

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA
DOS ALIMENTOS**

Jéssica Righi da Rosa

**MICROENCAPSULAÇÃO DE COMPOSTOS ANTOCIÂNICOS
EXTRAÍDOS DO MIRTILO (*Vaccinium spp.*) POR *SPRAY DRYER*:
CARACTERIZAÇÃO, ESTUDO DA ESTABILIDADE E CONDIÇÕES
GASTROINTESTINAIS SIMULADAS**

**Santa Maria, RS
2017**

Jéssica Righi da Rosa

MICROENCAPSULAÇÃO DE COMPOSTOS ANTOCIÂNICOS EXTRAÍDOS DO MIRTILO (*Vaccinum spp.*) POR *SPRAY DRYER*: CARACTERIZAÇÃO, ESTUDO DA ESTABILIDADE E CONDIÇÕES GASTROINTESTINAIS SIMULADAS

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos**.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Cláudia Severo da Rosa
Co-orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Luisa Helena Rychecki Hecktheuer

Santa Maria, RS

2017

Ficha catalográfica elaborada através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Central da UFSM, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Righi da Rosa, Jéssica
MICROENCAPSULAÇÃO DE COMPOSTOS ANTOCIÂNICOS EXTRAÍDOS DO MIRTILO (*Vaccinum spp.*) POR SPRAY DRYER: CARACTERIZAÇÃO, ESTUDO DA ESTABILIDADE E CONDIÇÕES GASTROINTESTINAIS SIMULADAS / Jéssica Righi da Rosa.- 2017.
83 f.; 30 cm

Orientadora: Cláudia Severo da Rosa
Coorientadora: Luisa Helena Rychcki Hecktheuer
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, RS, 2017

1. Mirtilo 2. Compostos antociânicos 3. Spray Dryer 4. Estabilidade I. Severo da Rosa, Cláudia II. Rychcki Hecktheuer , Luisa Helena III. Título.

©2017

Todos os direitos autorais reservados a Jéssica Righi da Rosa. A reprodução de partes ou todo deste trabalho só poderá ser feita mediante a citação da fonte.

Endereço: Rua Recife, n. 210.

Santa Maria, RS. CEP:97030-500

Fone (55) 99698-1709 E-mail: jessicarighi@gmail.com¹

Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Rurais
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos

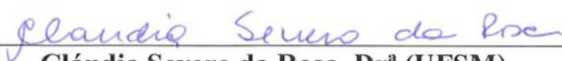
**A comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a
Dissertação de Mestrado**

**MICROENCAPSULAÇÃO DE COMPOSTOS ANTOCIÂNICOS
EXTRAÍDOS DO MIRTILO (*Vaccinium spp.*) POR *SPRAY DRYER*:
CARACTERIZAÇÃO, ESTUDO DA ESTABILIDADE E CONDIÇÕES
GASTROINTESTINAIS SIMULADAS**

**elaborada por
Jéssica Righi da Rosa**

**Como requisito parcial para a obtenção do grau de
Mestre em Ciência e Tecnologia dos Alimentos**

COMISSÃO EXAMINADORA



Cláudia Severo da Rosa, Dr^a (UFSM)
(Presidente/Orientador)



Cristiane Franco-Codevilla (UFRGS)



Cristiano Ragagnin de Menezes, Pós.Dr (UFSM)

Santa Maria, 3 de março de 2017.

AGRADECIMENTOS

Inicialmente, agradeço a Deus pela vida, aos Seres de Luz por guiarem, iluminarem e protegerem meus caminhos, por me ensinarem a crescer e me tornar uma pessoa melhor a cada dia.

Aos meus pais por terem me ensinado a ser forte, lutar pelos meus objetivos, batalhar pelos meus sonhos, pela educação, por sempre me dizerem que pra conquistar é preciso dedicação e empenho. A vocês, meus grandes exemplos de vida que dedico esse momento.

Aos meus irmãos, pelo amor, compreensão e carinho, que de uma forma ou de outra contribuíram pra que eu tivesse muito êxito em meu trabalho.

Ao meu amigo, companheiro e namorado Daniel Gossler, por estar sempre presente em minha vida, pela paciência, compreensão e carinho. A ti e as nossas crianças de quatro patas Psuca e Apolo, que foram minha companhia ao longo das noites de estudo e escrita. Amo vocês.

A toda minha família, vó, tios e tias, primos e primas por acreditarem em mim e me apoiarem sempre, muito obrigada.

A Universidade Federal de Santa Maria e ao Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia em Alimentos pelo aprendizado e pela oportunidade da realização do mestrado.

A Prof^a Claudia Severo da Rosa, minha orientadora, pelo apoio e auxílio incansável, por possibilitar a realização desse estudo, pela amizade e confiança.

A Prof^a Luisa Helena Rychecki Hecktheuer minha co-orientadora, pela oportunidade do desenvolvimento deste trabalho, pelas palavras amigas e motivadoras.

Ao Prof^o Cristiano Regagnin de Menezes pelo incansável auxílio, apoio, por disponibilizar o local e o equipamento para que pudesse ser realizado este estudo, por compartilhar conhecimentos e ideias, ao senhor o meu muito obrigada.

Ao Profº Juliano Smanioto Barin pelo auxílio e por possibilitar a realização das análises de atividade antioxidante.

As minhas meninas Graciele Nunes e Bruna Tischer pela ajuda incansável, pelas horas de análises, pela troca de conhecimento, pelo ajuda nas mais diversas horas a vocês agradeço a execução deste trabalho.

Aos meus queridos amigos Marialene, Magé e Moises pelas manhas e tardes de trabalho, pela palavra amiga, pela amizade e parceria a vocês que fizeram parte desses dois anos assim como de toda minha vida acadêmica o meu sincero muito obrigado!

A Ingredion pela doação dos agentes encapsulantes utilizados no desenvolvimento deste trabalho.

A todos que de alguma forma contribuíram para execução deste trabalho.

À CAPES, pela concessão da bolsa de estudos.

Jamais considere seus estudos como uma obrigação, mas como uma oportunidade invejável para aprender a conhecer a influência libertadora da beleza do reino do espírito, para seu próprio prazer pessoal e para proveito da comunidade à qual seu futuro trabalho pertencer.

(Albert Einstein)

RESUMO

MICROENCAPSULAÇÃO DE COMPOSTOS ANTOCIÂNICOS EXTRAÍDOS DO MIRTILO (*Vaccinium spp.*) POR *SPRAY DRYER*: CARACTERIZAÇÃO, ESTUDO DA ESTABILIDADE E CONDIÇÕES GASTROINTESTINAIS SIMULADAS

AUTORA: JÉSSICA RIGHI DA ROSA
ORIENTADORA: CLÁUDIA SEVERO DA ROSA
CO-ORIENTADORA: LUISA HELENA RYCHECKI HECKTHEUER

A crescente busca por parte da população mundial por alimentos saudáveis e que apresentem características funcionais tem alavancado uma série de estudos com esta temática e levado à indústria a se adaptar as exigências dos consumidores. Dentro do grupo dos alimentos funcionais está o mirtilo, que contém compostos bioativos em quantidades significativas. O objetivo do presente estudo foi a microencapsulação de compostos antociânicos extraídos do mirtilo pelo método de *spray dryer*, testar a utilização de maltodextrina DE20 e hi-meize em diferentes concentrações como agentes encapsulantes e verificar a estabilidade do composto antociânicos e frente as condições gastrointestinais simuladas. O extrato de mirtilo foi obtido em solução aquosa contendo 1% de ácido cítrico e submetido a análises de antocianinas monoméricas totais, compostos fenólicos totais e atividade antioxidante pelo método ORAC. Para o processo de microencapsulação foi utilizado o método de *spray dryer* com diferentes temperaturas de entrada 120, 140 e 160°C e como agente encapsulante maltodextrina DE20 e hi-meize, em diferentes concentrações totalizando quatro tratamentos, onde P contendo 18% de maltodextrina DE20 foi considerado solução padrão, T1 contendo 14% de maltodextrina DE20 e 4% hi-meize, T2 11% de maltodextrina DE20 e 7% de hi-meize, e a formulação T3 onde continha 9% de maltodextrina DE20 e 9% hi-meize. As micropartículas foram analisadas quanto à determinação de antocianinas monoméricas totais, compostos fenólicos totais e atividade antioxidante pelo método ORAC, eficiência de encapsulação, tamanho de partícula, teor de umidade e atividade de água, dissolução, análise de cor, estudo da estabilidade ao armazenamento e análise de resistência dos compostos antociânicos a condições gastrointestinais simuladas. Para análise do extrato foram encontrados valores de 1,08mg/g de fruto para antocianinas monoméricas totais, 6,88 mg GAE/d de fruto para compostos fenólicos totais e 46,85µm Trolox/g de fruto para atividade antioxidante pelo método de ORAC. Em geral pode-se observar uma boa eficiência de encapsulação dos compostos desejados sendo estes valores de 74,40 a 85,22%, assim como os tamanhos das partículas obtidas que foram entre 12,80 a 20,70µm. A umidade e atividade de água apresentaram valores de 4,87 a 6,39% e 0,16 a 0,27 respectivamente. Os compostos antociânicos sofreram perdas ao longo dos 20 dias em todos os tratamentos e temperaturas testadas, entretanto a microcápsula de formulação T3 a 140°C apresentou uma melhor retenção e proteção dos compostos desejados ao longo dos dias de análise, assim como maior resistência a condições gastrointestinais simuladas quando comparadas ao extrato livre, mostrando-se efetiva na proteção e entrega melhorada dos compostos de interesse. Baseado nos tratamentos e temperaturas testados pode-se concluir que as microcápsulas foram efetivas na proteção e entrega melhorada dos compostos antociânicos.

Palavras-chave: Mirtilo. Compostos antociânicos. *Spray Dryer*. Estabilidade.

ABSTRACT

MICROENCAPSULATION OF ANTOCIÂNICAL COMPOUNDS EXTRACTED FROM MIRTILO (*Vaccinum spp.*) BY SPRAY DRYER: CHARACTERIZATION, STUDY OF STABILITY AND SIMULATED GASTROINTESTINAL CONDITIONS

AUTHOR: JÉSSICA RIGHI DA ROSA
ADVISOR: CLÁUDIA SEVERO DA ROSA
CO-GUIDE: LUISA HELENA RYCHECKI HECKTHEUER

The growing world population's quest for healthy foods with functional characteristics has leveraged a number of studies with this theme and led industry to adapt to the demands of consumers. Within the functional foods group is blueberry, which contains bioactive compounds in significant amounts. The objective of the present study was the microencapsulation of anthocyanic compounds extracted from the blueberry by the spray dryer method, to test the use of maltodextrin DE20 and to hydrate in different concentrations as encapsulating agents and to verify the stability of the anthocyanin compound and the simulated gastrointestinal conditions. The extract of blueberry was obtained in aqueous solution containing 1% of citric acid and submitted to analyzes of total monomeric anthocyanins, total phenolic compounds and antioxidant activity by the ORAC method. For the microencapsulation process the spray dryer method with different inlet temperatures of 120, 140 and 160 ° C and as encapsulating agent maltodextrin DE20 and hi-meize were used in different concentrations totaling four treatments, where P containing 18% maltodextrin DE20 Was considered to be the standard solution, T1 containing 14% maltodextrin DE20 and 4% hi-m 2, T2 11% maltodextrin DE 20 and 7% hyme, and the formulation T3 where it contained 9% maltodextrin DE20 and 9% hi-meize. The microparticles were analyzed for the determination of total monomeric anthocyanins, total phenolic compounds and antioxidant activity by ORAC method, encapsulation efficiency, particle size, moisture content and water activity, dissolution, color analysis, storage stability study and Analysis of resistance of anthocyanin compounds to simulated gastrointestinal conditions. For analysis of the extract were found values of 1.08 mg / g of fruit for total monomeric anthocyanins, 6.88 mg GAE / d of fruit for total phenolic compounds and 46.85 µm Trolox / g of fruit for antioxidant activity by the ORAC method. In general, a good encapsulation efficiency of the desired compounds can be observed, these values being 74.40 to 85.22%, as well as the obtained particle sizes ranging from 12.80 to 20.70µm. The moisture and water activity presented values from 4.87 to 6.39% and 0.16 to 0.27, respectively. The anthocyanic compounds suffered losses over the course of 20 days in all treatments and temperatures tested, however the T3 formulation microcapsule at 140 ° C showed a better retention and protection of the desired compounds along the days of analysis, as well as greater resistance to conditions Gastrointestinal compared to the free extract, showing effective protection and improved delivery of the compounds of interest. Based on the treatments and temperatures tested it can be concluded that the microcapsules were effective in the protection and improved delivery of anthocyanin compounds.

Key words: Blueberry. Anthocyanins. Spray Dryer. Stability.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Horas de frio estimadas, de maio a setembro (abaixo de 7,2°C) na região Sul do Brasil. Fonte: Embrapa Clima Temperado, A cultura do Mirtilo (2004).....22
- Figura 2. Fruto de mirtilo. Fonte: Google Imagens.....23
- Figura 3. Estrutura benzênica (fenólica) C₆ com grupamento hidroxila (OH). Fonte: BARBOSA (2015).....26
- Figura 4. Estrutura de algumas antocianidinas comuns em vegetais. Fonte: Lima e Guerra, (2003).....27
- Figura 5- Esquema da microencapsulação por *spray drying*. Fonte: Estevinho et al. (2013).....30

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Composição centesimal e nutricional do mirtilo em 100g de fruto.....	24
Tabela 2- Métodos utilizados na elaboração de micropartículas.....	29
Tabela 3- Composição da formulação padrão (P) e dos tratamentos (T1, T2 e T3) aplicados para o extrato da polpa de mirtilo.....	39
Tabela 4- Características físico-químicas do mirtilo.....	45
Tabela 5- Resultados referentes a rendimento, eficiência de encapsulação, dissolução, tamanho de partícula e características físico-químicas das microcápsulas.....	50
Tabela 6- Análise de cor para microcápsulas contendo extrato de mirtilo.....	52
Tabela 7- Antocianinas monoméricas totais presente no extrato e nas microcápsulas ao longo de 20 dias expressos em mg/mL de extrato.....	55
Tabela 8- Teor de compostos fenólicos ao longo de 20 dias, valores expressos em mg/L de extrato.....	57
Tabela 9- Teor de atividade antioxidante determinada pelo método ORAC expresso em μm Trolox/g de amostra ao longo de 20 dias.....	59
Tabela 10- Viabilidade do microencapsulado e do extrato livre frente às condições gastrointestinais simuladas. Resultados expressos em mg/mL de extrato.....	61

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1- Atividade antioxidante de extrato de mirtilo ($\mu\text{m Trolox /g}$ de fruto), onde p7 equivale a concentração de $12 \mu\text{m Trolox /g}$47

LISTA DE ANEXOS

Anexo A: Análise tamanho de partícula formulação P nas temperaturas de 120°C em equipamento Mastersizer 3000 (Malvern Alemanha).....	72
Anexo B: Análise tamanho de partícula formulação P nas temperaturas de 140°C em equipamento Mastersizer 3000 (Malvern Alemanha).....	73
Anexo C: Análise tamanho de partícula formulação P nas temperaturas de 160°C em equipamento Mastersizer 3000 (Malvern Alemanha).....	74
Anexo D: Análise tamanho de partícula formulação T1 nas temperaturas de 120°C em equipamento Mastersizer 3000 (Malvern Alemanha).....	75
Anexo E: Análise tamanho de partícula formulação T1 nas temperaturas de 140°C em equipamento Mastersizer 3000 (Malvern Alemanha).....	76
Anexo F: Análise tamanho de partícula formulação T1 nas temperaturas de 160°C em equipamento Mastersizer 3000 (Malvern Alemanha).....	77
Anexo G: Análise tamanho de partícula formulação T2 nas temperaturas de 120°C em equipamento Mastersizer 3000 (Malvern Alemanha).....	78
Anexo H: Análise tamanho de partícula formulação T2 nas temperaturas de 140°C em equipamento Mastersizer 3000 (Malvern Alemanha).....	79
Anexo I: Análise tamanho de partícula formulação T2 nas temperaturas de 160°C em equipamento Mastersizer 3000 (Malvern Alemanha).....	80
Anexo J: Análise tamanho de partícula formulação T3 nas temperaturas de 120°C em equipamento Mastersizer 3000 (Malvern Alemanha).....	81
Anexo K: Análise tamanho de partícula formulação T3 nas temperaturas de 140°C em equipamento Mastersizer 3000 (Malvern Alemanha).....	82

Anexo L: Análise tamanho de partícula formulação T3 nas temperaturas de 160°C em equipamento Mastersizer 3000 (Malvern Alemanha).....	83
---	----

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	17
2 OBJETIVOS.....	19
2.1 OBJETIVO GERAL:.....	19
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:.....	19
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	20
3.1 ALIMENTOS FUNCIONAIS.....	20
3.2 MIRTILO.....	21
3.3 COMPOSTOS BIOATIVOS.....	25
3.3.1 Compostos fenólicos.....	25
3.3.2 Antocianinas.....	26
3.4 MICROENCAPSULAÇÃO.....	27
4 MATERIAS E MÉTODOS.....	34
4.1 MIRTILO.....	34
4.1.1 Composição centesimal da polpa de mirtilo.....	34
4.1.2 Acidez total titulável.....	35
4.1.3 pH.....	35
4.1.4 Atividade de água.....	35
4.1.5 Sólidos Solúveis Totais.....	36
4.2 ANÁLISES DOS COMPOSTOS BIOATIVOS.....	36
4.2.1 Preparo dos extratos.....	36
4.2.2 Antocianinas totais monoméricas.....	36
4.2.3 Compostos Fenólicos Totais.....	38
4.2.4 Capacidade Antioxidante pelo método de ORAC.....	38
4.3 MICROENCAPSULAÇÃO DO EXTRATO DA POLPA DE MIRTILO.....	39
4.3.1 Preparo das microcápsulas.....	39
4.3.2 Temperatura de secagem.....	40
4.3.3 Análises das microcápsulas.....	40

4.3.2.1 Determinação de antocianinas totais monoméricas, compostos fenólicos totais e atividade antioxidante	40
4.3.2.2 Eficiência da encapsulação	40
4.3.2.3 Tamanho de partícula	41
4.3.2.4 Teor de umidade e atividade de água (Aa)	41
4.3.2.5 Dissolução.....	41
4.3.2.6 Análise de cor	42
4.3.2.7 Estudo da estabilidade ao armazenamento	42
4.3.2.8 Análise de resistência dos compostos antociânicos a condições gastrointestinais simuladas	42
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	44
5.1 COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO MIRTILO	44
5.2 ANTOCIANINAS MONOMÉRICAS TOTAIS	45
5.3 COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS	46
5.4 CAPACIDADE ANTIOXIDANTE	46
5.3 ANÁLISES DAS MICROCÁPSULAS	48
5.3.1 Análise de cor	51
5.4 ESTABILIDADE DE COMPOSTOS BIOATIVOS MICROENCAPSULADOS.....	52
5.4.1 Antocianinas.....	52
5.4.2 Compostos fenólicos.....	56
5.4.3 Atividade antioxidante	58
5.5 RESISTÊNCIA DOS COMPOSTOS ANTOCIÂNICOS A CONDIÇÕES GASTROINTESTINAIS SIMULADAS	60
6 CONCLUSÃO.....	62
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	63
8 ANEXOS.....	72

1 INTRODUÇÃO

O alto consumo de alimentos industrializados associados ao sedentarismo e sobrepeso ocasionou um aumento no número de doenças crônicas relacionadas à alimentação inadequada (XAVIER, 2013). Com o foco em diminuir estas incidências a população tem buscado uma alimentação mais saudável associada à praticidade e que apresentem características funcionais, sendo este um ponto forte a ser abordado por estudos e principalmente de maior interesse para as indústrias de alimentos (REQUE, 2012; SKROVANKOVA et al. 2015).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) em 2004 lançou a Estratégia Global sobre Alimentação Saudável, que estabelece determinadas diretrizes com o objetivo principal de reduzir fatores de riscos ligados a tais enfermidades baseando-se em uma alimentação saudável, atividade física e saúde (OMS, 2004). Dentre as recomendações está o aumento na ingestão de legumes, frutas e verduras, além de vitaminas e minerais, pois, estes alimentos possuem compostos bioativos tais como carotenoides, fitoestrógenos, glicosinolatos, compostos sulfurados, frutooligossacarídeos e flavonoides.

De acordo com a legislação brasileira vigente, alimento (ou ingrediente) com propriedade funcional ou de saúde é todo aquele alimento que, além de suas funções nutricionais básicas é capaz de produzir também efeitos benéficos à saúde, devendo ser seguro seu consumo sem a necessidade de supervisão médica (BRASIL, 1999).

Dentro do grupo dos alimentos funcionais está o mirtilo que possui grande potencial produtivo no estado do Rio Grande do Sul (RS), Brasil. Este fruto contém compostos bioativos em quantidades significativas, em especial antocianinas, sendo mundialmente conhecido por sua elevada capacidade antioxidante e conseqüentemente por suas possíveis ações fisiológicas e benefícios à saúde humana (REQUE, 2012).

As antocianinas são pigmentos vegetais responsáveis por uma grande variedade de cores observadas mais constantemente em flores e frutos. Quimicamente esses pigmentos são compostos fenólicos pertencentes ao grupo dos flavonoides, sendo amplamente distribuído no reino vegetal (BOBBIO; BOBBIO, 1992).

As antocianinas são solúveis em água e extremamente instáveis sendo facilmente degradadas. Diversos fatores influenciam na estabilidade das antocianinas, incluindo pH, luz, presença de oxigênio, enzimas, ácido ascórbico, dióxido de enxofre ou sulfito, íons metálicos e copigmentos (KECHINSKI, 2011).

O mercado de alimentos funcionais é bastante promissor, cabendo às indústrias desenvolverem trabalhos juntamente com os cientistas de alimentos, auxiliando na pesquisa e desenvolvimento de novos produtos a fim de satisfazer as crescentes exigências dos consumidores (REQUE, 2012). A busca do consumidor por uma alimentação saudável e conveniente faz com que seja estimulado o desenvolvimento de alimentos enriquecidos com compostos bioativos, os quais são de alto interesse para a indústria de alimentos, pois, eleva a qualidade da alimentação humana e ainda pode agregar valor a alimentos já disponíveis no mercado (XAVIER, 2013).

