em emulsões, melhorado, dessa forma, a textura, podendo ser obtida de amidos de diferentes fontes botânicas (COUTINHO, 2007).

A dextrose equivalente (DE) é uma medida que caracteriza a extensão da hidrólise do amido e também indica uma média do peso molecular. Conforme aumenta o grau de hidrólise, a média do peso molecular diminui e a DE aumenta. Esta é uma medida basicamente empírica da quantidade de açúcar redutor presente no produto e é expressa na base seca (ALEXANDER, 1992). A dextrose que utiliza-se como padrão é o amido (DE=0) e a glicose (DE=100) (MARCHAL; BEEFTINK; TRAMPER, 1999; DOKIC; JAKOVLJEVIC; BAUCAL, 1998; STORTZ; STEFFENS, 2004). Portanto, a DE define-se no poder de redução, e indica sua estabilidade e funcionalidade.

Variações nos valores de dextrose equivalente (DE) resultam em maltodextrinas com diferentes propriedades físico-químicas. Higroscopicidade, solubilidade, osmolaridade e a capacidade de reduzir o ponto de congelamento aumenta com o aumento da DE, enquanto que a viscosidade, coesividade e a prevenção de formação de cristais aumenta com a diminuição da DE. O material microencapsulado é coberto por um filme que protege o núcleo. As maltodextrinas de alta DE (15 a 20) protegem o aroma contra a oxidação, sugerindo a importância da DE na funcionalidade dos sistemas de encapsulamento. Observa-se, também,

que o material de parede, contendo maltodextrina, gema de ovo, gelatina e caseína, mostra ótima proteção contra a oxidação. Logo, as maltodextrinas com DE entre 10 e 20 são as mais indicadas na utilização para o encapsulamento de aromas, enquanto que no encapsulamento de óleos essenciais são utilizadas misturas de maltodextrinas com DE entre 5 e 15 e proteína (COUTINHO, 2007; MACHADO, 2010).

Diferentemente do amido nativo, a maltodextrina é solúvel em água, e a maltodextrina 20 DE mostrou melhores resultados quanto aos parâmetros de umidade, cor, grau de aglomeração e Higroscopicidade, em estudo desenvolvido por Sierra; Rosa; Gabas, (2013) ao realizarem uma comparação no uso de maltodextrina com valores de DE diferentes, e ainda não observaram diferenças significativas quanto às características sensoriais ao comparar com a maltodextrina 10 DE.

Em geral, as maltodextrinas possuem baixa densidade, não apresentam sabor adocicado e não possuem sabor de amido. Devido a estas propriedades são muito utilizadas nas indústrias de alimentos. Uma utilização que está sendo demasiado explorado hoje é como agente carreador/material de parede de partículas, como compostos bioativos, pois tem a capacidade de proteger esse material de ambientes oxidantes e confere características desejáveis a pós depois de seco. Onde o principal objetivo desse processo é proteger o material do núcleo de condições ambientais adversas, como efeitos indesejáveis por exposição à luz, oxigênio e altas umidades, contribuindo para o aumento da vida útil do produto. Devido a estas características, maltodextrinas de diferentes equivalentes de dextrose (DE) são comumente usadas como material de parede o que as tornam os materiais de suporte ou parede mais utilizados na microencapsulação (MAHDAVEE KHAZAEI *et al.*, 2014; ROBERT *et al.*, 2010).

#### 3.4.2. Goma Arábica

A goma arábica (ou goma acácia) é um exsudado da seiva da árvore do gênero Acácia. Seu pó possui coloração branca, ligeiramente amarelada, é inodoro e insípido. E quimicamente é um heteropolissacarídeo complexo de estrutura muito ramificada, cuja cadeia principal é formada por unidades de D-galactopiranosose, unidas por ligações glicosídicas em  $\beta$ -D-(1-3). Cadeias laterais com diferentes estruturas químicas, formadas de D-galactopiranosose, L-raminose, L-arabinofuranose, e ácido D-glucurônico estão ligadas a cadeia principal por ligações  $\beta$  (1-6) (Potter & Hotchkiss, 1995; Bobbio & Bobbio, 1992) com aproximadamente 5% de proteína (RIBEIRO; SERAVALLI, 2007), sendo esta fração de proteína responsável pela propriedade de emulsificação da goma. A goma arábica comercial dissolve-se facilmente

quando agitada em água, devido a isso, liga-se facilmente aos compostos hidrofílicos presentes em solução aquosa. Ela é a única entre as gomas alimentícias que apresenta alta solubilidade e baixa viscosidade em solução, características desejáveis a produtos em pó (FARIA, 2014).

Com isso, a goma arábica funciona como um material de parede eficaz que já é bem conhecido, usado por muitos anos e ainda uma boa escolha devido à sua formação de emulsão estável e boa retenção de voláteis (HOSSEINI; KHODAIYAN; YARMAND, 2016). De acordo com Fang; Bhandari (2011), uma única matriz encapsulante não possui todas as características necessárias, devido a isto, mudanças para melhorar as propriedades de encapsulação foram feitas de forma a se utilizar misturas de carboidratos com proteínas e polissacarídeos em diferentes proporções para melhorar as deficiências e características que tem cada material. Então, diferentes agentes carreadores juntos, podem proporcionar uma maior eficiência na proteção de compostos contra oxidação .

### **3.5 Utilidade de compostos bioativos encapsulados**

Por definição, alimentos ou ingredientes funcionais são, segundo a Anvisa (1999) componentes nutricionais ou não que causem benefício a saúde humana, porém, no caso de ser um nutriente, precisa além de nutrir, desempenhar a função de melhorar a saúde e que possam ser consumidos na alimentação sem necessidade de prescrição médica. Com isso, a utilização de compostos bioativos é explorada principalmente devido a seus benefícios comprovados à saúde da população, sendo esses, considerados compostos funcionais que estão presente nos frutos.

Nessa vertente, muitos trabalhos buscam extrair esses compostos e preservá-los de modo a evitar sua degradação, e uma forma de fazer isso é através da sua encapsulação visando utilizá-lo na forma de um pó concentrado de substancias funcionais para enriquecer alimentos que contenham pouca ou nenhuma quantidade dos mesmos, com o intuito de melhorar as propriedades antioxidantes de diferentes alimentos e aumentar a diversidade de alimentos industrializados com benéficos à saúde.

Dessa forma, diversos alimentos são testados quando à adição de compostos promotores da saúde, como por exemplo, o purê de maçã, onde foi aplicado compostos fenólicos provenientes da casca da uva encapsulada permitindo a obtenção de um produto final com um poder antioxidante duas vezes maior que o original e dependendo do amostra térmico aplicado, havia uma preservação de 100% das antocianinas, podendo atender à demanda de corantes

naturais, além de ser sustentável, pois utiliza um coproduto na indústria de uva (LAVELLI; SRI HARSHA; SPIGNO, 2016). Além dos compostos fenólicos, o encapsulamento também pode ser utilizado para imobilizar bactérias probióticas e serem aplicadas em sucos e iogurte obtendo resultados satisfatórios quanto a conservação e estabilidade das cápsulas probióticas em todos os produtos comparados ao controle (CHAIKHAM, 2015).

Dessa forma, a utilização das tecnologias de secagens para a geração de partículas estáveis a serem adicionadas aos alimentos como aditivos, enriquecedores ou corantes naturais é um destaque na pesquisa que promete melhorar produtos industrializados aumentando sua qualidade e promovendo benefícios a saúde dos consumidores, tendo como a principal vantagem do encapsulamento o fato de tornarem os compostos estáveis, conservando estes componentes de frutos muito perecíveis que antes não seriam aproveitados dessa forma, perdendo um componente funcional que poderia manter-se constante dentro da matriz alimentar durante toda a cadeia de processo até seu consumo (DIAS *et al.*, 2017).

Em suma, a injeção de compostos bioativos encapsulados foi testada em variadas matrizes alimentares com o objetivo de melhorar a funcionalidade destes, aumentando a composição fenólica e antocianina, assim, de sua capacidade antioxidante (OSTERMANN; SCHEBB, 2017; PASRIJA *et al.*, 2015; RIBEIRO *et al.*, 2015; SPINELLI; CONTE; DEL NOBILE, 2016; TUMBAS ŠAPONJAC *et al.*, 2016) e obtendo resultados favoráveis em todos eles, criando alternativas de alimentos mais saudáveis com agentes benéficos a saúde.

## RESUMO DA METODOLOGIA

O experimento foi conduzido a partir de três etapas fundamentais:

- (1) Obtenção e caracterização do extrato de CPC;
- (2) Secagem dos extratos fenólicos utilizando maltodextrina e goma arábica como agentes carreadores através de liofilização e caracterização do pó obtido e avaliação da bioacessibilidade *in vitro* do extrato não liofilizado e dos extratos secos de CPC.

### 1ª Etapa

- Extração dos Compostos Fenólicos: Extração com etanol 42% seguido de banho ultrassônico durante 37 min;
- Caracterização do Extrato: umidade (%), Sólidos Solúveis (SS), Acidez Titulável (%); pH, Cor, Compostos Fenólicos (CF) e Atividade Antioxidante (AA) pelo método de redução do Ferro (FRAP) e pelo método de captura de radical livre ABTS<sup>•+</sup>;
- Perfil Fenólico por cromatografia líquida de ultra performance UPLC-QTOF-MS<sup>E</sup>.

### 2ª Etapa

- Preparo dos extratos utilizando os dois agentes carreadores: Maltodextrina e Goma arábica;
- Cada amostra foi preparada com 100 mL de extrato e adicionado o material de parede, sendo estes: Maltodextrina (MD), Goma Arábica (GA), individualmente e misturados, Maltodextrina + Goma Arábica (MG) numa proporção de 1:1 m/m,. A quantidade de material de parede foi estabelecido através da quantidade de sólidos do extrato e foi adicionado ao extrato até que este atingisse um teor de 20° Brix;
- Secagem dos extratos através de liofilização;
- Caracterização dos extratos secos quanto ao conteúdo de CF e Atividade antioxidante por FRAP e por ABTS;
- Caracterização física do pó: umidade (%), solubilidade (%), Higroscopicidade (%), Difractometria de Raios-X, Microscopia Eletrônica de Varredura e Potencial Zeta.
- Avaliação da Bioacessibilidade *in vitro* do potencial de Compostos Fenólicos (CF) e Atividade Antioxidante pelo método de FRAP.

## 1ª ETAPA: OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO

---

### 4. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 4.1. Matéria-prima

O coproduto do processamento do pedúnculo do caju (CPC) foi doado por uma indústria de processamento de suco e polpa do estado do Ceará, localizada no Baixo Jaguaribe. O material foi seco em estufa de circulação de ar forçado (Tecnal-TE-394/2) a 30 °C por 48 h até atingir, aproximadamente, 5,0% de umidade. Depois o material foi triturado, homogeneizado e armazenado em sacos plásticos de 100 g cada, sob congelamento e ao abrigo da luz para posterior extração. Todos os reagentes químicos utilizados para CF e AAT foram de grau analítico (Dinâmica, Química Contemporânea LTDA). Assim como a maltodextrina (DE20) (Adicel, Adicel Ind. E Com. LTDA) e goma arábica em pó pura 500 g (Dinâmica, Meta Química®).

#### 4.2. Obtenção do extrato

A extração de compostos fenólicos do CPC foi realizada através da mistura do material seco com uma solução hidroalcoólica de 42,16%; de etanol de acordo com delineamento feito por grupo de estudo no laboratório de Fisiologia Vegetal do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da UFC; na razão de 1:10 (bagaço seco: solução hidroalcoólica, parâmetros estabelecidos através de testes realizados com o bagaço. Em seguida, a mistura foi submetida a um banho ultrassônico com uma potência fixa de 135W por 37 min a uma temperatura controlada de  $30 \pm 1$  °C. Esse parâmetro foi estabelecido através de ensaios laboratoriais prévios (dados não apresentados). Após o banho, a mistura foi centrifugada a 4500 rpm/10 min e filtrado em papel de filtro Whatman nº 1 e o filtrado (extrato do CPC) foi concentrado em rotoevaporador e armazenado em vidro âmbar, congelado em freezer vertical a -18°C para análises posteriores.

#### 4.3. Caracterização química e físico-química do extrato não liofilizado de CPC

A caracterização do extrato foi realizada nos laboratórios do Departamento de Engenharia de Alimentos – UFC (Laboratório de Frutos e Hortaliças – Unidade Analítica), no

laboratório de Fisiologia Vegetal do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da UFC – Fortaleza e na Embrapa, Agroindústria Tropical.

#### 4.3.1. Análises físico-químicas do extrato não liofilizado de CPC

O extrato CPC foi caracterizado físico-quimicamente, de acordo com as seguintes análises de pH, que foi determinado utilizando-se pHmetro digital (Tecnal, TEC-5), onde avaliou-se todas as amostras em triplicata a uma temperatura de 26° C. O percentual de Sólidos Solúveis (SS) foi medido em refratômetro digital (Atago®, modelo Pocket PAL-1) onde foi colocado 500 µL do extrato no vidro de refração do medidor, tendo seu resultado expresso em °Brix. A acidez Titulável (AT) foi realizada misturando-se 5 g do extrato com 20 mL de água destilada e 2 gotas de fenolftaleína alcoólica a 1 %, cada amostra em triplicata, então fez-se a titulação até seu ponto de virada com NaOH 0,1M. A acidez foi expressa em g de NaOH a 0,1M/100 g<sup>-1</sup> do extrato. O percentual de umidade do extrato através de análise gravimétrica em estufa a 60° C até peso constante, realizado com 5 g em triplicata do extrato não liofilizado.

Todas essas análises foram realizadas em triplicata e segundo as metodologias descritas pela AOAC (2005).

#### 4.3.2. Caracterização de Compostos Fenólicos (CF)

Os compostos fenólicos totais foram determinados no extrato não liofilizado de CPC utilizando a metodologia de Obanda; Owuor; Taylor, (1997) adaptado a uma microplaca de 96 poços. A amostra foi testada para determinar a alíquota que demonstrasse leitura dentro da curva pré-estabelecida de ácido gálico. A mistura reacional continha 30 µL do extrato fenólico, 220 µL de água destilada, 250 µL de reagente Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich, Alemanha), 500 µL de carbonato de sódio (NaCO<sub>3</sub> 20%) e 500 µL de água destilada. A mistura foi agitada vigorosamente e, em seguida, deixada em repouso na ausência de luz por 30 min a 25 ° C. A absorvância das amostras foi medida utilizando leitor de microplacas (Synergyx Mx, Biotek, EUA) no comprimento de onda de 700 nm. O ácido gálico (grau de HPLC, Sigma- Aldrich) foi usado como padrão (Curva padrão de 0, 10, 20, 30, 40 2 50 µg.mL<sup>-1</sup>). E os resultados foram expressos em mg de ácido gálico equivalente (GAE) / 100 g (massa fresca ou massa seca).

