Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"

Aplicação de extratos de acerola (*Malpighia emarginata*) em emulsões lipídicas

Jessica Bomtorin Aranha

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestra em Ciências. Área de concentração: Ciência e Tecnologia de Alimentos

Piracicaba
2018

Jessica Bomtorin Aranha
Bacharela em Ciências dos Alimentos

Aplicação de extratos de acerola (*Malpighia emarginata*) em emulsões lipídicas

versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

Orientador:
Profa. Dra. **THAIS MARIA FERREIRA DE SOUZA VIEIRA**

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestra em Ciências. Área de concentração: Ciência e Tecnologia de Alimentos

Piracicaba
2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA – DIBD/ESALQ/USP

Aranha, Jessica Bomtorin

Aplicação de extratos de acerola (*Malpighia emarginata*) em emulsões lipídicas / Jessica Bomtorin Aranha. - - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2018.

87 p.

Dissertação (Mestrado) - - USP / Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".

1. Frutas 2. Superfície de resposta 3. Antioxidantes 4. Emulsão 5. Oxidação lipídica 6. Hidroperóxidos I. Título

AGRADECIMENTOS

A Deus.

Aos meus pais, Leni e Celso, pela educação e pela pessoa que me tornei. Por sempre estarem perto, apoiando minhas decisões.

A minha irmã, Cinthia, que sempre incentivou os meus estudos.

Ao meu irmão, Igor, pelo amor incondicional e por me dar forças para prosseguir.

Ao meu namorado, Murilo, pelo amor, carinho e cumplicidade. Por estar em todos os momentos, me dando força e me incentivando cada vez mais. Pela paciência e compreensão nos momentos de estresse e ansiedade.

A minha orientadora Dra. Thais Vieira, por ser uma excelente profissional, por quem tenho grande admiração. Agradeço por ter me acolhido quando precisei, pela orientação e confiança.

A professora Carmen Fávaro Trindade e doutoranda Talita Comunian (FZEA/USP), pelo apoio e a essencial ajuda no processo de microencapsulação.

Ao Richtier Gonçalves pelo total auxílio nas análises de cromatografia.

Ao professor Mário Maróstica e mestranda Nathalia Medina (UNICAMP) pelo auxílio nas análises de ORAC e FRAP.

A professora Ana Paula Badan Ribeiro e doutoranda Marcela Stahl (UNICAMP) pela disponibilidade e ajuda na análise de Microscopia Eletrônica de Varredura.

A Daniel Vázquez pelo auxílio nas análises estatísticas.

Aos meus colegas de laboratório, Renata Cavalaro, Thalita Obara, Elizângela, Ana Loro, Bianca Teixeira, Daniel Vázquez, Marina Mazine, Daniela Guidelli, Fabiane Maximo, Luis Cláudio, Luis Felipe, Juliana Galvão, Samara, pelo apoio, auxílio em análises e momentos de descontração.

As minhas amigas, Elizângela Falcão, Flávia Paggiaro, Renata Cavalaro e Thalita Obara pelo apoio, pela cumplicidade e pelas horas de alegria dentro e fora da ESALQ.

A minha querida amiga, Talita Negri, pela amizade, carinho e pelos ótimos momentos. Agradeço pelo apoio emocional (bons e ruins) ao longo da Graduação e Pós-graduação, foram essenciais.

A minha querida amiga, Jessica Scatolin, pelo carinho, amizade e ótimos momentos que permaneceram mesmo fora da ESALQ.

As Professoras, Dra. Ana Paula Badan, Dra. Eliana Kamimura; Dra. Juliana Ract pelas correções e enriquecimento deste trabalho.

Ao Grupo ESALQ Food e Getep, por todo apoio.

Agradeço a Associação Agrícola de Junqueirópolis, pela doação de amostras de acerola.

A CAPES pela bolsa de estudo concedida para a realização do Mestrado.

A todos os docentes da ESALQ pelos ensinamentos durante a graduação e pós-graduação e funcionários da ESALQ que sempre foram muito solícitos.

E por fim, a todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

“Mantenha seus pensamentos positivos, porque seus pensamentos tornam-se suas palavras. Mantenha suas palavras positivas, porque suas palavras tornam-se suas atitudes. Mantenha suas atitudes positivas, porque suas atitudes tornam-se seus hábitos. Mantenha seus hábitos positivos, porque seus hábitos tornam-se seus valores. Mantenha seus valores positivos, porque seus valores...Tornam-se seu destino.”

(Mahatma Gandhi)

SUMÁRIO

RESUMO 7
ABSTRACT 8
1. INTRODUÇÃO 9
REFERÊNCIAS 10
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 13
2.1. EMULSÕES ALIMENTÍCIAS 13
2.1.1. Estrutura e estabilidade 14
2.2. OXIDAÇÃO LIPÍDICA 15
2.3. ANTIOXIDANTES 16
2.3.1. Antioxidantes sintéticos 17
2.3.2. Antioxidantes naturais 18
2.4. ACEROLA 19
2.5. MICROENCAPSULAÇÃO 24
REFERÊNCIAS 25
3. ESTUDO DA EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS E DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DOS FRUTOS DA ACEROLA MADURA E VERDE COM A APLICAÇÃO DA METODOLOGIA DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA 35
RESUMO 35
ABSTRACT 35
3.1. INTRODUÇÃO 35
3.2. MATERIAL E MÉTODOS 36
3.2.1. Processamento das matérias-primas e obtenção do extrato 36
3.2.2. Determinação do teor de compostos fenólicos totais (CFT) dos extratos de acerola madura e verde 38
3.2.3 Atividade antioxidante in vitro pelo método DPPH 38
3.2.3. Atividade antioxidante in vitro pelo método ABTS 39
3.2.4. Atividade antioxidante in vitro pelo método de ORAC 39
3.2.5. Atividade antioxidante in vitro pelo método FRAP 39
3.2.6. Quantificação de ácido ascórbico e compostos fenólicos por CLAE 39
3.3. DELINEAMENTO E ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS 40
3.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO 40
3.4.1. Determinação do teor de compostos fenólicos totais (CFT) dos extratos 40
3.4.2. Estudo da atividade antioxidante in vitro por DPPH e ABTS 44
3.4.3. Determinação das condições otimizadas 50
3.4.4. Quantificação de ácido ascórbico e compostos fenólicos por CLAE dos extratos otimizados 51
3.5. CONCLUSÕES 53
REFERÊNCIAS 53
4. OBTENÇÃO DE MICROPARTÍCULAS DE EXTRATO DE ACEROLA VERDE 57
RESUMO 57
ABSTRACT 57
4.1. INTRODUÇÃO 57
4.2. MATERIAL E MÉTODOS 58
4.2.1. Obtenção dos extratos 58
4.2.2. Obtenção das micropartículas 59
4.2.3. Caracterização das micropartículas 59
4.2.3.1. Umidade e atividade de água (aw) 59
4.2.3.2. Solubilidade 59

4.2.3.3. Higroscopicidade 59
4.2.3.4. Diâmetro médio e distribuição do tamanho das partículas 60
4.2.3.5. Morfologia das micropartículas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) 60
4.2.4. Quantificação de ácido ascórbico por CLAE 60
4.2.5. Teor de compostos fenólicos totais (CFT) e atividade antioxidante 60
4.3. ANÁLISE ESTATÍSTICA 61
4.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO 61
4.4.1. Caracterização das micropartículas 61
4.4.2. Diâmetro médio e distribuição do tamanho das partículas 62
4.4.3. Morfologia das micropartículas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) 64
4.4.4. Quantificação de ácido ascórbico, teor de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante das micropartículas 65
4.5. CONCLUSÕES 66

REFERÊNCIAS 66

5. APLICAÇÃO DE EXTRATO DE ACEROLA VERDE MICROENCAPSULADO EM SISTEMA MODELO DE EMULSÃO 71

RESUMO 71

ABSTRACT 71

5.1. INTRODUÇÃO 71
5.2. MATERIAL E MÉTODOS 73
5.2.1. Obtenção do extrato de acerola verde microencapsulado 73
5.2.2. Preparo das emulsões 73
5.2.3. Estabilidade oxidativa das emulsões 74
5.2.3.1. Teor de hidroperóxidos 74
5.2.3.2. Dienos conjugados 74
5.2.3.3. Índice de Cremeação (IC) 75
5.3. ANÁLISE ESTATÍSTICA 75
5.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO 75
5.4.1. Estabilidade oxidativa das emulsões 75
5.4.1.1. Teor de hidroperóxidos e dienos conjugados 75
5.4.1.2. Índice de cremeação 79
5.5. CONCLUSÕES 81

REFERÊNCIAS 81

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS 85

ANEXO 87

RESUMO

Aplicação de extratos de acerola (*Malpighia emarginata*) em emulsões lipídicas

A oxidação lipídica é uma das causas de deterioração e perda de qualidade dos alimentos. Com a intenção de reduzir ou inibir essa reação, são empregados antioxidantes sintéticos. No entanto, com a crescente preocupação sobre o efeito dos mesmos sobre a saúde, diversas pesquisas têm por objetivo buscar alternativas de fontes naturais. A atividade antioxidante de frutas tem sido muito estudada. A acerola se destaca devido aos seus componentes, como o ácido ascórbico, compostos fenólicos, carotenoides e antocianinas, conferindo elevada capacidade antioxidante, principalmente no estádio de maturação verde, o qual pode ser explorado como base para aditivo para a indústria alimentícia. A técnica de microencapsulação pode facilitar a aplicação, proteger os compostos ativos e favorecer sua liberação controlada em um produto. O objetivo deste trabalho foi obter extratos de frutos de acerola em condições otimizadas e submetê-los ao processo de microencapsulação, visando avaliar seu potencial de aplicação como antioxidante em emulsão lipídica. Foi realizada a otimização da extração de compostos ativos de amostras de frutos verdes e maduros de acerola por meio da metodologia de Superfície de Resposta, em que foram determinados os efeitos da proporção amostra:solvente e tempo sobre a atividade antioxidante (DPPH e ABTS) e compostos fenólicos totais (CFT). Os extratos obtidos em condições otimizadas foram caracterizados quanto ao teor de compostos fenólicos totais (CFT), atividade antioxidante (DPPH, ABTS, ORAC-H e FRAP), teores de ácido ascórbico e compostos fenólicos (clorogênico, ferúlico e *p*-cumárico). O extrato com maior atividade antioxidante foi selecionado para a obtenção de micropartículas por *spray drying,* com adição de goma arábica e maltodextrina. As micropartículas foram caracterizadas (umidade, aw, solubilidade, higroscopicidade, tamanho de partículas), avaliadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) e também quanto à manutenção da atividade antioxidante. As micropartículas, o extrato aquoso de acerola otimizado e o antioxidante sintético TBHQ (Terci-Butil-Hidroquinona) foram aplicados em sistema modelo de emulsão em concentrações de até 200 mg. Kg^{-1}. As emulsões foram submetidas ao teste acelerado de oxidação a 40°C por 9 dias, com acompanhamento da variação do teor de hidroperóxidos, dienos conjugados e índice de cremeação (CI) a cada 3 dias. A otimização propiciou a obtenção de extratos com elevada atividade antioxidante. Para os frutos maduros a melhor proporção amostra:solvente (água) foi de 1:30, já para frutos verdes foi de 1:40. O tempo ótimo identificado foi 10 minutos de extração. Os extratos de frutos verdes apresentaram atividade antioxidante superior aos de frutos maduros, bem como elevadas concentrações de ácido ascórbico e ácidos fenólicos. As micropartículas apresentaram baixa umidade e atividade de água. A maior solubilidade e menor higroscopicidade foi verificada nas produzidas com maltodextrina. Ambas apresentaram partículas pequenas e características tecnológicas adequadas para aplicação em alimentos; entretanto a micropartícula produzida com goma arábica se destacou pelo elevado rendimento no processo e proteção da atividade antioxidante. Os tratamentos com a adição de micropartículas em emulsões apresentaram efeito protetor significativo e semelhante ao antioxidante sintético TBHQ nas concentrações de 100 e 200 $mg.kg^{-1}$ na avaliação da oxidação lipídica. No entanto, o efeito protetor conferido pela adição de micropartículas com goma arábica e de mistura de micropartículas a 200 $mg.kg^{-1}$ permitiram maior controle do processo oxidativo, com a observação de baixos teores de hidroperóxidos, dienos conjugados e menores índices de cremeação durante o teste acelerado. Conclui-se que extratos microencapsulados de frutos verdes de acerola são promissores para aplicação em emulsões lipídicas e apresentam potencial para substituir antioxidantes sintéticos em alimentos e cosméticos.