O uso do processo de microencapsulação tem se tornado uma alternativa viável para a incorporação de compostos bioativos e aditivos em alimentos, os quais são encarados como um desafio quanto a sua estabilidade em alimentos industrializados (CHAMPAGNE; FUSTIER, 2007; FAVARO TRINDADE et al. 2008). Seguindo este princípio, torna-se importante a realização de estudos com o intuito de aumentar a vida de prateleira destes compostos assim como a sua entrega melhorada frente às condições gastrointestinais simuladas, desta forma, o uso do processo de microencapsulação torna-se uma alternativa viável frente à proteção destes compostos assim como o aumento da vida de prateleira dos mesmos.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL:

- Microencapsular compostos antociânicos extraídos do mirtilo (*Vaccinium spp*) pelo método de *spray dryer*.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Caracterização físico-química do mirtilo (*Vaccinium spp*);
- Obter extrato de mirtilo e determinação de antocianinas monoméricas totais, compostos fenólicos totais e atividade antioxidante;
- Microencapsular extrato do mirtilo utilizando Maltodextrina DE20 e Hi-meize como materiais de parede em diferentes concentrações pelo método de *spray dryer*;
- Realizar o teste de temperatura de secagem de 120, 140 e 160°C;
- Caracterização das micropartículas quanto a eficiência de encapsulação, tamanho de partícula, teor de umidade e atividade de água, dissolução e análise de cor;
- Analisar as microcápsulas quanto o teor de antocianinas monoméricas totais, compostos fenólicos totais e atividade antioxidante;
- Avaliar a estabilidade dos compostos microencapsulados e sua degradação ao longo dos 20 dias a 25°C.
- Analisar a resistência dos compostos antociânicos a condições gastrointestinais simuladas.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 ALIMENTOS FUNCIONAIS

Segundo a legislação brasileira vigente, alimento funcional é todo aquele alimento ou ingrediente que, além das funções nutricionais básicas, quando consumido como parte da dieta usual, produz efeitos metabólicos e/ou fisiológicos e/ou efeitos benéficos à saúde. Devendo ser seguro para o consumo sem a necessidade de supervisão médica (ANVISA, 1999a).

O conceito de alimentos funcionais foi proposto inicialmente no Japão na década de 80, em função da crescente população de idosos e da preocupação tanto por parte da população quanto dos órgãos governamentais com a preservação de doenças crônico-degenerativas (PACHECO e SGARBIERI, 2001; ANJO, 2004). O conceito de alimento funcional varia de acordo com a legislação vigente de cada país e seus hábitos alimentares, em função disso não existe um termo universal para alimentos funcionais.

Os alimentos funcionais são caracterizados por oferecerem benefícios à saúde, contendo alto valor nutritivo, podendo desempenhar um papel benéfico na redução de risco de doenças degenerativas. Segundo Lajolo (2005), as substâncias presentes nos alimentos responsáveis pelas ações biológicas são chamadas de fitoquímicos ou compostos bioativos.

No Brasil não são permitidas as alegações de cura e prevenção de doenças nos rótulos dos alimentos, mas sim, aquelas relacionadas ao efeito sobre o organismo e à manutenção geral da saúde. Permite ainda a alegação sobre a redução de riscos a determinadas doenças (ANVISA, 1999a e 1999b).

O mercado de alimentos funcionais é bastante promissor, cabendo às indústrias desenvolverem trabalhos juntamente com os cientistas de alimentos, auxiliando na pesquisa e desenvolvimento de novos produtos a fim de satisfazer as crescentes exigências dos consumidores (REQUE, 2012). A busca do consumidor por uma alimentação saudável e conveniente faz com que seja estimulado o desenvolvimento de alimentos enriquecidos com compostos bioativos, os quais são de alto interesse para a indústria de alimentos, pois, eleva a qualidade da alimentação humana e ainda pode agregar valor a alimentos já disponíveis no mercado (XAVIER, 2013).

3.2 MIRTILO

O mirtilo (*Vaccinium spp.*) é um espécie frutífera originária de algumas regiões da Europa e América do Norte (ANTUNES e RASEIRA, 2006; FACHINELLO, 2008). No Brasil sua cultura ainda é pouco difundida, entretanto pesquisas tem se intensificado com o intuito de caracterizar e verificar sua adaptação às condições climáticas do Brasil (PERTUZZATI, 2009).

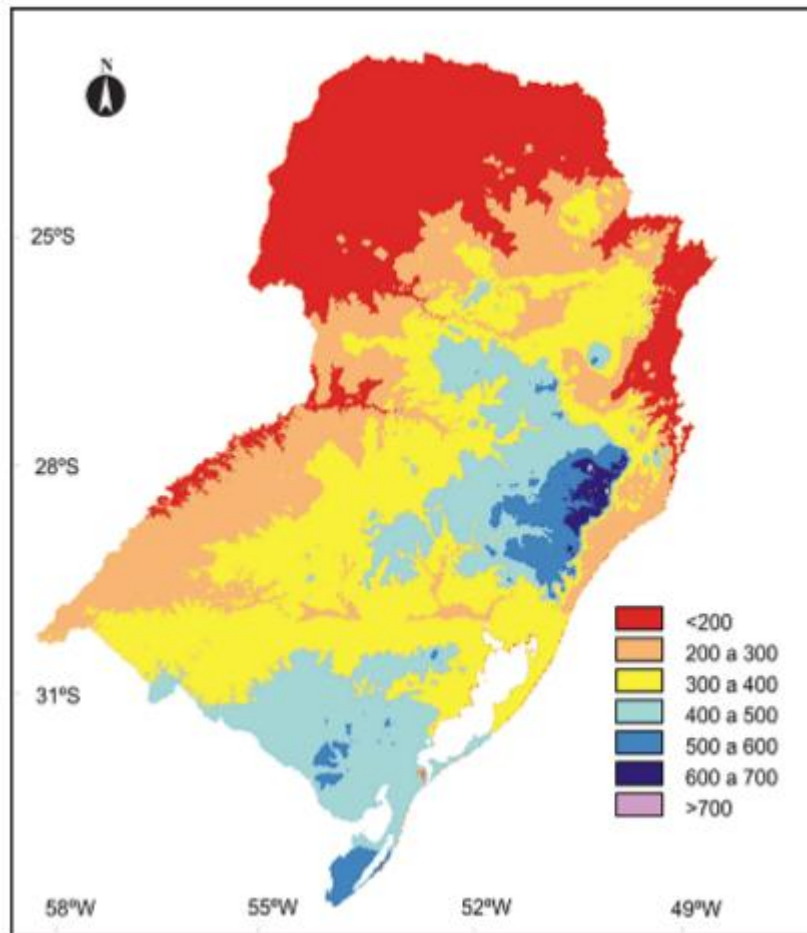
As primeiras cultivares trazidas são datadas da década de 80, pela EMBRAPA- Clima Temperado (Pelotas, RS) e as primeiras análises tiveram início em 1983 (ANTUNES e RASEIRA, 2006; FACHINELLO, 2008; PERTUZATTI, 2009). A primeira iniciativa comercial no País começou em 1990 em Vacaria no Rio Grande do Sul, através da introdução da variedade “*Highbush*” (RASEIRA e ANTUNES, 2004; ANTUNES e RASEIRA, 2006; FACHINELLO, 2008).

A região Sul do Brasil possui zonas que apresentam clima tropical e outras que apresentam clima temperado, nesta região em especial, ocorrem grandes variações climáticas, principalmente variações bruscas de temperatura durante o inverno. Estes parâmetros são considerados de extrema importância para a produção de mirtilo (RASEIRA e ANTUNES, 2004). Minas Gerais e São Paulo também são regiões de cultivo, embora, em menor quantidade devido ao seu menor acumulo de frio.

O mirtilo é membro da família *Ericaceae*, sub família *Vaccinoideae* e gênero *Vaccinium*, podendo ser classificado em dois grupos principais cultivados no Brasil *Rabbiteye* e *Highbush*. O grupo *Rabbiteye* se adapta de forma mais fácil por ser menos exigente ao frio, necessitando de 300 horas de frio. Já o grupo *Highbush* é mais exigente necessitando de 650 a 800 horas de frio (RASEIRA e ANTUNES, 2004; FACHINELLO, 2008). Conforme o mapa de horas de frio apresentado na Figura 1 à região sul do Paraná até o norte do Rio Grande do Sul apresentam um número elevado de horas de frio sendo regiões propicias para o cultivo de espécies mais exigentes ao frio.

No Brasil as cultivares do grupo *Rabbiteye* são melhores adaptadas às condições climáticas, sendo elas consideradas mais rústicas, porém os frutos são considerados de qualidade inferior quando comparados com os cultivares do grupo *Highbush*, sendo esta a principal variedade cultivada nos Estados Unidos (VIZZOTO e PEREIRA 2009).

Figura 1- Horas de frio estimadas, de maio a setembro (abaixo de 7,2°C) na região Sul do Brasil.



Fonte: Embrapa Clima Temperado, A cultura do Mirtilo (RASEIRA e ANTUNES, 2004).

De sabor ligeiramente doce-ácido, os mirtilos apresentam coloração avermelhada a azulada (Figura 2) quando maduros e são cobertos por uma cera denominada pruína (CANTUARIAS-AVILES et al., 2014). A planta do mirtilo se caracteriza por ser de porte arbustivo com hábito caducifólio e possui ciclo vegetativo de até 160 dias (RASEIRA e ANTUNES, 2004).

Estudos apontam que o mirtilo possui propriedades benéficas a saúde associados à presença de compostos bioativos, principalmente antociânicos, os quais são responsáveis pelo pigmento azul-púrpura do fruto (REQUE, 2012; ANTUNES et al., 2013; GOLDMEYER et al., 2014). Tais compostos apresentam alto valor antioxidante, pois, possuem propriedades de combater aos radicais livres que provocam lesões celulares desencadeando uma série de doenças crônico-degenerativas (FACHINELLO, 2009; SARAL et al., 2015).

Figura 2- Fruto de mirtilo.



Fonte: Google Imagens.

O consumo de mirtilo pode apresentar uma série de benefícios à saúde, consumido tanto “in natura” quanto após o processamento por desidratação, congelamento ou enlatamento (GOLDMEYER et al., 2014). As principais doenças com as quais encontra-se relacionado a prevenção e tratamento são as seguintes: cardiovasculares, câncer, anti-inflamatório, circulação, visão, deficiência cognitiva, cataratas, disfunção imunológica, edemas, artrites, hemorroidas, artroses e aterosclerose (FACHINELLO, 2008; PERTUZATTI, 2009; VIZZOTO et al., 2013; BARBA et al., 2013; CONCENÇO et al., 2014; CANTUARIAS-AVILES et al., 2014, ROUTRAY e ORSAT, 2014; SARAL et al., 2015).

Além das antocianinas, o mirtilo também é uma fonte de ácido clorogênico, quercitina, catequina, resveratrol, vitamina C, entre outros, que contribuem com a atividade antioxidante (GIOVANELLI e BURATTI 2008). Segundo Pertuzatti (2009) a composição de antocianinas e polifenóis das variedades de mirtilo muito se assemelham.

Vizzoto et al.(2013) afirmam que vários são os fatores que podem afetar o conteúdo de compostos fenólicos em mirtilos tais como, a maturidade dos frutos, diferenças genéticas entre cultivares, condições ambientais e processamento (VIZZOTO e PEREIRA 2009; SOUZA et al., 2014; SKROVANKOVA et al., 2015).

Quando comparados os dois grupos principais, *Highbush* e *Rabbiteye* pode-se observar que as variedades pertencentes ao grupo *Rabbiteye* possuem uma concentração mais elevada de compostos fenólicos totais assim como sua capacidade antioxidante (ANTUNES et al., 2013). O conteúdo de compostos antociânicos em mirtilos aumenta conforme o estágio de maturação dos frutos, fato que ocorre na maioria das espécies dentro do grupo das pequenas frutas (ANTUNES et al., 2013).

Na Tabela 1 está apresentada a composição centesimal do mirtilo, descrita por Souza et al. (2007) em 100g de fruto, a qual pode apresentar variações de acordo com a cultivar, práticas culturais, fertilidade do solo, época do ano, grau de maturação do fruto, entre outros fatores.

Tabela 1- Composição centesimal do mirtilo em 100g de fruto.

Nutrientes e composição centesimal em 100g de fruto	
Umidade	83-87g
Valor energético	51-62 kcal
Proteínas	0,4-0,7g
Lipídios	0,5g
Glicose	5,7g
Frutose	5-7g
Sacarose	Nd
Fibra	1-1,5g
Cinzas	0,19-0,25g
Vitaminas e outros componentes	
Vitamina C	22-62mg
Taninos	270-550mg
Pectinas	300-600mg
Antocianinas	300-725 mg

Fonte: Adaptado de Souza et al.(2007).

A pequena vida de prateleira do mirtilo é o grande problema encontrado pelos produtores e comercializadores, chegando a durar até seis semanas quando mantido em atmosfera controlada devido ao seu elevado teor de umidade. Mais de 50% dos mirtilos maduros são processados em diferentes produtos como sucos, geléias, sorvetes, purês, tortas, cereais entre outros beneficiamentos uma alternativa viável para a preservação desde fruto (ROCHA 2009; SKROCANKOVA et al., 2015).

A produção comercial de mirtilos ocorre principalmente na América do Norte (EUA e Canadá), na Europa (Polônia, Alemanha) e também em países do Hemisfério Sul (Chile, Argentina, Uruguai, Austrália) (CANTUARIAS-AVILÉS et al., 2014). Em 2011 a área mundial colhida aumentou 60% de 48,903 para 81,091 hectares.

Os EUA e Canadá são os principais produtores de mirtilos, correspondendo a 86,7% da produção mundial em 2011, seguidos pela Europa (10,4%) e América do Sul (2%) (FAO, 2013).

Quando comparado às demais pequenas frutas vermelhas, como framboesa e amora-preta, o mirtilo apresenta os maiores teores de compostos fenólicos, antocianinas e atividade antioxidante. Por ser um fruto rico em componentes que apresentam características funcionais

e de manutenção a saúde o estudo da preservação e entrega melhorada destes compostos se tornam fundamentais.

3.3 COMPOSTOS BIOATIVOS

3.3.1 Compostos fenólicos

Existem cerca de oito mil fenóis identificados distribuídos na natureza. Esses compostos encontram-se largamente distribuídos em plantas, flores, frutos e fazem parte de um grupo de fitoquímicos derivados de fenilalanina e tirosina, dentre eles destacam-se os flavonóides, ácidos fenólicos, fenóis simples, antocianinas, cumarinas, taninos, ligninas e tocoferóis (SHAHIDI e NACZK, 1995; SOUZA et al., 2014; BARBOSA, 2015; SKROVANKOVA et al., 2015).

São originados do metabolismo secundário das plantas, sendo estes essenciais para seu crescimento e reprodução (ANGELO e JORGE, 2007). Os compostos fenólicos em plantas também atuam como agentes antipatogênicos e contribuem na pigmentação dos mesmos (SHAHIDI e NACZK, 1995).

Também são substâncias antioxidantes que possuem o papel de inibir a oxidação lipídica e as espécies reativas de oxigênio, além de proteger a oxidação da lipoproteína de baixa densidade (BARBOSA, 2015). Em alimentos são responsáveis pela cor, adstringência, aroma e estabilidade oxidativa (NACZK e SHAHIDI, 2004; LEE et al., 2005, ANGELO e JORGE, 2007).

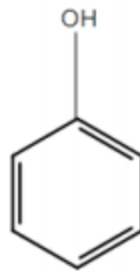
Evidências científicas permitem afirmar que a propriedade antioxidante deve-se principalmente a estrutura fenólica (MELO e GUERRA, 2002; ROCHA, 2009). Os compostos fenólicos estão incluídos na categoria de sequestradores de radicais livres, também podendo exercer a ação antioxidante através do sequestro de íons metálicos, atuando como quelantes (URSINI et al., 1999; SKROVANKOVA et al., 2015).

Quando responsáveis pela coloração principalmente em frutas e hortaliças podem ser considerados pigmentos, como as antocianinas, normalmente são derivadas de defesa do metabolismo contra agressões do ambiente. Possuem propriedade antioxidante pela sua habilidade de doar hidrogênio e elétrons, como também em virtude dos seus radicais

intermediários que impedem a oxidação de vários ingredientes do alimento, em especial lipídios (NACZK e SHAHIDI, 2004; KAN et al., 2014; BARBOSA, 2015).

Quimicamente são definidos como substâncias que possuem um anel aromático com um ou mais substituintes hidroxílicos, incluindo seus grupos funcionais (Figura 3) (LEE et al., 2005).

Figura 3- Estrutura benzênica (fenólica) C6 com grupamento hidroxila (OH).



Fonte: Barbosa (2015).

3.3.2 Antocianinas

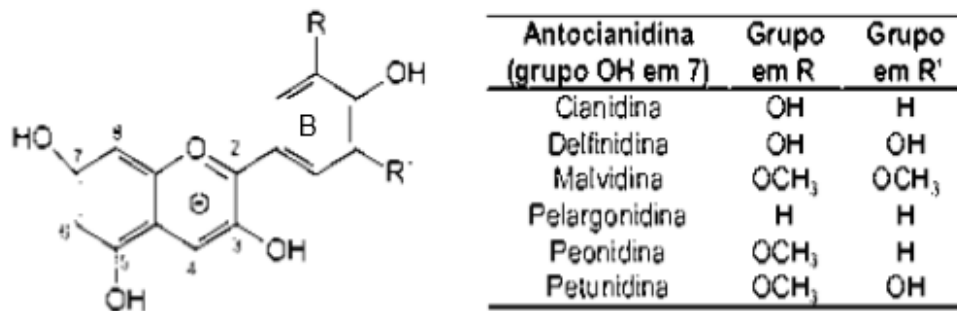
As antocianinas são pigmentos vegetais responsáveis por uma grande variedade de cores observadas mais constantemente em flores e frutos. Quimicamente esses pigmentos são compostos fenólicos pertencentes ao grupo dos flavonoides, sendo amplamente distribuído no reino vegetal (BOBBIO e BOBBIO, 1995).

Dentre as antocianidinas encontradas na natureza, apenas seis estão presentes nos alimentos: cianidina, delphinidina, perlagonidina, peonidina, petunidina e malvidina, que diferem entre si quanto ao número de hidroxilas e ao grau de metilação no anel B (Figura 4) (LIMA e GUERRA, 2003).

As antocianinas são solúveis em água e extremamente instáveis sendo facilmente degradadas. Diversos fatores influenciam na estabilidade das antocianinas, incluindo pH, luz, presença de oxigênio, enzimas, ácido ascórbico, dióxido de enxofre ou sulfito, íons metálicos copigmentos (KECHINSKI, 2011).

Normalmente as antocianinas são estáveis em pH entre 1,5 e 3. Em pH 1, a estrutura predominante corresponde ao cátion flavíum, conferindo as cores vermelho e roxo. Em valores de pH entre 2 e 4, predominam as bases quinoidais de cor azul (grupo em que se encontra o mirtilo) e, em 5 e 6, a pseudo carbinol e a chalcona, espécies de coloração menos intensa. Em pH acima de 7, em geral, são degradadas (BOBBIO e BOBBIO, 1992).

Figura 4- Estrutura de algumas antocianidinas comuns em vegetais.



Fonte: Lima e Guerra (2003).

A luz afeta as antocianinas de duas formas diferentes, sendo esta essencial a sua biossíntese, mas, também acelera sua degradação (ZARDO, 2014).

O mecanismo de degradação térmica de antocianinas ainda não foi completamente elucidado. Muitos estudos demonstram uma relação logarítmica entre a destruição das antocianinas e o aumento aritmético da temperatura. Porém, processos que utilizam altas temperatura em menor tempo têm sido recomendados como o processo de pasteurização HTST- “High Temperature Short Time” (KECHINSKI, 2011).

As antocianinas podem ser degradadas também por enzimas endógenas presentes nos tecidos das plantas como a polifenoloxidase, glicosidases e peroxidases (ZARDO, 2014). Segundo LOPEZ et al. (1994) as enzimas polifenol oxidases (PPO) são as principais responsáveis pela degradação de antocianinas em frutas frescas e em sucos, resultando na geração de uma coloração marrom.

O método utilizado para a inibição enzimática é o tratamento térmico, porém quando muito intenso pode provocar alterações indesejadas. O branqueamento é a técnica mais utilizada, por poder fazer a inativação enzimática em um curto período com altas temperaturas (45-60 segundos a 90-100 °C), não resultando em perdas significativas de antocianinas (ZARDO, 2014).

3.4 MICROENCAPSULAÇÃO

O uso do processo de microencapsulação tem se tornado uma alternativa viável para a incorporação de compostos bioativos e aditivos em alimentos, os quais são encarados como

um desafio quanto a sua estabilidade em alimentos industrializados (CHAMPAGNE e FUSTIER, 2007; FAVARO-TRINDADE et al., 2008). Seguindo este princípio indústrias alimentícias vem utilizando o processo de microencapsulação para o desenvolvimento de novos produtos conferindo um aumento do valor nutricional ao alimento (SOBRINHO e FARIAS, 2012).

A microencapsulação na indústria de alimentos tem como finalidade proteger os ingredientes encapsulados contra a oxidação química, de fatores ambientais como temperatura, luz, oxigênio. Também pode ser utilizado para a proteção de compostos que sejam desejáveis nos alimentos como vitaminas, polipeptídios e compostos bioativos nos quais se enquadram vitaminas, minerais, probióticos, fitoesteróis, luteína, ácidos graxos, licopeno e antioxidantes, durante todo processamento, estocagem e transporte (CHAMPAGNE e FUSTIER, 2007; DE VOS et al., 2010; FANG e BHANDARI, 2010; SOBRINHO e FARIAS, 2012; MENEZES et al., 2013; DALLAGNOL, 2013).

A microencapsulação foi desenvolvida há aproximadamente 60 anos (FANG e BHANDARI, 2010) e pode ser definida como a tecnologia utilizada para recobrir pequenas partículas de material sólido, líquido ou gasoso, onde as mesmas são aprisionadas em filmes finos, formando pequenas cápsulas de um agente de microencapsulação de grau alimentar, as quais podem liberar o seu conteúdo de forma controlada ou sob condições específicas (GHARSALLAOUI et al., 2007; MENEZES et al., 2012; NAZZARO et al., 2012).

Segundo Gharsallaoui et al. (2007) os diferentes tipos de microesferas e microcápsulas são produzidas através de uma vasta gama de materiais de parede entre eles açúcares, gomas, proteínas, polissacarídeos naturais e modificados, lipídios e polímeros sintéticos (FANG e BHANDARI, 2010). A microencapsulação conta com um grande número de processos (Tabela 2) (FANG e BHANDARI, 2010; SOBRINHO; FARIAS, 2012; NAZZARO et al., 2012). A principal diferença entre as metodologias está diretamente relacionada ao envolvimento ou aprisionamento entre o agente encapsulante e o material a ser encapsulado, podendo estes serem classificados em três grupos: métodos químicos, físicos ou físico-químicos (TIWARI et al., 2010)

Nesta perspectiva a escolha do método a ser utilizado deve levar em consideração as propriedades físico-químicas do material a ser encapsulado e do agente encapsulante. Assim como a sua aplicação, as propriedades físicas da microcápsulas e a liberação do material a ser encapsulado (BANSODE et al., 2010).

Tabela 2- Métodos utilizados na elaboração de micropartículas

Métodos de Microencapsulação	Natureza do material do núcleo	Tamanho aproximado da partícula (µm)
Métodos físicos		
Extrusão estacionária	Líquido/sólido/gás	1.000 - 6.000
Extrusão centrífuga	Líquido/sólido/gás	125 - 3.000
<i>Spray drying</i>	Líquido/sólido	5 – 150
<i>Spray chilling e spray cooling</i>	Líquido/sólido	20 – 200
Leito fluidizado	Sólido	>100
Co-cristalização	Sólido/líquido	-
Liofilização	Líquido	-
Métodos químicos		
Polimerização interfacial	Líquido/sólido	1 – 500
Inclusão molecular	Líquido	5 – 50
Polimerização <i>in situ</i>	Líquido/sólido	1 – 500
Métodos físico-químicos		
Coacervação	Líquido/sólido	1 – 500
Lipossomas	Líquido/sólido	0,02-3
Lipoesferas	Líquido/sólido	0,02-10
Evaporação do solvente	Líquido/sólido	1-5.000

Fonte: Desai e Park (2005); Madene et al. (2006).