#### 4.3.3. Método de sequestro do radical livre ABTS<sup>•+</sup>

A atividade antioxidante baseada no sequestro do radical ABTS foi estimada de acordo com procedimento proposto por Larrauri; Rupérez; Saura-Calixto, (1997) com modificações. A absorbância foi medida a 734 nm, utilizando um espectrofotômetro (Jenway 6705 UV / Vis). O radical ABTS<sup>+</sup> (2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)) foi gerado através da reação de uma solução de persulfato de potássio com a solução estoque de ABTS, mantida ao abrigo da luz por 16 h. Em seguida, a solução de ABTS obtida foi diluída com etanol até que a mesma obtivesse uma absorbância de  $0,70 \pm 0,05$  a 734 nm.

Para determinação da atividade antioxidante das amostras preparou-se três diluições do extrato de forma que demonstrasse uma absorbância dentro da curva padrão feita antes da análise. Então, 30 µL da mesma foram misturados a 3,0 mL do radical ABTS em tubos de ensaio. As análises foram realizadas em triplicata e após 6 min de reação, a leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro a 734 nm. A atividade antioxidante foi calculada utilizando uma curva padrão preparada de Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid) variando de 100 a 2000 µM e o resultado expresso em µM Trolox equivalente (TE) / g massa fresca ou massa seca.

#### 4.3.4. Método poder de redução do ferro – FRAP

A análise de atividade antioxidante, segundo o método de redução do ferro (FRAP), foi determinada de acordo com a metodologia apresentada por Pantelidis *et al.*, (2007).

Para caracterização do extrato, foram elaboradas três diluições da do mesmo testadas previamente para estabelecer as concentrações que estejam dentro da curva padrão de sulfato ferroso. Após isto, uma alíquota contendo 90µL de cada diluição foram misturadas a 270 µL de água destilada e 2,7 mL do reagente FRAP. O reagente FRAP, por sua vez, foi preparado a partir de 25mL de solução tampão acetato (0,3 M), 2,5 mL de solução TPTZ a 10 mM (Sal de 2,4,6-Tri-(2-Piridil)-1,3,5-Triazina 1:3 com Ácido p-Toluenosulfônico) e 2,5 mL de solução cloreto férrico (20 mM). A mistura foi homogeneizada em agitador de tubos e então submetidas a um aquecimento em banho-maria sob temperatura controlada (37 °C), por um período de 30 min. A absorbância foi medida a 595 nm, usando um espectrofotômetro (Jenway 6705 UV / Vis). A atividade antioxidante foi calculada a partir de uma curva padrão preparada de soluções de sulfato ferroso (500 µM – 1500 µM) e o resultado foi expresso em µM de sulfato ferroso / g massa fresca ou massa seca.

#### 4.3.5. Determinação do perfil fenólico do extrato de CPC por Cromatografia Líquida de Ultra Performance UPLC-QTOF-MS<sup>E</sup>

Previamente à análise, o extrato bruto foi seco por liofilização, sem adição do carreador, a fim retirar a umidade dessa amostra. Em seguida, pesou-se 50 mg de cada uma das amostras e adicionou-se 4 mL de hexano PA. A mistura foi homogeneizada em vórtex por 1 min e levada a banho ultrassônico por 20 min com potência fixa (135W). Posteriormente, adicionou-se 4 mL de solução hidroalcoólica (razão etanol/água de 7/3), homogeneizada novamente por 20 min em banho ultrassônico. Então centrifugou-se a 3000 rpm por 10 min para separar o material não dissolvido.

Para a realização da análise, retirou-se uma alíquota de 2 mL da fase inferior, moderadamente polar (etanol/água), e, então, esta foi filtrada utilizando um filtro de seringa politetrafluoretileno (PTFE) de 0,22  $\mu\text{m}$ . O material que permeou foi recolhido em frascos de vidro os quais foram encaminhadas para o UPLC. Mediu-se com pipeta automática, diretamente no *vial* de 2 mL, um volume de 900  $\mu\text{L}$  da solução de padrão interno (anthracene-9-carboxylic acid) a uma concentração de 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  (10 ppm). O que resultou em uma solução final de 1 ppm para ser levado para a cromatografia.

As análises LC-MS foram realizadas em sistema Acquity UPLC acoplado a analisadores de massa quadrupolo / TOF (Waters) equipados com uma fonte ESI operada no modo de ionização negativa (UPLC-ESI-qTOF). As separações cromatográficas foram realizadas utilizando uma coluna Waters Acquity UPLC BEH C18(150 mm x 2,1 mm x 1,7  $\mu\text{m}$ ) a 40° C. Utilizou-se água e acetonitrilo para a fase móvel, ambos adicionados com 0,1% de ácido fórmico. O gradiente variou de 2 a 95% de água em 15 min a um fluxo de 0,4 mL / min, e volume de injeção de 5,0  $\mu\text{L}$ . O gás de dessolvatação foi N<sub>2</sub> a 350 ° C num caudal de 350 L / h e uma temperatura da fonte de 120 ° C. A voltagem capilar foi ajustada para 3.200 V. As voltagens das energias de colisão / cone foram ajustadas em 6 eV / 15 V (baixo) e 30-50 eV / 30 V (alto) para conseguir uma fragmentação suficiente. Os espectros MS foram adquiridos em modo de ionização negativa entre 100 Da e 1180 Da no modo tandem MSE. O gráfico foi ajustado para melhor visualização do cromatograma, utilizando o software Origin Pro versão 8 (OriginLab Corporation, Northampton, MA, EUA).

## **2ª ETAPA: ENCAPSULAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DOS PÓS QUANTO AO POTENCIAL DE CF E AAT E CARACTERIZAÇÃO FÍSICA**

---

### **4.4. Preparo dos extratos de CPC com agentes carreadores e secos por liofilização**

Os extratos do CPC foram misturados com seus agentes carreadores maltodextrina e goma arábica. Estes foi adicionado a 100 mL de extrato, isoladamente, com malto e goma puras e separadas e com a mistura das duas, sob agitação constante até que a concentração de sólidos totais atingisse 20% em cada solução.

Foram realizados três ensaios, sendo um deles contendo 100% de maltodextrina (MD), o segundo contendo 100% goma arábica (GA) e o terceiro com a mistura dos dois materiais em uma proporção de 1:1 (m/m), maltodextrina/goma arábica (MG). Após estarem devidamente misturados, as soluções foram submetidas a um processo de liofilização. Para esse processo, as amostras foram previamente congeladas em câmara de congelamento Ultra-freezer modelo CL 90-40V (Brand Terroni Equipamentos Científicos) a -38 °C por 24 h em bandejas próprias do equipamento. Após esse período, as bandejas foram levadas ao Liofilizador LS3000 Terroni (Equipamentos Científicos) durante 24 h.

O teor de umidade dos pós foi determinado por método gravimétrico com estufa de circulação de ar forçado a 105 °C, onde pesou-se 5 g de cada amostra em triplicada e secou-se até peso constante, com resultado expresso em %. Os materiais liofilizados foram triturados e armazenados em embalagens metalizada (alumínio) à vácuo e ao abrigo da luz até análises adicionais sob refrigeração (4° C).

### **4.5. Determinação dos compostos fenólicos e atividade antioxidante após liofilização**

Para as determinação de CF e AA nos extratos liofilizados, estes foram diluídos em água destilada até seu percentual de sólidos de antes da secagem (20° Brix), o que foi descontado no cálculo. Para todos as análises onde mediu-se a absorbância (Compostos Fenólicos e Atividades Antioxidante) foi realizada a medida do controle positivo representado por solução de goma arábica e maltodextrina, nas proporções colocadas no extrato, para medição nos comprimentos de onda das análises realizadas.

As metodologias seguidas para a realização das análises de determinação de CF e AA foram as descritas nos itens 3.3.2, 3.3.3. e 3.3.4., respectivamente.

A capacidade de retenção dos CF e AAT dos pó foi realizado no extrato de CPC encapsulados, através da porcentagem de compostos fenólicos a atividade antioxidante das amostras após o encapsulamento retidos dentro da matriz, comparando-se com o extrato não liofilizado de CPC antes do processo de secagem, segundo Ballesteros *et al.*, (2017).

#### **4.6. Caracterização física e estrutural dos extratos de CPC liofilizados**

##### 4.6.1. Umidade e Atividade de água ( $A_w$ )

O teor de umidade foi determinado gravimetricamente por secagem em estufa a 105 ° C até peso constante. As pesagens foram realizadas de maneira consecutiva, realizadas num intervalos de 2 horas, até obter uma variação <0,3%. O teor de umidade foi expresso em termos percentuais (AOAC, 2005).

A Atividade de água ( $A_w$ ) foi determinada através do medidor de atividade de água (AQUALAB, serie 3TE Decagon, Pullman, USA), a 25 °C, segundo instruções do fabricante.

##### 4.6.2. Solubilidade

A solubilidade foi determinada de acordo com Cano-Chauca *et al.*, (2005) com algumas modificações. Uma amostra contendo 25 mg de pó foi misturada a 25 mL de água destilada em um Becker. A mistura foi homogeneizada e em seguida, foi colocada em um tubo e para uma posterior centrifugação a 3000 rpm por 10 min. Então, uma aliquota de 20 mL do sobrenadante foi transferida para uma placa, previamente tarada, para ser seca em estufa de circulação de ar, a 105°C até peso constante. A solubilidade foi calculada pela diferença de peso e expressa em porcentagem.

##### 4.6.3. Higroscopicidade

A higroscopicidade dos pós foi realizada de acordo com metodologia descrita por Cai; Corke, (2000) com algumas modificações. Placas petri contendo 1g de amostra foram acondicionadas em recipiente previamente ambientado, por 24 h, com uma solução saturada de NaCl para o estabelecimento da umidade relativa de 75%. As amostras foram mantidas a 25°C durante 90 min até sua pesagem. A higroscopicidade foi expressa (%).

#### 4.6.4. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Todos os pós foram avaliados morfológicamente através de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) foi realizado no Departamento de Física da Universidade Federal do Ceará (UFC) por meio do equipamento Inspect S50 – FEI. Os materiais foram montados sobre fitas adesiva dupla face e fixado em suporte metálico. As amostras foram cobertas com uma película muito fina (35 nm) de ouro (Au) aplicando uma tensão de aceleração de 10 kV com a imagem foi ampliada 300 x para melhor visualização.

#### 4.6.5. Difração de Raios-X

A difração de raios-X das amostras dos extratos encapsulados e também dos agentes carreadores não liofilizados foram realizadas no Laboratório de Raios-X na Central Analítica (Departamento de Física – UFC), obtidas por difratômetro de raios-X (modelo XPert Pro MPD – Panalytical). As fases cristalinas dos extratos de CPC encapsulados foram avaliados por Difração de Raios X (DRX). A radiação foi gerada a 25 mA e 35 kV. O ângulo de dispersão de  $2\theta$  de 10 a  $100^\circ\text{C}$  foi medido no tamanho do passo de 0,04 e 1 s de exposição em cada passo.

#### 4.6.6. Potencial Zeta

O potencial Zeta dos extratos liofilizados foram determinados utilizando um Zetasizer Nano® ZS 3600 (Malvern Instrument Ltda, UK). As amostras foram solubilizadas em água deionizada em concentração de 0,1% (m/v) ficando sob agitação por 24 horas. Mediu-se pelo menos 10 réplicas por amostra.

### **4.7. Análise colorimétrica do extrato antes e depois da encapsulação**

A coordenadas de cor foram determinadas através de um colorímetro (ColoQuest XE) da Hunter Lab, utilizando sensor de refletância da amostra, de acordo com o sistema CIELAB ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ). O parâmetro  $L^*$  indica luz (0 = preto e 100 = branco),  $a^*$  e  $b^*$  são coordenadas para verde ( $-a^*$ ) / vermelho ( $+a^*$ ) e azul ( $-b^*$ ) / amarelo ( $+b^*$ ). O ângulo de matiz ( $H^\circ$ ) indica a cor da amostra (0 ou 360 = vermelho, 90 = amarelo, 180 = verde e 270 = azul), enquanto Cromo (C) indica pureza ou saturação de cor. A variação na diferença total de cores foi

calculada através da equação dos pós encapsulados por liofilização. Esta análise foi realizado no extrato não liofilizado de CPC e nos extrato liofilizados com os diferentes agentes carreadores, sendo o extrato não liofilizado considerado no cálculo como a cor de referência para avaliar a diferença geral das cores dos pós com relação a ao extrato líquido. Na Equação 3 calcula-se a variação de cor entre os extratos de CPC encapsulados e o extrato líquido.

Equação 1

$$\Delta E = [(\Delta L *)^2 + (\Delta a *)^2 + (\Delta b *)^2]^{\frac{1}{2}}$$

$\Delta E$  = diferença geral de cores entre a amostra analisada e a cor de referência (padrão – extrato não liofilizado),  $\Delta L *$  = variação da coordenada L \*,  $\Delta a *$  = variação da coordenada a \* e  $\Delta b *$  = variação da coordenada b \*

#### 4.8. Bioacessibilidade *in vitro* por digestão simulada

A avaliação da biodisponibilidade foi realizada segundo o método descrito por Wang, Wang; He; Chen (2014). Para a amostra do extrato não liofilizado de CPC utilizou-se 5 g massa fresca do extrato líquido e para os extratos de CPC liofilizados utilizou-se 2 g de pó de cada um.

A análise consistiu em duas fases sequenciais: digestão gástrica e entérica. Na fase gástrica, o pH de amostras foi ajustado para 2,0 com HCl a 6 M, e em seguida uma solução de pepsina a 300 U/ mL foi adicionada. Essa mistura foi transferida para Erlenmeyere onde foi incubada a 37 ° C sob agitação a 100 rpm durante 2 horas finalizando a parte gástrica. Na fase entérica, o pH das amostras foi aumentado para 6,0 usando uma solução alcalina (NaOH 1 M). Bile e pancreatina foram adicionadas para atingir uma concentração de 10 g/L e de 1 g/L, respectivamente. Preparou-se a membrana de diálise (25 mL de água destilada e o número de gotas de NaOH responsável por modificar o pH da amostra do erlenmeyer para 7,5). Depois disso, o saco de dialise foi colocado dentro do erlenmeyer com a solução proveniente da digestão gástrica e as amostras foram incubadas a 37 ° C durante 2 h sob agitação para migração dos compostos de interesse do conteúdo do erlenmeyer para dentro do saco de dialise. Após esse período, o conteúdo do erlenmeyer foi descartado e o do saco de dialise foi armazenado sob congelamento para posteriores análises.