Palavras-chave: Antioxidante; Otimização; Acerola verde; Acerola madura; Microencapsulação

ABSTRACT

Application of acerola extracts (*Malpighia emarginata*) in lipid emulsions

Lipid oxidation is one of the major causes of deterioration and loss of food quality. Synthetic antioxidants are applied in order to reduce or inhibit this reaction. However, with growing concern about health aspects of these antioxidants, several research aims to find alternatives from natural sources. The antioxidant activity in fruits has been studied. Acerola stands out due to its components, such as ascorbic acid, phenolic compounds, carotenoids and anthocyanins, that may are related to high antioxidant capacity, specially at the green maturation stage, which can be exploited as an additive for the food industry. The microencapsulation technique may facilitate its apllication by protecting the compounds and promoting controlled release of active compounds. The objective of this work was to obtain extracts of acerola fruit under optimized conditions and to submit them to the microencapsulation process, aiming to evaluate its potential application as antioxidant in lipid emulsion. The optimization of the extraction of active compounds from green and ripe acerola fruits was achieved through response surface methodology, in which the effects of proportion sample:solvent and time on the antioxidant activity (DPPH and ABTS) and total phenolic compouns (TPC) were determided. The extracts obtained under optimized conditions were characterized as the content of total phenolic compounds (TPC), antioxidant activity (DPPH, ABTS, ORAC-H and FRAP), ascorbic acid and phenolic compounds (chlorogenic, ferulic, and p-coumaric acids). The extract with greater antioxidant activity was selected to obtain microparticles by spray drying, with addition of gum arabic and maltodextrin. The microparticles were characterized (moisture, water activity, hygroscopicity, solubility, particle size), evaluated by scanning electron microscopy (SEM) and the maintenance of the antioxidant activity. The microparticles, the optimized aqueous acerola extract and the synthetic antioxidant TBHQ (terc-butyl-hydroquinone) were applied in model system of emulsion in concentrations up to 200 mg. Kg^{-1}. The emulsions were subjected to accelerated oxidation test at 40°C for 9 days, with monitoring of the variation of the hydroperoxides content, conjugated dienes and creaming index (CI) every 3 days. The optimization promoted to obtention of extracts with high antioxidant activity. For the ripe fruits the best sample:solvent (water) ratio was 1:30 and for green fruits it was 1:40. Optimum time identified was 10 minutes of extraction. The extracts of green fruits showed higher antioxidant activity than mature fruits, as well as higher concentrations of ascorbic acid and phenolic acids. The microparticles had low moisture content and water activity. The greater solubility and lower hygroscopicity was observed in those produced with maltodextrin. Both showed small particles and technological characteristics suitable for application in food; however the microparticle produced with gum arabic was distinguished by the high yield in the process and protection of the antioxidant activity. The treatments with addition of microparticles in emulsions showed significant protective effect similar to the synthetic antioxidant (TBHQ) at concentrations of 100 and 200 $mg.kg^{-1}$ in the evaluation of lipid oxidation. However, the protective effect conferred by the addition of microparticles with gum arabic and a mixture of microparticles at 200 $mg.kg^{-1}$ allowed the greater control of the oxidative process, with the observation of low hydroperoxides content, conjugated dienes and lower creaming inde during the accelerated test. It is concluded that microencapsulated extracts of green acerola fruits are a promising for application in lipid emulsions and show a potential to replace synthetic antioxidants in food and cosmetics.

Keywords: Antioxidants; Optimization; Green acerola; Ripe acerola; Microencapsulation

1. INTRODUÇÃO

A oxidação lipídica é considerada uma das reações mais preocupantes na indústria de alimentos, a qual pode ocorrer principalmente em produtos com elevados teores lipídicos, como emulsões e óleos. Esta reação é apontada como uma das causas que levam a deterioração e perda de qualidade de alimentos (MCCLEMENTS, 2005; RIES; HAISMAN; SINGH, 2010; BERTON-CARABIN; ROPERS; GENOT, 2014). Na oxidação lipídica, as reações desencadeadas por fatores pró-oxidantes, favorecem a formação de compostos primários, como os hidroperóxidos, que por sua vez se decompõem ao decorrer da reação. A decomposição dos hidroperóxidos propicia a formação de compostos secundários, que são responsáveis pelas alterações de textura, aparência, sabor e a formação de *off-flavors*, os quais reduzem o valor nutricional, bem como a aceitabilidade de produtos (MCCLEMENTS; DECKER, 2000; KARGAR; SPYROPOULOS; NORTON, 2011). Além disso, há relatos da formação de compostos altamente tóxicos ao organismo humano (KUBOW, 1992; PAPUC et al., 2017).

Em óleos e emulsões lipídicas a oxidação apresenta intensidades diferentes. Em sistemas de emulsões lipídicas do tipo óleo em água, a oxidação apresenta taxas maiores do que em óleo, devido à complexidade, bem como maior exposição da fase aquosa aos fatores que induzem o processo oxidativo, como o oxigênio e metais, que se difundem entre a área interfacial entre óleo e a água (BERTON-CARABIN; ROPERS; GENOT, 2014).

Com o emprego de antioxidantes sintéticos é possível retardar a oxidação lipídica, por diversos mecanismos de ação, como a doação de hidrogênios para os radicais livres, interrupção de reações (SHAHIDI, 2015), pela complexação de metais, sequestro do oxigênio, desativação de oxigênio singlete e metais, entre outros (DECKER, 2002). Os principais antioxidantes empregados atualmente no setor de alimentos e cosméticos para óleos e gorduras são os sintéticos, como o BHA (butil-hidroxianisol), BHT (butil-hidroxitolueno), TBHQ (Terc-Butil-Hidroquinona) e PG (propil galato) (O´BRIEN, 2009). No entanto, há evidências de efeitos deletérios ao organismo causados pelo consumo desses antioxidantes, trazendo grandes preocupações aos consumidores (LI et al., 2014). Diante dessa temática, pesquisadores buscam alternativas de antioxidantes provenientes de fontes naturais (CHAN et al., 2012), devido ao potencial antioxidante apresentado por compostos extraídos de diferentes fontes vegetais.

Em óleos e emulsões alimentícias, há trabalhos na exploração de antioxidantes de origem vegetal e estes têm se mostrado muito promissores. Entre os trabalhos, há aplicação de diferentes fontes, como ervas e condimentos, folhas de vegetais, própolis, entre outros, visando avaliar a estabilidade oxidativa de óleos e produtos de alto teor lipídico (FRANKEL et al., 1996; GALLEGO et al., 2013; TAGHVAEI et al., 2014; REIS et al., 2017). O uso de frutas ou extratos de frutas como potencial antioxidante em óleos e emulsões alimentícias ainda é pouco explorado.

A atividade antioxidante *in vitro* de extratos de frutas tem sido estudada visando o emprego como suplementos em produtos alimentares e farmacêuticos (RUFINO et al., 2010; RIGHETTO; NETTO, 2005; DELVA; GOODRICH-SCHNEIDER, 2013). Dentre as frutas, há grande interesse no uso da acerola, devido aos seus componentes, tais como compostos fenólicos, ácido ascórbico

(DOOLAEGE et al., 2011), carotenoides e antocianinas (VENDRAMINI; TRUGO, 2000; LIMA et al., 2006), o quais podem trazer benefícios a saúde. Os compostos presentes na acerola provêm elevada capacidade antioxidante em sistemas *in vitro*, principalmente o estádio de maturação verde (DELVA; GOODRICH-SCHNEIDER, 2013), que pode ser explorada para a inserção em óleos e emulsões na indústria alimentícia como alternativa aos antioxidantes sintéticos (SAIKIA; MAHNOT; MAHANTA, 2015). No entanto, há a necessidade de estudos que viabilizem o emprego da acerola em produtos alimentares, os quais podem contribuir na inibição da oxidação lipídica, com propriedades tecnológicas interessantes, além de facilitar a aplicação dos mesmos na indústria de alimentos.

A técnica de microencapsulação por *spray dryer* tem sido utilizada na obtenção de produtos em pó, pela atomização do produto. Esse processo garante a proteção de compostos instáveis, os quais são envoltos por um material de parede para a formação de uma micropartícula (SANGUANSRI; AUGUSTIN, 2010). O produto resultante, a micropartícula, pode ser empregada em diferentes produtos, como é o caso de emulsões, pois alguns materiais encapsulantes (maltodextrinas, pectinas, gomas e as proteínas) possuem propriedades tecnológicas interessantes, com destaque para a ação emulsificante (TAHERIAN et al. 2011; MCCLEMENTS; DECKER, 2000). Além disso, o processo de microencapsulação (FANG; BHANDARI, 2011) pode garantir uma proteção aos compostos de interesse de extratos de frutas e conduzir a liberação controlada dos compostos bioativos ao meio durante o armazenamento de produtos, facilitando o seu emprego (HUANG; YU; RU, 2010), o que consiste em aspectos interessantes do ponto de vista tecnológico.

Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivo a obtenção de micropartículas com elevada atividade antioxidante, a partir da otimização da extração dos frutos de acerola, visando avaliar o potencial de aplicação e a efetividade como antioxidante em sistema modelo de emulsão lipídica.

O Capítulo 2 apresenta a revisão bibliográfica sobre oxidação lipídica, antioxidantes naturais e o uso da acerola. No Capítulo 3 são apresentados os resultados da otimização do processo de extração dos compostos antioxidantes dos frutos de acerola. O Capítulo 4 apresenta o processo de microencapsulação do extrato de acerola e a caracterização das micropartículas. E por último, o Capítulo 5 apresenta os resultados da aplicação do extrato otimizado de acerola e das micropartículas em sistema modelo de emulsão.

REFERÊNCIAS

BERTON-CARABIN, C.C.; ROPERS, M-H.; GENOT, C. Lipid oxidation in oil-in-water emulsions: involvement of the interfacial layer. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 13, p.945–77. 2014.

CHAN, K.W.; IQBAL, S.; KHONG, N.M.H.; CH'NG, S.E.; BABJI, A.S. Preparation of clove buds deodorized aqueous extract (CDAE) and evaluation of its potential to improve oxidative stability of chicken meatballs in comparison to synthetic and natural food antioxidants. **Journal Food Quality**, v.35, n.3, p.190–199, 2012.

DECKER, E. A. Antioxidant mechanisms. In: AKOH, C. C.; MIN, D. B. **Food lipids**: chemistry, nutrition and biotechnology. 2. ed. New York: Marcel Dekker, 2002. p. 517-542.

DELVA, L.;GOODRCH-SCHNEIDER, R. Antioxidant activity and antimicrobial properties of phenolic extracts from acerola (Malpighia emarginata DC) fruit. **International Journal of Food Science and Technology,** n. 48, p.1048-1056, 2013.

DOOLAEGE, E.H.; RAES, K.; DE VOS, F.; VERHÉ, R.; DE SMET, S. Absorption, distribution and elimination of carnosic acid, a natural antioxidant from Rosmarinus officinalis, in rats. **Plant Food for Human Nutrition**, v.66, n.2, p. 196–202, 2011.

FANG, Z. X., & BHANDARI, B. Effect of spray drying and storage on the stability of bayberry polyphenols. **Food Chemistry**, v. 129, n. 3, p. 1139-1147, 2011.

FRANKEL, E.N.; HUANG, S.W.; AESCHBACH, R., PRIOR, E. Antioxidant activity of a rosemary extract and its constituents, carnosic acid, carnosol and rosmarinic acid, in bulk oil and oil-in-water emulsion. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.44, p.131–135, 1996.

GALLEGO, M. G.; GORDON, M. H.; SEGOVIA, F. J.; SKOWYRA, M.; ALMAJANO, M. P. Antioxidant properties of three aromatic herbs (rosemary, thyme and lavender) in oil-in-water emulsions. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v.90, n.10, p. 1559–1568, 2013.

HUANG, Q. R.; YU, H. L.; AND RU, Q. M. Bioavailability and Delivery of Nutraceuticals using Nanotechnology, **Journal of Food Science,** v.75, n.1, p. R50-R57, 2010.

KARGAR, M; SPYROPOULOS, F.; NORTON, I.T. The effect of interfacialmicrostructure on the lipid oxidation stability of oil-in-water emulsions. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 357, p.527–33, 2011.

KUBOW, S. Routes of formation and toxic consequences of lipid oxidation products in foods. **Free Radical Biology and Medicine** v.12, n.1, p. 63-81, 1992.

LI, J.H.; MIAO, J.; WU, J. L.; CHEN, S.-F.; ZHANG, Q.Q. Preparation and Characterization of Active Gelatin-Based Films Incorporated with Natural Antioxidants**. Food Hydrocolloids**, v. 37, p. 166-173, 2014.

LIMA, V. L. A. G.; PINHEIRO, I. O.; NASCIMENTO, M. S.; GOMES, P. B.; GUERRA, N. B. Identificação de antocianidinas em acerolas do banco ativo de germoplasma da Universidade Federal Rural de Pernambuco. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 4, p. 927-935, 2006.

MCCLEMENTS DJ. Chapter Four: Emulsion Ingredients. In: MCCLEMENTS, D.J. (Ed.). **Food emulsions**: principles, practices, and techniques. 2nd Edition. Boca Raton: CRC Press, 2005. p. 515-543.

MCCLEMENTS, D.J; DECKER, E.A. Lipid oxidation in oil-in-water emulsions: impact of molecular environment on chemical reactions in heterogeneous food systems. **Journal of Food Science**, v. 65, n. 8, p.1270–82, 2000.

O'BRIEN, R. D. **Fat and oils**: formulating and processing for applications, Third edition, Boca Raton: CRC Press, 2009. 744p.

PAPUC, C.; GORAN, G. V.; PREDESCU, C. N.; NICORESCU, V. Mechanisms of oxidative processes in meat and toxicity induced by postprandial degradation products: A review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 16, n.1, p. 96–123, 2017.

REIS, A.S.; DIEDRICH, C.; MOURA, C.; PEREIRA, D. Physico-chemical characteristics of microencapsulated propolis co-product extract and its effect on storage stability of burger meat during storage at-15 ℃ [J]. **LWT-Food Science and Technology**, v. 76, n.5, p. 306－313, 2017.