Os materiais a serem encapsulados podem ser puros ou com misturas e podem ser chamados de núcleo, fase interna, material revestido, preenchimento da fase interna ou carga útil. Os materiais de embalagem são chamados de material de revestimento, escudo, material de parede ou membrana, transportador, concha ou cápsula (GHARSALLAOUI et al., 2007; FANG e BHANDARI, 2010).

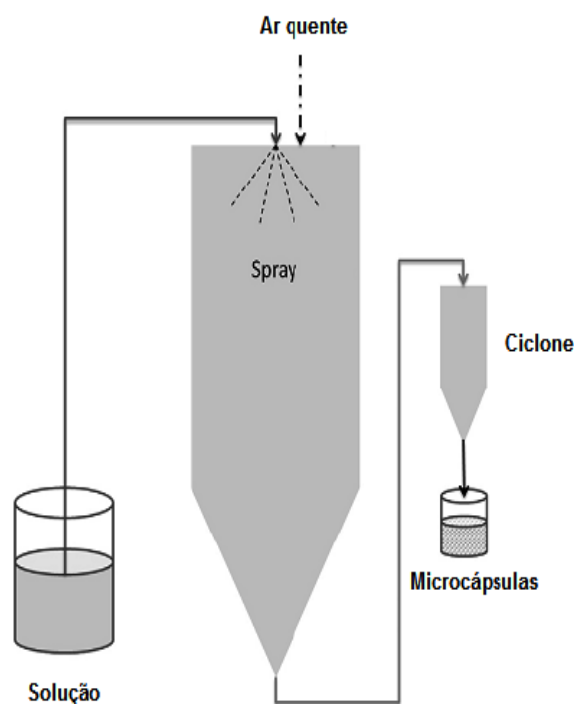
Muitas técnicas de microencapsulação foram desenvolvidas ao passar dos anos, no entanto para microencapsulação de ingredientes alimentares a técnica de *spray drying* é a

mais comumente utilizada devido ao seu baixo custo e equipamentos prontamente disponíveis (GHARSALLAOUI et al., 2007; NAZZARO et al., 2012; SIMEONE et al., 2014). A microencapsulação por *spray drying* é um dos processos mais antigos de encapsulamento, sendo este utilizado desde 1930 para preparação dos primeiros aromas encapsulados usando goma arábica como material de parede (GHARSALLAOUI et al., 2007).

O método de *spray drying* (Figura 5) é considerado uma operação unitária no qual um produto líquido é atomizado através de uma corrente de gás (ar ou ozônio) quente para obtenção de um pó instantaneamente. O líquido inicial do pulverizador pode ser uma emulsão ou suspensão. A secagem por pulverização pode produzir um pó muito fino (10 a 50 μm) ou grandes partículas (2 a 3 mm), este fator vai depender das condições de alimentação do material de partida e de funcionamento do equipamento em questão (GHARSALLAOUI et al., 2007; SIMEONE et al., 2014).

Existem etapas básicas a serem seguidas para o processo de microencapsulação por *spray drying*, primeiramente é necessário que seja realizado a preparação da dispersão ou emulsão a ser processada, em um segundo momento faz-se a homogeneização da dispersão e como procedimento final tem-se a atomização da massa dentro da câmara de secagem (CALEFFI, 2014).

Figura 5- Esquema da microencapsulação por *spray drying*.



As variáveis apresentadas por este processo envolvem a temperatura de entrada e saída de ar do sistema, o fluxo de ar fluido de arraste, a distribuição da temperatura e umidade, tempo de permanência e temperatura da câmara. Estes parâmetros serão determinantes para a eficiência do processo, aliado as características do agente encapsulante (RÉ, 1998; KISSEL et al., 2006).

3.4.1 Agentes encapsulantes

Agentes encapsulantes são substâncias que formam uma película em torno do composto desejado, proporcionando uma entrega melhorada de ingredientes funcionais (SOBRINHO e FARIAS, 2012). Para atuar como emulsificante, um composto deve conter grupamentos hidrofílicos e hidrofóbicos. Quanto melhor for a capacidade emulsificante do composto melhor será a retenção de compostos (ROCHA, 2009).

Para iniciar o processo de encapsulação o primeiro passo é a escolha do agente encapsulante adequado. Esta escolha depende de uma série de fatores como: apresentar propriedades emulsificantes, não apresentar reatividade com o material a ser encapsulado, ser capaz de formar filmes, ser biodegradável, apresentar resistência ao trato gastrointestinal, baixa viscosidade e ser de baixo custo, associado à escolha do processo de microencapsulação e o mecanismo de liberação ideal (PEGG e SHAHIDDI, 2007; SOBRINHO e FARIAS, 2012; SIMEONE et al., 2014).

Segundo Shahidi e Han (1993) os materiais encapsulantes mais utilizados compreendem:

- Carboidratos: amidos, dextrinas, xarope de milho, sacarose;
- Celulose: carboximetil celulose, etil, metil, acetil e nitro-celulose;
- Gomas: goma arábica, guar, alginato de sódio, carragena;
- Lipídios: cera, parafina, triestearina, ácido, mono e diglicerídeos e gorduras hidrogenadas;
- Proteínas: glúten, caseína, isolado proteico de soro de leite, gelatina e albumina, algumas fontes alternativas como quitosana.

A maltodextrina é caracterizada por sua dextrose equivalente (DE) e por seu grau de polimerização (DP). Assim as propriedades das maltodextrinas estão associadas ao DE e ao

DP, que variam de acordo com o grau de hidrólise durante o processamento do amido (BICUDO, 2014).

A maltodextrina é definida como todo o amido hidrolisado com valores de dextrose equivalente entre 3 e 20. O valor de DE reflete na sua estabilidade e funcionalidade (CALEFFI, 2014). Apresenta-se como um pó branco ou solução concentrada, formada pela hidrólise parcial do amido de milho com ácidos e/ou enzimas. Não possui propriedades emulsificantes (hidrofílica e lipolítica), por este motivo deve ser utilizada com amidos modificados para a estabilização de emulsões (CALEFFI, 2014; BICUDO, 2014).

Ersus e Yordagel (2007) estudaram a microencapsulação de antocianinas por *spray drying* de antocianinas extraídas de cenoura preta, utilizando maltodextrinas com diferentes DEs (10, 20, 30), os autores observaram que as microcápsulas formadas com o maior valor de DE apresentaram melhor retenção de antocianinas. Zardo et al. (2014) ao microencapsularem extrato de mirtilo, obtiveram 82,05% de retenção de antocianinas utilizando maltodextrina como material de parede e uma temperatura de entrada no *spray drying* 140 °C.

Silva et al. (2013) ao encapsularem o extrato de jaboticaba com maltodextrina nas temperaturas de 140 °C, 160 °C e 180 °C obtiveram retenção de 83,21% a 99% das antocianinas, concluindo que a utilização de maltodextrina como agente encapsulante é efetiva na proteção de compostos antociânicos.

Amidos modificados são considerados de baixo custo e apresentam excelente propriedade emulsificante. A utilização de amidos modificados para encapsulação tem sido relacionada em sua maioria para a encapsulação de aromas (PARAMERA et al., 2011), não sendo encontrados muitos estudos quanto a sua utilização como material de parede para compostos bioativos com aplicação em alimentos.

Hi-meize é um amido resistente derivado do milho com alto teor de amilose, composto aproximadamente por 56% de amido resistente e 40% de amido digestível. Amido resistente é definido como a quantidade total de amido e seus produtos de degradação resistentes a degradação no intestino delgado de pessoas saudáveis (FIGUEROA-GONZALEZ et al., 2011).

Segundo o material publicado pela Federação das Indústrias do Estado de São Paulo (FIESP) em parceria com o Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL), Brasil Food Trends 2020, os amidos modificados são importantes agentes de textura e de resistência à variação de temperatura (FIESP e ITAL, 2010). Porte et al. (2011) afirmam que o amido modificado possui propriedade de redução da tensão superficial de uma solução podendo ser utilizado como emulsificante.

Paramera et al. (2011) afirmam que o uso de amidos modificados como material de parede pode aumentar a solubilidade em água de compostos fracamente solúveis e também podem melhorar a estabilidade de aromas frente ao oxigênio, calor e luz.

Sobrinho e Farias (2012) relatam que dificilmente um agente encapsulante irá apresentar isoladamente todas as propriedades para a formação de uma cápsula resistente e adequada para o que se deseja, por este motivo é comum o emprego de misturas de materiais encapsulantes.

4 MATERIAS E MÉTODOS

As análises físico-químicas foram realizadas nos laboratórios do Departamento de Tecnologia em Alimentos localizado, no Centro de Ciências Rurais, todas em triplicata, as análises referentes ao processo de microencapsulação foram realizadas no Núcleo de Tecnologia de Alimentos (NTA) da Universidade Federal de Santa Maria.

4.1 MIRTILO

Os mirtilos da variedade Bluecrop da espécie *Highbush* foram adquiridos em um único lote, congelados e embalados em saco de polietileno de 5 kg da empresa Italbraz Ltda, situada na cidade de Vacaria no Estado do Rio Grande do Sul. Após seu recebimento, a embalagem foi fracionada em cinco outras embalagens contendo 1 kg cada, armazenados e mantidos em freezer convencional -12°C até o momento das análises. Também foram submetidos ao processo de branqueamento para a inativação da enzima polifenoloxidase (PPO) que degradam as antocianinas conforme metodologia descrita por Celestino (2010).

4.1.1 Composição centesimal da polpa de mirtilo

Para a realização da composição centesimal do fruto foi necessário realizar inicialmente a pré-secagem, onde os mesmos foram partidos ao meio. A pré-secagem em estufa com circulação de ar a $55 \pm 5^\circ\text{C}$ por 72 horas até a amostra atingir peso constante (PRATES, 2007). Posterior ao processo de pré-secagem as amostras foram trituradas em liquidificador convencional e armazenada sob temperatura ambiente para posterior análise.

Foi realizado o teor de umidade, cinzas, proteína bruta, lipídios e fibra total. O teor de carboidratos totais foi determinado por diferença. Todas as análises foram seguiram as metodologias propostas pela AOAC (2000).

4.1.2 Acidez total titulável

Para a determinação da acidez total titulável foi utilizado o método de determinação da acidez total para bebidas não alcoólicas conforme metodologia proposta pelo Instituto Adolfo Lutz (2008), o procedimento consiste na utilização de 1g de amostra e adicionado 10 mL de água destilada. Para a determinação da acidez foi utilizado pHmetro de bancada (Digimed DM-22), para a titulação foi utilizada solução de hidróxido de sódio 0,1M. A determinação da acidez total titulável ocorreu até a amostra atingir pH 8,2-8,4. As análises foram realizadas em triplicata. A Equação (1) a seguir foi utilizada para a determinação da acidez total titulável da amostra:

$$\frac{V \times F \times M \times 100}{A} \quad (1)$$

Onde:

V= volume gasto de hidróxido de sódio 0,1M;

F= Fator de correção do hidróxido de sódio 0,1M;

M= Molaridade da solução;

A= Volume da amostra em mL de amostra ou em gramas.

4.1.3 pH

Para a determinação do pH da amostra foram pesados 10g da amostra em um béquer e diluído com o auxílio de 100 mL de água. O conteúdo foi agitado até formação de um líquido homogêneo. A leitura foi realizada em pHmetro de bancada (Digimed DM-22) onde inicialmente foi calibrado com solução tampão 4 e 7 respectivamente. As análises foram realizadas em triplicata.

4.1.4 Atividade de água

Para a determinação da atividade de água (Aa) foi realizada em aparelho da marca Aqualab modelo 4TEV (Decagon Devices, Pullman, WA, EUA), para isso as amostras foram

acondicionadas em cápsulas, as mesmas foram postas no medidor de atividade de água, onde com a tampa da câmara fechada ocorre o equilíbrio do vapor com calibração para 25°C. As análises foram realizadas em triplicata.

4.1.5 Sólidos Solúveis Totais

Foi realizada através de um refratômetro onde sua leitura é feita em Brix°. As amostras foram analisada em triplicata conforme a metodologia descrita por Instituto Adolfo Lutz (2008).

4.2 ANÁLISES DOS COMPOSTOS BIOATIVOS

4.2.1 Preparo dos extratos

A obtenção do extrato de mirtilo ocorreu segundo a metodologia proposta por Zardo (2014), com adaptações, o extrato aquoso foi obtido na presença de 1% m/v de ácido cítrico como solvente. O processo de homogeneização considerou a proporção de 1:3 (m/v) de fruto: solução contendo 1% de ácido cítrico, com o auxílio de mixer convencional, após obter um líquido homogêneo o extrato foi submetido a agitação em agitador magnético de bancada por 50 minutos, após este processo o extrato foi centrifugado em centrífuga Colerman (Centrifuge Model 90-1) a 5.000 rpm por 15 minutos, o sobrenadante foi encaminhado para a filtração. O filtrado foi reservado para o preparo das microcápsulas.

4.2.2 Antocianinas totais monoméricas

Para a determinação das antocianinas totais foi utilizado o método de pH diferencial, método proposto por Giusti e Wrolstad (2001). O método do pH diferencial caracteriza-se por

ser um método rápido e fácil para a quantificação de antocianinas monoméricas, baseia-se nas mudanças estruturais sofridas pelas antocianinas na faixa de pH entre 1 e 4,5, podendo ser observada por espectroscopia ótica, devido aos compostos coloridos em pH 1 e incolores em pH 4,5.

Para a realização do método as amostras foram diluídas em soluções tampão de pH 1,0 (0,025 M de cloreto de potássio) e 4,5 (0,4 M de acetato de sódio), com fator de diluição da amostra previamente determinado. As leituras realizadas entre as absorbâncias nos dois pHs são proporcionais a concentração de antocianinas na amostra.

As leituras foram realizadas em dois comprimentos de onda, 518 e 700nm conforme o pico de absorção anteriormente determinado por Zardo (2014) para extratos de mirtilo. O branco utilizado para zerar o espectrofotômetro foi água destilada.

O fator de diluição é determinado conforme a Equação 2.

$$FD = \frac{V_r}{V_{extrato}} + 1 \quad (2)$$

Em que V_r é o volume do tampão (mL) e $V_{extrato}$ o volume de extrato de antocianinas (mL). O FD encontrado foi 10, o mesmo foi utilizado para todas as análises.

A determinação da absorbância foi determinada através da Equação 3.

$$A = (A_{518} - A_{700})_{pH\ 1,0} - (A_{518} - A_{700})_{pH\ 4,5} \quad (3)$$

Onde A_{518} é a absorbância no comprimento de onda de máxima detecção das antocianinas e A_{700} é a absorbância no comprimento de 700 nm. A concentração de antocianinas na amostra foi determinada pela Equação 4.

$$Antocianinas = \left(\frac{mg}{mL} \right) = \frac{A * MM * FD * 1000}{\epsilon * l} \quad (4)$$

Onde:

A = Absorbância calculada utilizando a equação 3;

MM = massa molar da antocianina cianidina-3-glucosídeo (449,2 g.mol⁻¹);

ϵ = coeficiente de absorvidade molar da antocianina (26.900 L.mol⁻¹.cm⁻¹);

FD= fator de diluição calculado com a equação 2;

l = comprimento da cubeta na direção da passagem de luz (1cm).

4.2.3 Compostos Fenólicos Totais

Para a determinação de compostos fenólicos totais foi utilizado o método de *Folin-Ciocalteu* utilizando curva de calibração para ácido gálico ($y = 0,0117 x + 0,0338$) com $R^2 = 0,9981$, com adaptações na técnica descrita por Miliukaus et al. (2004).

Em tubos de ensaio devidamente identificados foram adicionados 400 μL de amostra, 2mL de Folin-Ciocalteu 2N e após três minutos 1,6mL de carbonato de sódio 7% previamente filtrado. Os tubos foram incubados em banho-maria a 50 °C e após resfriamento as realizadas leituras foram realizadas espectrofotômetro a 760nm. As análises foram realizadas em triplicada, para maior exatidão nos resultados.

4.2.4 Capacidade Antioxidante pelo método de ORAC

O ensaio de ORAC (Capacidade de desativação do radical peroxila $\text{ROO}\bullet$) foi realizado como descrito por OU et al. (2001). Este ensaio cinético é baseado na medida da atividade desativação de radicais peroxila que são produzidos pelo de indutor de radicais 2,2'-Azobis(2-amidinopropano)di-hidrocloro (AAPH) a 37°C. A capacidade de desativar o ($\text{ROO}\bullet$) é medida pelo monitoramento do decaimento da fluorescência, devido à oxidação da fluoresceína a produtos não fluorescentes. A presença de compostos desativadores do ($\text{ROO}\bullet$) diminui a taxa de decaimento da fluorescência.

Foi adicionado 25 μL de extrato de mirtilos da variedade *Bluecrop* da espécie *Highbush* (100 mg L^{-1}), ou Trolox em tampão fosfato de potássio 75 mmol L^{-1} (pH 7,4) numa microplaca incubada durante 10 min a 37 °C, 150 μL de solução de fluoresceína (81 nmol L^{-1}) foi usada como substância geradora de fluorescência. Foram adicionados 25 μL de AAPH (152 mmol L^{-1}) como gerador de radical peroxila. A fluorescência foi então medida a cada minuto (comprimentos de onda de 485 nm e 528 nm foram utilizados para excitação e emissão, respectivamente) a 37 °C durante 90 min. A atividade antioxidante foi determinada utilizando área sob a curva (AUC) e os resultados foram comparados com uma curva de referência de Trolox ($0 - 96 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$) e expressos em $\mu\text{mol Trolox}$ equivalente a 1 g de amostra. Substâncias puras antioxidantes encontradas naturalmente em alimentos foram também analisadas para comparação com o extrato estudado (100 mg L^{-1}). As substâncias

utilizadas foram catequina e ácido gálico. Além destas, o hidroxitolueno butilado (BHT), substância sintética antioxidante bastante utilizada em alimentos também foi analisada para comparação com o extrato analisado.

A AUC é dada pela Equação 6:

$$AUC = 1 + \frac{f_1}{f_0} + \frac{f_2}{f_0} + \frac{f_3}{f_0} + \dots + \frac{f_n}{f_0} \quad (6)$$

Onde:

f_n = fluorescência absoluta no tempo n

f_0 = fluorescência absoluta inicial (tempo 0 min)

4.3 MICROENCAPSULAÇÃO DO EXTRATO DA POLPA DE MIRTILO

4.3.1 Preparo das microcápsulas

A microencapsulação foi realizada, em mini *spray drying* de escala laboratorial marca Büchi modelo B-290 com bico de alimentação de 1,5 mm com vazão de 0,45 L/h.

Quatro soluções de alimentação foram preparadas juntamente com o extrato da polpa de mirtilo obtido na Tabela 3. As soluções variaram de acordo com a concentração de Maltodextrina MOR-REX®1920, DE20 e Hi-meize® 260 (22000B00).

Tabela 3- Composição da formulação padrão (P) e dos tratamentos (T1, T2 e T3) aplicados para o extrato do mirtilo.

Identificação	Maltodextrina DE20	Hi-meize
P	18%	-
T1	14%	4%
T2	11%	7%
T3	9%	9%

As microcápsulas foram armazenadas em tubos falcon em temperatura ambiente (25°C) protegidas da luz até o momento das análises.

4.3.2 Temperatura de secagem

Para encapsulação das formulações foram testadas diferentes temperaturas de entrada de ar 120 °C, 140 °C e 160 °C a fim de verificar a temperatura em que ocorre a menor degradação dos compostos antociânicos.

4.3.3 Análises das microcápsulas

4.3.2.1 *Determinação de antocianinas totais monoméricas, compostos fenólicos totais e atividade antioxidante*

As microcápsulas foram dissolvidas pelo método proposto por Robert et al. (2010) com modificações, onde pesou-se 1,0g das microcápsulas para cada formulação e adicionada de 5 mL de acetonitrila e 5 mL de metanol: ácido acético: água (50:8:42 v/v/v) .

Esta mistura foi submetida à agitação em Vortex por 2 minutos e submetida a banho de ultrassom por uma hora. O sobrenadante foi centrifugado em centrífuga Colerman (Centrifuge Model 90-1) a 5.000 rpm por 15 minutos.

Após o rompimento o líquido resultante foi analisado quanto ao teor de antocianinas, compostos fenólicos totais, atividade antioxidante conforme os métodos propostos nos itens 4.2.2, 4.2.3 e 4.2.4, com a finalidade de manter a padronização dos ensaios e posteriormente comparação entre os resultados obtidos.

4.3.2.2 *Eficiência da encapsulação*

A determinação dos compostos fenólicos de superfície seguiu o método proposto por Robert et al. (2010) com modificações. Foram pesados 0,2g de microcápsulas para cada formulação e adicionados de 2mL de uma mistura etanol:metanol (1:1 v/v) (Figura 13), após seguiu os procedimentos estabelecidos no item 4.3.2.1.

Os compostos fenólicos da superfície (CFS) e a eficiência da encapsulação (EE) foram calculados conforme descrito por Robert et al. (2010), de acordo com as Equações 6 e 7 respectivamente.

$$CFS (\%) = \frac{\text{Compostos fenólicos da superfície}}{\text{Conteúdo teórico de compostos fenólicos}} \times 100 \quad (6)$$

$$EE(\%) = 100 - CFS(\%) \quad (7)$$

4.3.2.3 Tamanho de partícula

As diferentes microcápsulas produzidas também foram avaliadas em relação ao seu tamanho de partícula em equipamento Mastersizer 3000 (Malvern Alemanha) utilizando etanol como meio de dispersão.

4.3.2.4 Teor de umidade e atividade de água (Aa)

O teor de umidade foi determinado através da secagem em estufa a 105°C, até atingir peso constante conforme AOAC (2000). A determinação da atividade de água (Aa) foi realizada em aparelho da marca Aqualab modelo 4TEV (Decagon Devices, Pullman, WA, EUA), conforme descrito no item 4.1.4.

4.3.2.5 Dissolução

O teste de dissolução foi realizado conforme a metodologia proposta por El-Tinay e Ismail (1985), onde foi adicionado 1g de amostra em 25 mL de água destilada e posteriormente submetidas ao processo de agitação a 892 rpm com auxílio de barra magnética e o tempo determinado através da completa dissolução da cápsula.

4.3.2.6 *Análise de cor*

A cor foi analisada através do sistema CIELab , possui três parâmetros principais L^* , a^* e b^* , onde o parâmetro L^* varia de 0 (preto) a 100 (branco), indicando uma variação de cor do preto ao branco. Já o parâmetro a^* mostra a variação do vermelho ($+a^*$) ao verde ($-a^*$), enquanto a variável b^* mede a variação do amarelo ($+b^*$) ao azul ($-b^*$). A leitura foi realizada direcionando o leitor óptico do equipamento para a amostra, utilizando o equipamento calorímetro de Minolta CR-300 (Konica Minolta, Osaka, Japan, 1994).