As amostras foram caracterizadas em termos de conteúdo de Compostos Fenólicos e atividade antioxidante pelo método de redução do ferro (FRAP). Os resultados foram expressos

em mg GAE/ 100 g massa e em percentagem de material bioacessível (%) para CF e em  $\mu\text{M}$   $\text{Fe}_2\text{SO}_4$ / g e percentual de material bioacessível (%) para a Atividade Antioxidante por FRAP.

#### **4.9. Análise estatística**

Todos os experimentos foram realizados, no mínimo, em triplicata ( $n = 3$ ). Os resultados foram avaliados utilizando análise de variância ANOVA e teste post hoc de Tukey para determinar as diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) utilizando o software estatístico “Statistica 10,0”, (StatSoft, 2010). Os gráficos foram elaborados pelo software Origin Pro versão 8 (OriginLab Corporation, Northampton, MA, EUA).

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 1ª ETAPA: CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO

#### 5.1. Caracterização físico-química, compostos fenólicos totais e atividade antioxidante do extrato não liofilizado de CPC

Na Tabela 2 podemos observar que o extrato CPC apresentou elevado conteúdo de umidade (95,08%), sendo constituído basicamente por água, uma pequena parte de sólidos totais e solúveis, além dos compostos fenólicos presentes. O pH encontrado foi de  $3,86 \pm 0,06$ , o conteúdo de sólidos solúveis (SS) de  $9,1 \pm 0,08^\circ$  Brix e a acidez titulável (AT) de  $0,21 \pm 0,02$  g/100 g de ácido cítrico. Esses valores se assemelham aos encontrados para padrão de identidade e qualidade do suco do caju com alto teor de polpa, que exige o mínimo de  $10^\circ$  Brix, e uma acidez Titulável mínima de 0,3 (BRASIL, 2000).

**Tabela 1.** Caracterização físico-química do extrato de CPC.

Análises	Extrato CPC
Umidade (%)	$95,9 \pm 0,17$
pH	$3,9 \pm 0,06$
AT (%)	$0,21 \pm 0,02$
SS (%)	$9,1 \pm 0,08$

Resultados expressos como a média  $\pm$  desvio padrão. Expressos em base úmida. AT: Acidez Titulável; SS (%): Sólidos Solúveis.

Os resultados inerentes ao conteúdo de compostos fenólicos totais do extrato de CPC (Tabela 3) aumentou de  $243,32 \pm 14,2$  (no bagaço úmido utilizado para a extração) para  $376,25 \pm 12,3$  mg GAE/100 g de massa seca, demonstrando que o processo de extração assistida por ultrassom auxiliou para melhorar a liberação desses compostos presentes no tecido da matéria-prima utilizada, obtendo relevante quantidade de compostos fenólicos totais, visto que foi superior ao valor encontrado para o suco por de Lima *et al.*, (2014) de 338,6 mg GAE/ 100 g, porém, menor que o encontrado por eles para a fibra de caju (566,1 mg GAE/ 100 g massa fresca), respectivamente. Observa-se que a fibra detém uma maior quantidade de compostos fenólicos totais, o que podemos supor que no coproduto doado pela empresa, havia pouca quantidade de casca e mais da fibra/polpa.

A aplicação do ultrassom demonstrou um alto potencial como auxiliador na extração dos compostos fenólicos. Pois sua aplicação aumenta significativamente o conteúdo de CF e a AA durante a extração (Tabela 2), justificando-se pelo fato da sonicação ser um processo que usa energia acústica e provoca cavitação nas células induzida em meio líquido de forma a causar danos na parede da célula e conseqüentemente seu rompimento liberando o conteúdo de seu interior (GUANDALINI; RODRIGUES; MARCZAK, 2018). Com isso, observou-se comportamento semelhantes com o uso do ultrassom para os compostos bioativos presentes em framboesas vermelhas, aumentando seu conteúdo de polifenóis em até 10%, (GOLMOHAMADI *et al.*, 2013).

**Tabela 2:** Conteúdo de compostos fenólicos e atividade antioxidante do extrato produzido a partir do coproduto do pedúnculo do caju (CPC)

Amostras	Compostos Fenólicos (mg AEG*/ 100 g)	Atividade Antioxidante Total	
		FRAP	ABTS
		( $\mu\text{M Fe}_2\text{SO}_4/\text{g}$ )	( $\mu\text{M Trolox}/\text{g}$ )
Coproduto	243,3 $\pm$ 14,2 <sup>b</sup>	55,7 $\pm$ 2,8 <sup>b</sup>	12,0 $\pm$ 1,5 <sup>b</sup>
Extrato CPC	376,2 $\pm$ 12,3 <sup>a</sup>	187,3 $\pm$ 2,3 <sup>a</sup>	70,3 $\pm$ 2,0 <sup>a</sup>

Resultados expressos como a média  $\pm$  desvio padrão. As unidades estão representadas em Massa Fresca (MF) para o coproduto e Massa Seca (MS) para o extrato CPC. As médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si ( $p < 0,05$ ).

\*AEG – Ácido Gálico Equivalente.

A atividade antioxidante total pelo método de ABTS encontrada no extrato de CPC foi de 70,35  $\mu\text{M Trolox}/\text{g}$  de massa seca (Tabela 3) e também aumentou significativamente em comparação com o valor observado para o bagaço, da mesma forma aumentou no bagaço de caju sonicado para melhorar a secagem desse material por Fonteles *et al.*, (2016) onde os valores também aumentaram depois da aplicação do ultrassom para AA pelo método de captura do radical ABTS. O aumento dessa atividade antioxidante se justifica quando sabe-se que a ela há compostos fenólicos no material, pois a presentes destes no extrato, aumenta a possibilidade de haver compostos fenólicos com atividade fitoquímica antioxidante. Logo que já foi observado que eles são um dos principais contribuintes para o conteúdo da atividade antioxidante (M'RABET *et al.*, 2017; QUEIROZ *et al.*, 2011; WOJDYŁO; OSZMIAŃSKI; LASKOWSKI, 2008). O mesmo foi observado quando se compara a atividade antioxidante pelo método de

redução de ferro (FRAP), onde encontramos um aumento de  $55,7 \pm 2,8$  (MF) para  $187,3 \pm 2,3$   $\mu\text{M Fe}_2\text{SO}_4/\text{g}$  (MS), valor este superior ao encontrado por Rufino *et al.*, (2010) de  $22,9$   $\mu\text{M Fe}_2\text{SO}_4/\text{g}$  ao avaliar a atividade antioxidante do caju *in natura* quando estudou 18 frutos tropicais não tradicionais no Brasil, indicando que não só o coproduto trabalhado neste estudo, como o extrato elaborado com o uso do ultrassom contém um maior potencial antioxidante que o próprio fruto inatura, provavelmente, devido ao fato de haver uma grande mistura de variedades e de todas as partes do pedúnculo, principalmente a fibra. Como pode comprovar, o estudo desenvolvido por De Lima *et al.* (2014), ao estudar os compostos antioxidantes das partes separadas do pedúnculo do caju, obtiveram elevada AA no resíduo (fibra) do pedúnculo do caju ( $51.1$   $\mu\text{M Trolox}/\text{g}$  massa fresca), semelhantes a encontradas neste estudo (Tabela 2) quando comparado ao seu suco ( $18.1$   $\mu\text{M Trolox}/\text{g}$  massa fresca), indicando que o coproduto é um material com grande potencial de compostos com elevada AA que podem ser melhor aproveitados pela indústria, já que hoje este não é o cenário brasileiro, com grandes números de desperdícios e perdas deste material, ou destinação para a ração de animais de grande porte.

Como visto (Tabela 2), a atividade antioxidante aumenta, conforme aumenta a quantidade de compostos fenólicos, como também, tanto o CF quanto a AA aumentaram depois do processo de sonicação, fato provavelmente ocasionado pelo rompimento da parede celular do fruto, aumentando a liberação destes compostos do interior das células, como já foi mencionado e mostrado por Fonteles *et al.*, (2016) que fez o modelo de superfície de respostas nos parâmetros de influência para avaliar a eficiência do ultrassom como amostra para aumentar a atividade antioxidante e conteúdo de compostos fenólicos do coproduto do processamento do caju, relatando um aumento para os dois.

Logo, quando há o aumento da capacidade antioxidante de forma diretamente proporcional ao aumento dos CF do material estudado, decorre da presença de alguns compostos característicos do caju que são conhecidos por suas características antioxidantes, como os fenóis monoméricos (MICHODJEHOUN-MESTRES *et al.*, 2009a) e taninos (MICHODJEHOUN-MESTRES *ET AL.*, 2009b) na película e na polpa do caju.

## 5.2. Perfil Fenólico do extrato não liofilizado de CPC por UPLC-QTOF-MS<sup>E</sup>

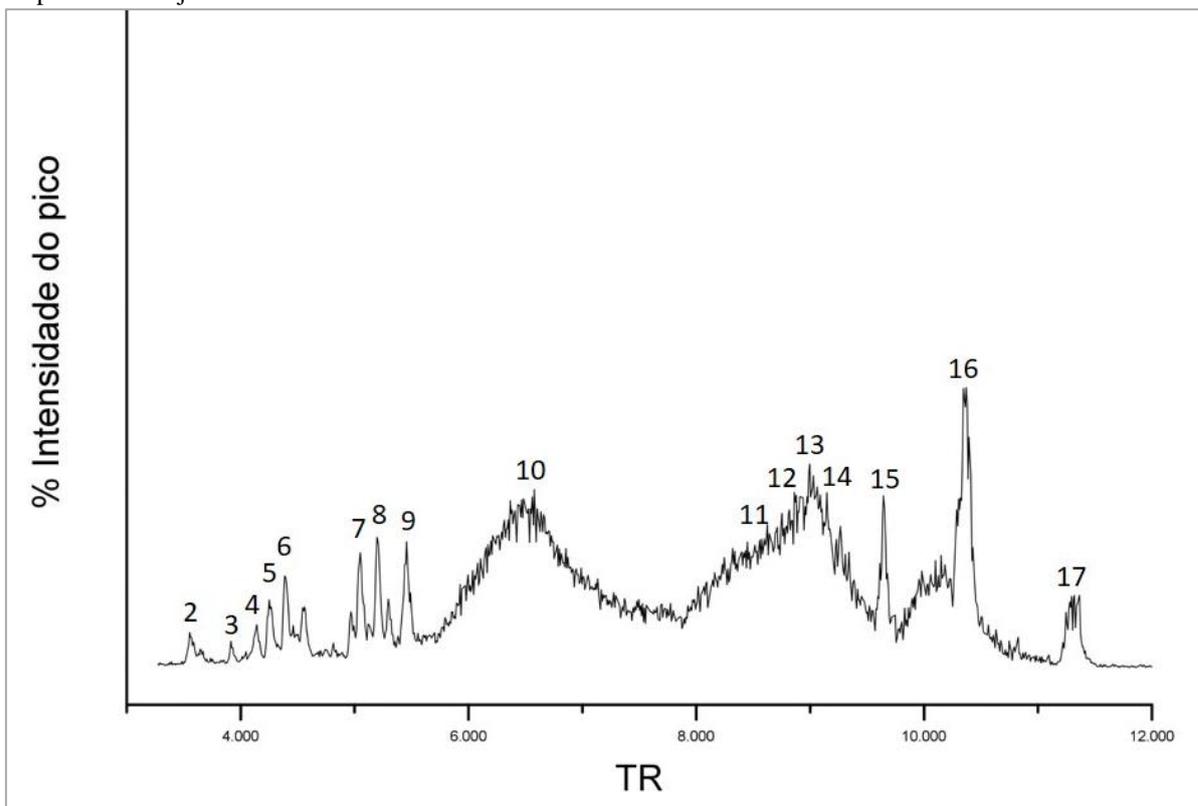
Foram identificados 17 picos cromatográficos no extrato não liofilizado de CPC por LC-MS mostrados no cromatograma de íons total (Figura 1) (Tabela 3). A identificação destes foi

realizada através da detecção de cada íon em um  $m/z$  específico para cada composto, padrão de fragmentação em  $m/z$  e comparação com os dados documentados na literatura.

O primeiro pico não foi identificado, sua massa não condiz com nenhum composto da literatura, mas pode ser associado ao pico de calibração do próprio equipamento, foi retirado da Figura 1 para melhor visualização dos picos relacionados aos compostos de interesse. Os picos 2, 4, 5, 7 e 15 16 foram identificados como ácido gálico (MICHODJEHOUN-MESTRES *et al.*, 2009a), quercetina, mirecetina-*O*-hexosídeo, derivado de mirecetina (BRITO *et al.*, 2007) e ácido anacárdico (15:3 e 15:1) (CUNHA *et al.*, 2017) por seus íons [M-H]-  $m/z$  de 169,0078; 301,0348; 479,0826; 341,2117 e 343,2273, respectivamente, e seus padrões de fragmentação com íons  $m/z$  de (125,0286; 331,0409; 465,0759; 342,2200 e 343,2273, respectivamente). Fragmentos de mirecetina e quercetina nos picos 6 e o 8 exibiram íons de  $m/z$  463 e 693, respectivamente (CUNHA *ET AL.*, 2017; MICHODJEHOUN-MESTRES, *et al.*, 2009). O composto 9 foi identificado como o ácido tri-hidroxi-octadecenoico cujo foi identificado na fibra do caju por (LOPES *et al.*, 2018). Quercetinas e seus derivados foram identificadas também em outros extratos alcoólicos de extração destes compostos, sendo os fenólicos mais abundantes nos extratos das folhas de *Corchorus olitorus* L. Porém estes compostos, encontrados principalmente em frutas e vegetais, podem desempenhar atividades vitais, exibindo a capacidade de proteger contra doenças cancerosas, cardiovasculares e neurodegenerativas (ANAND DAVID; ARULMOLI; PARASURAMAN, 2016; BEN YAKOUB *et al.*, 2018). Esses compostos geralmente estão associados a atividade antioxidante dos frutos nos quais estão presentes.

O padrão de fragmentação do pico 9 permitiu a identificação do ácido graxo tri-hidroxiocetadecenoico através de dados reportados na literatura (Farag, *et al.*, 2015). Os picos 11, 12, 13, 14 foram identificados como 4-hidroxifenil-6-cafeoil- $\beta$ -L-glicosídeo que se diferenciam pela ausência de duplas ligações (Cunha, *et al.*, 2017) e está associado a atividade antimicrobiana contra os micro-organismos *Corynebacterium glutamicum* e *Staphylococcus aureus* (NUNEZ; FACHIN-ESPINAR; SOUZA, 2016). Já o pico 17 possui não pode ser identificado através de seus íons, com uma  $m/z$  de 301,2531 e sem fragmentos observados.

**Figura 1.** Cromatograma UPLC-QTOF-MS em modo negativo do extrato fenólico do coproduto do processamento do pedúnculo caju.