RIES, D.; YE; A.; HAISMAN, D.; SINGH, H. Antioxidant properties of caseins and whey proteins in model oil-in-water emulsions. **International Dairy Journal**, v. 20, n.2, p. 72–78, 2010.

RIGHETTO, A. M.; NETTO, F. M. Effect of Encapsulating Materials on Water Sorption, Glass Transition and Stability of Juice From Immature Acerola. **International Journal of Food Properties**, v. 8, n. 2, p. 337–346, 2005.

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

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**, n. 171, p. 144–152, 2015.

SANGUANSRI, L.; AUGUSTIN, M. A. **Microencapsulation in functional food product development**. In SMITH, J.; CHARTER, E. (Ed.), Functional food product development. Oxford: Blackwell Publishing Ltd, 2010, p.3-23.

SHAHIDI, F. **Antioxidants**: Principles and applications. In F. Shahidi (Ed.), Handbook of antioxidants for food preservation Cambridge: Woodhead Publishing Ltd. 2015, p.1-14.

TAGHVAEI, M.; JAFARI, S.M.; SADEGHI-MAHOONAK, A., MEHREGAN-NIKOO, A.; RAHMANIAN, N.; HAJITABAR, J., MESHGINFAR, N. The effect of natural antioxidants extracted from plant and animal resources on the oxidative stability of soybean oil. **LWT - Food Science and Technology**, v. 56, n.1, p.124-130, 2014.

TAHERIAN, A. R.; BRITTEN, M.; SABIK, H.; FUSTIER, P. Ability of whey protein isolate and/or fish gelatin to inhibit physical separation and lipid oxidation in fish oil-in-water beverage emulsion. **Food Hydrocolloids**, v. 25, n. 5, p. 868-878, 2011.

VENDRAMINI, A. L.; TRUGO, L. C. Chemical composition of acerola fruit (Malpighia punicifolia L.) at three stages of maturity. **Food Chemistry**, v. 71, p. 195-198, 2000.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Emulsões alimentícias

As emulsões são consideradas dispersões coloidais que se caracterizam por apresentar tanto uma fase dispersa ou interna como uma fase contínua ou externa (SCHRAMM, 2005; SCHRAMM; STASIUK, 2005), imiscíveis entre si (DALGHEISH, 2004). Muitos alimentos consumidos diariamente são emulsões alimentícias, que apresentam características de grande aceitação pelos consumidores, tais como leite, margarina, sorvetes, cremes, maionese, queijos, bebidas, entre outros (MCCLEMENTS; DEMETRIADES, 1998; McCLEMENTS, 2005; HEERTJE, 2014).

A classificação das emulsões pode ser definida pelo tipo de líquido da fase contínua, entre estas podem ser as do tipo óleo em água (o/a) e água em óleo (a/o), como também as "duplas emulsões", as quais ocorrem como óleo em água em óleo (o/a/o) e água em óleo em água (a/o/a) (SCHRAMM, 2005). As emulsões podem ser definidas tanto por suas fases dispersas e contínuas, como também através do emulsificante empregado no produto, ou seja, o emulsificante deve ser solúvel em sua fase contínua para que ocorra a estabilização da emulsão (STAUFLER, 2002).

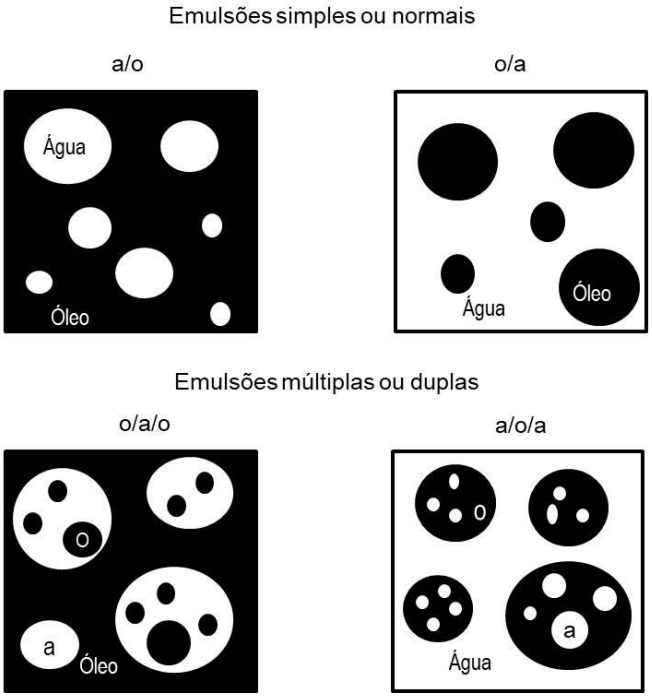


Figura 1. Tipos de emulsões. Fonte: Elaborado e adaptado de Salager (2000)

As emulsões alimentícias do tipo óleo em água possuem gotículas de óleo dispersas em fase aquosa, como o leite, molhos, sopa, sorvetes e maionese, com variação no teor de lipídeos. Algumas bebidas também são classificadas como esse tipo de emulsões, as quais geralmente são formadas por emulsões óleo em água, tais como, cafés, chás, bebidas esportivas e algumas fórmulas infantis que apresentam em suas composições valores menores que 0,1% de óleo. Os sorvetes, por exemplo, podem apresentar uma média de 12,5% de gorduras (McCLEMENTS, 2005). Já os

produtos formados a partir de uma emulsão água em óleo, ou seja, com gotículas de água dispersa em fase oleosa, geralmente são formadas por altas concentrações de óleo. No caso da manteiga, a legislação brasileira prevê que devem apresentar teores de “matéria gorda” de no mínimo 80% (BRASIL, 2000, 1996), já no caso na margarina, não há um mínimo estabelecido pela legislação, mas não deve exceder de 95% de lipídeos totais (BRASIL, 1997). No entanto, muitos produtos deste tipo de emulsão (a/o) já foram desenvolvidos com “baixos teores de gorduras”, consistindo em teores de 10 a 79% de gorduras (SCHRAMM, 2005).

2.1.1. Estrutura e estabilidade

O processo de formação das emulsões envolve formação e estabilização de uma nova interface, sendo necessário que as gotículas interajam entre si e entre os demais ingredientes presentes na solução para adquirir a estrutura de uma emulsão. Na formação de uma emulsão é necessária a homogeneização para a que as fases imiscíveis componham um novo sistema. Nessa fase do processo é necessário determinar a concentração dos líquidos e de emulsificantes para que o produto final, emulsões água em óleo ou óleo em água, seja produzido (MCCLEMENTS, 2005).

Como as emulsões são consideradas instáveis termodinamicamente, diversos fatores podem ser causadores da instabilidade das emulsões, como a presença de sais e metais, temperatura de armazenamento, pH, concentração de agentes emulsificantes e/ou surfactantes (SUN; GUNASEKARAN, 2009; KARGAR et al., 2012), além da atuação dos radicais livres formados durante a oxidação lipídica que podem afetar a estabilidade física das emulsões, como na agregação de gotículas (MOSCA et al. 2013).

A instabilidade de emulsões pode ser causada pela agregação ou coalescência de uma das fases, sendo as principais causas a falta de emulsificante para cobrir toda a interface óleo e água e a homogeneização inadequada (DALGLEISH, 1997). A estabilidade da emulsão pode ser conduzida pela adição de moléculas de emulsificantes e estabilizantes, como monoglicerídeos, proteínas e polissacarídeos (DICKINSON; WOSKETT, 1989) que formam uma barreira na interface óleo ou água, evitando a desestabilização de cada tipo de emulsão (CLAESSON; BLOMBERG; POPTOSHEV, 2001). Dessa forma, é importante avaliar o emulsificante apropriado para cada emulsão a ser formada, bem como o resultado a ser alcançado (STAUFFER, 2002).

As moléculas de emulsificantes e estabilizantes apresentam características específicas, as quais contribuem no controle das aglomerações das gotículas de óleo (BARROS et al., 2007), bem como na estabilidade da tensão superficial. Os emulsificantes são considerados anfifílicos, devido à presença de regiões polares e apolares em uma mesma molécula (MCCLEMENTS, 2002; CLAESSON; BLOMBERG; POPTOSHEV, 2001), os quais são utilizados para estabelecer uma dispersão adequada e alterar a tensão superficial entre as fases. Estes podem ser classificados conforme os valores de balanço hidrofílico e lipofílico (HLB) apresentados para cada agente, sendo que valores de HLB menores que 10, são considerados solúveis em óleo, e maiores que 10, são solúveis em água (STAUFFER, 2002), como é o caso de *Tweens* (polisorbatos) e Spans (MCCLEMENTS, 2002). No entanto, outras moléculas também podem ser utilizadas como

emulsificantes, como é o caso das proteínas (proteínas do soro de leite, caseína) e os polissacarídeos (goma arábica) (STAUFFER, 2002).

Os estabilizantes são agentes utilizados como proteção para as gotículas nas emulsões (DICKINSON, 1993) e também conferem uma viscosidade para as soluções. Os principais estabilizantes utilizando são as gomas e as proteínas. Em geral, as moléculas de estabilizantes são consideradas maiores que as moléculas de emulsificantes (STAUFFER, 2002).

2.2. Oxidação lipídica

A oxidação lipídica é considerada uma das maiores causas de deterioração e perda de qualidade dos alimentos (SHAHIDI; ZHONG, 2010). Essa reação afeta a integridade dos alimentos que possuem alta concentração de lipídeos, como emulsões e óleos. Nesta reação, há a formação de compostos que afetam a aceitabilidade de produtos, alteram a composição nutricional e propiciam a formação de compostos de alta toxicidade (HALLIWEL et al., 1995; KARGAR; SPYROPOULOS; NORTON, 2011). A oxidação nos alimentos se instala a partir da atuação de fatores pró-oxidantes, como a presença de oxigênio, enzimas, exposição à luz, calor, íons metálicos, dentre outros. Além disso, a taxa de oxidação pode ser alterada por alguns fatores, como a temperatura de armazenamento, a natureza do substrato, presença de catalisadores e inibidores (MCCLEMENTS, 2005; MCCLEMENTS; DECKER, 2000).

A estabilidade oxidativa de óleos e gorduras pode variar conforme sua estrutura, em relação ao grau de instauração dos ácidos graxos de cada óleo. O óleo de soja, por exemplo, possui ácidos graxos poli-insaturados e em comparação aos óleos refinados normalmente comercializados e consumidos, é considerado um óleo de baixa estabilidade oxidativa (SMITH; KING; MIN, 2007). Em contrapartida, os óleos e gorduras de alta estabilidade citados são o óleo de palma e óleo de coco, dado pela alta concentração de ácidos graxos saturados (FAN; ESKIN, 2015).

Nos produtos formados a partir de óleos, como as emulsões tipo óleo em água, a taxa de oxidação pode ser ainda maior (FRANKEL et al., 2002). Diferentes fatores são relacionados a essa afirmação, como o maior contato dos ácidos graxos insaturados com fatores pró-oxidantes, como o oxigênio, que pode estar dissolvido na fase aquosa, a introdução de oxigênio durante o processamento da emulsão, entre outros fatores, o que pode se tornar complexa a avaliação da oxidação nestes tipos de produtos (BERTON-CARABIN; ROPERS; GENOT, 2014).

Dentre os mecanismos de oxidação estão a auto-oxidação, fotoxidação, termoxidação, bem como a oxidação favorecida pela presença de enzimas, como a lipoxigenase (ROUSSEAU, 2004; SHAHIDI, 2000). Em geral, estas reações se diferem somente na geração de radicais, seguindo as mesmas etapas de formação de compostos primários e secundários (MATTHÄUS, 2010). Entre estes mecanismos, a principal reação de oxidação lipídica que se instala em alimentos é a auto-oxidação, a qual pode ser separada em três fases distintas: iniciação, propagação e término (Figura 2).

Iniciação	$RH \rightarrow R^{\bullet} + H^{\bullet}$
Propagação	$R^{\bullet} + O_2 \rightarrow ROO^{\bullet}$
	$ROO^{\bullet} + RH \rightarrow ROOH + R^{\bullet}$
Término	$R^{\bullet} + R^{\bullet}$
	$R^{\bullet} + ROO^{\bullet}$
	$ROO^{\bullet} + ROO^{\bullet}$

RH = Ácido graxo insaturado; R• = Radical livre; ROO• = Radical peroxila; ROOH = Hidroperóxido

Figura 2. . Mecanismos de auto-oxidação de lipídeos. Fonte: Adaptado de Shahidi (2015)

A auto-oxidação é iniciada a partir da eliminação de um átomo de hidrogênio de uma molécula de ácido graxo insaturado, que pode ser ocasionada pela ação do oxigênio com as moléculas de lipídeos, formando radicais livres. Esta reação é mais suscetível na presença de catalisadores como calor, luz, enzimas e íons metálicos (SHAHIDI; ZHONG, 2010). Os radicais livres também interagem com o oxigênio presente no meio, formando radicais peroxil (ROO•), os quais são altamente instáveis. Esses processos podem ocorrer tanto na fase de iniciação como de propagação (SHAHIDI; ZHONG, 2010; ROUSSEAU, 2004).

Na propagação da oxidação ocorre a formação dos produtos primários, os hidroperóxidos (ROOH) e radicais livres (R•), a partir da reação do radical peroxil com hidrogênio proveniente de outras moléculas de lipídeos insaturados. Essa fase também sofre a influência de catalisadores como calor, luz, presença de íons metálicos e oxigênio (ROUSSEAU, 2004). Na fase chamada de “término”, os radicais livres acumulados (R•, ROO•) se decompõem para a formação de produtos estáveis não reativos, como álcool, aldeído, compostos carbonílicos, os quais são voláteis, sendo responsáveis pelo aroma e sabor de ranço de óleos e gorduras, além de formação de produtos de alto peso molecular (ROUSSEAU, 2004; FRANKEL, 2005).