4.3.2.7 *Estudo da estabilidade ao armazenamento*

As microcápsulas foram avaliadas quanto à estabilidade durante o armazenamento por 20 dias a temperatura ambiente (25°C), acondicionadas em frasco âmbar com proteção a luz. Para a determinação do teor de antocianinas totais monoméricas, compostos fenólicos totais e atividade antioxidante as amostras foram retiradas a cada 5 dias até o estudo ser concluído.

4.3.2.8 *Análise de resistência dos compostos antociânicos a condições gastrointestinais simuladas*

O método proposto por Madureira et al. (2011) com modificações, foi utilizado para submeter as micropartículas a condições gastrointestinais simuladas. A viabilidade das antocianinas foi determinada em meios que simulam as diferentes seções do trato gastrointestinal, sendo eles, esôfago/estômago, duodeno e íleo. Inicialmente, para a etapa de simulação que compreende o esôfago/estômago uma solução contendo 25 mg mL^{-1} de pepsina (Sigma) foi preparada em $0,1 \text{ M}$ de HCl. Após, alíquotas iguais foram adicionadas, a uma taxa de $0,05 \text{ mL mL}^{-1}$ durante 90 minutos, sendo o pH ajustado para 2,0 com HCl 1M . Para a etapa de simulação de passagem através do duodeno, uma solução contendo 2 g L^{-1} de pancreatina (Sigma) e 12 g L^{-1} de sais biliares bovino (Sigma) foi preparada em NaHCO_3 $0,1 \text{ M}$ e

utilizada a uma taxa de $0,25 \text{ mL mL}^{-1}$, com pH ajustado para 5,0. Por fim, para simulação da passagem através do íleo o pH foi ajustado para 6,5 utilizando uma solução 0,1 M de NaHCO_3 . Todas as soluções foram preparadas no dia da análise. A análise foi conduzida em agitador Shaker modelo TE 421 (Tecnal, Piracicaba, SP, Brasil) com temperatura mantida a $37 \text{ }^\circ\text{C}$ com o objetivo de simular a temperatura do corpo humano. A agitação mecânica foi realizada em diferentes intensidades (130 rpm para o esôfago/estômago, e 45 rpm para o duodeno e o íleo) a para simular os movimentos peristálticos em cada secção do trato digestivo. Por fim, alíquotas foram retiradas após 90 min (esôfago/estômago), 110 min (duodeno) e de 200 min (íleo) para determinar a resistência das antocianinas livres e microencapsuladas. A determinação das antocianinas foi realizada pela análise de antocianinas monoméricas totais conforme descrito no item 4.2.2.

4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados do presente estudo foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade de erro. Os resultados foram analisados através do programa Statistica v. 10.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO MIRTILO

O mirtilo analisado neste estudo apresentou um teor de umidade elevado 85,26%, cinzas 0,18 %, proteína bruta 0,63%, lipídios 0,32% e carboidratos de 12,93% conforme os valores apresentados na Tabela 4. O elevado teor de umidade é determinante para a diminuição da vida de prateleira de um alimento.

Esses resultados se assemelham aos valores de Souza et al. (2014) que obtiveram resultados de 87,70% para umidade, 0,08% para cinzas, proteína 0,48%, lipídios de 0,19% e carboidratos de 11,54%, sendo os valores encontrados para proteínas e lipídios inferiores aos determinados neste estudo. USDA (National Nutrient Database, 2016) apresentam valores de 84,21% de umidade, 0,74% de proteína e carboidratos 14,49% para polpa de mirtilo, sendo estes valores semelhantes aos resultados encontrados neste trabalho. Vizzoto et al. (2013) afirmam que vários fatores podem interferir na composição físico-química do fruto como temperatura, a maturidade dos frutos, diferenças genéticas entre cultivares, condições ambientais e processamento.

Para pH, acidez total titulável e sólidos solúveis totais foram encontrados valores de 2,94, 1,5 g.100g⁻¹ e 10 °Brix, respectivamente. Perturzatti (2009) afirma que os elevados teores de sólido solúveis demonstram que os frutos possam ter sido colhidos com um elevado teor de maturação.

Giovanelli e Buratti (2009) encontraram valores de 10,8-12,9 °Brix, pH 2,90-3,22 e acidez total titulável de 1,0-1,47 (ácido cítrico g/100g), valores estes que se assemelham aos encontrados no presente estudo. Assim como o pH a acidez são um fator limitante para o potencial crescimento de microrganismos deteriorantes, assim como o crescimento de microrganismos patogênicos, desta forma um baixo pH e uma elevada acidez, assim como os valores descritos neste estudo são benéficos para a estabilidade e armazenamento dos frutos (SOUZA et al., 2007).

Tabela 4- Características físico-químicas do mirtilo

Análise	Mirtilo
Umidade (%)	85,26 ± 1,05
Cinzas (%)	0,18 ± 0,03
Proteína Bruta (%)	0,63 ± 0,35
Lipídios (%)	0,32 ± 0,01
Carboidratos (%)	12,93±0,63
Ph	2,94 ± 0,54
Acidez total titulável (g.100g ⁻¹)	1.5 ± 0,51
Atividade de água	0,99 ± 0,01
Sólidos solúveis (°Brix)	10 ± 0,01

5.2 ANTOCIANINAS MONOMÉRICAS TOTAIS

Os resultados obtidos para antocianinas monoméricas totais foram de 1,08 mg/g de fruto, sendo este resultado inferior aos descritos por Zardo (2014) quando realizou a extração de antocianinas do bagaço de mirtilo em água acidificada a 1% sob diferentes condições de tempo (5, 15 ,45 min) e temperatura (60 e 80°), onde resultou em teores de 6,26 – 19,44 mg/g de fruto em extração exaustiva, sendo estes resultados muito superiores aos determinados no presente estudo.

Giovanelli e Buratti (2009) ao estudarem diferentes variedades de mirtilo cultivadas na Itália, *Vaccinium Corymbosum* e *Vaccinium Mirillus*, encontraram valores de 0,92- 3,44 mg/g de antocianinas. Perturzatti (2009) ao realizar extração de antocianinas com um solução contendo metanol e ácido clorídrico (99,9:0,1 v/v) encontrou valores de 0,70 a 2,17 mg/g em diversas variedades de mirtilo. Desta forma, o valor encontrado no presente estudo está entre os valores descritos pelos autores.

You et al. (2011) ao estudarem a variedade Power blue com extração metanol:água (80:20 v/v) obtiveram valores de 1,52 mg/g de fruto. Segundo Zardo (2014) o uso de diferentes solventes para a extração de antocianinas influencia diretamente na concentração final encontrada.

5.3 COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS

Foram encontrados teores de 6,88 mg GAE/g de fruto. Moyer et al. (2002) ao analisar pequenas frutas de 107 genótipos de *Vaccinium*, *Rubos* e *Ribes* encontraram teores de 8,70 mg GAE/g para uma cultivar nativa originária da Geórgia pertencente ao grupo *Rabbiteye*. Diferenças encontradas na concentração de compostos fenólicos são normais em diferentes cultivares da mesma fruta, conforme estudos realizados por Malacrida e Motta (2005) contatando que a variedade de uva utilizada no processamento de suco pode ser uma causa na variação do teor de compostos fenólicos.

Vizzoto e Pereira (2009) ao realizarem estudo para a otimização do processo de extração de compostos fenólicos de mirtilo (*Vaccinium ashei*) com o uso de diferentes solventes, água pura, metanol, etanol e acetona verificaram como maior capacidade extratora a acetona (12,14 mg GAE/g) seguida de metanol (7,51 mg GAE/g), etanol (7,23 mg GAE/g) e água (2,77 mg GAE/g). Sendo o valor encontrado para extrato com base em água inferior ao valor determinado no presente trabalho.

Borba et al. (2013) ao obterem extratos a base de água encontravam valores variáveis entre 2,59-3,03 mg GAE/g de fruto. You et al.(2011), ao analisarem extrato mirtilo da variedade *Powder blue* a base de metanol: água (80:20 v/v) encontraram valores de 3,39 mg GAE/g de amostra. Sellepon, Akoh e Krewer (2002) encontraram em cultivares *Rabbiteye* 2,70- 9,29mg GAE/g de amostra, mostrando a possível diferença de concentrações de compostos fenólicos em frutos da mesma variedade.

Goldmeyer et al. (2014) ao obter extratos utilizando mistura de solventes, metanol : ácido clorídrico: água (70:1:30 v/v/v), apresentaram valores de 4,31 mg GAE/g de amostra, sendo este inferior aos resultados obtidos no presente estudo.

5.4 CAPACIDADE ANTIOXIDANTE

O método ORAC fornece a possibilidade de avaliar a capacidade antioxidante em frutas e vegetais combinando o tempo de inibição do radical ou oxidante em uma pequena quantidade utilizando uma área sob a curva para a quantificação dos dados (PRIOR & CAO, 2000).

A capacidade antioxidante obtida para extrato de mirtilo foi de $46,85 \pm 0,55 \mu\text{mol Trolox/g}$ de fruto. O Gráfico 1 representa a atividade antioxidante determinada utilizando área sob a curva (AUC) e os resultados obtidos foram comparados com uma curva de referência de Trolox ($12 \mu\text{mol L}^{-1}$) e expressos em $\mu\text{mol Trolox}$ equivalente a 1 g de amostra. A substância antioxidante pura utilizada para comparação com o extrato estudado (100 mg L^{-1}) foi o ácido gálico (100 mg L^{-1}).

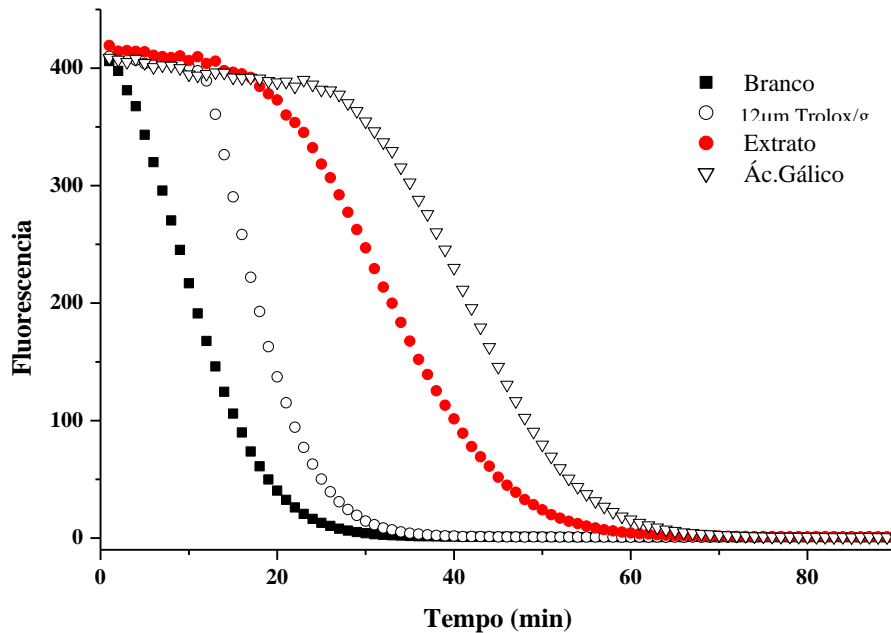


Gráfico 1- Atividade antioxidante de extrato de mirtilo ($\mu\text{mol Trolox/g}$ de fruto).

Perturzatti et al. (2014) ao estudarem diversas variedades, de mirtilo, entre elas *Bluecrop*, cultivados no sul do Brasil, mais especificamente na região de Vacaria e Erechim, determinaram a capacidade antioxidante pelo método ORAC obtendo resultados entre 22-41,1 $\mu\text{mol Trolox/g}$ de fruto, resultados inferiores ao encontrado neste estudo.

Buran et al. (2012) realizaram estudos com as variedades *Star* e *Windsor* pertencentes a variedade *Highbush*, obtiveram resultados para atividade antioxidante pelo método de ORAC de 80,8- 88,0 $\mu\text{mol Trolox/g}$ para a variedade *Star*, para a variedade *Windsor* foram encontrados valores de 59,4-98,9 $\mu\text{mol Trolox/g}$. Ao comparar os resultados apresentados por Buran et al. (2012) podemos perceber que existem diferenças significativas de concentração de compostos bioativos em diferentes variedades do mesmo fruto, fato descrito por Vizzoto et al. (2013).

You et al. (2011) ao analisarem diferentes variedades de mirtilo de cultivo orgânico encontraram valores para atividade antioxidante dos frutos em torno de 48,9 $\mu\text{mol Trolox/g}$. Sendo estes valores semelhantes aos expressos por Sellopon, Akoh e Krewer (2002), de 52,70

$\mu\text{m Trolox /g}$ para variedade *Climax* e $44,7 \mu\text{m Trolox /g}$ para variedade *Tifblue*, sendo estes valores semelhantes aos valores obtidos neste trabalho.

Kraujalyte et al. 2015 ao realizarem estudos para capacidade antioxidante com sucos de diferentes genótipos de mirtilo *Vaccinium corymbosum* e *Vaccinium uliginosum* obtiveram resultados entre $4,21- 45,68 \mu\text{mol Trolox//g}$ de fruto. Diaconesa et al. (2015) ao estudarem sucos de mirtilo obtiveram resultados de $23,25 \mu\text{mol Trolox/mL}$ de suco. O fato de sucos que possuem base água (solvente polar) apresentarem valores inferiores aos de fruto puro deve-se ao fato de que a capacidade antioxidante está diretamente ligada ao teor de compostos fenólicos (preferencia por solventes apolares), desta forma, o meio extrator intensifica ou diminui a capacidade antioxidante da matriz analisada. Fato que também pode ser observado neste trabalho (SAIKIA et al., 2015).

5.3 ANÁLISES DAS MICROCÁPSULAS

Para as temperaturas de entrada testadas de $120, 140$ e 160°C as respectivas temperaturas de saída foram $79,75^{\circ}\text{C} \pm 1,5$, $100^{\circ}\text{C} \pm 0,81$ e $108,25^{\circ}\text{C} \pm 1,70$. Zardo (2014) ao microencapsular extrato de mirtilo com materiais de parede maltodextrina e goma arábica, com temperaturas de entrada de 140 e 160°C obteve como temperatura de saída 92°C e 106°C respectivamente, sendo estes valores inferiores aos descritos neste presente trabalho.

A Tabela 5 apresenta os resultados referentes a rendimento, eficiência de encapsulação, dissolução, tamanho de partícula e características físico-químicas das microcápsulas. Pode-se observar que o rendimento aumentou em todos os tratamentos a medida que aumentou a temperatura de 120 para 140°C , na temperatura de 160°C a formulação T1 destaca-se entre os demais com $12,0\text{g}$ de cápsula, apresentando maior rendimento de encapsulação nas temperaturas estudadas.

Com relação à eficiência de encapsulação a tabela 5 mostra que nas temperaturas de 120 e 140°C a formulação T1 (14% de maltodextrina DE20 e 4% de hi-meize) não apresentou diferença significativa do P (18% de maltodextrina DE20) com maior eficiência de encapsulação nas temperaturas citadas. Na temperatura de 160°C a formulação T1 diferiu estatisticamente das demais formulações, sendo esta com a maior eficiência de encapsulação a 160°C . A formulação T3 difere estatisticamente das demais formulações apresentando a menor eficiência de encapsulação em todas as temperaturas testadas. Silva et al. (2013), ao

encapsular extrato da casca de jaboticaba com maltodextrina utilizando temperatura de entrada de 140, 160 e 180°C encontraram valores de eficiência de encapsulação de 83,21 e 99,02% sendo estes valores superiores aos descritos no presente estudo. Zardo (2014) ao microencapsular extrato de mirtilo usando goma arábica e maltodextrina encontrou valores de eficiência de encapsulação entre 77,33 e 82,05%, sendo estes valores inferiores aos determinados no presente trabalho. Segundo Kissel et al. (2006) a temperatura de entrada é uma variável que interfere diretamente na eficiência de encapsulação do processo aliado as características do agente encapsulante.

Devido a sua alta solubilidade em água, a maltodextrina é um dos agentes encapsulantes mais utilizados como material de parede para secagem por *spray dryer*. A dissolução das partículas apresentaram diferenças significativas entre si, pois como pode-se observar que os resultados variaram entre 220,18 – 458,39 segundos, sendo o menor tempo de dissolução para a formulação P a 160°C e a maior para T2 120°C. Na formulação P foi utilizado 18% de maltodextrina DE20 apenas, a utilização de alta concentração de maltodextrina aliada ao menor tempo de dissolução já foi relatado por Abadio et al. (2004).

As microcápsulas apresentaram tamanho variável entre 13,00 e 20,70 µm. Pode-se observar que as microcápsulas na formulação P (18% maltodextrina DE20) mostraram tamanhos maiores que as microcápsulas que apresentavam hi-meize em sua formulação em todas as temperaturas testadas, observa-se também que na maior parte dos tratamentos as microcápsulas diminuíram à medida que houve um aumento na temperatura de entrada. Estudos afirmam que cápsulas que possuem maiores teores de maltodextrina tendem a apresentar maiores tamanhos. Frang e Bhandari (2010) relatam que estes tamanhos de microcápsulas obtidas por *spray dryer* são esperadas, podendo variar entre 10 a 100 µm. Nunes (2014) ao microencapsular extrato de erva-mate com diferentes concentrações de maltodextrina encontrou valores de 10,69 a 13,39 µm, relatando que as maiores cápsulas possuíam uma maior concentração de maltodextrina.

Analisando o teor de umidade das microcápsulas observa-se que a medida que a temperatura de entrada aumentou, diminuiu o teor de umidade das microcápsulas, analisando individualmente cada temperatura, pode-se observar que a 120°C a formulação T2 é estatisticamente igual ao P, a 140°C a T1 é igual ao P, ambos apresentando menor umidade e a 160°C a formulação P diferencia-se dos demais por apresentar menor umidade.

Resultados semelhantes ocorreram nos estudos realizados por Abadio et al. (2004) e Nunes (2014) ao aumentar o teor de maltodextrina obtiveram capsulas com menor teor de umidade sendo de 3,82% para formulação controle, 3,65% M20 (20% maltodextrina), 3,14% M30 (30% matodextrina) e 2,22% M40 (40% maltodextrina).

Tabela 5- Resultados referentes a rendimento, eficiência de encapsulação, dissolução, tamanho de partícula e características físico-químicas das microcápsulas.

Microcápsulas**	Rendimento (g)	EE%*	Dissolução (s)*	TP μm **	Umidade%*	Aa*
120						
P	7,60	84,79 ^a \pm 0,49	327,05 ^b \pm 0,01	18,90	5,46 ^{bc} \pm 0,01	0,25 ^b \pm 0,03
T1	6,50	84,57 ^a \pm 0,31	447,30 ^a \pm 0,04	16,60	6,02 ^b \pm 0,03	0,27 ^a \pm 0,03
T2	10,90	80,78 ^b \pm 0,31	458,39 ^a \pm 0,61	13,10	5,16 ^c \pm 0,02	0,19 ^d \pm 0,03
T3	10,00	74,40 ^c \pm 0,08	308,77 ^b \pm 0,04	20,20	7,00 ^a \pm 0,02	0,23 ^c \pm 0,02
140						
P	10,10	82,53 ^a \pm 0,29	314,01 ^{ab} \pm 0,01	20,70	4,87 ^b \pm 0,03	0,25 ^b \pm 0,02
T1	13,50	80,06 ^a \pm 0,03	330,64 ^a \pm 0,01	16,80	4,87 ^b \pm 0,01	0,24 ^c \pm 0,03
T2	11,40	79,56 ^{ab} \pm 0,27	300,76 ^{bc} \pm 0,02	12,80	6,38 ^a \pm 0,03	0,27 ^a \pm 0,02
T3	10,00	77,05 ^b \pm 0,06	259,74 ^c \pm 0,01	13,00	6,39 ^a \pm 0,02	0,22 ^d \pm 0,01
160						
P	9,00	84,36 ^b \pm 0,10	220,18 ^d \pm 0,02	19,40	4,77 ^d \pm 0,03	0,24 ^b \pm 0,04
T1	12,00	85,22 ^a \pm 0,17	331,98 ^b \pm 0,01	15,00	5,68 ^a \pm 0,02	0,27 ^a \pm 0,02
T2	10,60	80,02 ^c \pm 0,54	335,74 ^a \pm 0,01	13,70	5,10 ^c \pm 0,01	0,19 ^c \pm 0,03
T3	9,80	75,26 ^d \pm 0,26	303,73 ^c \pm 0,02	14,01	5,31 ^b \pm 0,02	0,16 ^d \pm 0,02

*Os dados estão descritos em médias \pm DP (n=3), seguidos da mesma letra na coluna (entre as temperaturas 120, 140 e 160°C separadamente) não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, em nível de 5% de probabilidade. Eficiência de encapsulação (EE). Atividade de água (Aa).

** Tamanho de partícula (TP). P= 18% maltodextrina DE20. T1= 14% maltodextrina DE20 + 4% hi-meize. T2= 11% maltodextrina DE20 + 7% hi-meize. T3= 9% maltodextrina DE20 + 9% hi-meize.

Segundo Abadio et al. (2004) o preparo da solução de alimentação com a homogeneização dos agentes encapsulantes antes da secagem em *spray dryer* aumenta o conteúdo de sólidos totais da mistura a ser atomizada, reduzindo dessa forma a quantidade de água a ser evaporada, o que acarreta em diminuição da atividade de água depois de encapsulados.

A elevada atividade de água indica maiores teores de água livre para ocorrer reações bioquímicas, resultando em um menor prazo de validade. A atividade de água das microcápsulas variou entre 0,19 a 0,27 para as cápsulas a 120°C, de 0,22 a 0,27 para 140°C e 0,16 a 0,27 para 160°C. Os valores obtidos estão considerados dentro do limite recomendado para garantir a estabilidade de pós (<0,3) (TONON et al. 2009).

5.3.1 Análise de cor

Os resultados da análise de cor para microcápsulas estão expressos na Tabela 6. Para o cálculo das coordenadas foi estabelecido o iluminante D65.

Na temperatura de 120°C os tratamentos não apresentaram diferença significativa entre si com relação à luminosidade. Na temperatura de 140°C as formulações T1 e T3 diferem estatisticamente das demais, demonstrando menor luminosidade, ou seja, as microcápsulas ficaram mais escuras. Na temperatura de 160°C as formulações T1, T2 e T3 mostraram-se mais escuras que a formulação padrão. Bernstein (2014) ao analisar parâmetros de cor para microcápsulas contendo extrato de repolho roxo observou que os valores de L^* aumentavam conforme aumentava a concentração de agente encapsulante. Mesmo fato foi apresentado por Nunes (2014) que com o aumento da concentração das soluções estudadas de maltodextrina (M20, M30 e M40) ocorria o aumento do parâmetro de luminosidade. Tal fato não pode ser percebido no presente trabalho porque a todas as formulações apresentarem a mesma concentração, 18% de agente encapsulante.

Para o parâmetro a^* as microcápsulas apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos a 120 e 140°C, mas a 160°C não apresentando diferença significativa. Ao identificarmos valores positivos para parâmetro a^* indica uma tendência ao vermelho apresentado pelas microcápsulas, tendência esperada ao se tratar de microcápsulas de extrato da polpa de mirtilo.