Sabe-se que a quercetina 3-*O*- galactosídeo, miricetina e quercetina foram identificadas inicialmente em estudo de variedade indiana por Satyanarayana *et al.*, (1978). Michodjehoun-Mestres *et al.*, (2009) também identificaram ácido gálico, mirecetina, monohexosídeos de quercetina ao investigarem os fenóis monoméricos do caju presentes na pele e a polpa do pedúnculo de genótipos de clones de caju. Logo, é perceptível que os compostos presentes no pedúnculo do caju *in natura*, são observados em seu coproduto, mesmo após processos como despolpamento, através da elebração do extrato etanólico deste, tornando significativa a necessidade do aproveitamento deste material a fim de utilizar o potencial antioxidante dos compostos listados (Tabela 3), seja para enriquecer alimentos que não tem essa capacidade ou para prevenir a oxidação de outros alimentos, como produtos cárneos embutidos ou embalagens comestíveis para frutas.

**Tabela 3.** Cromatograma UPLC-QTOF-MS, modo negativo, de extrato etanólico do Coproduto do Processamento do Caju (CPC).

Nº do pico	Rt min	[M-H] <sup>-</sup> Observada	[M-H] <sup>-</sup> Calculada	Fragmentos Íons (MS/MS)	Fórmula Empírica	Ppm (erro)	Nome do Composto	Referências
1	2.33	194.0448	195.0446	129,0184	C <sub>13</sub> H <sub>7</sub> O <sub>2</sub>	1.0	Desconhecido	-
2	3.55	169.0087	169.0078	125,0286; 315, 0445	C <sub>7</sub> H <sub>5</sub> O <sub>5</sub>	0.0	Ácido Gálico	Michodjehoun-Mestres <i>et al.</i> , 2009a
3	3.91	443.1906	443.1917	377,0703; 483.0807;323,1325	C <sub>21</sub> H <sub>31</sub> O <sub>10</sub>	0.0	Derivado de Malvinidina	Cunha <i>et al.</i> , 2017
4	4.05	301.0344	301,0348	331,0409; 285,0515	C <sub>15</sub> H <sub>9</sub> O <sub>7</sub>	0.0	Quercetina	Brito <i>et al.</i> , 2007; Michodjehoun-Mestres <i>et al.</i> , 2009a
5	4.25	479.0820	479.0826	465,0759; 519,2315	C <sub>21</sub> H <sub>19</sub> O <sub>13</sub>	0.4	Miricetina- <i>O</i> -hexosídeo	Brito <i>et al.</i> , 2007; Michodjehoun-Mestres <i>et al.</i> , 2009a
6	4.39	463.0871	463.0877	464,0909; 437,2316; 316,0215	C <sub>21</sub> H <sub>19</sub> O <sub>12</sub>	0.1	Isômero de Myricetina- <i>O</i> -rhamnoside	Brito <i>et al.</i> , 2007; Michodjehoun-Mestres <i>et al.</i> , 2009a
7	5.05	609.1276	609.1244	610,1295; 593,1323	C <sub>30</sub> H <sub>25</sub> O <sub>14</sub>	5.3	Derivado de Miricetina	-
8	5.20	593.1293	523.1354	594,1384; 595,1448	C <sub>23</sub> H <sub>29</sub> O <sub>18</sub>	0.0	Derivado de Quercetina	-
9	5.46	329.2305	329.2328	353,2031; 211,1311	C <sub>18</sub> H <sub>33</sub> O <sub>5</sub>	3.6	Ácido Trihydroxy-octadecenoico	Farag <i>et al.</i> , 2015
10	6.48	325.1219	325.1862	326,1829; 281,2510	C <sub>14</sub> H <sub>29</sub> O <sub>8</sub>	1.5	Não identificado	-
11	8.45	339.1992	339.1960	340,1949; 279,2309	C <sub>22</sub> H <sub>27</sub> O <sub>3</sub>	3.2	4-hidroxifenil-6-cafeoil-β-L-glicosídeo	Cunha <i>et al.</i> , 2017

<b>12</b>	8.86	339.1979	339.1960	341,2026; 279,2336	C <sub>22</sub> H <sub>27</sub> O <sub>3</sub>	5.6	4-hidroxifenil-6-cafeoil-β-L-glicosídeo	Cunha <i>et al.</i> , 2017
<b>13</b>	9.00	339.1979	339.1960	341,2026; 279,2336	C <sub>22</sub> H <sub>27</sub> O <sub>3</sub>	5.6	4-hidroxifenil-6-cafeoil-β-L-glicosídeo	Cunha <i>et al.</i> , 2017
<b>14</b>	9.15	339.1979	339.1960	341,2026; 279,2336	C <sub>22</sub> H <sub>27</sub> O <sub>3</sub>	5.6	4-hidroxifenil-6-cafeoil-β-L-glicosídeo	Cunha <i>et al.</i> , 2017
<b>15</b>	9.64	341.2139	341.2117	342,2200; 295,2162	C <sub>22</sub> H <sub>29</sub> O <sub>3</sub>	2.2	(15:3)-Ácido Anacardico	Cunha <i>et al.</i> , 2017
<b>16</b>	10.37	343.2298	343.2273	229,2366	C <sub>22</sub> H <sub>31</sub> O <sub>3</sub>	2.5	(15:1)-Ácido Anacardico	Cunha <i>et al.</i> , 2017
<b>17</b>	11.36	301.2524	301.2531	-	C <sub>21</sub> H <sub>33</sub> O	2,1	Não identificado	-

## **2ª ETAPA: CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO LIOFILIZADO QUANTO AO POTENCIAL DE CF E AAT E CARACTERIZAÇÃO FÍSICA**

---

### **5.3. Compostos Fenólicos Totais e Atividade Antioxidante (AAT) dos extratos de CPC Encapsulados**

O conteúdo de compostos fenólicos presentes nos extratos após a liofilização diminuiu significativamente se comparado ao extrato não liofilizado de CPC (Tabela 3), com valores de  $227,4 \pm 4,7$ ,  $209,0 \pm 6,5$  e  $216,1 \pm 8,3$  mg GAE/ 100 g de massa seca para MD, GA e MG, respectivamente, porém, não diferiram entre si, demonstrando que tanto a maltodextrina quanto a goma arábica foram igualmente eficazes ao se unirem e preservarem aos compostos. Além disso, foi constatado que o material de parede não influenciou na leitura dessas análises, pois não apresentaram absorvâncias para as análises de CF e AA nas concentrações utilizadas nas amostra, ou seja, soluções com 11° Brix de material de parede.

Os polifenóis de amostras de bayberry foram avaliados por Fang; Bhandari, (2011) após sua secagem por atomização utilizando maltodextrina DE 10 como carreador, observando uma diminuição em seu valor de 307 para  $294,8 \pm 5,1$  mg GAE/ 100 g de MS da amostra, atribuindo a perda à temperatura de processo, porém, como foi observado no presente estudo, esta perda pode estar relacionada também a outros fatores, já que a liofilização não faz uso de altas temperaturas, podendo-se atribuir a perdas durante o processo, já que não há a formação de uma cápsula como é observado ao sercar-se no spray-dryer (REZENDE; NOGUEIRA; NARAIN, 2018).

As duas análises de atividade antioxidante foram coerentes entre si, porém, mostraram comportamento diferente se relacionados ao conteúdo de CF (Tabela 3). Observa-se o maior valor de AA para o extrato não liofilizado em ambos os métodos, diferindo estatisticamente ( $p < 0,05$ ) das demais amostras. Já entre os extratos liofilizados, o menor valor foi encontrado para a amostra GA,  $108,2 \pm 1,8$   $\mu\text{M Fe}_2\text{SO}_4/\text{g}$  e  $55,6 \pm 0,4$   $\mu\text{M Trolox}/\text{g}$  massa seca para a AA pela redução do ferro e pela captura do radical ABTS, respectivamente (Tabela 3) diferindo das demais. Observando os valores maiores para as amostras MD, GA em que foram utilizados os agentes carreadores individualmente, não havendo diferença entre elas. Podendo-se admitir, neste caso, que a maltodextrina e a goma arábica são mais eficazes na proteção de compostos fenólicos como agentes carreadores se utilizadas individualmente nas condições realizadas neste trabalho.

Ao utilizar matrizes de maltodextrina e goma arábica para encapsular antoxianinas de pétalas de açafraão, Mahdavee Khazaei *et al.*, (2014) também não observaram diferenças significativas entre os dois agentes carreadores utilizados secos por liofilização, relatando os materiais não apresentaram diferenças na proteção da antocianina e nem houve diminuição ( $p < 0,5$ ) desta no armazenamento. Já Ballesteros *et al.*, (2017), ao encapsular os compostos fenólicos do café torrado utilizando maltodextrina e goma arábica, verificou um melhor resultado no conteúdo de CF e AA para as amostras que continham apenas maltodextrina como material de parede. O que não foi observado neste estudo, já que não houve diferença entre as amostras, podendo-se supor que os dois materiais utilizados conseguiram unir-se aos compostos presentes no extrato de forma a evitar sua degradação com a mesma eficácia.

**Tabela 4:** Conteúdo de compostos fenólicos e atividade antioxidante total dos extratos de CPC liofilizados e não liofilizado utilizando diferentes agente adjuvantes.

Amostra	CF (mg GAE/100 g MS)	Atividade Antioxidante	
		FRAP ( $\mu\text{M Fe}_2\text{SO}_4/\text{g MS}$ )	ABTS ( $\mu\text{M Trolox/g MS}$ )
MD	227,4 $\pm$ 4,7 <sup>b</sup>	178,0 $\pm$ 2,5 <sup>c</sup>	60,7 $\pm$ 0,4 <sup>c</sup>
GA	209,0 $\pm$ 6,5 <sup>b</sup>	108,2 $\pm$ 1,8 <sup>b</sup>	55,6 $\pm$ 0,4 <sup>b</sup>
MG	216,1 $\pm$ 8,3 <sup>b</sup>	168,1 $\pm$ 3,7 <sup>c</sup>	60,9 $\pm$ 0,2 <sup>c</sup>
EX	376,2 $\pm$ 12,3 <sup>a</sup>	229,9 $\pm$ 1,4 <sup>a</sup>	70,3 $\pm$ 2,0 <sup>a</sup>

Resultados expressos como a média  $\pm$  desvio padrão. Extratos liofilizados e extrato não liofilizado, as colunas que apresentarem mesma letra minúscula não apresentam diferença estatística entre as amostras para ( $p \leq 0,05$ ). MD: Extrato + Maltodextrina; GA: Extrato + Goma Arábica; MG: Extrato + Mistura de Malto e Goma (1:1 m/m); MS: médias expressas em base seca.

#### 5.4. Umidade, atividade de água, solubilidade e higroscopicidade dos extratos de CPC liofilizados

Pode-se observar uma redução da umidade de 95% no extrato não liofilizado para cerca de 6% no extrato liofilizado como pode-se ver na Figura 4A, demonstrando que a liofilização resultou em partículas com baixa umidade, reduzindo a uma característica oxidante. (AKHAVAN *et al.*, 2016). Os agentes carreadores também apresentaram influência na secagem, pois MD obteve os menores valores para umidade e conseqüentemente para atividade de água (5,7%, 0,098) (Fig 3A e B), já que esses parâmetros estão correlacionados. Entretanto, MD não diferiu estatisticamente de GA, indicando que ambos os materiais tiveram um efeito positivo quando usadas separadamente; pois juntas, (MG), apresentaram o maior valor de

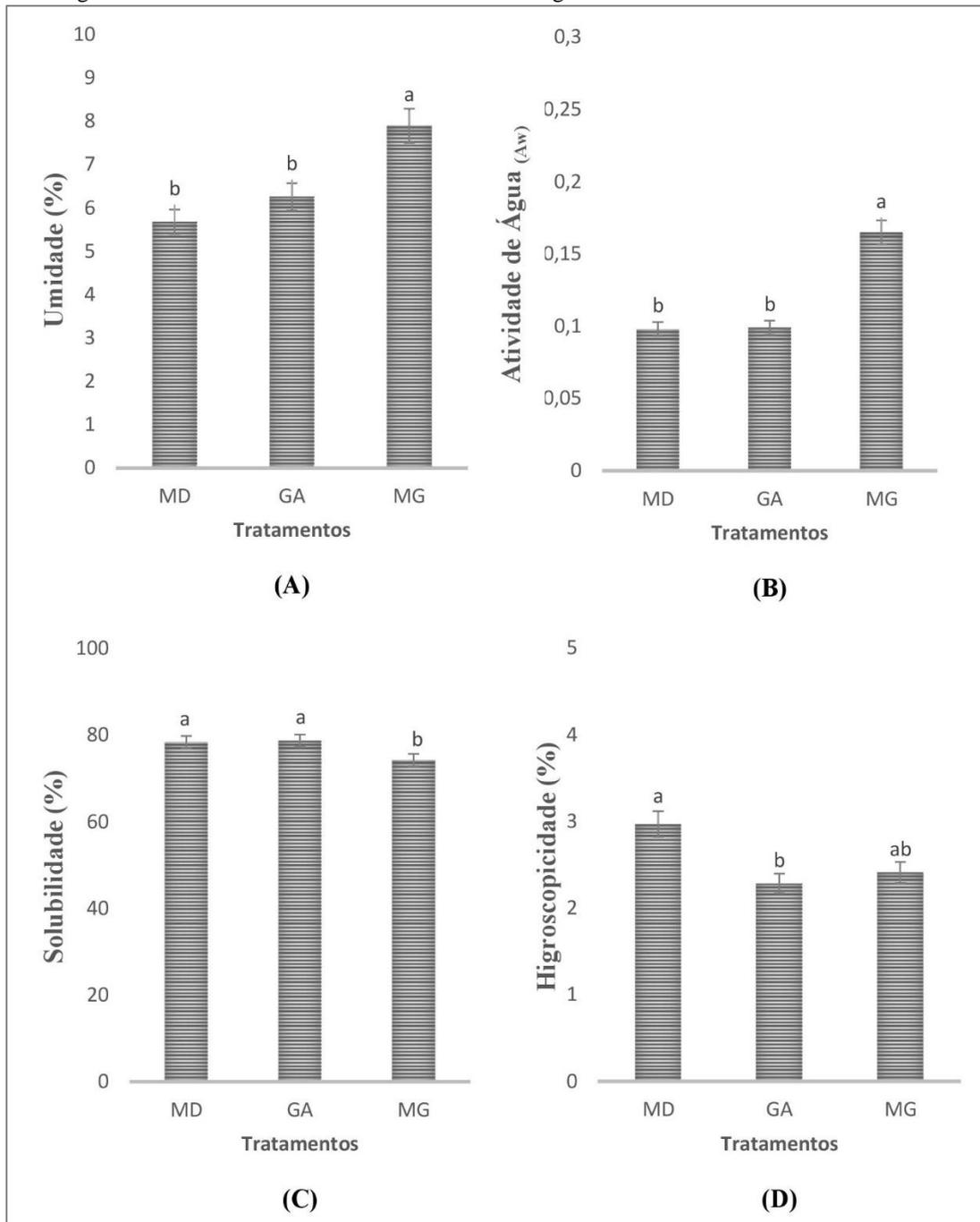
umidade e  $A_w$  (7,91%, 0,175, respectivamente) dentre as três amostras, diferindo das demais ( $p < 0,05$ ). Esses resultados estão de acordo com os encontrados por Suravanichnirachorn *et al.*, (2018), que também encontraram melhores valores para maltodextrina e goma arábica ao encapsular antocianinas naturais, e ainda, em comparação com a gelatina, os dois carreadores utilizados nesse trabalho produziram pós com as menores umidades, melhorando as características físicas destes.