A oxidação lipídica em alimentos pode ser inibida ou reduzida com o emprego de antioxidantes que possuem funções importantes como a doação de hidrogênio para os radicais livres, competindo com as reações da propagação, favorecendo a interrupção da reação de formação de radicais livres. Os antioxidantes que podem se utilizados com essa finalidade podem ser de origem sintética ou natural (SHAHIDI, 2015).

2.3. Antioxidantes

Os antioxidantes são definidos como aditivos que possuem a função de impedir ou retardar a oxidação e, consequentemente, contribuir com aumento de vida útil de produtos que possuem elevadas concentrações de lipídeos em suas composições. São comumente aplicados tanto na indústria alimentícia, como farmacêutica e química. Quando se trata de alimentos, os antioxidantes empregados podem ser classificados como sintéticos e naturais. Os sintéticos são largamente utilizados na indústria de alimentos, como o BHA, BHT, TBHQ e PG. Já os naturais, são empregados

os tocoferóis, encontrados em suas formas naturais nos óleos vegetais (SHAHIDI, 2000; O'BRIEN, 2009). No entanto, já se têm demonstrado o potencial antioxidante de diferentes plantas e vegetais para o emprego em produtos (DOOLAEGE et al., 2011; SILVA et al., 2013; TAGHVAEI et al., 2014; CASEMIRO, 2016), mas são escassos os trabalhos que apresentam a possibilidade do emprego em diferentes sistemas e uso industrial.

O mecanismo de ação dos componentes que atuam como antioxidantes, tanto os naturais quanto os sintéticos, varia conforme a estrutura dos compostos. Muitos antioxidantes apresentam grupos funcionais semelhantes e entre estes podem ser citados os compostos fenólicos, os carotenoides e os tocoferóis. Estes antioxidantes podem ser classificados em primários e secundários. Os antioxidantes primários possuem a capacidade em doar prótons para moléculas instáveis, como os radicais livres, cessando a iniciação e interrompendo a propagação da oxidação (RAMALHO; JORGE, 2006). Os secundários podem atuar na complexação de metais, na decomposição de hidroperóxidos, no sequestro de oxigênio, na desativação de oxigênio singlete, entre outros mecanismos de ação (DECKER; 2002).

2.3.1. Antioxidantes sintéticos

Na indústria de alimentos são comumente empregados antioxidantes sintéticos como aditivo em alimentos, com a finalidade de inibir ou retardar oxidação lipídica nos produtos (POYATO et al., 2013; RAMANHO; JORGE, 2006). Entre os antioxidantes largamente utilizados na indústria, destacam-se o BHA (butil-hidroxianisol), BHT (butil-hidroxitolueno), TBHQ (Terci-Butil-Hidroquinona) e PG (propil galato). No geral, estes antioxidantes apresentam estrutura fenólica (Figura 3) que pode atuar na doação de hidrogênio para as moléculas durante a propagação ou no início da oxidação lipídica, inativando os radicais livres (RAMALHO; JORGE, 2006; BREWER, 2011).

Entre estes antioxidantes, o TBHQ é considerado um dos mais efetivos em óleos vegetais insaturados, devido a sua alta estabilidade (O'BRIEN, 2009; DIAZ et al., 2004). No entanto, em diferentes países, como no Japão e países Europeus, já foi banido para a sua aplicação em produtos alimentícios, pela possibilidade de efeitos tóxicos (SHAHIDI, 2000), mesmo que algumas autoridades alegam a baixa toxicidade ou nula (EFSA, 2004). No Brasil, o uso do TBHQ é permitido em concentrações máximas de 200 mg. kg^{-1} (BRASIL, 2005).

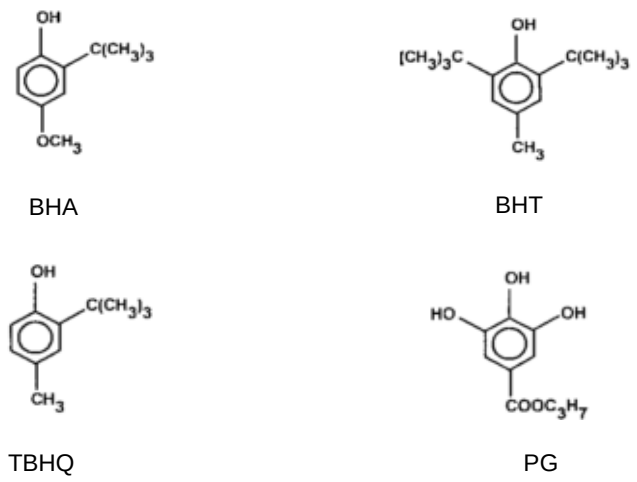


Figura 3. Estrutura dos antioxidantes sintéticos. Fonte: SHAHIDI, 2000

Atualmente os consumidores apresentam uma maior preocupação com a saúde e têm-se rejeitado a compra de produtos com a presença de antioxidantes sintéticos, devido a associação dos malefícios a saúde (LI et al., 2014; SHAHIDI; ZHONG, 2010). Dessa forma, pesquisadores estão buscando alternativas naturais para a atuação como antioxidantes em diferentes produtos, prevenindo, principalmente, a oxidação de produtos (CHAN et al., 2012).

2.3.2. Antioxidantes naturais

A procura por alternativas viáveis na substituição de antioxidantes sintéticos pelos naturais em produtos alimentares tem crescido muito ultimamente. São inúmeros os compostos presentes nos alimentos naturais que são responsáveis pela ação antioxidante, dentre estes se destacam os compostos fenólicos, ácido ascórbico, carotenoides, compostos organossulforados, entre outros (LI et al. 2014).

Entre as estruturas associadas à atividade antioxidante dos vegetais estão os compostos fenólicos, encontrados naturalmente nos vegetais, os quais são responsáveis pelo mecanismo de proteção das plantas, contra agressões de animais ou insetos (DOOLAEGE et al., 2011; RIBEIRO, et al., 2016). Os compostos fenólicos são abundantes em matérias vegetais e podem ser classificados em ácidos fenólicos (ferúlico, p-cumárico, cafeico, gálico), flavonoides (catequina, quercetina), entre outros polifenóis, conferindo atividade antioxidante. Essa atividade, em geral, é dada pela presença de hidroxilas e grupos funcionais nos anéis aromáticos (WALTER; MARCHESAN, 2011), os quais podem atuar na redução das taxas de oxidação, absorvendo luz, quelando metais e sequestrando radicais livres (BREWER, 2011).

O ácido ascórbico é outro composto produzido naturalmente em frutas e diversos vegetais. Possui elevada atividade antioxidante, devido a presença de hidroxilas, que atuam na doação de hidrogênio, regeneração de compostos antioxidantes primários, são sequestradores de radicais livres e podem quelar várias formas de oxigênio. Além disso, atuam como sinergista com outros compostos, como os tocoferóis (REISHE; LILLARD; EITENMILLER, 2002).

O emprego de antioxidantes naturais tem sido estudado e com efeitos positivos, principalmente, na redução da oxidação lipídica em emulsões, como a aplicação de extratos de plantas (DUH, 1999; TAGHVAEI et al., 2014; MALINOWSKA; GLISZCZYNSKA-SWIGLO; SZYMUSIAK, 2014) e de ervas como o tomilho e alecrim (GALLEGO et al., 2013; CASEMIRO, 2016). No entanto, para que seja possível a comprovação da atividade antioxidante de fontes naturais, em substituição aos sintéticos, são necessárias mais investigações quanto a ação destes em sistemas lipídicos, para que possam ser empregados em escala industrial.

Os antioxidantes utilizados em emulsões podem variar em sua efetividade conforme a composição de um sistema lipídico. Um dos fatores importantes é a polaridade dos compostos. Pesquisadores avaliam que em emulsões do tipo óleo em água, antioxidantes lipofílicos são mais efetivos do que os hidrofílicos, pela interação na interface óleo-água. Essa é uma relação definida como “paradoxo polar”. Além disso, antioxidantes solúveis em água podem ser considerados mais eficazes em óleos (FRANKEL, et al., 1994). Ainda há muitas controvérsias em relação a este paradoxo e segundo autores (SHAHIDI; ZHONG, 2011), a ação de antioxidantes depende de muitos fatores dentro de um sistema, não se limitando apenas a polaridade, e o paradoxo polar pode ser aplicado em casos específicos, o que ainda deve ser amplamente estudado.

2.4. Acerola

A acerola (*Malpighia emarginata DC)* ou cereja das antilhas é um fruto muito conhecido e consumido no Brasil. A origem relatada dessa fruta é da Antilhas ou índias Ocidentais (localizada na América Central), sendo espalhada mais tarde para a América do Sul, regiões que possuem clima e solo adequado para a adaptação desta cultura (JOHNSON, 2003; MEZADRI et al., 2008; MOHAMMED, 2011). Devido o crescente reconhecimento da fruta e sua importância econômica, o Brasil além de ser considerado um grande produtor, também é reconhecido por ser o maior exportador da fruta (ARAÚJO; MINAMI, 1994; ROSSO et al., 2008), sendo a maior produção a região Nordeste, seguida da região Sudeste (PETINARI; TARSITANO, 2002). Os últimos dados divulgados pelo IBGE da produção da acerola (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística), no censo de 2006 (IBGE, 2016), a produção no Brasil foi cerca de 24 mil toneladas.

A fruta é estudada por apresentar em sua composição elevados teores de compostos bioativos, como o ácido ascórbico (USDA, 2015; TACO, 2011) com concentrações de 1000 mg a 2500 mg por 100 g do fruto (VENDRAMINI; TRUGO, 2000; PIO, 2003; HANAMURA; UCHIDA; AOKI, 2008). A concentração pode variar devido a alguns fatores como: estádio de maturação, diferença de genótipos e condições climáticas do local de cultivo (VENDRAMINI; TRUGO, 2000). A composição de compostos bioativos na acerola também se destaca pela presença carotenoides (PORCU; RODRIGUEZ-AMAYA, 2006), compostos fenólicos, tais como os ácidos p-cumárico, ferúlico, clorogênico e cafeico (VENDRAMINI; TRUGO, 2004), além das antocianinas (VENDRAMINI; TRUGO, 2000; HANAMURA; HAGIWARA; KAWAGISHI, 2005; ROSSO; MERCADANTE, 2005), que juntamente com os carotenoides são responsáveis pela coloração laranja a vermelha da acerola, durante o amadurecimento (ROSSO, et al., 2008). Segundo autores, a concentração de compostos

fenólicos (LIMA et al., 2005) e de ácido ascórbico (ASSIS; LIMA; OLIVEIRA, 2000; HANAMURA; UCHIDA; AOKI, 2008) está relacionada ao seu processo de amadurecimento, sendo encontrados valores superiores no estádio de maturação verde. A concentração desses compostos confere à fruta elevada atividade antioxidante (ASSIS; LIMA; OLIVEIRA, 2001; LIMA et al., 2006; RICE-EVANS; MILLER; PAGANGA, 1997), muitas vezes relacionada a benefícios ao organismo, principalmente, à redução da incidência de diversas doenças, como as cardiovasculares e cânceres (GENKINGER et al., 2004). Além disso, há a presença de proteínas, fibras, carboidratos e minerais (potássio, magnésio, ferro, fósforo, entre outros) (USDA, 2015; TACO, 2011) em sua composição.

Durante o processamento da polpa de acerola, pode-se gerar quantidades significativas de resíduos, principalmente de sementes (CARVALHO et al., 2000). Recentemente, observa-se o interesse da comunidade científica na exploração de técnicas e alternativas viáveis para o reaproveitamento desses resíduos. Dessa forma, trabalhos já abordaram a determinação de compostos nas sementes da acerola, como os ácidos graxos, palmítico, oleico e principalmente, o linoleico (EGYDIO; SANTOS, 2012), bem como a avaliação de atividade antioxidante, pela quantificação de compostos fenólicos e flavonoides dos subprodutos da acerola (SILVA; DUARTE; BARROZO, 2016), os quais apresentaram expressiva atividade, o que torna interessante uma maior exploração destes compostos tanto da polpa quanto o da semente, visando a inserção como aditivos alternativos para a indústria alimentícia.

A Tabela a seguir (Tabela 1) apresenta uma pesquisa de referências com as respectivas análises de compostos e atividade antioxidante por diferentes radicais realizadas com os frutos de acerola nos estádios maduro e verde, tanto para frutos integrais, como polpa e resíduos, em ordem cronológica, a fim de resumir os principais compostos e determinações já aplicadas para este fruto, bem como as diferenças encontradas para diferentes regiões.