Os valores obtidos para b^* apresentaram valores negativos indicando a tonalidade ao azul. Todos os tratamentos diferiram entre si variando entre -0,22 a -2,20. Visivelmente as cápsulas apresentaram coloração rósea devido à atuação dos agentes encapsulantes que possuem coloração branca mascarando desta forma a cor do extrato puro que apresenta coloração roxa, podendo este justificar a tendência de tonalidade ao azul encontradas para o parâmetro b^* . Concenço et al. (2014) ao realizar análise de cor para extrato de mirtilo obtiveram valores de $-1,04 \pm 0,02$ para coordenada b^* e valores de $-0,54 \pm 0,08$ para polpa de mirtilo.

Tabela 6- Análise de cor para microcápsulas contendo extrato de mirtilo.

Microcápsulas**	L^*	a^*	b^*
120			
P	$40,71 \pm 3,20^a$	$21,58 \pm 1,23^b$	$-2,20 \pm 0,18^b$
T1	$44,19 \pm 3,05^a$	$24,97 \pm 2,16^a$	$-2,14 \pm 0,01^b$
T2	$39,19 \pm 1,53^a$	$22,80 \pm 1,19^{ab}$	$-1,63 \pm 0,05^a$
T3	$40,94 \pm 1,19^a$	$21,96 \pm 0,33^{ab}$	$-1,81 \pm 0,08^a$
140			
P	$44,27 \pm 0,56^a$	$18,86 \pm 0,04^a$	$-0,93 \pm 0,07^c$
T1	$38,47 \pm 1,63^b$	$15,48 \pm 0,92^c$	$-0,61 \pm 0,07^b$
T2	$42,20 \pm 0,69^a$	$16,82 \pm 0,46^b$	$-0,61 \pm 0,03^b$
T3	$35,95 \pm 1,21^c$	$16,60 \pm 0,40^{bc}$	$-0,22 \pm 0,03^a$
160			
P	$41,31 \pm 2,96^a$	$15,43 \pm 0,32^a$	$-0,72 \pm 0,08^a$
T1	$33,33 \pm 3,53^b$	$15,95 \pm 0,91^a$	$-0,37 \pm 0,11^b$
T2	$34,83 \pm 1,78^b$	$16,31 \pm 0,99^a$	$-0,35 \pm 0,04^b$
T3	$34,66 \pm 2,27^b$	$15,21 \pm 0,25^a$	$-0,31 \pm 0,08^b$

*Médias seguidas de mesma letra em coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, em nível de 5% de probabilidade.

** P= 18% maltodextrina DE20. T1= 14% maltodextrina DE20 + 4% hi-meize. T2= 11% maltodextrina DE20 + 7% hi-meize. T3= 9% maltodextrina DE20 + 9% hi-meize.

5.4 ESTABILIDADE DE COMPOSTOS BIOATIVOS MICROENCAPSULADOS

5.4.1 Antocianinas

Os resultados para antocianinas totais monoméricas por pH diferencial estão expostos na tabela 7 expressos em mg/mL de extrato. O extrato apresentou valores de 65,90 mg/mL de

antocianinas no dia 0. Não foi possível realizar o processo de secagem do extrato livre de agentes encapsulantes devido à elevada concentração de sólidos solúveis no extrato, onde ocorreu a aderência do mesmo no cilindro do *spray*. Desta forma os resultados obtidos foram comparados entre si e a % de degradação considerando o dia 0 como sendo (100%).

Analisando a degradação das antocianinas nas microcápsulas (Tabela 7), observa-se que todas as microcápsulas sofreram degradação ao longo dos 20 dias em todos os tratamentos e temperaturas testadas, ao final dos 20 dias de tratamento as formulações e temperaturas que apresentaram menor degradação foram, a 120°C a formulação T3, a 140°C a formulação T3 e a 160°C a formulação T2.

Paramera et al. (2011) afirmam que o uso de amidos modificados como material de parede pode aumentar a solubilidade em água de compostos fracamente solúveis e também podem melhorar a estabilidade de aromas frente ao oxigênio, calor e luz.

As partículas obtidas com a formulação padrão apresentaram elevadas % de degradação ao longo dos 20 dias, sendo valores de 32,65% a 120°C, 42,29 para 140°C e 38,09% para 160%, sendo esta uma característica indesejável para a produção de microcápsulas. Zardo (2014) ao microencapsular extrato da polpa de mirtilo com a utilização de estocagem ao abrigo da luz e radiação UV concluiu que em 4 dias a degradação das antocianinas ocorre de 6 a 14% podendo alcançar 12 a 18% em 41 dias.

Tom et al. (2010) verificaram duas cinéticas diferentes de degradação atribuindo o fato da degradação acelerada das antocianinas. As antocianinas não encapsuladas degradam mais rapidamente devido a possível presença de oxigênio entre os poros ou em bolhas dentro das microcápsulas, desta forma, acelerando o processo de degradação. Tantituvanont et al. (2008) ao analisarem antocianinas extraídas da *Clitoria ternatea* e atomizadas com gelatina e HPMC durante 60 dias expostas a radiação UV obtiveram um percentual de degradação de 61,98 e 81,16 respectivamente.

A utilização de maltodextrina juntamente com hi-meize em porções iguais (T3) a 140°C resultou em uma maior proteção dos compostos de cor frente a degradação ao longo dos 20 dias de vida de prateleira. Este fato pode ser explicado devido a propriedade do termoprotetora do amido resistente utilizado nesse estudo, entretanto, quando submetido a temperaturas (120 e 160°C) a mesma formulação apresentou uma significativa degradação. Flores et al. (2014) também afirmam que o decaimento de concentração de antocianinas monoméricas totais são aceitáveis, devido a sensibilidade destes compostos.

O aumento da temperatura de entrada do *spray dryer* provoca consequentemente um aumento na temperatura de saída. Pispan et al. (2013) explicam que o aumento da temperatura

de entrada submete as micropartículas conseqüentemente a uma maior temperatura de saída, desta forma aumentando a temperatura em que as partículas são expostas. Em contra partida, a redução da temperatura de saída resulta em um maior tempo de secagem. Desta forma formando o binômio tempo e temperatura que agem diretamente sobre a degradação do material encapsulado.

Tonon et al. (2009) observaram que a concentração de antocianinas foi diretamente influenciada pela temperatura elevada de entrada justificando assim os resultados obtidos pelos autores que relacionam este resultado obtido com a sensibilidade de antocianinas frente a tratamentos térmicos. Embora o processo de secagem por *spray dryer* exponha o produto por um curto período de tempo a uma alta temperatura acarretando assim uma menor perda de compostos a temperatura de saída é um ponto forte a ser considerado durante o processo de microencapsulação frente a retenção de compostos bioativos.

Erus e Yurdagel (2007) ao estudarem microencapsulação por *spray dryer* de antocianinas extraídas de cenoura preta (*black carrot*) utilizando diferentes temperaturas de secagem (160, 180 e 200°C) e maltodextrinas com diferentes dextroses (DE 10, 20,30) observaram que a dextrina com maior grau de dextrose apresentou maior retenção de antocianinas a 160°C.

Tabela 7- Antocianinas monoméricas totais presente no extrato e nas microcápsulas ao longo de 20 dias expressos em mg/mL de extrato.

Micropartículas**	Dia 0	Dia 5	Dia 10	Dia 15	Dia 20	% DG**
Extrato	65,90±1,62 ^a	63,69±0,94 ^{ab}	61,34±0,84 ^{bc}	60,89±1,40 ^{bc}	59,94±0,44 ^c	9,04
120						
P	23,18±0,21 ^{aC}	19,09±0,34 ^{bD}	18,70±0,30 ^{bD}	17,56±0,21 ^{cD}	15,61±0,22 ^{dD}	32,65
T1	25,15±0,04 ^{aB}	20,06±0,21 ^{bC}	19,89±0,04 ^{bC}	18,31±0,33 ^{cC}	16,64±0,04 ^{dC}	33,83
T2	24,99±0,12 ^{aB}	24,60±0,12 ^{bB}	20,90±0,04 ^{cB}	20,06±0,09 ^{dB}	17,73±0,05 ^{eB}	29,05
T3	33,50±0,17 ^{aA}	32,92±0,29 ^{aA}	28,16±0,12 ^{bA}	28,41±0,25 ^{bA}	26,27±0,21 ^{cA}	21,58
140						
P	31,00±0,09 ^{aB}	22,98±0,21 ^{bD}	19,95±0,52 ^{cC}	18,53±0,08 ^{dC}	17,89±0,04 ^{dD}	42,29
T1	33,48±0,30 ^{aB}	27,66±0,09 ^{bC}	25,27±0,41 ^{cB}	23,79±0,16 ^{dB}	20,14±0,17 ^{eC}	39,84
T2	30,69±0,48 ^{aB}	29,52±0,77 ^{aB}	25,82±0,04 ^{bB}	24,18±0,19 ^{cB}	23,76±0,04 ^{cB}	22,58
T3	33,42±0,04 ^{aA}	32,42±0,17 ^{bA}	31,70±0,48 ^{bA}	31,67±0,26 ^{bA}	29,64±0,28 ^{cA}	11,31
160						
P	27,46±0,46 ^{aC}	23,51±0,12 ^{bC}	22,29±0,16 ^{cD}	18,59±0,09 ^{dD}	17,00±0,33 ^{eC}	38,09
T1	25,41±0,04 ^{aD}	23,62±0,08 ^{bC}	21,15±0,33 ^{cC}	21,09±0,29 ^{cC}	20,67±0,80 ^{cB}	18,65
T2	29,66±0,12 ^{aB}	29,27±0,60 ^{aB}	26,55±0,22 ^{bB}	26,38±0,22 ^{bB}	25,96±0,58 ^{bA}	12,47
T3	37,98±0,08 ^{aA}	31,61±0,12 ^{bA}	30,11±0,34 ^{cA}	29,61±0,21 ^{cA}	19,50±0,71 ^{dB}	48,65

* Os dados estão descritos em médias ± DP (n=3), seguidos de mesma letra minúscula não diferem entre si significativamente em linha. Letras iguais maiúsculas em coluna (entre as temperaturas 120, 140 e 160°C separadamente) não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, em nível de 5% de probabilidade.

**DG: % de degradação ao longo dos 20 dias. P= 18% maltodextrina DE20. T1= 14% maltodextrina DE20 + 4% hi-meize. T2= 11% maltodextrina DE20 + 7% hi-meize. T3= 9% maltodextrina DE20 + 9% hi-meize.

5.4.2 Compostos fenólicos

As microcápsulas foram avaliadas quanto à concentração de compostos fenólicos e comportamento dos mesmos ao longo de 20 dias. Os resultados obtidos para compostos fenólicos estão demonstrados na Tabela 8.

Os compostos fenólicos foram expressos em mg/L de extrato a fim de que fosse possível a comparação dos encapsulados para o extrato antes da encapsulação. Para o extrato foram encontrados valores de 421,15 mg GAE/L de extrato, com grau de degradação de 5,28% valor inferior as degradações das microcápsulas.

Os compostos fenólicos nas microcápsulas apresentaram um comportamento semelhante ao das antocianinas, todas as microcápsulas degradaram ao longo dos 20 dias de armazenamento em todos os tratamentos e temperaturas testadas, a formulação T1 a 160°C sofreu menor degradação (16,15%), seguindo pelas formulações T3 a 120°C com 17,70% e T2 a 140°C com 18,51% de degradação. Observa-se também que a formulação P das diferentes temperaturas testadas foram as que mais degradaram ao longo dos 20 dias.

Flores et al. (2014) relatam que o teor de fenóis totais foi maior em temperaturas mais elevadas quando comparados a baixas temperaturas. Também afirmam que ao utilizar proteína isolada como agente encapsulante em extratos de açaí e mirtilo o conteúdo de compostos fenólicos assim como a capacidade antioxidante de extratos foram prolongados quando submetidos a elevadas temperaturas aumentando assim a vida de prateleira destas microcápsulas.

Nunes et al. (2015) ao realizarem estudo com a microencapsulação por *spray dryer* de extrato de erva mate crioconcentrado utilizando maltodextrina (M) com diferentes graus de dextrose equivalente (20, 30 e 40) encontraram valores de 12,60 mg/mL com M20, 13,45 mg/mL M30 e 9,21 mg/mL com a utilização de M40. Pode-se observar que uma maior concentração de maltodextrina resultou em uma maior retenção e proteção dos compostos estudados para extrato de erva mate, diferentes dos resultados encontrados neste trabalho.

Tabela 8- Teor de compostos fenólicos ao longo de 20 dias, valores expressos em mg/L de extrato.

Micropartículas**	Dia 0	Dia 5	Dia 10	Dia 15	Dia 20	% DG**
Extrato	415,21±1,70 ^a	414,64±0,98 ^a	412,22±1,28 ^a	397,40±1,61 ^b	394,79±2,15 ^b	5,28
120						
P	141,50±1,07 ^{aC}	124,70±0,85 ^{bD}	108,88±1,31 ^{cC}	104,61±0,85 ^{dD}	101,41±0,21 ^{eD}	28,33
T1	154,18±1,70 ^{aB}	132,10±2,19 ^{bC}	130,25±1,37 ^{bB}	117,72±0,88 ^{cC}	105,25±0,21 ^{dC}	31,72
T2	156,03±0,24 ^{aB}	154,18±0,74 ^{aB}	132,39±0,42 ^{bB}	126,83±0,85 ^{cB}	25,34±0,65 ^{cB}	19,66
T3	190,98±0,78 ^{aA}	180,39±0,98 ^{bA}	167,62±0,53 ^{cA}	158,24±1,06 ^{dA}	156,79±0,50 ^{dA}	17,70
140						
P	178,35±0,21 ^{aC}	145,30±0,29 ^{bC}	128,92±0,43 ^{dD}	127,90±0,21 ^{cD}	119,00±0,65 ^{dD}	33,27
T1	182,53±1,30 ^{aB}	161,45±1,28 ^{bB}	157,27±0,57 ^{eB}	139,12±0,66 ^{dC}	134,95±0,74 ^{eC}	26,06
T2	172,77±0,21 ^{aA}	160,09±0,75 ^{bB}	153,23±0,87 ^{cC}	148,53±0,87 ^{dB}	140,79±0,74 ^{eB}	18,51
T3	195,42±0,21 ^{aA}	187,61±0,87 ^{bA}	183,03±0,64 ^{cA}	161,26±0,94 ^{dA}	146,42±0,32 ^{eA}	25,07
160						
P	165,51±1,49 ^{aC}	143,21±0,88 ^{bD}	139,61±0,78 ^{dD}	132,63±0,21 ^{dD}	121,09±0,81 ^{eD}	26,83
T1	152,76±0,65 ^{aD}	149,05±0,42 ^{bC}	144,10±0,43 ^{cC}	134,63±0,55 ^{dC}	128,08±0,48 ^{eC}	16,15
T2	177,97±0,65 ^{aB}	163,73±0,98 ^{bB}	161,16±37 ^{bB}	146,92±0,85 ^{cB}	147,20±0,24 ^{cB}	17,28
T3	216,58±0,42 ^{aA}	188,51±0,24 ^{bA}	176,26±0,65 ^{bA}	175,76±0,21 ^{cA}	167,64±0,64 ^{dA}	22,59

* Os dados estão descritos em médias ± DP (n=3), seguidos de mesma letra minúscula não diferem entre si significativamente em linha. Letras iguais maiúsculas em coluna (entre as temperaturas 120, 140 e 160°C separadamente) não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, em nível de 5% de probabilidade.

**DG: % de degradação ao longo dos 20 dias. P= 18% maltodextrina DE20. T1= 14% maltodextrina DE20 + 4% hi-meize. T2= 11% maltodextrina DE20 + 7% hi-meize. T3= 9% maltodextrina DE20 + 9% hi-meize.

5.4.3 Atividade antioxidante

As microcápsulas foram avaliadas quanto à atividade antioxidante pelo método ORAC e analisado quanto a sua resistência ao longo de 20 dias. Os resultados obtidos para atividades antioxidantes estão demonstrados na Tabela 9.

Para o extrato foi encontrado valor de 46,85 μm Trolox/g de extrato e grau de degradação de 24,14%, sendo esta inferior aos valores encontrados para as microcápsulas.

A atividade antioxidante das microcápsulas diminuíram ao longo dos 20 dias em todos os tratamentos e temperaturas testadas, observa-se que a formulação T3 (9% maltodextrina e 9% hi-meize) em todas as temperaturas (120, 140 e 160°C) apresentou menor degradação, ou seja a formulação T3 mostrou maior atividade antioxidante.

Alguns estudos apresentam análises de capacidade antioxidante de compostos microencapsulados, porém, por existirem vários métodos para a determinação dos mesmos, dificulta comparações de cunho analítico. Entre as metodologias mais comumente utilizadas está o DPPH (1,1-difenil-2-picrillodrazil) que pode ser expresso em % de atividade antioxidante (%) ou por concentração eficiente = EC 50, que avalia a capacidade da amostra de reduzir 50% a concentração inicial de DPPH e o método de redução de ferro (FRAP) onde os valores são expressos em μm de trolox/mL.

Nunes et al. (2014) ao estudar extrato de erva mate crioconcentrado utilizando maltodextrina (M20, M30 e M40) como material de parede obtiveram resultados de 19,98 $\mu\text{g/mL}$ M20, 19,63 $\mu\text{g/mL}$ M30 e 29,52 $\mu\text{g/mL}$ M40 pela metodologia de DPPH e resultados expressos em EC50.

Ao observar os resultados obtidos para análises de compostos antioxidantes pode-se concluir que assim como nas demais análises realizadas neste presente estudo a formulação T3 que contem 9% de maltodextrina DE20 e 9% de hi-meize apresentou a menor taxa de degradação ao longo dos 20 dias. A FIESP em parceria com o Instituto de Tecnologia de Alimentos (2010) afirma que a utilização de amidos modificados são importantes agentes de textura e resistência a variação de temperatura. Paramera et al. (2011) afirmam que o uso de amidos modificados como material de parede pode aumentar a solubilidade em água de compostos fracamente solúveis e também podem melhorar a estabilidade de aromas frente ao oxigênio, calor e luz.

Tabela 9- Teor de atividade antioxidante determinada pelo método ORAC expresso em $\mu\text{m Trolox/g}$ de amostra ao longo de 20 dias.

Micropartículas**	Dia 0	Dia 5	Dia 10	Dia 15	Dia 20	% DG
Extrato	46,85±0,55 ^a	42,27±0,62 ^b	40,33±0,93 ^c	39,47±0,96 ^c	35,54±0,32 ^d	24,14
120						
P	39,09±0,76 ^{aA}	26,24±0,68 ^{bC}	24,37±0,27 ^{bC}	21,85±1,09 ^{cB}	7,78±0,09 ^{dD}	80,09
T1	34,84±1,07 ^{aB}	25,65±1,06 ^{bC}	24,58±0,77 ^{bcBC}	21,32±0,72 ^{bcB}	12,99±0,01 ^{cC}	62,71
T2	29,31±0,53 ^{aC}	29,16±0,66 ^{aB}	28,52±0,83 ^{abB}	25,59±1,95 ^{bA}	18,99±0,32 ^{cB}	64,79
T3	35,22±0,43 ^{aB}	33,44±0,19 ^{aA}	32,66±2,56 ^{aA}	26,68±0,01 ^{bA}	25,01±0,33 ^{bA}	28,98
140						
P	37,17±1,21 ^{aA}	29,79±4,96 ^{bC}	23,70±0,62 ^{cC}	17,30±1,81 ^{dC}	16,25±1,39 ^{dD}	56,28
T1	29,73±0,61 ^{aB}	26,54±0,94 ^{bB}	25,97±0,64 ^{bB}	23,56±1,33 ^{cB}	18,92±0,99 ^{dC}	36,36
T2	38,65±1,63 ^{aA}	30,02±0,83 ^{bC}	29,95±0,45 ^{bA}	25,01±0,23 ^{cB}	22,96±0,41 ^{cB}	40,59
T3	38,25±1,55 ^{aA}	36,82±0,05 ^{aA}	29,33±0,31 ^{bA}	31,97±1,52 ^{bcA}	27,57±0,59 ^{cA}	27,92
160						
P	38,44±0,86 ^{aA}	32,24±1,94 ^{bA}	29,42±1,22 ^{bcB}	27,01±0,62 ^{cAB}	22,10±0,12 ^{dB}	57,49
T1	34,71±1,36 ^{aB}	31,13±0,17 ^{bA}	22,52±0,21 ^{cC}	21,12±0,31 ^{cC}	3,69±0,09 ^{dC}	89,36
T2	38,45±0,38 ^{aA}	31,68±0,09 ^{bA}	30,74±0,38 ^{bAB}	25,43±1,01 ^{cB}	21,45±1,44 ^{dB}	44,21
T3	37,63±1,25 ^{aA}	33,10±1,10 ^{bA}	32,09±1,02 ^{bA}	28,42±0,30 ^{cA}	27,73±1,04 ^{cA}	26,30

* Os dados estão descritos em médias \pm DP (n=3), seguidos de mesma letra minúscula não diferem entre si significativamente em linha. Letras iguais maiúsculas em coluna (entre as temperaturas 120, 140 e 160°C separadamente) não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, em nível de 5% de probabilidade.

**DG: % de degradação ao longo dos 20 dias. P= 18% maltodextrina DE20. T1= 14% maltodextrina DE20 + 4% hi-meize. T2= 11% maltodextrina DE20 + 7% hi-meize. T3= 9% maltodextrina DE20 + 9% hi-meize.

5.5 RESISTÊNCIA DOS COMPOSTOS ANTOCIÂNICOS A CONDIÇÕES GASTROINTESTINAIS SIMULADAS

Na tabela 10 encontram-se descritos os valores obtidos para análise de antocianinas monoméricas totais considerando as condições gastrointestinais as quais foram submetidas. Para a análise gastrointestinal foi selecionada apenas a microcápsula de formulação T3 na qual foi obtida a 140°C e realizada a comparação com o extrato não encapsulado. Ao observarmos os resultados encontrados para a seção que compreende o estômago podemos observar um efeito protetor exercido nas microcápsulas quando comparadas ao extrato livre que apresentou uma significativa diminuição de seus compostos quando comparado aos microencapsulados.

Na seção do trato gastrointestinal que compreende o duodeno (sais biliares, pancreatina e pH 5,0) os valores obtidos para antocianinas sofreram uma significativa diminuição quando comparado aos valores encontrados para o estômago. Na última seção do trato gastrointestinal que corresponde ao íleo (pH 6,5) pode-se observar que os valores obtidos para o íleo também foram inferiores os descritos para o estômago e duodeno, indicando uma significativa perda dos compostos. Entretanto, mesmo havendo perda significativa dos compostos pode-se observar que os valores obtidos para compostos antociânicos foi maior nos microencapsulados do que o extrato livre em todas as etapas de simulação, comprovando a eficácia do processo de microencapsulação frente à entrega melhorada destes compostos.

Sabe-se que as antocianinas possuem uma série de restrições quanto a sua estabilidade, dentre elas esta sua estabilidade frente ao pH, normalmente as antocianinas são estáveis em pH entre 1,5 e 3, em valores de pH acima 5 ocorrem mudanças significativas em sua estrutura modificando sua coloração de vermelho para azul (mais instável) e pH acima de 7, em geral, são degradadas (BOBBIO e BOBBIO, 1992). Fato este que pode estar justificando os resultados obtidos neste estudo onde houve uma degradação significativa dos compostos tanto encapsulados como livres, nos diferentes pHs.