Os extratos liofilizados resultaram em uma alta solubilidade, variando de 74 a 78% (Figura 3C) onde as amostras com MD e GA não apresentaram diferença significativa entre si ( $p < 0,05$ ), porém diferiram de MG, com esta última exibindo a menor solubilidade em água dentre elas, indicando que a mistura dos dois agentes carreadores acarreta um menor potencial de reidratação do produto final. Observando-se assim, melhores respostas quando estes são utilizados separadamente para este parâmetro. Esses resultados estão de acordo com os encontrados por (Saikia *et al.*, 2015), o que indica que os pós secos por liofilização podem ser reconstituídos instantaneamente em água a temperatura ambiente, uma vantagem no caso de sua utilização como um ingrediente alimentar ou mesmo com aditivo incorporado a matriz de algum alimento. (Akhavan Mahdavi *et al.*, 2016). Porém, a alta solubilidade já é uma característica inerente tanto na maltodextrina quanto na goma arábica, como foi abordado na revisão do trabalho, pois são bastante hidrofílicas, a maltodextrina é um polímero de glicose, que sua junção forma o dímero maltose, que é facilmente solúvel em água (CARVALHO, 2017). Da mesma forma, a goma arábica é um polímero hidrofílico capaz de absorver grande quantidade de água (GEROLA *et al.*, 2016).

A higroscopicidade (Fig. 3D) também apresentou resultados favoráveis observados em produtos desidratados, com valores abaixo de 3%, muito abaixo dos 13% encontrado por Yamashita *et al.*, (2017) os quais observaram em seu estudo que através da liofilização, obtêm-se partículas maiores do que materiais secos por pulverização, ou seja, com uma menor área superficial se comparados a estes pós, diminuindo bastante a absorção de água pela amostra liofilizada, pois quanto maior a estrutura do pó, menor sua área superficial e maior sua resistência ao armazenamento, sem grandes absorções de umidade pela amostra, o que acarreta em uma aglomeração mais lenta as partículas, evitando que o produto perca sua mobilidade e aparência seca e o principal, que são suas funções biológicas, visto que os CF podem oxidar-se com o aumento da umidade ao seu redor. Pois quanto menor o valor higroscópico, menor será a probabilidade de oxidação dos compostos presentes nas amostras (PAIM *et al.*, 2016). A amostra apenas com MD apresentou os maiores valores para higroscopicidade, justificando-se ao apresentar o menor percentual de umidade dentre as amostras liofilizadas, pois, segundo

Tonon; Brabet; Hubinger, (2010) quanto menor o valor de umidade da amostra, mais rápida é a absorção de umidade do ambiente por esta, devido ao equilíbrio osmótico, por isso faz importante ressaltar a relevância do uso de embalagens impermeáveis para seu armazenamento.

**Figura 2.** Propriedades físicas do pó encapsulado com diferentes agentes carreadores. MD: maltodextrina; GA: goma arábica; MG: maltodextrina + goma arábica (1:1). Resultados expressos em média  $\pm$  desvio padrão. Os resultados seguidos da mesma letra nas colunas não diferem significativamente entre si.



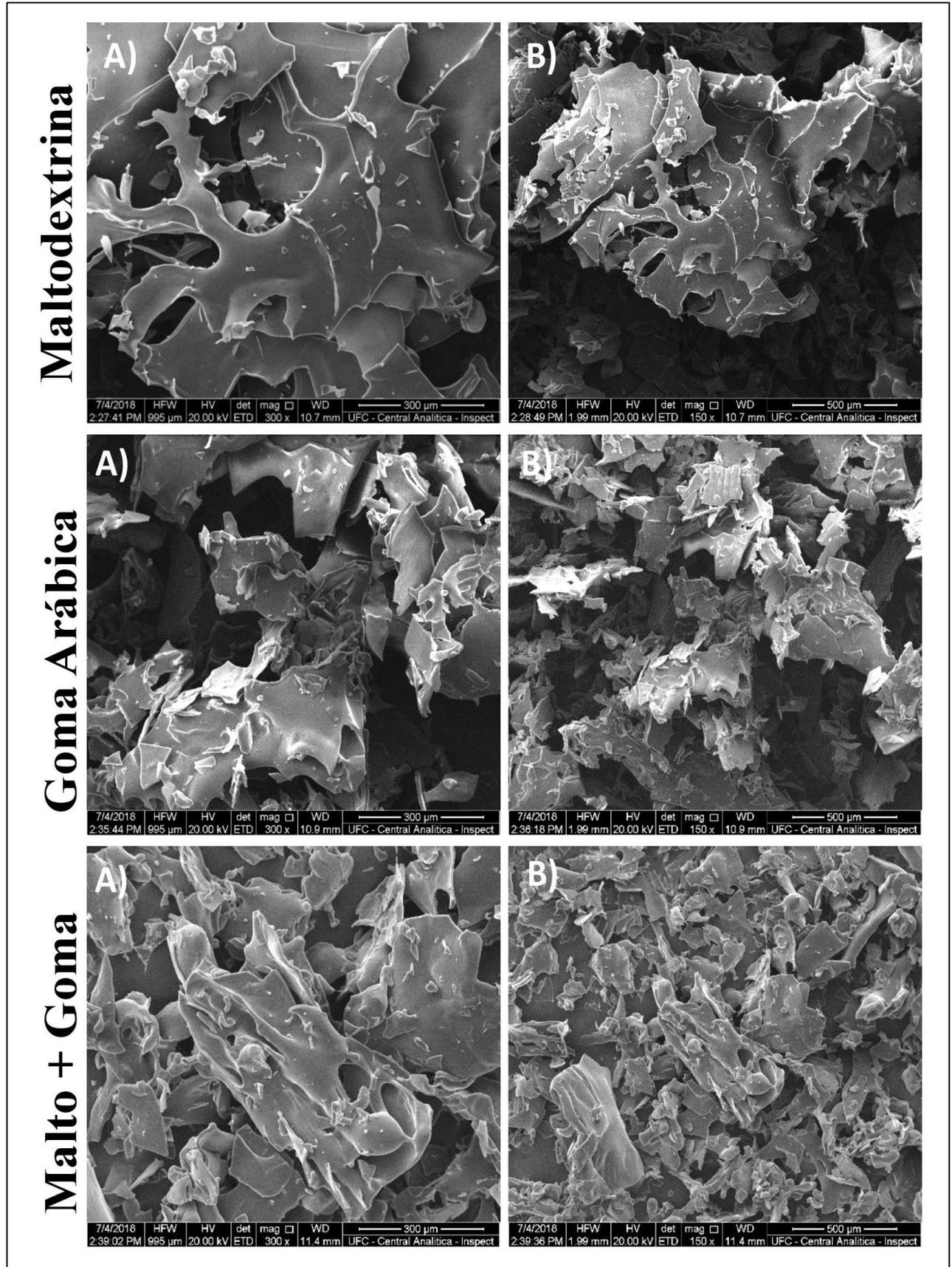
### 5.5. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Na Figura 3 A (aproximação de 300x) e B (aproximação de 150x) são apresentados os resultados obtidos pelo MEV para os extratos após a liofilização, onde pode-se observar que o processo de liofilização resultou em partículas com tamanhos irregulares em forma de placa, semelhante a vidro quebrado e bastante porosas, indicando mudança na estrutura original dos agentes carreadores utilizados, que são redondos e lisos (BALLESTEROS *et al.*, 2017). Segundo Ballesteros *et al.*, (2017) que encapsularam um extrato de polifenóis a partir da borra do café onde secaram por liofilização e spray drying, melhores resultados foram registrados para as amostras liofilizadas quanto à retenção do conteúdo de polifenóis e maior atividade antioxidante, justificando que o material de parede de incorpora aos compostos presentes no extrato.

Dessa forma, a utilização da maltodextrina e da goma arábica, juntamente com a liofilização, este material seco promove a proteção dos compostos bioativos em suas estruturas, comprovado nos resultados observados para conteúdo de CF e AA. Pois mudanças morfológicas dos agentes carreadores durante a secagem podem alterar o poder de encapsulação, pois promove variação do tamanho de sua área superficial levando à degradação mais rápida ou mais lenta dos compostos ativos encapsulados nessas matrizes (MAHDAVEE KHAZAEI *et al.*, 2014).

Estudos demonstraram que a liofilização proporciona mudanças na morfologia da partícula pois retira a água sem o uso de temperatura criando estruturas com diferentes tamanhos, típico da secagem por essa técnica (DAG, KILERCIOGLU; OZTOP, 2017, MAHDAVEE KHAZAEI *et al.*, 2014, SAIKIA; MAHNOT; MAHANTA, 2015). Os autores Rocha-Parra *et al.*, (2016), ao liofilizarem partículas de vinho tinto utilizando os mesmos agentes encapsulantes desse estudo, observaram semelhante morfologia e atribuíram essa formação de placas irregulares à trituração do material após a secagem. Rezende; Nogueira; Narain (2018), também observaram que as partículas dos extratos da polpa e do resíduo de acerola (*Malpighia emarginata* DC) liofilizadas apresentaram sua morfologia com estruturas indefinidas e porosas, além de maior tamanho quando comparadas as obtidas por atomização.

**Figura 3.** Microscopia eletrônica de varredura para os extratos encapsulados de CPC com ampliação de 300x (A) e 150x (B).



## 5.6. Potencial Zeta

O potencial zeta variou numa faixa de  $-25 \pm 0,9$  mV para MG,  $-26,3 \pm 0,4$  mV para MD até  $-28,3 \pm 0,52$  mV para a GA. O extrato liofilizado com goma arábica (GA) foi o único que diferiu significativamente das demais amostras apresentando maior potencial zeta ( $-28,3 \pm 0,52$  mV). Esses valores mostram as cargas da superfície das amostras, o que determina sua possível interação com outros componentes do alimento. Tem sido relatado que valores de potencial zeta de  $\pm 30$  mV representam alta estabilidade de partículas dispersas (HOYOS-LEYVA *et al.*, 2017). Indicando que todas as amostras apresentadas neste trabalho resultaram em partículas com alta estabilidade e com grande carga superficial eletronegativa (MÜLLER; JACOBS; KAYSER, 2001).

## 5.7. Difractometria de raios-X

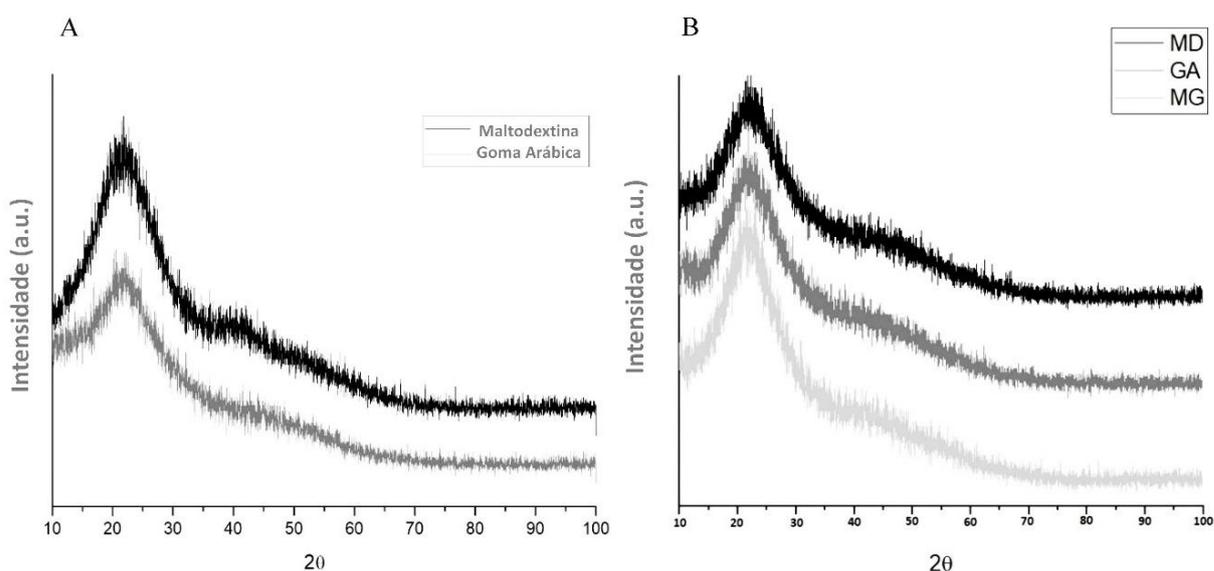
Os resultados observados na análise de DRX dos extratos de CPC liofilizados revelaram um baixo grau de cristalinidade nas amostras, independente do material de parede utilizado (Figura 4B). É percebido nos difractogramas um grande alargamento dos picos, com uma amplitude em torno de  $2\theta = 15^\circ$  apresentando um fundo amorfo até cerca de  $2\theta = 40^\circ$  (Figura 4B), indicando que os materiais obtidos são, predominantemente, amorfos.

Para estruturas alimentares, o estado amorfo confere uma característica mutável ao material, ou seja, este pode mudar de acordo com a temperatura e a pressão que recebe, não estando assim em equilíbrio, como é o caso do estado cristalino, sofrendo alterações de acordo com as condições do meio em que se encontra, alterando sua textura e composição quanto concentração de água presente nas amostras e condições físicas do armazenamento, como vapor de água, fator este que pode dificultar na conservação dos materiais liofilizados, portanto, a utilização de embalagens impermeáveis é um fator indispensável para manter as características deste pó. Além disto, uma baixa umidade é de fundamental importância para manter estruturas amofas o mais estáveis possíveis, assim como a encontrada aqui para todas as amostras secas.

Os resultados, condizem com os valores encontrados por Ballesteros *et al.*, (2017), que encapsularam polifenóis extraídos da borra do café através de liofilização e secagem por pulverização com os mesmos agentes carreadores utilizados nesse estudo, observando que regiões cristalinas muito pequenas originam estes picos amplos (Figura 4), enquanto que regiões cristalinas maiores se apresentam em picos mais finos e melhor definidos. além de sua baixa intensidade.