Tabela 1. Resultados mais relevantes sobre composição e atividade antioxidante em frutos de acerola

Referências	Ano	Compostos/ radicais	Estádio/tipo	Concentração*	Origem
ITOO; AIBA; ISHIHATA	1990	Ácido ascórbico	Madura	1285-1635 mg.100 g^{-1}	Japão
			Verde	1985 - 2880 mg.100 g^{-1}	
VENDRAMINI; TRUGO	2000	Ácido ascórbico	Madura	1074 mg. 100 g $amostra^{-1}$	Maricá/RJ
		Ácido ascórbico	Verde	2164 mg.100 g^{-1}	
NOGUEIRA et al.	2002	Ácido ascórbico/ Vitamina C	Madura	1561-1797 mg.100 mL $suco^{-1}$	Paudalho/ PE
			Verde	2636-2732 mg.100 mL $suco^{-1}$	
RIGHETTO	2003	Fenólicos	Madura	1,01 -1,63 mg EC.g $suco^{-1}$	Botucatu/SP
		Fenólicos	Verde	3,5- 4,1 mg EC. g $suco^{-1}$	
		Ácido ascórbico	Madura	0,66 -0,9 g. 100 g $suco^{-1}$	
		Ácido ascórbico	Verde	1,76- 1,90 g. 100g $suco^{-1}$	
ROSSO; MERCADANTE	2005	Carotenoides totais	Madura	370,9-1881,3 ug. 100g $^{-1}$	Campinas/SP
KUSKOSKI et al.	2005	DPPH	Madura	53,2-68 µmol TEAC.g $amostra^{-1}$	-
		ABTS		56,5-67 µmol TEAC.g $amostra^{-1}$	
RIGHETTO; NETTO; CARRARO	2005	Fenólicos		580,1mg EAG.100 g^{-1}	Japurá/ PR
		Antocianinas totais		16 mg.100 g $amostra^{-1}$	
		Fenólicos	Madura	2,4 mg ECat. g^{-1}	
			Verde	7 mg ECat. g^{-1}	
		Ácido ascórbico	Madura	17,54 g.100 g^{-1}	
			Verde	35,18 g.100 g^{-1}	
LIMA et al.	2005	Fenólicos	Madura	896-1888 mg ECt.100 g^{-1}	Pernambuco/PE
		Fenólicos	Verde	2002-4524 mg EC.100 g^{-1}	Pernambuco/PE
ROSSO et al.	2008	Antocianinas totais	Madura	6,5 - 8,4 mg.100 g^{-1}	Campinas/SP
HUNAMURA; UCHIDA; AOKI	2008	Fenólicos	Madura	20 -80 mg ECat. kg^{-1}	Recife/PE
		Fenólicos	Verde	40-100 mg ECat. kg^{-1}	
		Ácido ascórbico/ Vitamina C	Verde	25,5 a 26 g. kg	
			Madura	20- 23,5 g. kg	
MEZADRI et al.	2008	Antoncianinas	Madura		Itajaí/SC
		DPPH	Madura	39,31- 85,11mmol. kg	
		ABTS		46,16 - 64,76 mmol. kg	

		ORAC		3458 - 5057 µmol. 100 g^{-1}	
		Antocianinas totais		3,79-59,74 mg.100 g^{-1}	
PRADO	2009	Fenólicos	Madura	156 mg EAG. g base $seca^{-1}$	CEAGESP/SP E CEASA Campinas/SP
		ABTS	Madura	788 µmol.g^{-1}	
OLIVEIRA et al.	2009	Fenólicos	Resíduo madura	94,6 mg EAG. g^{-1}	Pindorama/AL
		Fenólicos		681 mg EAG.100 g^{-1}	
MOURA	2010	Fenólicos	Verde	60,04 -52,65 mg EAG.g^{-1}	Ceará/CE
		ABTS	Verde	984,27- 1209,76 µmol Trolox.g^{-1}	
		Antocianinas totais	Verde	2,7- 1,6 mg.100 g^{-1}	
		Ácido ascórbico	Verde	22,71-19,1mg. g^{-1}	
CANUTO et al.	2010	Ácido ascórbico	Madura	387 mg.100 g de $polpa^{-1}$	Roraima/RR
		Fenólicos		3,5 mmol EAG.L^{-1}	
		ABTS		12,1 µmol TEAC. L^{-1}	
RUFINO et al.	2010	Fenólicos	Madura	1063mgEAG. 100 g^{-1}	Limoeiro do norte /CE
		Ácido ascórbico		1357mg. 100 g^{-1}	
		ABTS		96,6 µmolTEAC.g^{-1}	
		FRAP		148 µmol Feso4.g^{-1}	
		Antocianinas totais		18,9 mg .100 g^{-1}	Limoeiro do norte /CE
		flavonoides		9,6mg.100 g^{-1}	
		carotenoides		1,4 mg.100 g^{-1}	
		clorofila		-	
VIEIRA et al.	2011	ABTS	Madura	835,25 mg EAG. 100 g^{-1}	Teresina/PI
		Fenólicos		1605 mmol Trolox. g polpa $^{-1}$	
CAETANO et al.	2011	Fenólicos	Resíduo madura	6140 µmol EC.L^{-1}	Recife/PE
		ABTS	Resíduo madura	1445 umol TEAC.g^{-1}	
SOUSA; VIEIRA; LIMA	2011	Fenólicos	Resíduo	247,62 mg EAG.100 g^{-1}	Teresina/PI

		ABTS	madura	0,518mM. g resíduo $^{-1}$	
		ABTS		105-130mM TEAC	
LE; LE	2012	DPPH	Madura	95 - 125 mM TEAC	Vietnã
		Ácido ascórbico		19-25 g.L Suco^{-1}	
		Fenólicos		17-19,7 g EAG. L^{-1}	
		Fenólicos	Madura	1194,2 mg EAG.100 g^{-1}	
		DPPH	Madura	74 – 101 mmol TEAC.kg $^{-1}$	
		Ácido ascórbico	Madura	405 mg .100 g^{-1}	
DELVA; GOODRICH-SCHNEIDER	2013	ORAC	Madura	40µmol TEAC.g $^{-1}$	Florida
		Fenólicos	Verde	1628,5 mg EAG. 100 g^{-1}	
		ORAC	Verde	48 µmol TEAC. g^{-1}	
		DPPH	Verde	136 -251 mmol TEAC. kg^{-1}	
		Ácido ascórbico	Verde	1161 -1238 mg.100 g^{-1}	
		Fenólicos		14,89 mg EAT.g $^{-1}$	
FREIRE et al.	2013	Ácido ascórbico	Madura	1457,69mg.100 g^{-1}	Lavras-MG
		ABTS		1823,52 µmol.g amostra^{-1}	
PEREIRA et al.	2013	Fenólicos	Resíduo madura	61,57 mg. 100 g $^{-1}$	Teresina/PI
CRUZ	2014	Fenólicos	Madura	175,86 mg EAG.g^{-1}	Piracicaba/SP
		DPPH		650 µmol TEAC.g^{-1}	
		ABTS		114 mg TEAC.g $^{-1}$	
		Ácido Ascórbico		8,8 mg. g^{-1}	
EÇA et al.	2015	DPPH	Madura	92,4 mg TEAC. g^{-1}	Campinas/SP
		FRAP		969 mg TEAC. g^{-1}	
		Antocianinas		3,09 mg. g $^{-1}$	
		Carotenoides		332 µg. g^{-1}	
MARIANO-NASSER et al.	2017	Fenólicos	Madura	9,14 -24.28 mg EAG. g $^{-1}$ polpa	Diamantina/SP
		Flavonoides		3,56 – 12,34mg EQ. 100 g^{-1}	

*Legendas= EC: equivalente a catequina; TEAC: atividade antioxidante equivalente a trolox; EAG: equivalente ao ácido gálico; EAT: equivalente ao ácido tânico; EQ: equivalente a quercetina

2.5. Microencapsulação

O processo de microencapsulação é muito utilizado com a finalidade de proteger materiais bioativos ou funcionais, os quais são envoltos por outro material para a formação de uma micropartícula. Os compostos fenólicos e o ácido ascórbico são compostos considerados muito instáveis quando estão em soluções e o seu uso em alimentos pode ser restrito devido à necessidade da remoção desses solventes, para facilitar a aplicação e favorecer um armazenamento prolongado dos compostos de interesses (ÇAM; IÇYER; ERDOGAN, 2014). Para isso, técnicas de microencapsulação têm sido aplicadas para aumentar a estabilidade desses compostos, as quais podem ser classificadas em processos mecânicos ou químicos.

Os processos mecânicos envolvem aplicação de emulsificação, liofilização, *spray drying*, leito fluidizado, *spray chilling*; entre outros. Já os processos químicos envolvem a coacervação simples e complexa, evaporação de solventes, uso de lipossomas, entre outras (SANGUANSRI; AUGUSTIN, 2010). Essas técnicas são opções que influenciam a estabilidade dos componentes, minimizando perdas de compostos e permitindo que estes possam ser utilizados como aditivos nas indústrias de alimentos, química e farmacêutica, pela facilidade em aplicação (SAIKIA; MAHNOT; MAHANTA, 2015).

A técnica de secagem por *spray drying* é muito utilizada na indústria de alimentos, sendo considerado um processo contínuo e de baixo custo, o qual permite a produção de pequenas partículas com propriedades tecnológicas interessantes (FANG; BHANDARI, 2011). No processo da secagem, um líquido se transforma em um produto seco em tempo muito curto, sendo a atomização ocorrida por um bico aspersor. Ao aspergir o líquido, este recebe um ar quente para que possa ocorrer uma evaporação rápida (GAVA; SILVA; FRIAS, 2008), permitindo a proteção dos compostos de interesses (BORGOGNA et al., 2010).

A técnica de microencapsulação tem trazido inúmeras vantagens quanto à aplicação, como a minimização ou inibição de sabores adstringentes, o que facilita a aplicação em diferentes produtos (PASRIJA, et al.,2015; ÇAM; ICYER; ERDORGAN, 2014; MUNIN; EDWARDS-LÉVY, 2011), a obtenção de um material que libere de forma controlada os compostos de interesse no produto final, a redução de reatividade e aumento da estabilidade dos compostos de interesse em diferentes condições (SHAHIDI; HAN, 1993; HUANG; YU; RU, 2010).

Para que ocorra a microencapsulação que permita maior proteção aos compostos de interesse são empregados materiais encapsulantes ou materiais de parede, tais como, proteínas, maltodextrinas, pectinas e gomas. Estes materiais contribuem para a redução da umidade, proteção dos compostos do oxigênio, luz e contra alterações químicas e enzimáticas (WANG et al., 2009). Entre os materiais mais utilizados pela indústria no processo de microencapsulação são a goma arábica e a maltodextrina. A seleção adequada de materiais é importante para a obtenção de micropartículas com funções válidas para a aplicação, como a forma de liberação dos compostos no meio aplicado (processos mecânicos, químicos, térmicos e/ou por dissolução), tamanho adequado de partículas, solubilidade, compatibilidade, entre outros fatores (BRAZEL, 1999; FÁVARO-TRINDADE; PINHO; ROCHA, 2008)

A goma arábica é um polissacarídeo complexo que apresenta elevada proteção contra oxidação, alta solubilidade, baixa viscosidade e propriedades interessantes na estabilidade de emulsões. Além disso, apresenta boa retenção de compostos voláteis. Entre as limitações, está o elevado custo, o que pode ser resolvido com a substituição parcial por outro material (MONTENEGRO et al., 2012 CARNEIRO et al., 2013). A liberação controlada conferida pela adição de goma arábica se dá pela ação do calor e em processos mecânicos (FÁVARO-TRINDADE; PINHO; ROCHA, 2008).

A maltodextrina é um amido hidrolisado de baixo custo que também apresenta características desejáveis para encapsulação, como alta solubilidade em água, proporciona elevada estabilidade de compostos contra oxidação e apresenta baixa viscosidade (KENYON, 1995). Além disso, proporciona facilidade na secagem o que contribui na obtenção de micropartículas com baixa higroscopicidade (MOREIRA et al., 2009). Sua ação na liberação controlada de compostos de interesse ocorre principalmente por processos mecânicos e por dissolução (FÁVARO-TRINDADE; PINHO; ROCHA, 2008). No entanto, entre as desvantagens está principalmente na baixa capacidade emulsificante, o que pode ser controlada pelo uso de outros materiais (CARNEIRO et al., 2013). Dessa forma, para cada aplicação deve ser avaliado o tipo de material encapsulante a ser utilizado e o efeito intencional requerido no produto final.

Diversos trabalhos com microencapsulação de extratos de frutas já foram publicados e mostraram o processo como um fator importante na proteção de compostos. Trabalhos com extratos de acerola madura e imatura (verde) já foram avaliados quanto à estabilidade durante o armazenamento (FIGUEIREDO; GRANDIM; MARTUCCI, 2001), as diferenças de materiais encapsulantes (RIGHETTO; NETTO, 2005), condições de processamento e das propriedades tecnológicas das micropartículas (MOREIRA et al., 2009). Outros estudos com diferentes frutos, como de camu-camu (SILVA et al., 2013), açaí (TONON; BRABET; HUBINGER, 2010), romã (ÇAM; ICYER; ERDOGAN, 2014) e folhas de oliva (TAGHVAEI et al., 2014) também já foram publicados, mostrando resultados importantes com o uso da microencapsulação e a possibilidade de inserção em produtos alimentícios. No entanto, o que dificulta a comparação é a particularidade de cada trabalho, devido às condições operacionais e a falta de resultados em relação à aplicação de micropartículas.

REFERÊNCIAS

ARAÚJO, P.S.R.; MINAMI, K. **Acerola**. Campinas: Fundação Cargill, 1994, 81p.

ASSIS, S. A.; LIMA, D. C.; OLIVEIRA, O. M. F. M. Activity of pectinmethylesterase, pectin content and vitamin C in acerola fruit at various stages of fruit development. **Food Chemistry**, v. 74, n. 2, p. 133–137, 2001.