Rutz et al. (2017) ao estudarem microencapsulação de óleo de palma pelo método de coacervação analisaram a resistência gastrointestinal de compostos bioativos como carotenos, e observaram que as partículas estudadas apresentaram maior liberação no fluido que

representa o esôfago, após esta liberação houve a degradação dos compostos. Fato semelhante ao descrito neste estudo.

Tabela 10- Viabilidade do microencapsulado e do extrato livre frente as condições gastrointestinais simuladas. Resultados expressos em mg/mL de extrato.

Gastrointestinal	Extrato livre	Formulação T3*
Antocianinas iniciais	65,90	33,42
Esôfago/estômago 90 min/ pH 2,0	6,34	26,41
Duodeno 20 min/ pH 5,0	1,05	7,18
Íleo 90 min/ pH 7,5	0,027	0,44

* T3= 9% maltodextrina DE20 + 9% hi-meize.

Lopes et al. (2007) afirma que as antocianinas possuem sua estrutura formada por 15 carbonos, sendo considerada uma estrutura de baixo peso molecular. A estrutura química é considerada um fator determinante para a absorção de compostos bioativos, os compostos de alto peso molecular são eliminados pelas fezes, em contrapartida os compostos de baixo peso molecular podem ser eliminados pela urina ou pela bile, via que possibilita que os compostos possam chegar ao duodeno e serem absorvidos (DELMONDES et al., 2013).

Com base nessas informações pode-se afirmar que houve o rompimento da microcápsula na região do estômago, proporcionando a possível interação destes compostos com a bile e a rota de absorção pelo duodeno.

6 CONCLUSÃO

O mirtilo tem como característica apresentar um elevado valor de sólidos solúveis totais, baixo pH e alto teor de umidade, deixando o fruto mais susceptível a ações fisiológicas desta forma apresentando uma curta vida de prateleira. O extrato do mirtilo mostrou-se rico em compostos antociânicos, assim como compostos fenólicos e elevada atividade antioxidante.

A microencapsulação pelo método de *spray dryer* mostrou-se efetiva na microencapsulação de compostos antociânicos em todas as temperaturas testadas nas formulações em que continham maltodextrina DE20 e hi-meize, entretanto, a formulação padrão (P) que contém somente maltodextrina DE20, mostrou-se inferior às demais, apresentando uma degradação maior dos compostos.

Os compostos antociânicos sofreram perdas ao longo dos 20 dias em todos os tratamentos e temperaturas testadas, entretanto, a microcápsula de formulação T3 a 140°C apresentou uma melhor retenção e proteção dos compostos desejados ao longo dos dias de análise, assim como maior resistência a condições gastrointestinais simuladas quando comparadas ao extrato livre, mostrando-se efetiva na proteção e entrega melhorada dos compostos de interesse. Baseado nos tratamentos e temperaturas testados pode-se concluir que as microcápsulas foram efetivas na proteção e entrega melhorada dos compostos antociânicos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABADIO, F. D. B.; DOMINGUES, A. M.; BORGES, S. V.; OLIVEIRA, V. M. Physiscal properties of powdered pineapple (*Ananas comosus*) juice effects of maltodextrin concentration and atomization speed. **Journal of Food Engineering**, v.64, p.285-287, 2004.

ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos –uma breve revisão. **Revista Instituto Adolfo Lutz**. V.66, p. 1-9, 2007.

ANJO, D. F. C. Alimentos funcionais em angiologia e cirurgia vascular. **Jornal Vascular Brasileiro**. v.3, n.2, 2004.

ANTUNES, L. E. C.; RAZEIRA, M. do C. B.; VIZZOTO, M.; PAGOT, E. Acultura do mirtilheiro: morfologia da cultura. KRETZSHMAR, A. A.; RUFATO, L. PELIZZA, T. R. (Org.) **Pequenas Frutas**. Florianópolis: UDESC, p. 15-51, 2013.

ANTUNES, L. E. C.; RASEIRA, M. C. B. Cultivo do Mirtilo (*Vaccinium spp*). **Embrapa Clima Temperado. Sistemas de Produção 8**. Pelotas, RS, 2006. Disponível em:< <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/745223/1/sistema08.pdf>>. Acesso em: 09 de set. de 2015.

ANVISA a. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução n. 17, de 30 de abril de 1999. Aprova o Regulamento Técnico que Estabelece as Diretrizes Básicas para Avaliação de Risco e Segurança dos Alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, abril, 1999.

ANVISA b. Resolução nº 18, de 30 de abril de 1999. Aprova o Regulamento Técnico que estabelece as diretrizes básicas para a análise e comprovação de propriedades funcionais e ou de saúde alegados em rotulagem de alimentos, constante no anexo desta portaria. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**, Brasília, DF, abril, 1999. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/815ada0047458a7293e3d73fbc4c6735/RESOLUCAO_18_1999.pdf?MOD=AJPERES>. Acesso em: 09 de set. de 2015.

AOAC. **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. Gaithersburg, Estados Unidos, 2000.

BANSODE, S. S.; BANARJEE, S. K.; GAIKWAD, D. D.; JADHAV, S. L.; THORAT, R. M. Microencapsulation: a review. **International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research**, v. 1, n. 2, p. 38-43, 2010.

BARBA, F. J.; ESTEVE, M. J.; FRIGOLA, A. Physicochemical and nutritional characteristics of blueberry juice after high pressure processing. **Food Research International**, n.50, p.545-549, 2013. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996911001402>>. Acesso em: 10 set. de 2015.

BARBOSA, L. B. G. **Compostos bioativos e capacidade antioxidante em Abóboras-Gila (*Cucurbita ficifolia* Bouché)**. Dissertação. Programa de Pós-Graduação em Nutrição Humana. Universidade Federal de Brasília, Brasília, 31p. 2015.

BARREIRO, J. A.; MILANO, M.; SANDOVAL, A. J. Kinetics of colour change of Double concentrated tomato paste during thermal treatment. **Jurnal of Food Engineering**, v.33, p. 359-371,1997.

BERNSTEIN A. **Estudo da cinética de branqueamento, do microencapsulamento por atomização e das propriedades termodinâmicas de sorção de repolho roxo (*Brassica oleracea* L. var. *capitata* L. f. *rubra*)**. Dissertação de mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 184f. 2014.

BICUDO, M. O. P. **Composição fenólica, atividade antioxidante e microencapsulação de frutos de juraço (*Euterpe edulis*): Aspectos de interesse para a indústria de alimentos**. Tese (Doutorado), Universidade Federal do Paraná, Setor de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, 143 f., 2014.

BOBBIO, P. A.; BOBBIO, F. O. Pigmentos naturais. BOBBIO, P. A.; BOBBIO, F. O. (Ed.) **Introdução a Química de Alimentos**. 2° ed., São Paulo: Varela. Cap. 6, p. 191-223.

BOBBIO, P. A.; BOBBIO, F. O. **Química do processamento de alimentos**, 2° edição, revista e atualizada. Livraria Varela, São Paulo, 1992.

BURAN, T. J.; SANDHU, A. K.; AZEREDO, A. M.; BENT, A. L.; WILLIAMSON, J. G.; GU, L. Effects of exogenous abscisic acid on fruit quality, antioxidant capacities and phytochemical contents of southern highbush blueberries. **Food Chemistry**, v. 132, 2012.

CALEFFI, T. S. L. **Microencapsulação de polpa de amora-preta por coacervação e *spray-drying***. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal do Paraná, Setor de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, 107f, 2014.

CANTUARIAS- AVILES, T.; SILVA, S. R.; MEDINA, R. B.; MORAES, A. F. G.; ALBERTI, M. F. Cultivo do Mirtilo: Atualizações e desempenho inicial de variedades de baixa exigência em frio no estado de São Paulo. **Revista Brasileira Fruticultura-Jaboticabal- SP**, v. 36, n.1 p. 139-147, março. 2014. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbf/v36n1/v36n1a15.pdf>>. Acesso em: 09 de set. de 2015.

CELESTINO, S. M. C. Princípios de Secagem de Alimentos. **Embrapa Cerrados** , Planaltina, DF, 51p, 2010.

CHAMPAGNE, C. P.; FUSTIER, P. Microencapsulation for the improved delivery of bioactive compounds into foods. **Current Opinion in Biotechnology**. v.18, p.184-190, 2007.

CONCENÇO, F. I. G. da R.; STRINGHETA, P. C.; RAMOS, A. M.; de OLIVEIRA, I. H. T.; LEONE, R. de S. Caracterização e Avaliação das Propriedades Físico-químicas da polpa, casca e extrato de Mirtilo (*Vaccinium myrtillus*). **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**. 2014.

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

DELMONDES, P. H.; FREIRE, J. M.; SHAEFER, A. S.; AMARAL, G. A.; SILVA, M. A. Substâncias antioxidantes presentes nos vegetais. **Revista Eletrônica Univar**, n.9, v.1, p.1-5, 2013.

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

DIACONEASA Z.; LEOPOLD, L. RUGINĂ, D.; AYVAZ, H.; SOCACIU, C.. Antiproliferative and antioxidant properties of anthocyanin rich extracts from blueberry and blackcurrant juice. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, i.2, p.2352-2365, 2015.

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

ESTEVINHO, B. N.; ROCHA, F.; SANTOS, L.; ALVES, A. Microencapsulation with chitosan by spray drying for industry applications- A review. **Trends in Food Science & Technology**, 31, p. 138-155, 2013.

FACHINELLO, J. C. Mirtilo. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 30, n.2, p. 285-576. 2008. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbf/v30n2/a01v30n2.pdf>>. Acesso em: 09 de set. de 2015.

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

FAO. **Food and Agriculture Organization of the United Nations**. FAOSTAT. Disponível em: <http://faostat3.fao.org/faostatgateway/go/to/download/Q/QC/E>. Acesso em: 25 de outubro de 2016.

FAVARO- TRINDADE, C.S; PINHO, S. C.; ROCHA, G.A. Microencapsulação de ingredientes alimentícios. **Brazilian Journal of Technology**. v.11, n.2, p. 103- 112, abr./jun. 2008.

FIESP, ITAL. Federação das Indústrias do Estado de São Paulo e Instituto de Tecnologia de Alimentos. **Brasil Food Trends 2020**. São Paulo, 2010. Disponível em <http://www.brasilfoodtrends.com.br/Brasil_Food_Trends/index.html>, Acesso em: 21 de set. de 2015.

FIGUEROA-GONZALEZ, I.; QUIJANO, G.; RAMÍREZ, G.; CRUZ-GUERRERO, AL. Probiotics and prebiotics: perspectives and challenges. **Journal of Science of Food and Agriculture**, v. 91, n. 8, p. 1341-1348, 2011.

FLORES, F. P. ; SINGH, R. K. KONG F. Physical and storage properties of spray-dried blueberry pomace extract with whey protein isolate as wall material. **Journal of Food Engineering**, p.1-6, 2014.

GHARSALLAOUI, A. ROUDAUT, G.; CHAMBIN, O.; VOILEEY, A. SAUREL, R. Applications of spray-drying in microencapsulation of foods ingredients: An overview. **Food Research International**. v.40, p.1107-1121, 2007.

GIOVANELLI, G. & BURATTI, S. Comparison of polyphenolic composition and antioxidante activity of wild Italian blueberries and some cultivated varieties. **Food Chemistry**, v.112, p.903-908, 2008.

GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R. E. Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. **Current Protocols In Food Analytical Chemistry**. John Wiley & Sons, 2001.

GOLDMEYER, B.; PENNA, N. G.; MELO, A.; DA ROSA, C. S.; Características físico-químicas e propriedades funcionais tecnológicas do bagaço de mirtilo fermentado e suas farinhas. **Revista Brasileira Fruticultura- Jaboticabal-SP**, v.36, n.4, p.980-987, Dez. 2014. Disponível em: < <http://www.scielo.br/pdf/rbf/v36n4/a25v36n4.pdf>>. Acesso em: 09 de set. de 2015.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos Físico-químicos para Análise de Alimentos**. 4ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz 2008.

KAN T.; GUNDOGDU, M.; ERCISLI, S.; MURADOGLU, F.; CELIK, F.; GECER, M. K.; KODAD, O. ZIA-UI-HAQ, M.. Phenolic compounds and vitamins in wild and cultivated apricot (*Prunus armeniaca* L.) fruits grown in irrigated and dry forming conditions. **Biological Research**, set. 2014.

KECHINSKI, C. P. **Estudo de diferentes formas de processamento do mirtilo visando à preservação dos compostos antocianicos**. Tese de Doutorado. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 292f. 2011.

KISSEL, T.; MARETSCHK, S.; PACKHAUSER, C.; SCHINEIDERS, J.; SEIDEL, N.; Microencapsulation techniques for parenteral depot systems and their application in the pharmaceutical industry. BENITA, S. **Microencapsulation: Methods and Industrial Applications**. 2º edição. Boca Raton, CRC Press Taylor E Francis Group, c. 4, p. 104, 2006.

KRAUJALYTE, V.; VENSKUTONIS, P. R.; PUKALSKAS, A.; CESONIERE, L.; DAUBARAS, R. Antioxidant properties, phenolic composition and potentiometric sensor array evaluation of commercial and new blueberry (*Vaccinium corymbosum*) and bag blueberry (*Vaccinium uliginosum*) genotypes. **Food Chemistry**, v. 188, p. 583-590, 2015.

LAJOLO, F. M. Alimentos funcionais: uma visão geral. DE ANGELIS, R. C. **A importância dos alimentos vegetais na proteção da saúde: fisiologia da nutrição protetora e preventiva de enfermidades degenerativas**. São Paulo: Atheneu, P. 175-181, 2005.

LEE, S. J.; UMANO, K.; SHIBAMOTO, T.; LEE, K. G.. Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidante properties. **Food Chemistry**. v.91, i. 1, p. 131-137, jun. 2005.

LIMA, V., L., A., G.; GUERRA, N., B. Antocianinas: Atividade Antioxidante e Biodisponibilidade. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, n.37, p.121-128, 2003.

LOPEZ, P.; SALA, F. J.; de la FUENTE, J. L.; CONDON, S.; RASO, J.; BURGOS, J. Inactivation of peroxidase, lipoxygenase, and polyphenol oxidase by manothermosonication. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 42, n. 2, p. 252-256, 1994. Disponível em: < <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf00038a005>>, Acesso em: 22 de set. de 2015.

LOPES, T. J.; XAVIER, M. F.; QUADRI, M. G. N.; QUADRI, M. B. Antocianinas: Uma breve revisão das características estruturais e da estabilidade. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.13, n.3, p.291-297, jul-set. 2007.

MADENE, A.; JACQUOT, M.; SCHER, J.; DESOBRY, S. Flavour encapsulation and controlled release – a review. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 41, n. 1, p. 1-21, 2006.

MADUREIRA, A. R. et al. Protective effect of whey cheese matrix on probiotic strains exposed to simulated gastrointestinal conditions. **Food Research International**, v. 44, p. 465-470, 2011.

MALACRIDA, C., R.; MOTTA, S. Compostos Fenólicos Totais e Antocianinas em Suco de Uva. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v.25, n.4, p. 659-664, 2005.

MELO, E. A.; GUERRA, N., B. **Ação Antioxidante de Compostos Fenólicos Naturalmente Presentes em Alimentos**. Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos, n.36, p.1-11, 2002.

MENEZES, C. R.; BARIN, J. S.; CHICOSKI, A. J.; ZEPKA, L. Q.; JACOB-LOPES, E.; FRIES, L. L. M.; TERRA, N. N. Microencapsulação de probióticos: avanços e perspectivas. **Ciência Rural**. Santa Maria, 2013.

MILIAUKAS, G.; VENSKUTONIS, P. R.; VAN BEEK, T. A. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. **Food Chemistry**, v. 85, p. 231-237, 2004.

MINOLTA. **Precise color communication: color control from feeling to instrumentation**. Japão: Minolta Corporation. p.49, 1994.

MOYER, R. A.; HUMMER, K. E.; FINN, C. E.; FREI, B.; WROLSTAD, R. E.. Anthocyanins, phenolics and antioxidant capacity in diverse small fruits: Vaccinium, Rubus and Ribes. **Journal of Agricultural Food Chemistry**. v.50, p.519-525, 2002.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of Chromatography**. v. 1054, i. 1-2, p. 95-111, oct. 2004.

NAZZARO, F.; ORLANDO, P.; FRATIANNI, F.; COPPOLA, R. Microencapsulation in food science and biotechnology. **Current Opinion in Biotechnology**. v.23, p.182-186, 2012.

NUNES, G. L.; BOAVENTURA, B. C. B.; PINTO, S. S.; VERRUCK, S.; MURAKAMI, F. S.; PRUDÊNCIO, E. S.; AMBONI, R. D. de M. Microencapsulation of freeze concentrated *Ilex paraguariensis* extract by spray drying. **Journal of Food Engineering**, v.151, p.60-68, 2015.

NUNES, G. L. **Microencapsulação por spray drying dos compostos fenólicos do extrato crioconcentrado de Erva Mate (*Ilex paraguariensis* A. St. Hill)**. Dissertação. Programa de Pós-Graduação dos Alimentos. Universidade Federal de Santa Catarina. Santa Catarina, 2014.

OMS. Organização Mundial da Saúde. **Estratégia Global para Alimentação Saudável, Atividade Física e Saúde**. Portaria n° 596. Ministério da Saúde. 8 de abril de 2004.

OU, B.; HAMPSOH-WOODILL, M.; PRIOR, R. L. Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the Fluorecent Probe. **Journal Agriculture Food Chemistry**, v.49, p.4619-4626, 2001.

PACHECO, M. T. B.; SGARBIERI, V. C. Alimentos funcionais: Conceituação e importância na saúde humana. Anais do I Simpósio Brasileiro sobre Benefícios da Soja para a Saúde Humana. **Embrapa Soja**, Londrina, p. 39-42, 2001.

PARAMERA, E. I.; KONTELES, S. J.; KARATHANOS, U. T. Stability and release properties of curcumin encaapsulated in Saccharomyces cerevisiar, β -cyclodextrin and modified starch. **Food Chemistry**, 125, p.913-922, 2011.

PEGG, R.B.; SHAHIDI, F. Encapsulation, Stabilization, and Controlled Release of Food Ingredients and Bioactives. Rahman, M. S. **Handbook of Food Preservation**. New York Washington, DC: CCR Press. p. 510- 528, 2007.

PERTURZATTI, P. B.; BARCIA, M. T.; RODRIGUES, D. CRUZ, P. N.; HERMOSIN-GUTIÉRREZ, I.; SMITH, R.; GODOY, H. T. Antioxidant activity of hydrophilic and lipophilic extracts of Brazilian blueberries. **Food Chemistry**, v. 164, p.81-88, 2014.

PERTUZATTI, P. B. **Compostos bioativos em diferentes cultivares de mirtilo (*Vaccinium ashei* Reade)**. Dissertação (mestrado). Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial. Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel. Universidade Federal de Pelotas. Pelotas 2009.

PISPAN, S.; HEWITT, C. J.; STAPLEY, A. G. F. Comparison of cell survival rates of E. coli K12 and L. acidophilus undergoing spray drying. **Food and Bioproducts Processing**, v. 91, p. 362-369, 2013.

PRATES, E. R. **Técnicas de pesquisa em nutrição animal**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007.

PRIOR, R. L.; CAO, G. Antioxidant Phytochemicals in Fruits and Vegetables: Diet and Health Implications. **Hort Science**, v.35 n.4, jul. 2000.

RASEIRA, M. C. B.; ANTUNES, L. E. C. **A cultura do Mirtilo**. Embrapa Clima Temperado. Documentos 121. Pelotas, p.67, 2004. Disponível em:< <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/744895/1/documento121.pdf>>. Acesso em: 09 de set. de 2015.

RÉ, M. I. Microencapsulation by spray drying. **Drying Technology**, v.16, p.1195-1236, 1998.

REQUE, P. M. **Frutos de Mirtilo (*Vaccinium spp*) e produtos derivados: Caracterização e estabilidade de suas propriedades bioativas.** Dissertação, Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 120p. 2012.

ROBERT, P.; GORENA, T.; ROMERO, N.; SEPVEDA, E.; CHAVEZ, J.; SAENZ, C. Encapsulation of polyphenols and anthocyanins from pomegranate (*Punica granatum*) by spray drying. **International Journal Food Science & Technology**, v. 45, p. 1386-1494, 2010.

ROCHA, F. I. G. **Avaliação da cor e da atividade antioxidante da polpa e do extrato de mirtilo (*Vaccinium myrtillus*) em pó.** Dissertação (mestrado). Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 93p. 2009.

ROUTRAY, W.; ORSAT, V. MAE of phenolic compounds from blueberry leaves and comparison with other extraction methods. **Industrial Crops and Products**, n.58, p.36-45, jul. 2014. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669014001861>>. Acesso em: 10 set. de 2015.

RUTZ, J. K.; BORGES, C. D.; ZAMBIAZI, R. C.; CRIZEL-CARDOSO, M. M.; KUCK, L. S.; NORENA, C. P. Z. Microencapsulation of palm oil by complex coacervation for application in food systems. **Food Chemistry**, v.220, p.59-66, 2017.

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**, p.144-152, 2015.

SARAL, Ö.; ÖLMEZ, Z.; SAHIM, H; Comparison of antioxidante properties of wild blueberries (*Vaccinium arctostaphylos* L. and *Vaccinium myrtillus* L.) with cultivated blueberry varieties *Vaccinium corymbosum* L. in Artvin Region of Turkey. **Turkish Journal of Agriculture- Food Science and Technology**. v.3, p.40-44, 2015.

SELLOPON, AKON & KREWER. Phenolic compounds and antioxidant capacity of Georgia grown blueberries and blackberries. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 50, p.2432-2438, 2002.

SHAHIDI, F.; HAN, X. Q. Encapsulation of food ingredients. Critical Review in **Food Science and Nutrition**, v.33, p.501-547, 1993. Disponível em: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10408399309527645>. Acesso em: 24 de agosto de 2015.

SHAHIDI, F.; NACZK, M. Food phenolics: sources, chemistry, effects and applications. **Technomic Publ.** Lancaster, PA, 1995.

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

SIMEONI, C. P. ETCHEPARE, M. A.; MENEZES, C. R.; FRIES, L. M.; MENEZES, M. F. C.; STEFENELLO, F. S. Microencapsulação de Probióticos: Inovação Tecnológica na Indústria de Alimentos. **Electronic Journal of Management, Education and Environmental Technology, REGET**- Ed. Especial Mai. v.18, p. 66-75, 2014.

SKORAVANKOVA S.; SUMCZYNSKI, D.; MLCEK, J.; JURIKOVA, T.; SOCHOR, J. Different types of berries. **International Journal of Mol. Science**. V.16, p.2463-24706, 2015. Disponível em: <http://www.mdpi.com/1422-0067/16/10/24673/htm#> . Acesso em: 15/01/2017.

SOBRINHO, E. C. S.; FARIAS, M. C.; **A microencapsulação na Indústria Alimentícia**. Infarma, v.24, n° 1-3, 2012.

SOUZA, M. B.; CURADO, T.; VASCONCELLOS, F. N.; TRIGO, M. J. Mirtilo: qualidade pós-colheita. Alentejo, Portugal, **Folhas de Divulgação AGRO 556** ,v. 556, n.8, 2007.