Verificou-se também que o comportamento apresentado pelos extratos encapsulados (Figura 4B) não diferiu daqueles apresentados pelos agentes encapsulantes isolados (Figura 4A), indicando que o grau de cristalinidade de produtos liofilizados estão relacionados exclusivamente ao material de parede utilizado para a proteção dos compostos. O mesmo comportamento foi observado por Da Fonseca Machado *et al.*, (2018) ao encapsularem um extrato de amora-preta rico em antocianinas através da liofilização e secagem por pulverização, observando o mesmo padrão para todas as amostras, independente do método de secagem, demonstrando que a técnica não afeta o estado sólido do polímero, mas que o material de parede que proporciona as diferenças estruturais em pós encapsulados.

**Figura 4.** Difractogramas de raios-X (DRX) dos agentes carreadores (A) e dos extratos encapsulados e secos por liofilização (B). MD: Extrato + Maltodextrina; GA: Extrato + Goma Arábica e MG: Extrato + Malto + Goma (1:1 m/m).

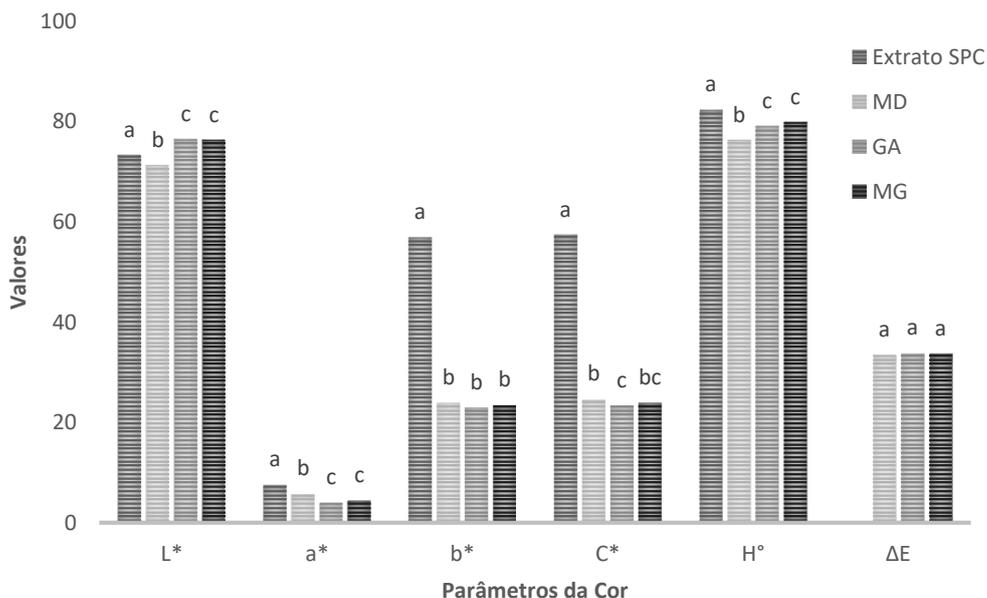


## 5.8. Análise Colorimétrica

Os resultados dos parâmetros de cor estão expresso na Figura. 5 para os extrato de CPC não liofilizado, tido como padrão para o cálculo do  $\Delta E$ , e para os pós encapsulados por liofilização. A diferença na luminosidade é caracterizada pelos valores de  $L^*$ , onde pode-se observar que o extrato não liofilizado diferiu das demais amostras a 5% de probabilidade após o processo de encapsulação, evidenciando que a luminosidade dependeu principalmente do material de parede utilizado para o encapsulamento. A amostra com maltodextrina (MD) resultou em um pó mais escuro do que o extrato não liofilizado e das amostra com goma arábica

(GA) e a com a mistura dos dois materiais (MG), que foram os mais claros sem diferenças significativas entre si, embora o maior valor de  $L^*$  tenha sido da amostra GA. Essa tendência na luminosidade do extrato e dos pós foi observada por Dag *et al.*, (2017) ao encapsularem suco de amora silvestre com maltodextrina, goma arábica, alginato e pectina, porém nesse estudo todos os pós tiveram uma maior luminosidade que o suco, inclusive o com maltodextrina.

**Figura 5.** Parâmetros de cor ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $C^*$ ,  $H^\circ$  e  $\Delta E$ ) do extrato de CPC e dos pós encapsulados por liofilização.



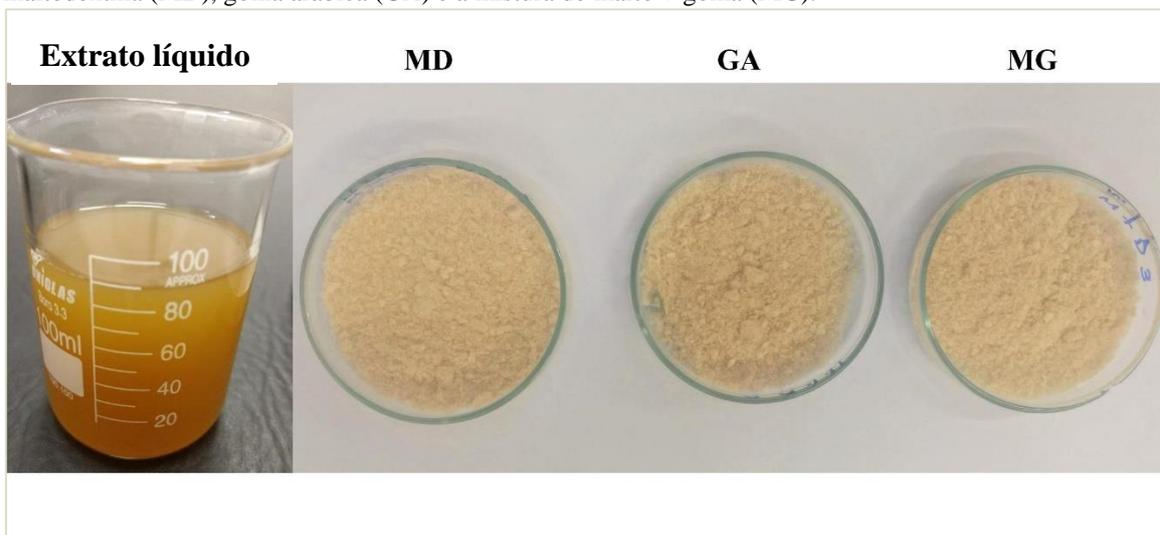
MD: Extrato liofilizado com a maltodextrina como material de parede; GA: Extrato liofilizado com a goma arábica como material de parede; MG: extrato liofilizado com uma mistura de maltodextrina + goma arábica (1:1) m/m. Os valores são expressos como média  $\pm$  desvio padrão. Médias seguidas pela mesma letra nas barras não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Para os parâmetros  $a^*$  e  $b^*$ , todos os valores obtidos se encontram no primeiro quadrante ( $+a^*$ ,  $+b^*$ ), o que indica tendência para vermelho e amarelo. Sendo o extrato não liofilizado de CPC a amostra com maior intensidade dessas cores, pois obteve os maiores valores para essas cores, diferenciando-se significativamente das amostras encapsuladas, principalmente com relação ao  $b^*$ , indicando uma forte cor amarela. A amostra MD também apresentou diferença estatísticas dos demais pós, com um valor mais elevado para  $a^*$ , porém, com relação a cor amarela, estes não diferiram entre si, embora tenham diminuído mais da metade do valor da tendência amarela, indicando que os agentes carreadores também retiveram a cor do extrato como pode ser observado na Figura 6.

Os valores do atributo de mudança de cor  $\Delta E$  dos pós não variaram significativamente entre si ( $p \leq 0,05$ ), com uma média de 33,71 que é um valor alto indicando uma grande diferença da cor dos pós encapsulados com relação a cor de referência (extrato não liofilizado). Acredita-se que essa mudança na cor está relacionada ao material de parede utilizado e ao processo de secagem, clareando a amostra, pois os materiais de revestimento tendem ao branco e quando absorvem a cor do extrato, diminuem a intensidade da cor, como indica a tendência dos extratos liofilizados ao clarear e adquirir um tom mais suave de amarelo se comparado ao extrato não liofilizado que foi utilizado como valor de referência, como é indicado pelos valores encontrados para  $a^*$  e  $b^*$ . De acordo com Rezende *et al.*, (2018), esse valor alto de  $\Delta E$  é apreciável pois indica que o extrato em pó mantém sua cor, porém a diferença geral da cor precisa se apresentar entre 0-1,5 para ser considerada pequena.

O valor de Croma que é indica a saturação da amostra, ou pureza da cor foi muito elevado no extrato não liofilizado e diminuiu depois da encapsulação, devido ao processo de encapsulação que confere ao pó uma característica porosa, principalmente quando o processo de secagem é a liofilização, que produz partículas com mais poros do que se fosse seco por pulverização, como evidencia (KUCK; NOREÑA, 2016). Já os valores do ângulo Hue que demonstra a tonalidade da cor, mostraram-se próximo ao ângulo de  $90^\circ$ , o que indica uma tonalidade amarela (KARAASLAN; TUNÇER, 2008), coerente com os resultados demonstrados pelos demais parâmetros, resultando em um valor mais alto para o extrato não liofilizado que teve redução significativa depois da encapsulação, com um valor mais baixo para MD que diferiu ( $p \leq 0,05$ ) de GA e MG, e estes últimos com resultados estatisticamente iguais, seguindo a tendência já mencionada. Uma melhor visualização da diferença visual na cor do extrato de CPC não liofilizado e destes encapsulados e secos por liofilização pode ser observada na Figura 6.

**Figura 6.** Fotografias tiradas durante o experimento do extrato de CPC antes e depois de ser encapsulados com maltodextrina (MD), goma arábica (GA) e a mistura de malto + goma (MG).



### 5.9. Bioacessibilidade *in vitro* por Digestão Simulada

Os conteúdos de Compostos Fenólicos Totais e a Atividade Antioxidante reduziram durante a digestão gastrointestinal, ocorrendo diferença significativa entre o nível destes nos extratos nativos e após a digestão (Tabela 4) para todas as amostras. Depois da digestão, foi notório que os agentes carreadores puderam proteger os CF durante esse processo, pois o extrato não liofilizado (sem nada que o protegesse da digestão) resultou em valores muito baixos do potencial destes compostos. Porém as demais amostras, percebeu-se que os dois carreadores foram úteis para a proteção dos CF na mesma intensidade, com amostras que não diferiram entre si (Tabela 4), demonstrando novamente estes desempenharam resultados satisfatórios.

Os percentuais de bioacessíveis de polifenóis totais para as amostras liofilizadas foram de 28,07, 31,66 e 26,52 % para MD, GA e MG, respectivamente (Tabela 4), muito superiores ao encontrado para o extrato não liofilizado, 2,71, praticamente nenhum percentual bioacessível. O que pode ser justificado pelo fato de o polifenol está livre nessa amostra (extrato não liofilizado), exposto aos fatores de digestão, químicos e enzimáticos da digestão sem nenhuma barreira que mantivesse esse composto protegido até o final do processo. Porém observou-se que estes CF; constituídos de fenóis, antocianinas como a malvinidina, observados no UPLC; não são perdidos devido a interação com enzimas digestivas, mas sim, por causa da sua sensibilidade as condições alcalinas leves do intestino delgado, onde uma fração destes

compostos podem transformarem-se em outras estruturas desconhecidas e/ou não detectadas com diferentes propriedades químicas e logicamente, diferentes bioacessibilidades e atividade biológica de acordo com o trabalho de Bermúdez-Soto; Tomás-Barberán; García-Conesa, (2007).

**Tabela 5:** Valores médios de Compostos Fenólicos e Atividade Antioxidante presentes no extrato não liofilizado de CPC e nos extratos liofilizados antes e depois de ser realizada a digestão gastrointestinal simulada *in vitro*.

Análises	Amostras	Nativo (mg L <sup>-1</sup> )	Bioacessível (mg L <sup>-1</sup> )	Bioacessibilidade (%)
CF	MD	227,45 ± 4,7 <sup>a</sup>	62,07 ± 7,75 <sup>bB</sup>	28,07
	GA	209,02 ± 6,5 <sup>a</sup>	63,25 ± 6,27 <sup>bB</sup>	31,66
	MG	216,15 ± 8,3 <sup>a</sup>	58,72 ± 2,69 <sup>bB</sup>	26,52
	Extrato CPC	376,25 ± 12,3 <sup>a</sup>	10,36 ± 0,34 <sup>bA</sup>	2,71
FRAP	MD	185,47 ± 3,1 <sup>a</sup>	19,620 ± 0,71 <sup>bA</sup>	10,8
	GA	106,63 ± 2,8 <sup>a</sup>	3,711 ± 0,06 <sup>bC</sup>	3,5
	MG	179,58 ± 3,3 <sup>a</sup>	9,480 ± 0,22 <sup>bB</sup>	5,3
	Extrato CPC	217,63 ± 3,9 <sup>a</sup>	N.D	-

Médias ± desvio padrão (n=3). Médias com a mesma letra minúscula na mesma linha e maiúscula na mesma coluna não variam estatisticamente pelo teste de Tukey (p < 0,05).

CF: Compostos Fenólicos, mg GAE/100 g; FRAP: Atividade Antioxidante, µM Fe<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/g. N.D., não detectado.

Em contra partida, o percentual bioacessível para a AA após a digestão gastrointestinal atingiram níveis muito baixos, 10,8, 3,5 e 5,3 % para MD, GA e MG, respectivamente (Tabela 4) sugerindo que compostos fenólicos com capacidade antioxidante não foram bioacessíveis ao final do processo. Ou, como foi visto por Bermúdez-Soto; Tomás-Barberán; García-Conesa, (2007), pode ter havido uma alteração na estrutura dos polifenóis presentes nos extratos durante a digestão, mudando assim, sua atividade biológica, explicando a perda na sua capacidade antioxidante, já que não se conhece os compostos resultantes dessas alterações. Foi bem observado que o extrato não liofilizado de CPC chegou ao final da digestão com nenhum percentual bioacessível de AA demonstrando que, embora esta atividade tenha diminuído acentuadamente em todas as amostras que continham o material de parede, estes ainda foram capazes de preservar um percentual da atividade antioxidante na bioacessibilidade *in vitro* de até 10 % na amostra liofilizada com a maltodextrina. E ainda, o baixo percentual de atividade antioxidante pode estar relacionado ao fato de nem todos os compostos antioxidantes documentados serem bioacessíveis de acordo com Gawlik-Dziki *et al.*, (2012).

Manach *et al.*, (2005) relata que a biodisponibilidade de alguns compostos fenólicos, como a quercetina; que foi encontrada nos extratos avaliados; é menos eficientemente absorvida pelo organismo do que seus glucosídeos, com o mesmo fenômeno ocorrendo para outros compostos bioativos, o que levanta o fato de que a biodisponibilidade também vai depender da composição dos compostos presentes na amostra, que depende da variedade da fruta, da safra, das condições climáticas e das condições de armazenamento da matéria-prima antes da extração.