ASSIS, S.A.; LIMA, D.C.; OLIVEIRA, O.M.M. F. Acerola's pectinmethylesterase: studies of heat inactivation. **Food Chemistry**, v. 71, p. 465 – 467, 2000.

BARROS, F.F.C.; QUADROS, C. P.; JÚNIOR, M.R.M.; PASTORE, G. M. Surfactina: propriedades químicas, tecnológicas e funcionais para aplicações em alimentos. **Quimíca Nova**, v. 30, n. 2, p. 409-414, 2007.

BERTON-CARABIN, C.C.; ROPERS, M-H.; GENOT, C. Lipid oxidation in oil-in-water emulsions: involvement of the interfacial layer. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 13, p.945–77. 2014.

BORGOGNA, M.; BELLICH, B., ZORZIN, L.; LAPASIN, R.; CESÀRO, A. Food microencapsulation of bioactive compounds: rheological and thermal characterization of non-conventional gelling system. **Food Chemistry,** v. 122, n. 2, pp. 416–423. 2010.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria n°146, de 7 de março de 1996. Aprova o regulamento técnico de identidade e qualidade de Manteiga. D.O.U, **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, de 11 de março de 1996.

_____. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria n°372, de 4 de setembro de 1997. Aprova o regulamento técnico de identidade e qualidade de margarina. D.O.U, **Diário Oficial da União**, Poder executivo, Brasília, DF, de 8 de setembro de 1997.

_____ Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Resolução n°4 de 28 e junho de 2000. Institui o produto denominado “Manteiga Comum”, para a comercialização exclusiva no território nacional. D.O.U, **Diário Oficial da União**, Poder executivo, Brasília, DF, de 5 de julho de 2000.

_____. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 23, de 15 de fevereiro de 2005 Aprova "Regulamento Técnico que aprova o uso de aditivos alimentares, estabelecendo suas funções e seus limites máximos para a categoria de alimentos óleos e gorduras - subcategoria creme vegetal e margarinas". D.O.U, **Diário Oficial da União**, Poder executivo, de 16 de fevereiro de 2005.

BRAZEL, C.S. Microencapsulation: offering solutions for the food industry. **Cereal Foods World**, v.44, n.6,.p.388-393, 1999.

BREWER, M. S. Natural antioxidants: Sources, compounds, mechanisms of action, and potential applications. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v.10, n. 4, p. 221–247, 2011.

ÇAM, M.; ICYER, N.C.; ERDOGAN, F. Pomegranate peel phenolics: Microecapsulation, storage stability and potential ingredient for functional food development. **LWT- Food Science and Technology**, v. 55, n.1, p. 117–123. 2014.

CAETANO, A.C.D.S.; ARAÚJO, C.R.D.; LIMA, V.L.A.G.D.; MACIEL, M.I.S.; MELO, E.D.A. Evaluation of antioxidant activity of agro-industrial waste of acerola (*Malpighia emarginata* D.C.) fruit extracts. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. *31*, p. 769–77, 2011.

CANUTO, GISELE. A. B.; XAVIER, ANA. A. O.; NEVES, LEANDRO. C.; BENASSI, MARTA. T. Caracterização físico-química de polpas de frutos da Amazônia e sua correlação com a atividade anti-radical livre. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, n. 4, p. 1196-1205, 2010.

CARNEIRO, H. C. F.; TONON, R. V.; GROSSO, C. R. F.; & HUBINGER, M. D. Encapsulation efficiency and oxidative stability of flaxseed oil microencapsulated by spray drying using different combinations of wall materials. **Journal of Food Engineering,** v. 115, n. 4, p. 443-451, 2013.

CARVALHO, R.A; FERREIRA, C.A.P; JÚNIOR, J.D.B; MENEZES, A.J.E.A.; SUZUKI, E.; SASAKI, G. **Análise econômica da produção de acerola no município de Tomé-Açú, Pará.** Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2000. 21p. (Documento, 49). Disponível em: < http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:2WyoFjlgPSkJ:ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/63227/1/Oriental-Doc49.pdf+&cd=1&hl= pt-BR&ct=clnk&gl=br>. Acesso em: 27 dez. 2017.

CASEMIRO, R. C.. **Estabilidade oxidativa e avaliação sensorial de emulsões com extratos de ervas antioxidantes**. 2016. Dissertação de Mestrado. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2016.

CHAN, K.W.; IQBAL, S.; KHONG, N.M.H.; CH'NG, S.E.; BABJI, A.S. Preparation of clove buds deodorized aqueous extract (CDAE) and evaluation of its potential to improve oxidative stability of chicken meatballs in comparison to synthetic and natural food antioxidants. **Journal Food Quality**, v.35, n.3, p.190–199, 2012.

CLAESSON, P.M.; BLOMBERG, E.; AND POPTOSHEV, E. Surface forces and emulsion stability, In: SJOBLOM, J. (Ed.). **Encyclopedic Handbook of Emulsion Technology**. New York: Marcel Dekker, 2001, cap. 7, p. 305-326.

CRUZ, R. G. **Atividade antioxidante de extratos vegetais**: **estudo das condições de extração e aplicação em sistema lipídico**. 2014. Dissertação de Mestrado. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP, 2014, 97p.

DALGLEISH, D. G. **Food emulsions**: Their structures and properties. in: FRIBERG, S. E.; LARSSON, K.; SJÖBLOM, J.. 4th edition, Eds., Marcel Dekker, New York, USA. 2004. p.1-44.

DALGLEISH, D.G. Adsorption of proteins and thestability of emulsions. **Trends Food Science and Technology**, v. 8, p. 1–6., 1997.

DECKER, E. A. Antioxidant mechanisms. In: AKOH, C. C.; MIN, D. B. **Food lipids**: chemistry, nutrition and biotechnology. 2. ed. New York: Marcel Dekker, 2002. p. 517-542.

DELVA, L.; GOODRICH-SCHNEIDER, R. Antioxidant activity and antimicrobial properties of phenolic extracts from acerola (Malpighia emarginata DC) fruit. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 48, n. 5, p. 1048–1056, 2013.

DIAZ, T.G; MERAS, I.D; CABANILLAS, A.G; FRANCO, M.F.A. Voltammetric behavior and determination of tocopherols with partial least squares calibration: analysis in vegetable oil samples. **Analytica Chimica Acta**, v.511, n.2, p. 231–238. 2004.

DICKINSON, E. Towards more natural emulsifiers. **Trends in Food Science and Technology**, v. 4, n. 10, p. 330–334, 1993.

DICKINSON E, WOSKETT CM. **Competitive adsorption between proteins and small-molecule surfactants in food emulsions**. In: BEE, R.D., RICHMOND P, MINGINS J (eds). Food Colloids, Royal Society of Chemistry, Cambridge, 1989. p.74-96.

DOOLAEGE, E.H.; RAES, K.; DE VOS, F.; VERHÉ, R.; DE SMET, S. Absorption, distribution and elimination of carnosic acid, a natural antioxidant from Rosmarinus officinalis, in rats. **Plant Food for Human Nutrition**, v.66, n.2, 196–202. 2011.

DUH, P.D., 1999. Antioxidant activity of water extract of four Harng Jyur (Chrysanthemum morifolum Ramat) varieties in soybean oil emulsion. **Food Chemistry**, v. 66, n. 4, 471–476.

EÇA, K.S.; MACHADO, M.T.; HUBINGER, M.D.; MENEGALLI, F.C. Development of active films from pectin and fruit extracts: light protection, antioxidant capacity, and compounds stability. **Journal of Food Science**, v. 80, n.11, p. C2389–2396, 2015.

EFSA. European Food Safety Authority . **Opinion of the Scientific Panel on food additives, flavourings, processing aids and materials in contact with food (AFC) on a request from the Commission related to tertiary-Butylhydroquinone (TBHQ).** EFSA Journal. Disponível em: http://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/scientific_output/files/main_d ocuments/84.pdf. Acesso em: 17 nov. 2017.

EGYDIO, A.P.M; SANTOS, D.Y.A. fatty acid composition of seeds of three malpighia glabra l. genotypes (malpighiaceae). **Boletim de Botânica,** v. 30, n.1, p. 1-4, 2012.

FAN, L.; ESKIN, M. N. A. The use of antioxidants in the preservation of edible oils. In: SHAHIDI, F. **Handbook of Antioxidants for Food Preservation**, Cambridge: Woodhead Publishing Ltd. 2015, p.373-388.

FANG, Z. X., & BHANDARI, B. Effect of spray drying and storage on the stability of bayberry polyphenols. Food Chemistry, Barking, v. 129, n. 3, 1139-1147. 2011.

FÁVARO-TRINDADE, C. S.; PINHO, S. C.; ROCHA, G. A. Revisão: Microencapsulação de ingredientes alimentícios. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 11, p. 103-112, 2008.

FIGUEIRÊDO, R. M. F.; GRANDIN, A.; MARTUCCI, E. T. Armazenamento do suco de acerola microencapsulado. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 3, n. 1, p. 1-6, 2001.

FRANKEL, E. N.; HUANG, S.-W.; KANNER, J.; GERMAN, J. B. Interfacial phenomena in the evaluation of antioxidants: bulk oil vs emulsions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.42, n.5, 1054- 1059. 1994.

FRANKEL, E. N.; SATUE-GRACIA, T.; MEYER, A. S.; GERMAN, J. B. Oxidative stability of fish and algae oils containing long-chain polyunsaturated fatty acids in bulk and in oil-in-water emulsions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 2094-2099, 2002;

FRANKEL, E.N., **Lipid Oxidation**, second edition. Bridgwater, England: Oily Press. V.12, 2005. 470p.

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

GALLEGO, M. G.; GORDON, M. H.; SEGOVIA, F. J.; SKOWYRA, M.; ALMAJANO, M. P. Antioxidant properties of three aromatic herbs (rosemary, thyme and lavender) in oil-in-water emulsions. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v.90, n.10, 1559–1568. 2013.

GAVA, A. J.; SILVA, C.A.B.S.; FRIAS, J.R.G. Tecnologia de alimentos : princípios e aplicações. São Paulo: Nobel, 2008. 512p.

GENKINGER, J.M.; PLATZ, E.A.; HOFFMAN, S.C.; COMSTOCK, G.W.; HELZLSOUER, KJ. Fruit, vegetable, and antioxidant intake and all-cause, cancer, and cardiovascular disease mortality in a community-dwelling population in Washington County, Maryland. American Journal of Epidemiology, v. 160, p. 1223-33, 2004.

HALLIWELL, B.; MURCIA, M.A.; CHIRICO, S.; ARUOMA, O.I Free radicals and antioxidants in food and in vivo: What they do and how they work. **Critical Review in Food Science and Nutrition**, v. 35, p.7– 20, 1995.

HANAMURA, T.; HAGIWARA, T.; KAWAGISHI, H. Structural and functional characterization of polyphenols isolated from acerola (Malpighia emarginata DC) fruit. **Bioscience Biotechnology, and Biochemistry**, v.69, n.2, p. 280–286. 2005.

HANAMURA, T.; UCHIDA, E.; AOKI, H. Changes of the composition in acerola (Malpighia emarginata DC.) fruit in relation to cultivar, growing region and maturity. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 88, p. 1813–1820, 2008.

HEERTJE, I. Structure and function of food products: A review. **Food Structure**, Amsterdam, v.1, n.1, p. 3-23. 2014.

HUANG, Q. R.; YU, H. L.; AND RU, Q. M. Bioavailability and Delivery of Nutraceuticals using Nanotechnology, **Journal of Food Science,** v.75, n.1, p. R50-R57, 2010.

INTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. IBGE. **Censo Agropecuário 1996 e 2006**. 2016. Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/acervo/acervo2.asp?ti=1&tf=99999&e=c&p=CA&v=214&z=t&o=11>; Acesso em: 03 dez. 2017.

ITOO, S. ; AIBA, M. ; ISHIHATA, K. Comparison of ascorbic acid content in acerola fruit from different production region depend on degree of maturity, and it's stability by pocessing. **Nipon Shokuhim Kogyo Gakkaishi**, v.37, n.9, p.726- 729, 1990.

JOHNSON, P. **D. Acerola** (Malpighia glabra L., M. punicifolia L., M. emarginata D.C.): Agriculture, Production and Nutrition. **World Review of Nutrition and Dietetics**, v. 91, p. 67-75, 2003.

KARGAR, M.; FAYAZMANESH, K.; ALAVI, M.; SPYROPOULOS, F.; NORTON, I.T. Investigation into the potential ability of Pickering emulsions (food-grade particles) to enhance the oxidative stability of oil-in-water emulsions. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 366, p.209–15, 2012.

KARGAR, M; SPYROPOULOS, F.; NORTON, I.T. The effect of interfacialmicrostructure on the lipid oxidation stability of oil-in-water emulsions. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 357, p.527–33, 2011.

KENYON, M.M. Modified starch, maltodextrin. and corn syrup solids as wall materials for food encapsulation. In: RISCH, S.J.; REINECCIUS, G.A. **Encapsulation and controlled release of food ingredients**. ACS Symposim Series, 590. Washington. DC: ACS, 1995, p.42-50.

KUSKOSKI, E.M.; ASUERO, A.G.; TRONCOSO, A.M.; MANCINI-FILHO, J.; FETT, R. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. **Ciência e Tecnologia dos. Alimentos,** v,25, n.4, p.726-732, 2005.