SOUZA, V. R. PEREIRA, P. A. P.; SILVA, T. L. T.; LIMA, L. C. O; QUEIROZ, F. Determination of the bioactive compounds, antioxidant activity and chemical composition of Brazilian blackberry, red raspberry, strawberry, blueberry and sweet cherry fruit. **Food Chemistry** v. 156, p.362-368. Aug. 2014.

TIWARI, S.; GOEL, A.; JHA, K. K.; SHARMA, A. Microencapsulation techniques and its application: a review. **The Pharma Research**, v. 3, n. 12, 2010.

TONON, R. V.; BRABET, C.; PALLET, D.; BRAT, P.; HUBINGER, M. D. Physicochemical and morphological characterisation of açai (*Euterpe oleraceae* Mart.) powder produced with different carrier agents. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 44, p. 1950–1958, 2009.

TONON, R. V.; BRABET, C.; HUNINGER, M. D. Influência da temperatura do ar de secagem e da concentração de reagente carreador sobre as propriedades físico-químicas do suco de açai em pó. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas v.29, n.2, p. 444-450, abr. jun. 2009.

URSINI, F.; TUBARO, F.; RONG, J.; SEVANIAN, A.. Optimization of nutrition: polyphenols and vascular protection. **Revista de Nutrição**, v.57,p. 241-730, 1999.

USDA. **National Nutrient Database for Standard Reference** Release 28. Revised may 2016. Disponível em: <https://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/2166?manu=&fgcd=Fruits%20and%20Fruit%20Juices&ds=Standard%20Reference>>. Acesso em: 25 de outubro de 2016.

VIZZOTO, M.; ARAUJO, V. F.; PEREIRA, M. C.; BIALVES, T. S.; VISOGNO, G. K. Compostos fenólicos e atividade antioxidante de diferentes cultivares e seleções de mirtilo dos grupos highbush e rabboteye. **Congrega Urcamp. 11º Jornada de Pós Graduação e Pesquisa**. 2013.

VIZZOTO, M.; PEREIRA, M. C. Metodologia científica: otimização do processo de extração de compostos fenólicos antioxidantes de mirtilo (*Vaccinium ashei* Reade). **Embrapa Clima Temperado**, Pelotas, Boletim de pesquisa e desenvolvimento 101, 19p, 2009.

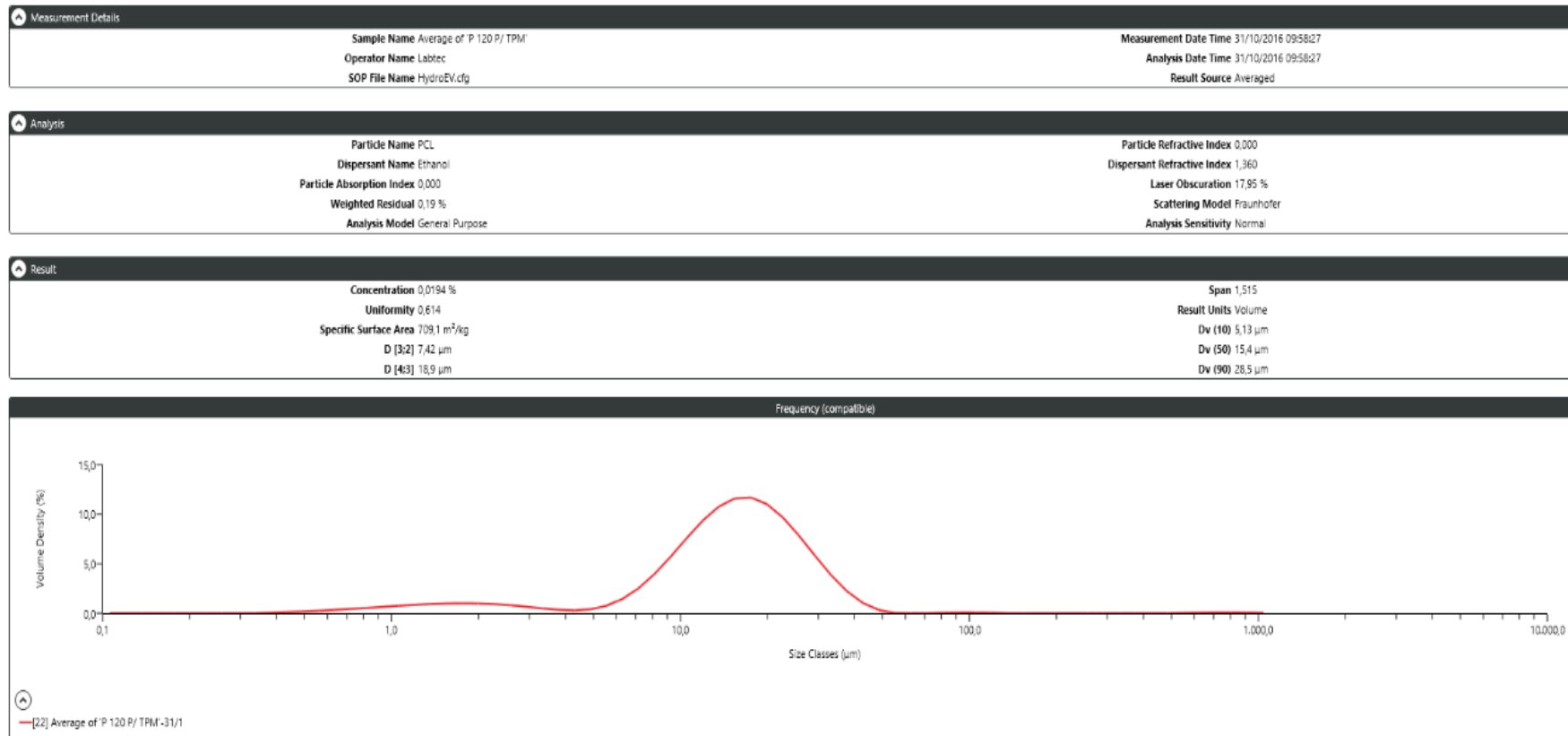
XAVIER, D. **Desenvolvimento de produto alimentício à base de farinha de trigo integral e ingredientes funcionais**. Dissertação, Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, Programa de Pós Graduação em Processos Químicos e Bioquímicos, Universidade Federal do Paraná, Pato Branco. 185f. 2013.

YOU, Q.; WANG, B.; CHEN, F.; HUANG, Z.; WANG, X.; LUO, P. G. Comparison of anthocyanins and phenolics in organically and conventionally grown blueberries in selected cultivars. **Food Chemistry**, v. 125, p.201-208, 2011.

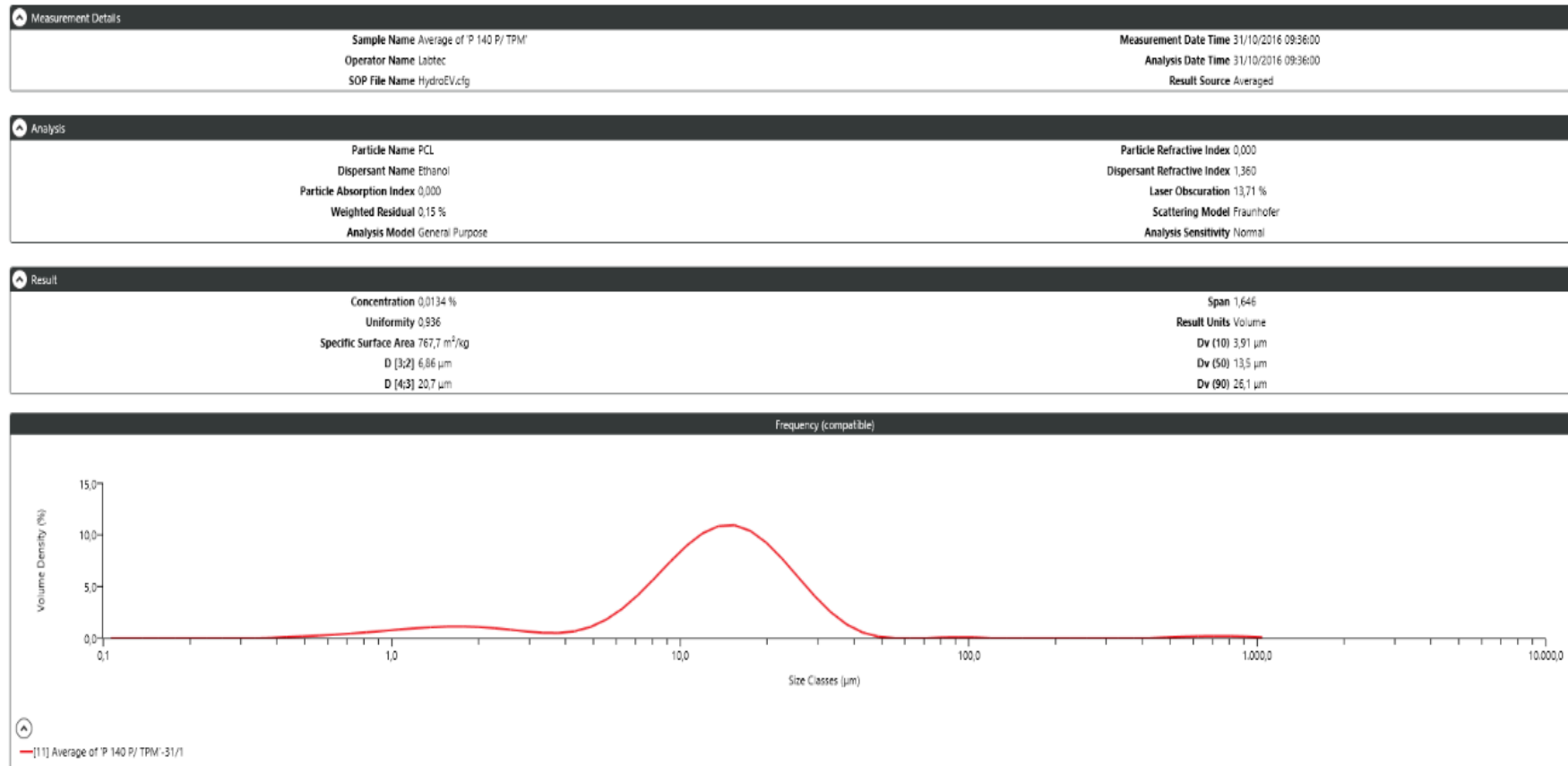
ZARDO, I. **Extração e microencapsulação de compostos antociânicos do bagaço de mirtilo (*Vaccinium corymbosum* L.)**. Dissertação (mestrado), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Escola de Engenharia, Departamento de Engenharia Química, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Porto Alegre, 2014.

ANEXOS

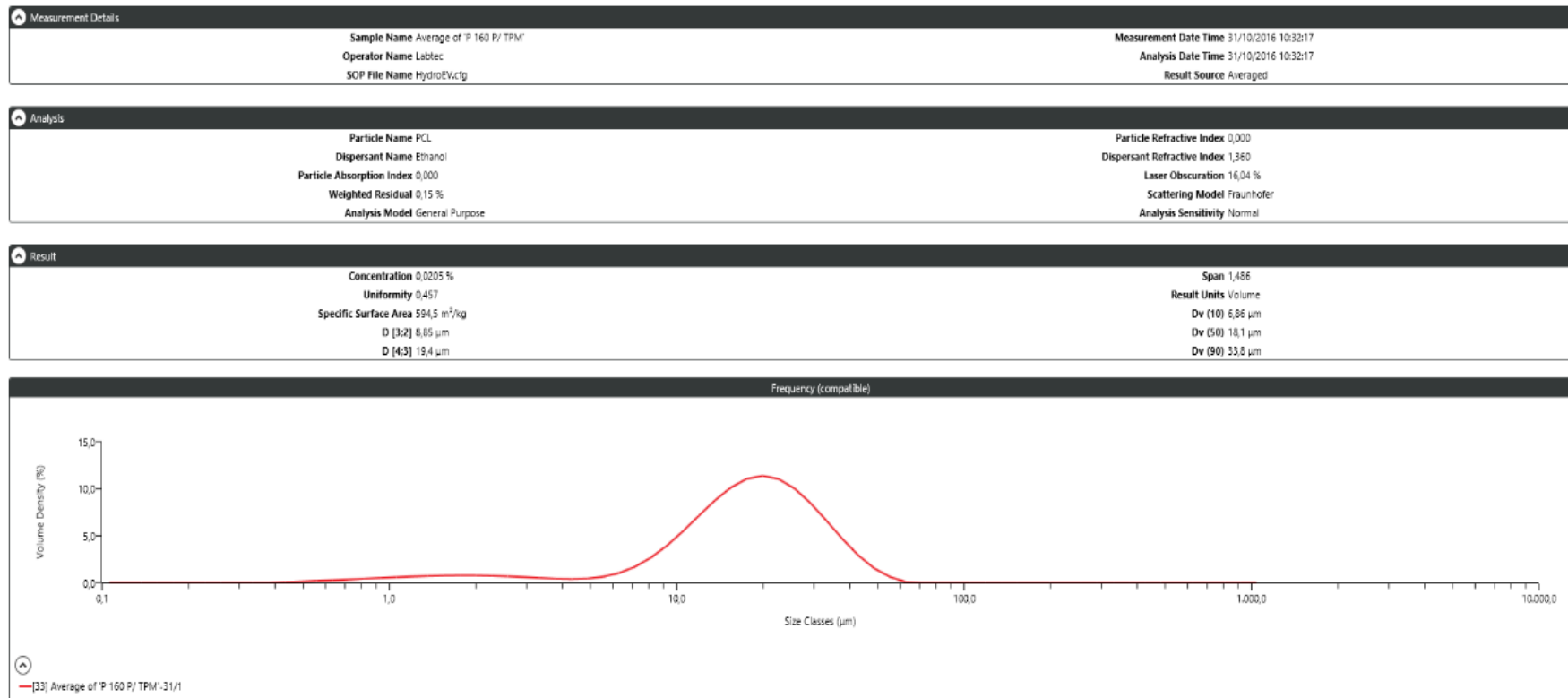
ANEXO A- Análise tamanho de partícula formulação P a 120°C utilizando etanol como meio dispersante em equipamento Mastersizer 3000 (Malvern Alemanha).



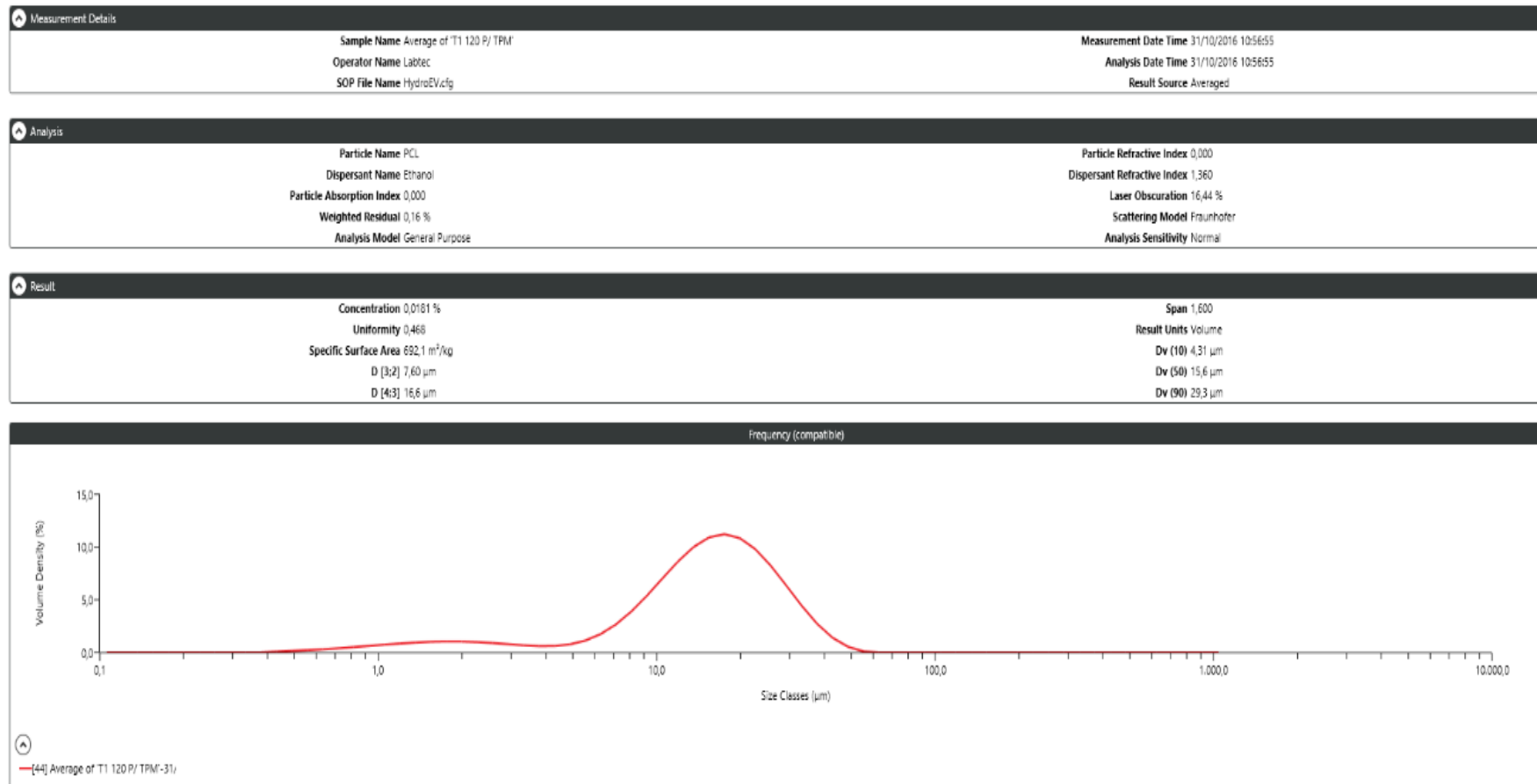
ANEXO B - Análise tamanho de partícula formulação P a 140°C utilizando etanol como meio dispersante em equipamento Mastersizer 3000 (Malvern Alemanha).



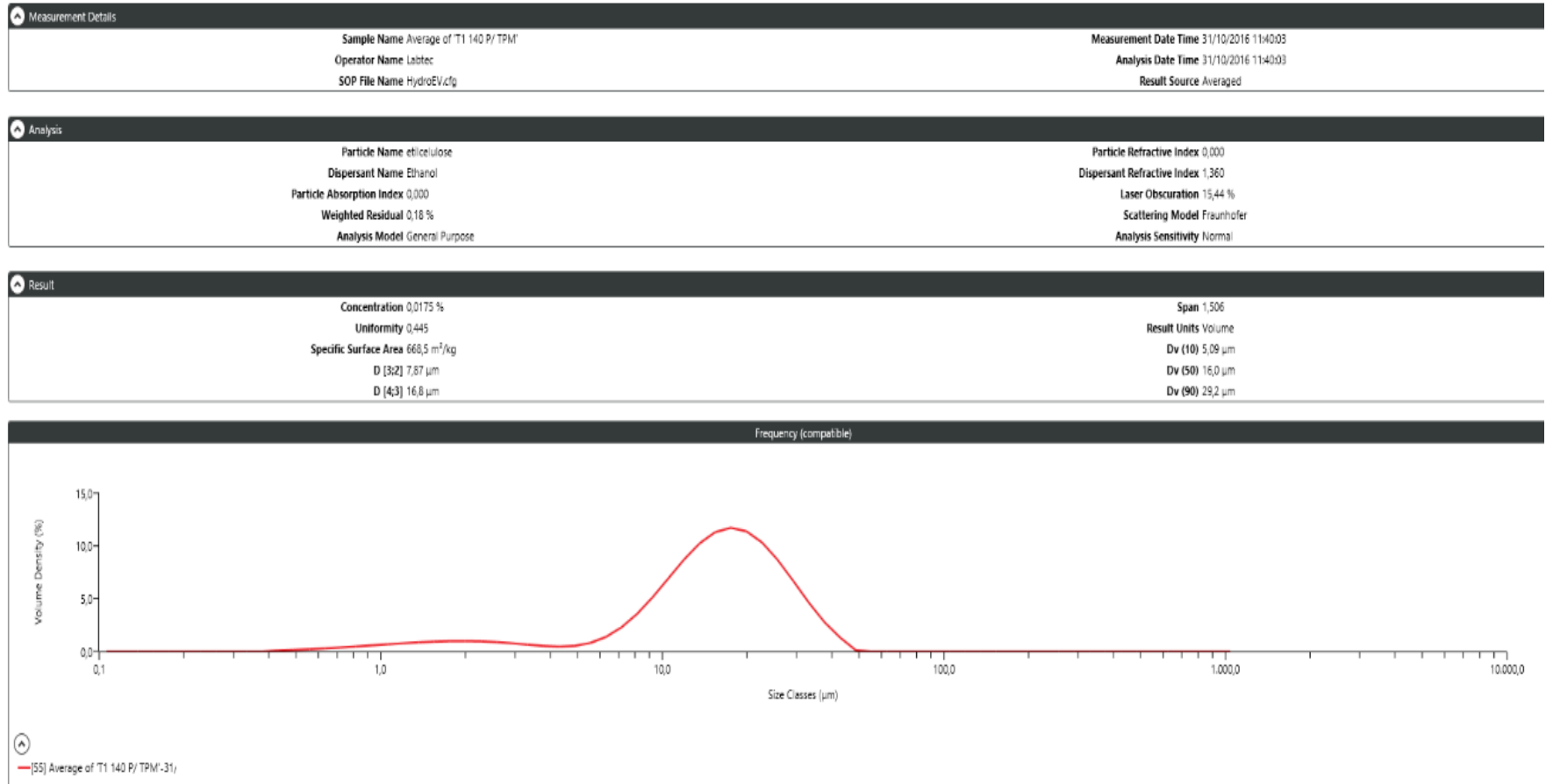
ANEXO C - Análise tamanho de partícula formulação P a 160°C utilizando etanol como meio dispersante em equipamento Mastersizer 3000 (Malvern Alemanha).