## 6 CONCLUSÕES

Compostos fenólicos como o ácido gálico, quercetina, mirecetina e ácido anacardico foram identificados no extrato fenólico extraído com o auxílio do ultrassom, indicando a presença de compostos benéficos à saúde, confirmando que o coproduto do processamento do processamento do caju é uma fonte com potencial por conter compostos fitoquímicos importantes para a indústria farmacêutica e alimentar.

Desse modo, a utilização dos agentes carreadores maltodextrina e goma arábica foram eficazes para na conservação dos compostos fenólicos e a atividade antioxidante do extrato do CPC, constatando uma maior AA nas amostras MD e GA, as quais apresentavam-se os agentes carreadores separados. As amostras liofilizadas também destacaram-se frente a bioacessibilidade *in vitro* dos compostos fenólicos, obtendo 30 % de compostos bioacessíveis ao final do processo de digestão para todos os extratos liofilizados e um valor irrisório no extrato não liofilizado, demonstrando que os agentes carreadores foram capazes de preservar os compostos até sua absorção do intestino (simulação *in vitro*). Porém, valores baixos foram identificados para a biodisponibilidade da atividade antioxidante nos mesmos, indicando que nem todos os compostos fenólicos biodisponíveis tinham AA.

A liofilização com estes carreadores resultaram em pós predominantemente amorfos com tamanhos irregulares características de materiais secos por liofilização, fato que auxilia na preservação ou não dos CF com relação a área superficial da estrutura do pó. Ainda, as cargas superficiais das amostras demonstraram estabilidade em suspensão aquosa, atributo desejável para possíveis aplicações. Portanto, sugere-se o uso dos extratos liofilizados de CPC na adição como aditivo alimentar para diminuir a oxidação em alimentos como embutidos cárneos, aumentando sua vida de prateleira, além de outros estudos envolvendo este material nas áreas nutraceutica e de aplicação alimentar.

## REFERÊNCIAS

- AKHAVAN MAHDAVI, S. *et al.* Microencapsulation optimization of natural anthocyanins with maltodextrin, gum Arabic and gelatin. **International Journal of Biological Macromolecules**, Iran. v. 85, p. 379–385, 1 abr. 2016.
- ALEMÁN, A. *et al.* Encapsulation of antioxidant sea fennel (*Crithmum maritimum*) aqueous and ethanolic extracts in freeze-dried soy phosphatidylcholine liposomes. **Food Research International**, Espanha. 12 out. 2018.
- ALEXANDER, R. J. Maltodextrins: production, properties and applications. **Starch hydrolysis products**, [s.l.], p. 233, 1992.
- ALI, M. E.; LAMPRECHT, A. Spray freeze drying as an alternative technique for lyophilization of polymeric and lipid-based nanoparticles. **International Journal of Pharmaceutics**, Alemanha. v. 516, n. 1, p. 170–177, 10 jan. 2017.
- ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos - uma breve revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz (Impresso)**, [s.l.], v. 66, n. 1, p. 01–09, 2007.
- AOAC. **Official methods of analysis**. (16th ed.), Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC (2005).
- BALLESTEROS, L. F. *et al.* Encapsulation of antioxidant phenolic compounds extracted from spent coffee grounds by freeze-drying and spray-drying using different coating materials. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 237, p. 623–631, 15 dez. 2017.
- BARROS, R. G. C. *et al.* Evaluation of bioactive compounds potential and antioxidant activity in some Brazilian exotic fruit residues. **Food Research International**, [s.l.], v. 102, n. Supplement C, p. 84–92, 1 dez. 2017.
- BATAGLION, G. A. *et al.* Determination of the phenolic composition from Brazilian tropical fruits by UHPLC–MS/MS. **Food Chemistry**, Brasil, v. 180, p. 280–287, 1 ago. 2015.
- BEN YAKOUB, A. R. *et al.* Flavonoids, phenols, antioxidant, and antimicrobial activities in various extracts from Tossa jute leave (*Corchorus olitorus* L.). **Industrial Crops and Products**, Tunísia, v. 118, p. 206–213, 1 ago. 2018.
- BERMÚDEZ-SOTO, M.-J.; TOMÁS-BARBERÁN, F.-A.; GARCÍA-CONESA, M.-T. Stability of polyphenols in chokeberry (*Aronia melanocarpa*) subjected to in vitro gastric and pancreatic digestion. **Food Chemistry**, Espanha, v. 102, n. 3, p. 865–874, 1 jan. 2007.
- BOBBIO, F. O; BOBBIO, P. A. (1992). **Introdução a Química de Alimentos**. São Paulo: Varela, 223 p.
- BOUAYED, J.; HOFFMANN, L.; BOHN, T. Total phenolics, flavonoids, anthocyanins and antioxidant activity following simulated gastro-intestinal digestion and dialysis of apple varieties: Bioaccessibility and potential uptake. **Food Chemistry**, Luxemburgo, v. 128, n. 1, p. 14–21, 1 set. 2011.

BRASIL. Instrução normativa, nº 1 de 7 de janeiro de 2000. Aprova o regulamento técnico para fixação dos padrões de identidade e qualidade para suco de caju com alto teor de polpa. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 2000.

BRINES, C. *et al.* Influence of the Ultrasonic Power Applied on Freeze Drying Kinetics. **Physics Procedia**, Proceedings of the 2015 ICU International Congress on Ultrasonics, Metz, France. v. 70, p. 850–853, 1 jan. 2015.

BURRI, S. C. M. *et al.* Antioxidant capacity and major phenol compounds of horticultural plant materials not usually used. **Journal of Functional Foods**, [s.l.], v. 38, n. Part A, p. 119–127, 1 nov. 2017.

CAI, Y. Z.; CORKE, H. Production and Properties of Spray-dried Amaranthus Betacyanin Pigments. **Journal of Food Science**, [s.l.], v. 65, n. 7, p. 1248–1252, 2000.

CAN-CAUICH, C. A. *et al.* Tropical fruit peel powders as functional ingredients: Evaluation of their bioactive compounds and antioxidant activity. **Journal of Functional Foods**, México, v. 37, n. Supplement C, p. 501–506, 1 out. 2017.

CANO-CHAUCA, M. *et al.* Effect of the carriers on the microstructure of mango powder obtained by spray drying and its functional characterization. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, Brazil v. 6, n. 4, p. 420–428, 1 dez. 2005.

CHAIKHAM, P. Stability of probiotics encapsulated with Thai herbal extracts in fruit juices and yoghurt during refrigerated storage. **Food Bioscience**, [s.l.], v. 12, n. Supplement C, p. 61–66, 1 dez. 2015.

CHHOUK, K. *et al.* Extraction of phenolic compounds and antioxidant activity from garlic husk using carbon dioxide expanded ethanol. **Chemical Engineering and Processing: Process Intensification**, [s.l.], v. 117, n. Supplement C, p. 113–119, 1 jul. 2017.

COUTINHO, Ana Paula Cerino. **Produção e caracterização de maltodextrinas a partir de amidos de mandioca e batata-doce**. [s.l.], 2007.

CUNHA, A. G. *et al.*, A. UPLC–qTOF-MS/MS-based phenolic profile and their biosynthetic enzyme activity used to discriminate between cashew apple (*Anacardium occidentale* L.) maturation stages. **Journal of Chromatography B**, Brazil, v. 1051, 24–32, 2017.

DA FONSECA MACHADO, A. P. *et al.* Encapsulation of anthocyanin-rich extract from blackberry residues by spray-drying, freeze-drying and supercritical antisolvent. **Powder Technology**, Brazil, v. 340, p. 553–562, 1 dez. 2018.

DA SILVA, R. P. F. F.; ROCHA-SANTOS, T. A. P.; DUARTE, A. C. Supercritical fluid extraction of bioactive compounds. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, Portugal, v. 76, n. Supplement C, p. 40–51, 1 fev. 2016.

DAG, D.; KILERCIOGLU, M.; OZTOP, M. H. Physical and chemical characteristics of encapsulated goldenberry (*Physalis peruviana* L.) juice powder. **LWT - Food Science and Technology**, [s.l.], v. 83, n. Supplement C, p. 86–94, 15 set. 2017.

DAI, J.; MUMPER, R. J. Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. **Molecules**, USA, v. 15, n. 10, p. 7313–7352, 21 out. 2010.

DAS, I.; ARORA, A. Post-harvest processing technology for cashew apple – A review. **Journal of Food Engineering**, India, v. 194, p. 87–98, 1 fev. 2017.

DE ABREU, F. P. *et al.* Cashew apple (*Anacardium occidentale* L.) extract from by-product of juice processing: A focus on carotenoids. **Food Chemistry**, Brazil, v. 138, n. 1, p. 25–31, 1 maio 2013.

DE BRITO, E. S. *et al.* Determination of the flavonoid components of cashew apple (*Anacardium occidentale*) by LC-DAD-ESI/MS. **Food Chemistry**, Brazil, v. 105, n. 3, p. 1112–1118, 1 jan. 2007.

DE LIMA, A. C. S. *et al.* In vitro bioaccessibility of copper, iron, zinc and antioxidant compounds of whole cashew apple juice and cashew apple fibre (*Anacardium occidentale* L.) following simulated gastro-intestinal digestion. **Food Chemistry**, Brazil, v. 161, p. 142–147, 15 out. 2014.

DEGÁSPARI, C. H.; WASZCZYNSKYJ, N. Propriedades antioxidantes de compostos fenólicos. **Visão acadêmica**, Brazil, v. 5, n. 1, 2004.

DIAS, D. R. *et al.* Encapsulation as a tool for bioprocessing of functional foods. **Food bioprocessing**. Brazil, v. 13, n. Supplement C, p. 31–37, 1 fev. 2017.

DIREITO, R. *et al.* Dyospiros kaki phenolics inhibit colitis and colon cancer cell proliferation, but not gelatinase activities. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, Portugal, v. 46, n. Supplement C, p. 100–108, 1 ago. 2017.

DOKIC, P.; JAKOVLJEVIC, J.; DOKIC-BAUCAL, Lj. Molecular characteristics of maltodextrins and rheological behaviour of diluted and concentrated solutions. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, [s.l], v. 141, n. 3, p. 435–440, 1998.

DU, G. *et al.* Polyphenols: Potential source of drugs for the treatment of ischaemic heart disease. **Pharmacology & Therapeutics**, World Conference on the Pharmacology of Natural and Traditional Medicine 2015. China, v. 162, p. 23–34, jun. 2016.

ENCARNAÇÃO, S. *et al.* Total phenolic content, antioxidant activity and pre-clinical safety evaluation of an *Anacardium occidentale* stem bark Portuguese hypoglycemic traditional herbal preparation. **Industrial Crops and Products**, Portugal, v. 82, n. Supplement C, p. 171–178, 1 abr. 2016.

ESPADA-BELLIDO, E. *et al.* Optimization of the ultrasound-assisted extraction of anthocyanins and total phenolic compounds in mulberry (*Morus nigra*) pulp. **Food Chemistry**, Espanha, v. 219, n. Supplement C, p. 23–32, 15 mar. 2017.

FANG, Z.; BHANDARI, B. Effect of spray drying and storage on the stability of bayberry polyphenols. **Food Chemistry**, [s.l], v. 129, n. 3, p. 1139–1147, 1 dez. 2011.

FARAG, M.A *et al.*, Phytochemical, antioxidant and antidiabetic evaluation of eight *Bauhinia* L. species from Egypt using UHPLC-PDA-qTOF-MS and chemometrics. **Phytochemistry**, [s.l], 119, 41–50, 2015.

FARIA, Carolyne Bitencourt *et al.* **Secagem da polpa de maracujá por atomização com adição de maltodextrina e farinha da sua casca**. Brasil, 2014.

FELLOWS, Peter J. **Tecnologia do Processamento de Alimentos: Princípios e Prática**. [s.l], Artmed Editora, 2018.

FONTELES, T. V. *et al.* Ultrasound processing to enhance drying of cashew apple bagasse puree: Influence on antioxidant properties and in vitro bioaccessibility of bioactive compounds. **Ultrasonics Sonochemistry**, Brazil, v. 31, p. 237–249, 1 jul. 2016.

FORSTER-CARNEIRO, T. *et al.* Biorefinery study of availability of agriculture residues and wastes for integrated biorefineries in Brazil. **Resources, Conservation and Recycling**, v. 77, n. Supplement C, p. 78–88, 1 ago. 2013.

FOSTER-CARNEIRO, T. *et al.*, Biorefinery study of availability of agriculture residues and wastes for integrated biorefineries. **Resources, Conservation And Recycling**, Brazil, v. 77, p.78-88, 2013.

GAWLIK-DZIKI, U. *et al.* Effect of bioaccessibility of phenolic compounds on in vitro anticancer activity of broccoli sprouts. **Food Research International**, Polônia, v. 49, n. 1, p. 469–476, 1 nov. 2012.

GEROLA, A. P. *et al.* The effect of methacrylation on the behavior of Gum Arabic as pH-responsive matrix for colon-specific drug delivery. **European Polymer Journal**, New York, v. 78, p. 326–339, May 2016.

GIADA, Maria de Lourdes Reis. **Avaliação da capacidade antioxidante dos compostos fenólicos do cotilédono da semente de girassol (*Helianthus annuus* L.) rajada**. 2006. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

GOLDSMITH, C. D. *et al.* Ultrasound increases the aqueous extraction of phenolic compounds with high antioxidant activity from olive pomace. **LWT**, v. 89, p. 284–290, 1 mar. 2018.

GOLMOHAMADI, A. *et al.* Effect of ultrasound frequency on antioxidant activity, total phenolic and anthocyanin content of red raspberry puree. **Ultrasonics Sonochemistry**, [s.l], v. 20, n. 5, p. 1316–1323, 1 set. 2013.

GONZÁLEZ-CENTENO, M. R. *et al.* Effect of power ultrasound application on aqueous extraction of phenolic compounds and antioxidant capacity from grape pomace (*Vitis vinifera* L.): Experimental kinetics and modeling. **Ultrasonics Sonochemistry**, [s.l], v. 22, n. Supplement C, p. 506–514, 1 jan. 2015.

GOULA, A. M.; THYMIATIS, K.; KADERIDES, K. Valorization of grape pomace: Drying behavior and ultrasound extraction of phenolics. **Food and Bioproducts Processing**, Grécia, v. 100, n. Part A, p. 132–144, 1 out. 2016.

GUANDALINI, B. B. V.; RODRIGUES, N. P.; MARCZAK, L. D. F. Sequential extraction of phenolics and pectin from mango peel assisted by ultrasound. **Food Research International**, Beazil, 11 dez. 2018.