LE, H. VAN; LE, V. V. M. Comparison of enzyme-assisted and ultrasound-assisted extraction of vitamin C and phenolic compounds from acerola (Malpighia emarginata DC.) fruit. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 47, n. 6, p. 1206–1214, 2012.

LI, J.H.; MIAO, J.; WU, J. L.; CHEN, S.-F.; ZHANG, Q.Q. Preparation and Characterization of Active Gelatin-Based Films Incorporated with Natural Antioxidants**. Food Hydrocolloids**, v. 37, p. 166-173, 2014.

LIMA, V. L. A. G.; MELO, E. A.; MACIEL, M. I. S.; PRAZERES, F. G.; MUSSER, R. S.; LIMA, . D. E. S. Total phenolic and carotenoid contents in acerola genotypes harvested at three ripening stages. **Food Chemistry**, v. 90, n. 4, p. 565–568, 2005.

LIMA, V. L. A. G.; PINHEIRO, I. O.; NASCIMENTO, M. S.; GOMES, P. B.; GUERRA, N. B. Identificação de antocianidinas em acerolas do banco ativo de germoplasma da Universidade Federal Rural de Pernambuco. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 4, p. 927-935, 2006.

MALINOWSKA, P.; GLISZCZYNSKA-SWIGŁO, A.; SZYMUSIAK, H. Protective effect of commercial acerola, willow, and rose extracts against oxidation of cosmetic emulsions containing wheat germ oil. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v.116, n.11,p. 1553–1562, 2014.

MARIANO-NASSER, F. A. D.; NASSER, M.; FURLANETO, K. A.; RAMOS, J. A.; VIEITES, R. L.; PAGLIARINI, M. K. V. Bioactive compounds in different acerola fruit cultivares. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.38, n4, p. 2505–2514, 2017.

MATTHÄUS, B. Oxidation of edible oils. IN: DECKER, E.A.; ELIAS, R. J.;MCCLLEMENTS, D.J. **Oxidation in foods and beverages and antioxidant applications**. Volume 2: Management ind different industry sectors. Cambridge: Woodhead Publishing, 2010, p.183-231.

MCCLEMENTS DJ. Chapter Four: Emulsion Ingredients. In: MCCLEMENTS, D.J. (Ed.). **Food emulsions**: principles, practices, and techniques. 2nd Edition. Boca Raton: CRC Press, 2005, p. 515-543.

MCCLEMENTS, D.J. Lipid-Based Emulsions and Emulsifiers, in: AKOH, C.C; MIN, D.B (Ed.). **Food Lipids**: Chemistry, Nutrition and Biotechnology, New York: Marcel Dekker, 2002, chap.3, p.63-101.

MCCLEMENTS, D.J.; DEMETRIADES, K. An integrated approach to the Development of reduced-fat food emulsions**. Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v. 38, n.6, p.511–536. 1998.

MCCLEMENTS, D.J; DECKER, E.A. Lipid oxidation in oil-in-water emulsions: impact of molecular environment on chemical reactions in heterogeneous food systems. **Journal of Food Science**, v. 65, n. 8, p.1270–82, 2000.

MEZADRI, T.; VILLAÑO, M. S.; FERNANDEZ-PACHON, M. S.; GARCIA-PARRILLA, M.C.; TRONCOSO, A.M. Antioxidant compounds and antioxidant activity in acerola (Malpighia emarginata DC.) fruits and derivatives. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 21, n. 4, p. 282–290, 2008.

MOHAMMED, M. **Acerola** (Malpighia emarginata DC.) IN: YAHIA, E. Postharvest Biology And Techonology Of Trofical And Subtropical Fruits: Açaí to citrus. Chapter 2, V. 2 p. 27-47. 2011. 532p.

MONTENEGRO, M. A.; BOIERO, M.; VALLE, L.; BORSARELLI, L.; GUM, C. D. **Gum Arabic**: more than an edible emulsifier, products and applications of biopolymers. In: Verbeek J (ed) Products and applications of biopolymers. INTHEC, Rijeka, 2012, pp 3–26

MOREIRA, G. E. G.; COSTA, M. G. M.; SOUZA, A. C. R.; BRITO, E. S.; MEDEIROS, M. F. D.; AZEREDO, H. M. C. Physical properties of spray dried acerola pomace extract as affected by temperature and drying aids. Food Science of Technology, v. 42, n.2, p. 641–645, 2009.

MOSCA, M.; CUOMO, F.; LOPEZ, F.; CEGLIE A. Role of emulsifier layer, antioxidants and radical initiators in the oxidation of olive oil-in-water emulsions. **Food Research International**, v. 50, p. 377- 383, 2013.

MOURA, M. S. **Estabilidade de acerola em pó oriunda de cultivo orgânico.** 2010. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE, 2010, 112p.

MUNIN, A.; EDWARDS-LÉVY, F. Encapsulation of natural polyphenolic compounds: A review. Pharmaceutics, v.3, n.4, p. 793–829. 2011.

NOGUEIRA, R. J. M. C.; MORAES, J.A.P.V; BURITY, H.A; JUNIOR, J.F.S. Efeito do estádio de maturação dos frutos nas características físico-químicas de acerola. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n. 4, p. 463-470, 2002.

O'BRIEN, R. D. **Fat and oils**: formulating and processing for applications, Third edition, Boca Raton: CRC Press, 2009. 744p.

OLIVEIRA, O. C.; VALENTIM, I. B.; SILVA, C. A.; BECHARA, E. J. H.; DE BARROS, M. P.; MANO, C. M.; GOULART, M. O.F. Total phenolic content and free radical scavenging activities of methanolic extract powders of tropical fruit residues. **Food Chemistry**, v. 115, p. 469–475, 2009.

PASRIJA, D., EZHILARASI, P. N., INDRANI, D., ANANDHARAMAKRISHNAN, C. Microencapsulation of green tea polyphenols and its effet on incorporated bread quality. **LWT Food Science and Technology**, v. 64, n.1, p.289–296. 2015.

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

PETINARI, R. A.; TARSITANO, M. A. A. Análise econômica da produção de acerola para mesa, em Jales-SP: um estudo de caso. **Revista Brasileira de Fruticultura**, vol.24, n.2, p. 411-415, 2002.

PIO, R. **O cultivo da Acerola**. Piracicaba: ESALQ- Divisão de Biblioteca e Documentação, 2003. 28p. Série Produtor Rural, n°20.

PORCU, O.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Variation in the carotenoid composition of acerola and its processed products. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.86,p. 1916–1920. 2006.

POYATO, C.; NAVARRO-BLASCO, I; CALVO, M.I.; CAVERO, R.Y.; ASTIASARAN, I.; ANSORENA, D. Oxidative stability of O/W and W/O/W emulsions: effect of lipid composition and antioxidant polarity. **Food Research International**, v. 51, p.132–40, 2013.

PRADO, A. **Composição fenólica e atividade antioxidante de frutas tropicais**. Dissertação de Mestrado. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba SP, 2009, 106p.

RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 755-760, 2006.

REISHE, D. W., LILLIARD, D. A., EITENMILLER, R. R. **Antioxidants**. In: AKOH, C. C.; MIN, D. B., Food lipids: Chemistry, Nutrition and Biotechnology: New York: Marcel Dekker, 2002, 1005 p.

RIBEIRO, A.; CALEJA, C.; BARROS, L.; SANTOS-BUELGA, C.; BARREIRO, M.F.; FERREIRA, I.C.F.R. Rosemary extracts in functional foods: Extraction, chemical characterization and incorporation of free and microencapsulated forms in cottage cheese. **Food & Function,** v. *7*, p. 2185–2196, 2016.

RICE-EVANS, C.A.; MILLER, N.J.; PAGANGA, G. Antioxidant properties of phenolic compounds. **Trends in Plant Science, London**, v. 2, n. 4, p.152-159, 1997.

RIGHETTO, A. M.; NETTO, F.M.; CARRARO, F. Chemical Composition and Antioxidant Activity of Juices from Mature and Immature Acerola (*Malpighia emarginata* DC). **Food Science and Technology International**, v. 11, n. 4, p. 315–321, 2005.

RIGHETTO, A. M.; NETTO, F. M. Effect of Encapsulating Materials on Water Sorption, Glass Transition and Stability of Juice From Immature Acerola. **International Journal of Food Properties**, v. 8, n. 2, p. 337–346, 2005.

RIGHETTO, A.M. **Caracterização físico-química e estabilidade de suco de acerola verde microencapsulado por atomização e liofilização**. 2003. Tese de Doutorado. Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 2003, 178 p.

ROSSO, V. V.; MERCANDANTE, A. Z. Carotenoid composition of two Brazilian genotypes of acerola (*Malpighia punicifolia* L.) from two harvests. **Food Research International**, Essex. v.38, n.8-9, p. 1073–1077, 2005.

ROSSO, V., HILLEBRANDB, S., MONTILLAB, E., BOBBIO, F., WINTERHALTERB, P. and MERCADANTE, A. Determination of anthocyanins from acerola (*Malpighia emarginata* DC.) and açaí *(Euterpe oleracea* Mart.) by HPLC–PDA–MS/MS. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 21, p. 291–299, 2008.

ROUSSEAU, D. Chemical and physical properties of canola and rapeseed oil. in: GUNSTONE, F (Ed.). **Rapeseed and Canola** Oil: Production, Processing, Properties and Uses. Oxford: Blackwell 2004, p 79-110.

RUFINO, M.S.M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; PÉREZ-GIMENÉZ, J.; SAURA-CALIXTO, F.; MANCINI-FILHO, J. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v.121, p.996-1002, 2010.

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**, n. 171, p. 144–152, 2015.

SALAGER, J.L. Formulation Concepts for the Emulsion Maker. In NIELLOUD, F.; MARTI-MESTRES, G. **Pharmaceutical Emulsions and Suspensions**. New York, Basel: Marcel Dekker, Inc, 2000, p.20- 72.

SANGUANSRI, L.; AUGUSTIN, M. A. Microencapsulation in functional food product development. In SMITH, J.; CHARTER, E. (Ed.), **Functional food product development**. Oxford: Blackwell Publishing Ltd, 2010, p.3-23.

SCHRAMM, L. L. **Emulsions, Foams, and Suspensions**: Fundamentals and Applications; Wiley-VCH: Weinheim, 2005, p.448.

SCHRAMM, L.L; STASIUK, E.N. Emulsions: Overview. In: SPASIC, A.; HSU, J. (Ed.). Finely Dispersed Particles: Micro-, Nano-, and Atto-Enginering. **Surfactant Science**, United States: CRC Press, 2005, p. 79-112.

SHAHIDI, F. Antioxidant in food and food antioxidants. **Nahrung**, Berlin, v.44, n. 3, p. 158–163. 2000.

SHAHIDI, F. Antioxidants: Principles and applications. In F. SHAHIDI (Ed.), **Handbook of antioxidants for food preservation.** Cambridge: Woodhead Publishing Ltd. 2015, p.1-14.

SHAHIDI, F.; ZHONG, Y. Lipid oxidation and improving the oxidative stability. **Chemical Society Reviews**, v. 39,p. 4067- 4079, 2010.

SHAHIDI, F.; ZHONG, Y. Revisiting the polar paradox theory: a critical overview. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v 59, n.8, p.3499–3504, 2011.

SHAHIDI, F; HAN, X. Q. Encapsulation of food ingredients. **Critical Review in Food Science and Nutrition**, v. 33, p. 501–547, 1993.

SILVA, N. K.; CORNEJO, F.E.P.; GOMES, F.S.; PONTES, S.M.; MATTA, V.M.;FREITAS, S.P. Influence of shell material on vitamin C content, total phenolic compounds, sorption isotherms and particle size of spray-dried camu-camu juice. **Fruits**, v. 68, p. 175-183, 2013.

SILVA, P. B.; DUARTE, C. R.; BARROZO, M. A. S. Dehydration of acerola (*Malpighia emarginata* D.C.) residue in a new designed rotary dryer: Effect of process variables on main bioactive compounds. **Food and Bioproducts Processing**, v. 98, p. 62–70, 2016.

SMITH, S. A.; KING, R. E.; MIN, D. B. Oxidative and thermal stabilities of genetically modified high oleic sunflower oil. **Food Chemistry**, v. 102, p. 1208−1213, 2007.

SOUSA, M. S. B.; VIEIRA, L. M.; LIMA, A. Fenólicos totais e capacidade antioxidante in vitro de resíduos de polpas de frutas tropicais Total. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 14, n. 3, p. 202–210, 2011.

STAUFFER, C. E. Emulsifiers and stabilizers. In: RAJAH, K.K (Ed.). **Fats in Food Technology**, Kingfield Road: Sheffield Academic Press, CRC Press, 2002. pp. 228–274.

SUN, C.H.; GUNASEKARAN, S. Effects of protein concentration and oil-phase volume fraction on the stability and rheology of menhaden oil-in-water emulsions stabilized by whey protein isolate with xanthan gum. **Food Hydrocolloids**, v. 23, p. 165–74, 2009.

TACO. **Tabela brasileira de composição de alimentos**. NEPA/UNICAMP, 4ed., Campinas, 2011, 161p.

TAGHVAEI, M.; JAFARI, S.M.; SADEGHI-MAHOONAK, A., MEHREGAN-NIKOO, A.; RAHMANIAN, N.; HAJITABAR, J., MESHGINFAR, N. The effect of natural antioxidants extracted from plant and animal resources on the oxidative stability of soybean oil. **LWT - Food Science and Technology**, v. 56, n.1, p.124-130, 2014.