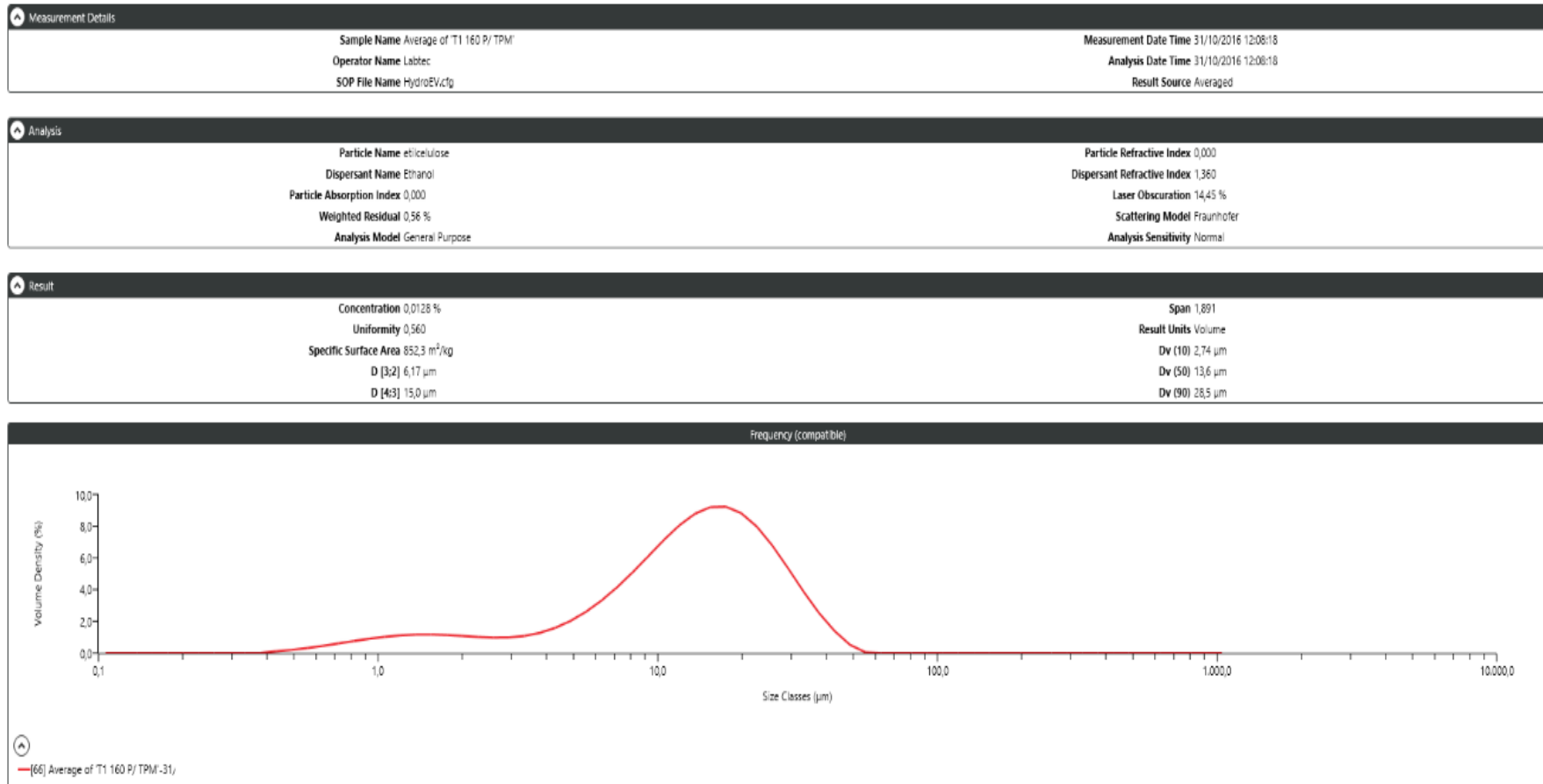
ANEXO D - Análise tamanho de partícula formulação T1 a 120°C utilizando etanol como meio dispersante em equipamento Mastersizer 3000 (Malvern Alemanha).



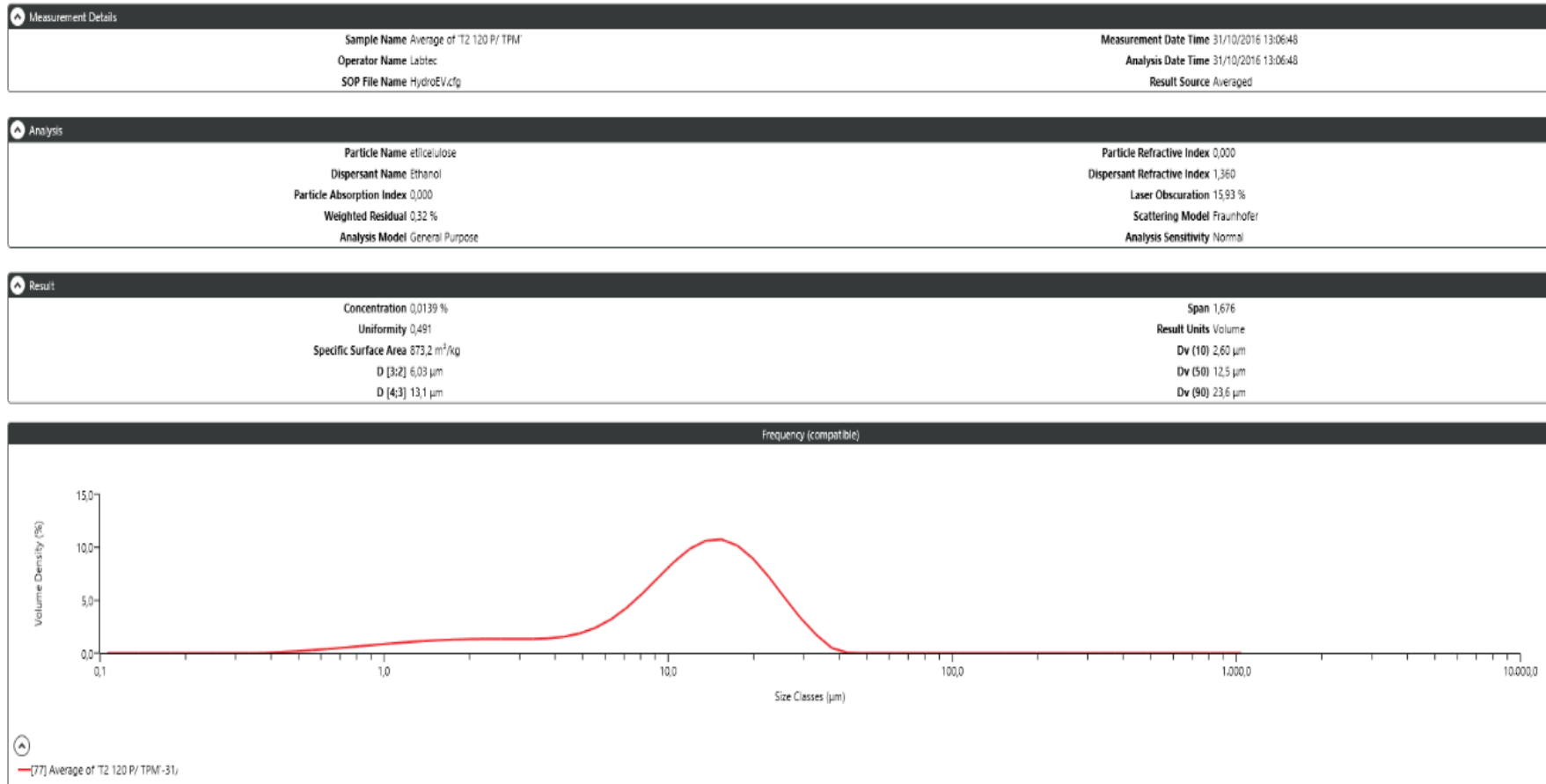
ANEXO E - Análise tamanho de partícula formulação T1 a 140°C utilizando etanol como meio dispersante em equipamento Mastersizer 3000 (Malvern Alemanha).



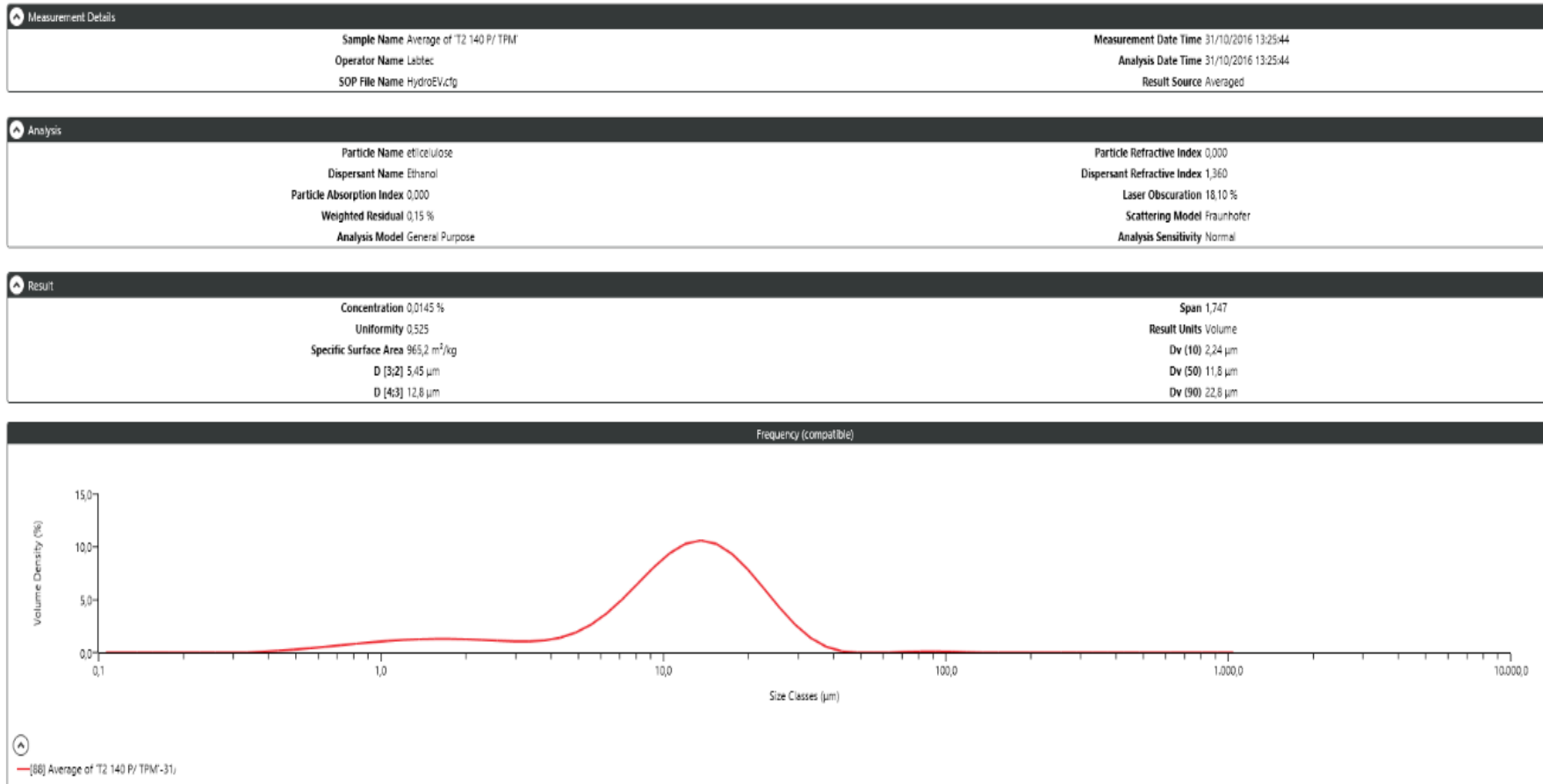
ANEXO F - Análise tamanho de partícula formulação T1 a 160°C utilizando etanol como meio dispersante em equipamento Mastersizer 3000 (Malvern Alemanha).



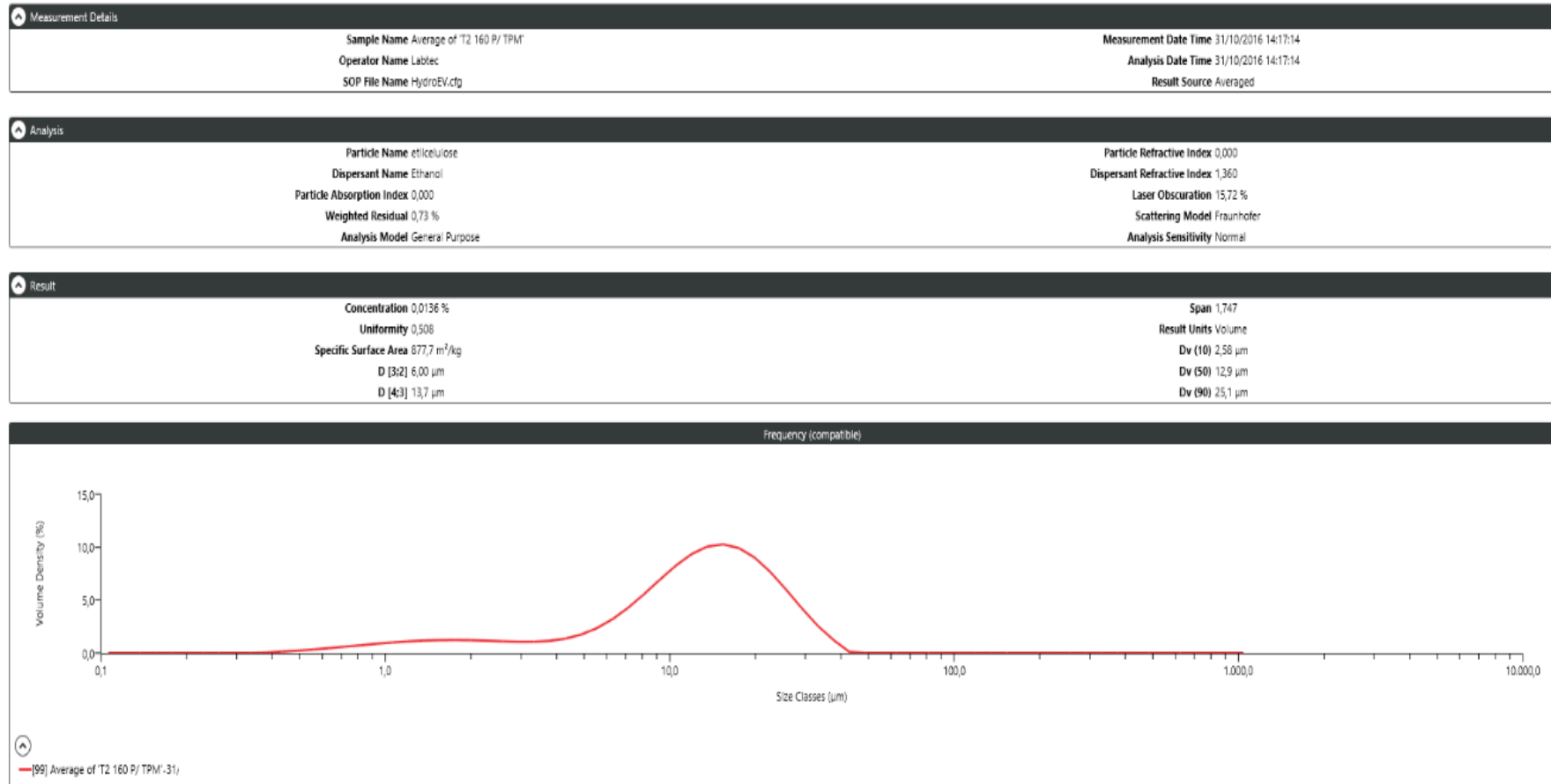
ANEXO G - Análise tamanho de partícula formulação T2 a 120°C utilizando etanol como meio dispersante em equipamento Mastersizer 3000 (Malvern Alemanha).



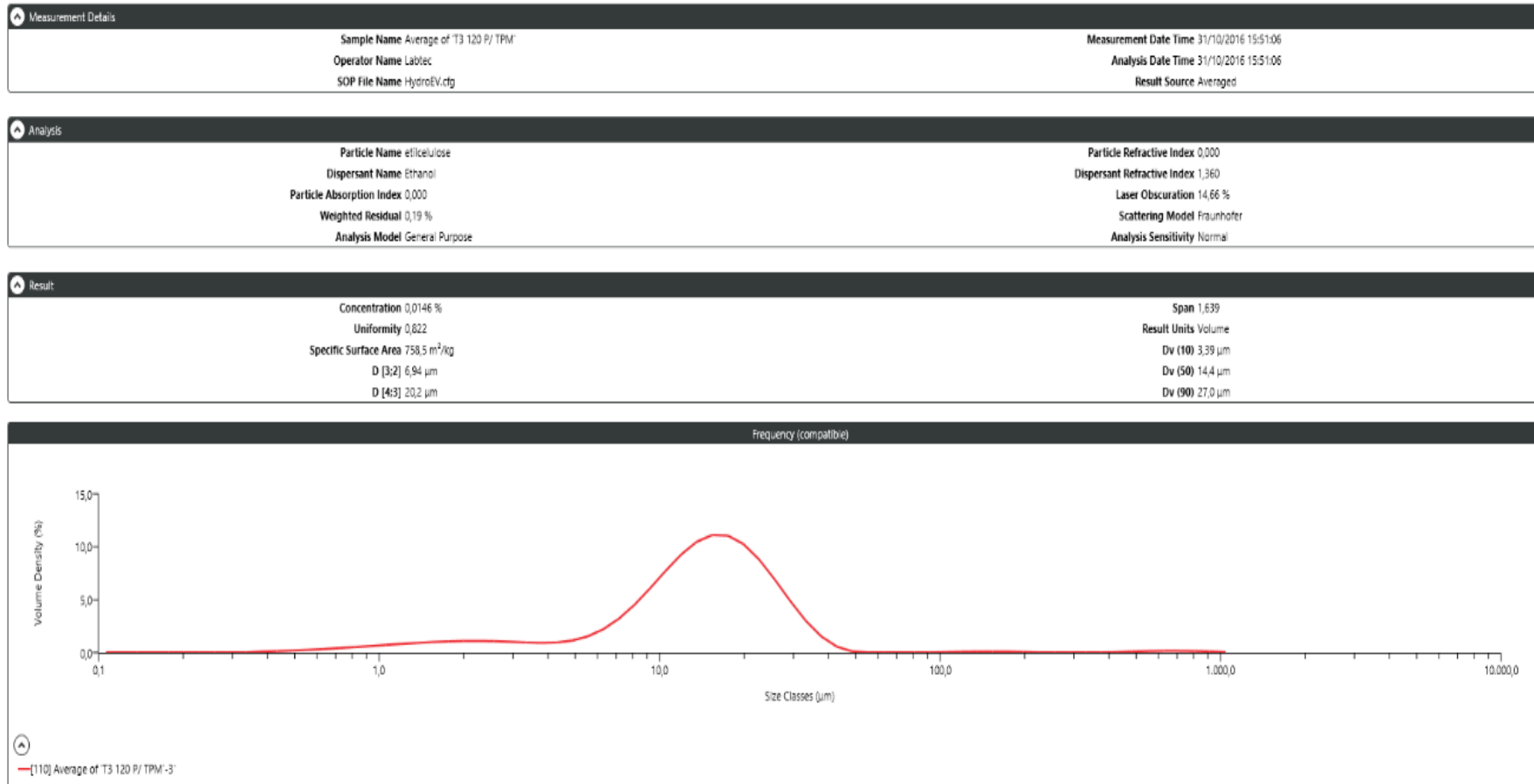
ANEXO H - Análise tamanho de partícula formulação T2 a 140°C utilizando etanol como meio dispersante em equipamento Mastersizer 3000 (Malvern Alemanha).



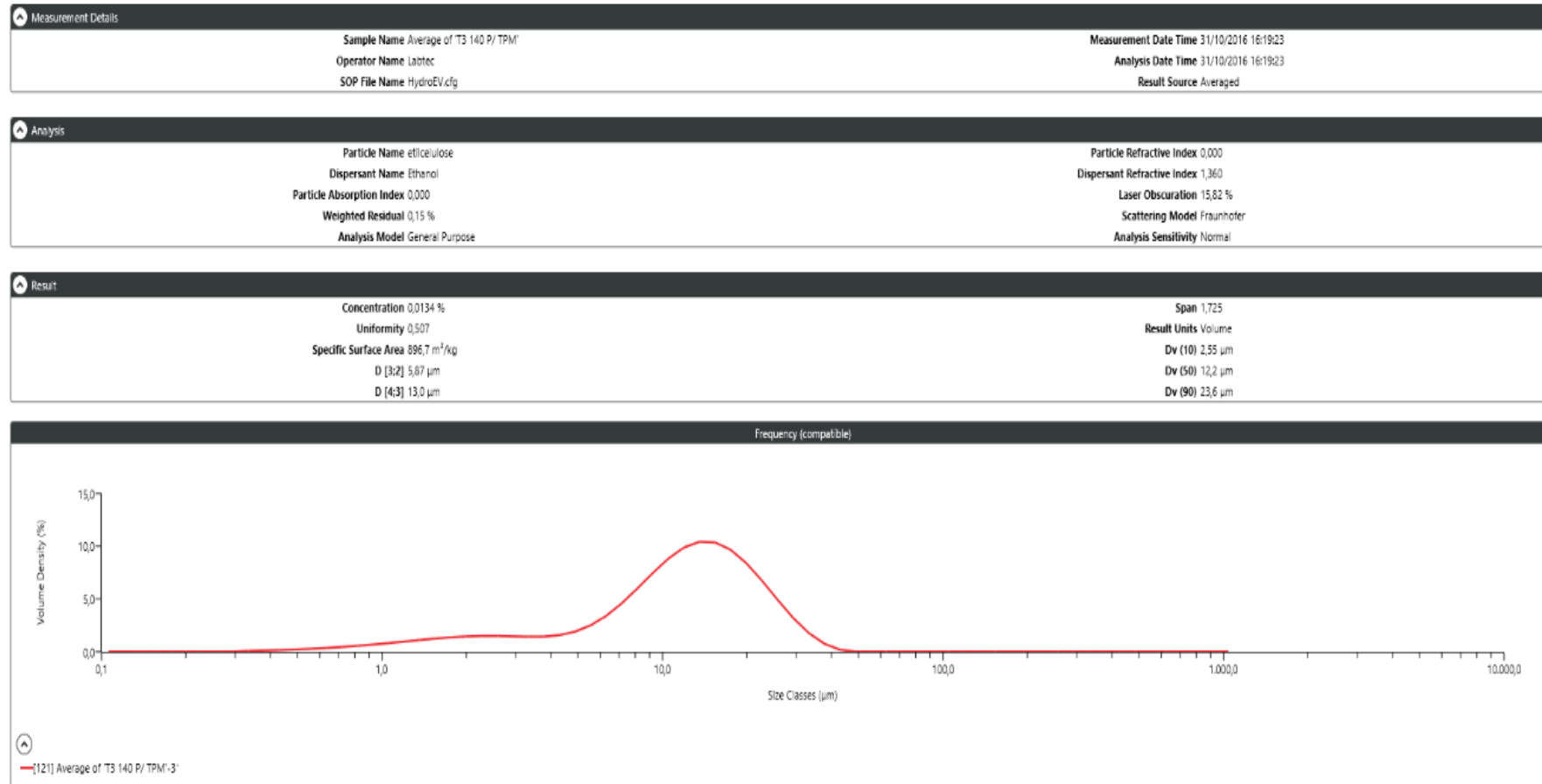
ANEXO I - Análise tamanho de partícula formulação T2 a 160°C utilizando etanol como meio dispersante em equipamento Mastersizer 3000 (Malvern Alemanha).



ANEXO J - Análise tamanho de partícula formulação T3 a 120°C utilizando etanol como meio dispersante em equipamento Mastersizer 3000 (Malvern Alemanha).



ANEXO K - Análise tamanho de partícula formulação T3 a 140°C utilizando etanol como meio dispersante em equipamento Mastersizer 3000 (Malvern Alemanha).



ANEXO L - Análise tamanho de partícula formulação T3 a 160°C utilizando etanol como meio dispersante em equipamento Mastersizer 3000 (Malvern Alemanha).