HOSSEINI, Abdullah *et al.* Application of image processing to assess emulsion stability and emulsification properties of Arabic gum. **Carbohydrate polymers**, [s.l], v. 126, p. 1-8, 2015.

INFANTE, J. *et al.* **Atividade antioxidante de resíduos agroindustriais e frutas tropicais**. [s.l: s.n.]. v. 24

KARAASLAN, S. N.; TUNÇER, İ. K. Development of a drying model for combined microwave–fan-assisted convection drying of spinach. **Biosystems Engineering**, [s.l], v. 100, n. 1, p. 44–52, 1 maio 2008.

KUCK, L. S.; NOREÑA, C. P. Z. Microencapsulation of grape (*Vitis labrusca* var. Bordo) skin phenolic extract using gum Arabic, polydextrose, and partially hydrolyzed guar gum as encapsulating agents. **Food Chemistry**, Brazil, v. 194, p. 569–576, 1 mar. 2016.

LARRAURI, J. A.; RUPÉREZ, P.; SAURA-CALIXTO, F. Effect of Drying Temperature on the Stability of Polyphenols and Antioxidant Activity of Red Grape Pomace Peels. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s.l], v. 45, n. 4, p. 1390–1393, abr. 1997.

LAVELLI, V.; SRI HARSHA, P. S. C.; SPIGNO, G. Modelling the stability of maltodextrin-encapsulated grape skin phenolics used as a new ingredient in apple puree. **Food Chemistry**, Itália, v. 209, n. Supplement C, p. 323–331, 15 out. 2016.

LIANG, W. *et al.* Spray freeze drying of small nucleic acids as inhaled powder for pulmonary delivery. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, Hong Kong, 20 out. 2017.

LOPES, L. G. *et al.* The intake of dry cashew apple fiber reduced fecal egg counts in *Haemonchus contortus*-infected sheep. **Experimental Parasitology**, Brazil, v. 195, p. 38–43, 1 dez. 2018.

LORDÊLO CARDOSO SILVA, M. *et al.* Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Semina: Ciências Agrárias**, [s.l], v. 31, n. 3, 2010.

M'RABET, Y. *et al.* Profiling of phenolic compounds and antioxidant activity of *Melia azedarach* L. leaves and fruits at two stages of maturity. **Industrial Crops and Products**, [s.l], v. 107, p. 232–243, 15 nov. 2017.

MACHADO, Camila Alves *et al.* **Efeitos da maltodextrina como aditivo via água de bebida na recepção de pintainhos submetidos a quatro períodos de jejum pós-eclosão**. [s.l], 2010.

MAHDAVEE KHAZAEI, K. *et al.* Application of maltodextrin and gum Arabic in microencapsulation of saffron petal's anthocyanins and evaluating their storage stability and color. **Carbohydrate Polymers**, Iran, v. 105, p. 57–62, 25 maio 2014.

MARCHAL, Leon M.; BEEFTINK, H. H.; TRAMPER, J. Towards a rational design of commercial maltodextrins. **Trends in Food Science & Technology**, [s.l], v. 10, n. 11, p. 345-355, 1999.

MARTINS, N.; BARROS, L.; FERREIRA, I. C. F. R. In vivo antioxidant activity of phenolic compounds: Facts and gaps. **Trends in Food Science & Technology**, Portugal, v. 48, n. Supplement C, p. 1–12, 1 fev. 2016.

MICHODJEHOUN-MESTRES, L. *et al.* Characterisation of highly polymerised prodelphinidins from skin and flesh of four cashew apple (*Anacardium occidentale* L.) genotypes. **Food Chemistry**, France, v. 114, n. 3, p. 989–995, 1 jun. 2009a.

MICHODJEHOUN-MESTRES, L. *et al.* Monomeric phenols of cashew apple (*Anacardium occidentale* L.). **Food Chemistry**, France, v. 112, n. 4, p. 851–857, 15 fev. 2009b.

MÜLLER, R. H.; JACOBS, C.; KAYSER, O. Nanosuspensions as particulate drug formulations in therapy: Rationale for development and what we can expect for the future. **Advanced Drug Delivery Reviews**, Nanoparticulate Systems for Improved Drug Delivery. [s.l], v. 47, n. 1, p. 3–19, 23 mar. 2001.

NUNEZ, C. V.; FACHIN-ESPINAR, M. T.; SOUZA, M. C. S. DE. Isolamento de 4-hidroxifenil-6-cafeoil- $\beta$ -L-glicosídeo e b-sitosterol e avaliação das atividades antibacteriana, antioxidante e tóxica sobre *Artemia salina* de *Casearia javitensis*. **Revista Fitos**, [s.l], v. 10, n. 3, 2016.

ORDÓÑEZ, Juan A. *et al.* Tecnologia de alimentos. **Porto Alegre: Artmed**, v. 2, p. 219-239, 2005.

OSTERMANN, A. I.; SCHEBB, N. H. Effects of Omega-3 Fatty Acid Supplementation on the Pattern of Oxylipins A short review about the modulation of hydroxy-, dihydroxy-, and epoxy-fatty acids. **Food & Function**, [s.l], 2017.

OWUOR, P. Okinda; OBANDA, Martin. The effects of some agronomic and processing practices and clones on the relative composition of the theaflavins in black tea. **Food Science and Technology International**, Tokyo, v. 3, n. 4, p. 344-347, 1997.

PAIM, D. R. S. F. *et al.* Microencapsulation of probiotic jussara (*Euterpe edulis* M.) juice by spray drying. **LWT**, Brazil, v. 74, p. 21–25, 1 dez. 2016.

PAINI, M. *et al.* Microencapsulation of phenolic compounds from olive pomace using spray drying: A study of operative parameters. **LWT - Food Science and Technology**, [s.l], v. 62, n. 1, Part 1, p. 177–186, 1 jun. 2015.

PANTELIDIS, G. E. *et al.* Antioxidant capacity, phenol, anthocyanin and ascorbic acid contents in raspberries, blackberries, red currants, gooseberries and Cornelian cherries. **Food Chemistry**, Grécia, v. 102, n. 3, p. 777–783, 1 jan. 2007.

PASRIJA, D. *et al.* Microencapsulation of green tea polyphenols and its effect on incorporated bread quality. **LWT - Food Science and Technology**, India v. 64, n. 1, p. 289–296, 1 nov. 2015.

PEREIRA SOUZA, A. C.; DEYSE GURAK, P.; DAMASCENO FERREIRA MARCZAK, L. Maltodextrin, pectin and soy protein isolate as carrier agents in the encapsulation of anthocyanins-rich extract from jaboticaba pomace. **Food and Bioproducts Processing**, Brazil, v. 102, p. 186–194, 1 mar. 2017.

- POTTER, Norman N.; HOTCHKISS, Joseph H. **Food science**. Springer Science & Business Media, [s.l.], 2012.
- QUEIROZ, C. *et al.* Changes in bioactive compounds and antioxidant capacity of fresh-cut cashew apple. **Food Research International**, Brazil, v. 44, n. 5, p. 1459–1462, 1 jun. 2011.
- RAMÍREZ, M. J.; GIRALDO, G. I.; ORREGO, C. E. Modeling and stability of polyphenol in spray-dried and freeze-dried fruit encapsulates. **Powder Technology**, Colombia v. 277, p. 89–96, 1 jun. 2015.
- REN, F. *et al.* Impact of ultrasound and blanching on functional properties of hot-air dried and freeze dried onions. **LWT - Food Science and Technology**, [s.l.], 22 ago. 2017.
- REZENDE, Y. R. R. S.; NOGUEIRA, J. P.; NARAIN, N. Microencapsulation of extracts of bioactive compounds obtained from acerola (*Malpighia emarginata* DC) pulp and residue by spray and freeze drying: Chemical, morphological and chemometric characterization. **Food Chemistry**, Brazil, v. 254, p. 281–291, 15 jul. 2018.
- RIBEIRO, A. *et al.* Spray-drying microencapsulation of synergistic antioxidant mushroom extracts and their use as functional food ingredients. **Food Chemistry**, Portugal, v. 188, n. Supplement C, p. 612–618, 1 dez. 2015.
- RIBEIRO, E. P.; SERAVALLI, E. A. G. **Química De Alimentos**. Instituto Mauá De Tecnologia: Blücher, 2007.
- ROBERT, Paz *et al.* Encapsulation of polyphenols and anthocyanins from pomegranate (*Punica granatum*) by spray drying. **International Journal of Food Science & Technology**, Chile, v. 45, n. 7, p. 1386-1394, 2010.
- ROCHA-PARRA, D. F. *et al.* “Influence of storage conditions on phenolic compounds stability, antioxidant capacity and colour of freeze-dried encapsulated red wine”. **LWT - Food Science and Technology**, Argentina, v. 70, p. 162–170, 1 jul. 2016.
- RODRÍGUEZ, Ó. *et al.* Effect of indirect cold plasma treatment on cashew apple juice (*Anacardium occidentale* L.). **LWT - Food Science and Technology**, Brazil, v. 84, n. Supplement C, p. 457–463, 1 out. 2017.
- ROESLER, R. *et al.* Atividade antioxidante de frutas do cerrado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, [s.l.], v. 27, n. 1, 2007.
- RUFINO, M. DO S. M. *et al.* Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, Brazil, v. 121, n. 4, p. 996–1002, 15 ago. 2010.
- SAENGLER, S. *et al.* Cytotoxic effects of peanut phenolics possessing histone deacetylase inhibitory activity in breast and cervical cancer cell lines. **Pharmacological Reports**, Thailand, v. 68, n. 6, p. 1102–1110, 1 dez. 2016.
- SAHPAZIDOU, D. *et al.* Anticarcinogenic activity of polyphenolic extracts from grape stems against breast, colon, renal and thyroid cancer cells. **Toxicology Letters**, Environmental contaminants and target organ toxicities. Greece, v. 230, n. 2, p. 218–224, 15 out. 2014.

SAIKIA, S.; MAHNOT, N. K.; MAHANTA, C. L. Optimisation of phenolic extraction from Averrhoa carambola pomace by response surface methodology and its microencapsulation by spray and freeze drying. **Food Chemistry**, India, v. 171, p. 144–152, 15 mar. 2015.

SATYANARAYANA, D. *et al.* **Estudos sobre os polifenóis da castanha de caju (Anacardium occidentale)**. [s.l], 1978.

SCHWEIGGERT, R. M. *et al.* Carotenoids, carotenoid esters, and anthocyanins of yellow-, orange-, and red-peeled cashew apples (*Anacardium occidentale* L.). **Food Chemistry**, Germany, v. 200, p. 274–282, 1 jun. 2016.

SIERRA, Daniela de Moraes; ROSA, Natália Nicole; GABAS, Ana Lúcia. Influência da adição de maltodextrina na atomização de polpa de manga em spray dryer. **Anais**. Campinas: Unicamp, 2007.

SINGH, A. *et al.* QbD based synthesis and characterization of polyacrylamide grafted corn fibre gum. **Carbohydrate Polymers**, India, v. 156, p. 45–55, 20 jan. 2017.

SOUSA, M. S. B. *et al.* Caracterização nutricional e compostos antioxidantes em resíduos de polpas de frutas tropicais. **Ciência e Agrotecnologia**, [s.l], v. 35, n. 3, p. 554–559, jun. 2011.

SPINELLI, S.; CONTE, A.; DEL NOBILE, M. A. Microencapsulation of extracted bioactive compounds from brewer's spent grain to enrich fish-burgers. **Food and Bioprocess Processing**, [s.l], v. 100, n. Part A, p. 450–456, 1 out. 2016.

SRINIVASAN, K. Antimutagenic and cancer preventive potential of culinary spices and their bioactive compounds. **PharmaNutrition**, [s.l], v. 5, n. 3, p. 89–102, 1 set. 2017.

STORZ, Elizabeth; STEFFENS, Klaus-Jürgen. Feasibility Study for Determination of the Dextrose Equivalent (DE) of Starch Hydrolysis Products with Near-Infrared Spectroscopy (NIRS). **Starch-Stärke**, [s.l], v. 56, n. 2, p. 58–62, 2004.

SUGIMOTO, K. *et al.* Synthesis of dihydrofuran-fused perhydrophenanthrenes having a phenolic hydroxyl group as a novel anti-Alzheimer's disease agent. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, Japan, v. 22, n. 1, p. 449–452, 1 jan. 2012.

SURAVANICHNIRACHORN, W. *et al.* Effect of carrier type and concentration on the properties, anthocyanins and antioxidant activity of freeze-dried mao [*Antidesma bunius* (L.) Spreng] powders. **Agriculture and Natural Resources**, [s.l], v. 52, n. 4, p. 354–360, 1 ago. 2018.

TIBURSKI, J. H. *et al.* Nutritional properties of yellow mombin (*Spondias mombin* L.) pulp. **Food Research International**, Exotic Fruits: their Composition, Nutraceutical and Agroindustrial Potential. Brazil, v. 44, n. 7, p. 2326–2331, 1 ago. 2011.

TONON, R. V.; BRABET, C.; HUBINGER, M. D. Anthocyanin stability and antioxidant activity of spray-dried açai (*Euterpe oleracea* Mart.) juice produced with different carrier agents. **Food Research International**, [s.l], v. 43, n. 3, p. 907–914, 1 abr. 2010.

TUMBAS ŠAPONJAC, V. *et al.* Sour cherry pomace extract encapsulated in whey and soy proteins: Incorporation in cookies. **Food Chemistry**, Serbia, v. 207, n. Supplement C, p. 27–33, 15 set. 2016.

VIEIRA, L. M. *et al.* Fenólicos totais e capacidade antioxidante in vitro de polpas de frutos tropicais. **Revista Brasileira de Fruticultura**, [s.l], 2011.

WANG, Tao; HE, Fuli; CHEN, Guibing. Improving bioaccessibility and bioavailability of phenolic compounds in cereal grains through processing technologies: A concise review. **Journal of Functional Foods**, [s.l], v. 7, p. 101-111, 2014.

WOJDYŁO, A.; OSZMIAŃSKI, J.; LASKOWSKI, P. Polyphenolic Compounds and Antioxidant Activity of New and Old Apple Varieties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s.l], v. 56, n. 15, p. 6520–6530, ago. 2008.

World Health Organization (WHO). **Diet and physical activity: a public health priority.** Disponível em: <http://www.who.int/dietphysicalactivity/publications/releases/pr84/en/>. 2017. Acesso em 15 ago. 2017.

XU, C.-C. *et al.* Advances in extraction and analysis of phenolic compounds from plant materials. **Chinese Journal of Natural Medicines**, Chine, v. 15, n. 10, p. 721–731, out. 2017.

YAMASHITA, C. *et al.* Microencapsulation of an anthocyanin-rich blackberry (*Rubus* spp.) by-product extract by freeze-drying. **LWT - Food Science and Technology**, Brazil, v. 84, p. 256–262, 1 out. 2017.