TONON, R. V.; BRABET, C.; HUBINGER, M. D. Anthocyanin stability and antioxidant activity of spray-dried açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) juice produced with different carrier agents. **Food Research International**, v. 43, p. 907−914, 2010.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICUTURE. USDA. **National Nutrient Database for Standard Reference,** Release 28. 2015. Disponível em:<https://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/2120?fgcd=&manu=&lfacet=&format=&count=&max=35&offset=&sort=&qlookup=ACEROLA>. Acesso em: 10 ago. 2017.

VENDRAMINI, A. L. A.; TRUGO, L. C. Phenolic compounds in acerola fruit (Malpighia punicifolia, L.). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 15, n. 5, p. 664–668, 2004.

VENDRAMINI, A. L.; TRUGO, L. C. Chemical composition of acerola fruit (Malpighia punicifolia L.) at three stages of maturity. **Food Chemistry**, v. 71, p. 195-198, 2000.

VIEIRA, L. M.; SOUSA, M. S. B.; MANICINI-FILHO, J; LIMA, J. A. Total phenolics and antioxidant capacity “in vitro” of tropical fruit pulps. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.33, n.3, p. 888-897, 2011.

WANG, Y., LU, Z., L.V., F., BIE, X. Study of microencapsulation of curcumin pigments by spray drying. **European Food Research and Technology**, v.229, n. 3, p. 391-396, 2009.

WALTER, M.; MARCHESAN, E. Phenolic compounds and antioxidant activity of rice. **Brazilian Archives of Biology an Technology**, v. 54, n.2, p. 371-377, 2011.

3. ESTUDO DA EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS E DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DOS FRUTOS DA ACEROLA MADURA E VERDE COM A APLICAÇÃO DA METODOLOGIA DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA

RESUMO

A acerola possui composição nutricional de grande interesse para aplicação em alimentos pela presença de compostos bioativos, que conferem uma elevada atividade antioxidante. A atividade de extratos pode ser influenciada por diferentes fatores como o estádio de maturação, ambiente e principalmente pelo processo de extração. Dessa forma, o presente trabalho teve como objetivo a otimização da extração de compostos de elevada atividade antioxidante nos frutos de acerolas maduras e verdes por meio da metodologia de Superfície de Resposta. Para isso, foram avaliados os efeitos da proporção amostra:solvente (1:30 – 1:100) e tempo de extração (10 – 60 minutos) frente às respostas de teores de compostos fenólicos e atividade antioxidante pelos métodos DPPH e ABTS. Após a identificação das condições ótimas para extração foi avaliada a atividade antioxidante por diferentes métodos (DPPH, ABTS, ORAC-H e FRAP) e a quantificação de ácido ascórbico e compostos fenólicos (clorogênico, ferúlico e *p*-cumárico). Os extratos obtidos sob condições otimizadas (1:30 para os frutos maduros e 1:40 para os verdes; 10 minutos de extração) apresentaram elevada concentração de compostos fenólicos e alta atividade antioxidante, mostrando resultados promissores para futuras aplicações.

Palavras-chave: DPPH; ABTS; Otimização; Ácido ascórbico

ABSTRACT

Acerola fruits present nutritional composition of great interest for food application due the presence of bioactive compounds, which confer a high antioxidant activity. The activity of extracts may be influenced by different factors such as the stage of maturation, environment and mainly by the extraction process. Thus, the present study aimed to optimize the extraction of compounds with high antioxidant activity from ripe and green acerola fruits by response surface methodology. For this reason, were evaluated the effects of proportion sample:solvent (1:30 - 1:100) and extraction time (10 - 60 minutes) in relation to the responses of total phenolic content and antioxidant activity by the DPPH and ABTS methods. After the identification of optimal conditions for extraction the antioxidant activity was evaluated by different methods (DPPH, ABTS, ORAC-H and FRAP) and the quantification of ascorbic acid and phenolic compounds (chlorogenic, ferulic and p-coumaric) was performed. The extracts obtained under optimized conditions (1:30 for the ripe fruits and 1:40 for the green; 10 minutes of extraction) showed high concentrations of phenolic compounds and high antioxidant activity, showing promising results for future applications.

Keywords: DPPH; ABTS; Optimization; Ascorbic acid

3.1. Introdução

A acerola (*Malpighia emarginata*) é um fruto tropical originário das Antilhas que além de apresentar grande importância econômica para o Brasil (ARAÚJO; MINAMI, 1994) é considerada uma fruta de composição nutricional de grande interesse e referência entre as frutas tropicais, por apresentar em sua composição quantidades muito elevadas de compostos bioativos, que conferem à fruta elevada atividade antioxidante. Por esses motivos, o uso comercial da acerola tem sido aplicado em diferentes finalidades, desde sucos de frutas até a aplicação na indústria farmacêutica como suplementos, como forma de prevenção de doenças (DELVA; GOODRICH-SCHNEIDER, 2013).

Os principais compostos bioativos presentes na acerola, os quais apresentam atividade antioxidante, são os compostos fenólicos, ácido ascórbico, antocianinas e carotenoides. No entanto, a concentração destes compostos pode estar relacionada ao seu processo de amadurecimento. Em frutos imaturos (verdes), os teores de ácido ascórbico e de compostos fenólicos totais são superiores ao estádio maduro (DELVA; GOODRICH-SCHNEIDER, 2013; LIMA et al., 2005; ASSIS; LIMA; OLIVEIRA, 2001), mas para o estádio maduro (vermelho), os valores superiores são dados para as concentrações de antocianinas e carotenoides (HANAMURA; UCHIDA; AOKI, 2008; LIMA et al., 2005). Embora haja o fator de maturação dos frutos, diversos outros fatores contribuem com as diferenças de composições, até mesmo entre um mesmo estádio de maturação, como é o caso das diferenças entre genótipos, regiões de cultivo, climas, solos e as técnicas de manejos (THOMÁS-BARBERÁN; ESPÍN, 2001).

Outro fator importante avaliado entre os estudos realizados com acerola é a diferença entre metodologias de extração, que são realizadas com uso de diferentes solventes, proporções e tempo, sendo em muitos estudos sequer são determinados, o que dificulta comparação entre os estudos, bem como futuras aplicações. Algumas técnicas podem ser aplicadas na otimização de um processo, definindo os fatores que contribuirão para a obtenção de dados promissores, podendo reduzir tempo e até mesmo custos de produção. A Metodologia de Superfície de Resposta é um conjunto de técnicas estatísticas e matemáticas, que pode ser aplicado para essa finalidade. Através da otimização do processo de extração de um fruto, é possível avaliar a influência e os efeitos das variáveis independentes dentro de um processo que pode contribuir com o melhoramento e otimização de um processo. É a partir das respostas que é gerado um modelo matemático para ser aplicado na descrição do processo (MYERS; MONTGOMERY; ANDERSON-COOK, 2009).

A partir desse contexto, o presente estudo teve como objetivo otimizar o processo de extração de compostos antioxidantes de frutos de acerola por meio da Metodologia de Superfície de Resposta, com a variação de tempo de extração e proporção de amostra em sistema aquoso, visando obter extratos com potencial antioxidante para futuras aplicações, além de quantificar os compostos de interesses presentes na acerola.

3.2. Material e Métodos

3.2.1. Processamento das matérias-primas e obtenção do extrato

Frutos de acerola verdes e maduras (em média 3 kg para cada) foram cedidas pela Associação Agrícola de Junqueirópolis, localizada no munícipio de Junqueirópolis, (21° 30’ 52” S, 51° 26’ 01” O), São Paulo, Brasil, na safra de setembro de 2016. Os frutos foram separados, selecionados e higienizados com hipoclorito de sódio (Hidrosteril®), conforme instruções da embalagem, e em seguida enxaguados e colocados em uma superfície plana previamente higienizada com etanol 70% para a secagem natural a temperatura ambiente. Após isso, foram congelados em ultra freezer a uma temperatura de -80°C e posteriormente liofilizados (Liobras, Liotop

L-101, Brasil) a -51°C ± 2°C em 150 µHg. As acerolas liofilizadas foram trituradas e armazenadas em sacos plásticos, cobertos por sacos metalizados, a -28 °C ± 1 até a realização das análises.

Os extratos antioxidantes foram produzidos em condições otimizadas, identificadas por meio da aplicação da Metodologia de Superfície de Resposta, em que foram estudados os efeitos do tempo e proporção de amostra:solvente (m:V) durante a extração. As variáveis respostas observadas foram a atividade antioxidante *in vitro* e compostos fenólicos totais. A Tabela 2 apresenta as faixas de estudo das variáveis explanatórias e a Tabela 3, o delineamento experimental. O processo de extração foi realizado por meio da dispersão da amostra liofilizada em água, com temperatura ajustada para 35°C e agitação a 200 rpm utilizando um banho-maria (Nova Instruments, Dubnoff, Brasil) com incidência de luz reduzida, de acordo com Cruz (2014). Após o período de extração, os extratos foram centrifugados a 5000 g em centrífuga refrigerada a 4°C (Hettich, 320/320R, Alemanha) por 20 minutos e filtrados com papel filtro qualitativo (Qualy) em frascos âmbar para o armazenamento a -28°C ± 1. Nos cálculos realizados foram consideradas as concentrações de cada ensaio.

Figura 4. Frutos verdes e maduros da acerola. Fonte: arquivo pessoal

Tabela 2. Faixas de estudo das variáveis explanatórias em análise no processo de extração dos frutos de acerola maduros e verdes.

	Nível de variação				
Variável explanatória	**-1,41**	**-1**	**0**	**+1**	**+1,41**
Tempo (minutos)	10	17	35	53	60
Proporção de amostra: solvente (m:V)	1:30	1:40	1:65	1:90	1:100

Tabela 3. Delineamento experimental para a otimização da obtenção de extratos antioxidantes de frutos de acerola madura e verde.

Ensai	Variáveis Explanatórias			
	Tempo (minutos)		Proporção de amostra:solvente (m:V)	
	Valor codificado	Valor Real	Valor codificado	Valor Real
1	-1	17	-1	1:40
2	+1	53	-1	1:40
3	-1	17	+1	1:90
4	+1	53	+1	1:90
5	-1,41	10	0	1:65
6	+ 1,41	60	0	1:65
7	0	35	-1,41	1:30
8	0	35	+1,41	1:100
9	0	35	0	1:65
10	0	35	0	1:65
11	0	35	0	1:65
12	0	35	0	1:65

3.2.2. Determinação do teor de compostos fenólicos totais (CFT) dos extratos de acerola madura e verde

O teor de compostos fenólicos totais foi quantificado conforme metodologia descrita por Singleton e Rossi (1965) e Singleton, Orthofer e Lamuela-Raventos (1999) pela metodologia de Folin-Ciocalteau. A concentração da solução de carbonato de sódio e de Folin-Ciocalteau foi de 7,5% e 10%, respectivamente. Em tubos de ensaio foram adicionados 500 µL de amostra, 2,5 mL de reagente de Folin- Ciocalteau e 2,0 mL de Carbonato de Sódio. Os tubos foram agitados em vortex (Labdancer, IKA, Alemanha) acondicionados em local com incidência de luz reduzida à temperatura ambiente por 2 horas. Em seguida, a leitura foi realizada em espectrofotômetro (Shimadzu UV Mini 1240, Japão) ao comprimento de 760 nm. A curva padrão foi determinada em ácido gálico (5 a 100 $\mu g.mL^{-1}$) e os resultados foram expressos em mg de ácido gálico por g de amostra.

3.2.3 Atividade antioxidante *in vitro* pelo método DPPH

A atividade antioxidante avaliada pelo método do sequestro do radical DPPH (1,1-diphenyl-2–picryl-hydrazy) foi realizada de acordo com a metodologia de Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995). Foi adicionado em tubos de ensaio 500 µL de amostra, 3 mL de etanol e 300 µL da solução de DPPH. Foram agitados em vortex (Labdancer, IKA, Alemanha) ao abrigo da luz à temperatura ambiente por 45 minutos. Em seguida foi realizada a leitura em espectrofotômetro (Shimadzu UV Mini 1240, Japão) a 515 nm. Foi realizada uma curva em Trolox (20 a 200 µM) e os resultados foram expressos em µmol de equivalente ao Trolox por grama de amostra.

3.2.3. Atividade antioxidante *in vitro* pelo método ABTS

A atividade antioxidante determinada pela captura do radical 2,2-*azino-bis 3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic* (ABTS), foi determinada pela metodologia descrita por Re et al. (1999) cujo radical ABTS é formado com a reação de ABTS 7mM com persulfato de potássio 140 mM. Foi adicionado em tubos de ensaio 20 µL de amostra, 2 mL da solução de ABTS e cronometrado 6 minutos para a reação. Em seguida foi realizada a leitura a 734 nm em espectrofotômetro (Shimadzu UV Mini 1240, Japão). A curva padrão foi realizada em Trolox (500 a 2000 µM) e os resultados foram expressos em µmol de Trolox por grama da amostra.

3.2.4. Atividade antioxidante *in vitro* pelo método de ORAC

Para a determinação a capacidade de absorção do radical oxigênio, foi utilizada a metodologia descrita por Prior et al., (2003), modificado por Dávalos; Gómez-Cordovés; Bartolomé, (2004). Para isto, foi utilizado o extrato aquoso de ambas as amostras dos ensaios otimizados. Foram adicionadas na microplaca, 20 µL da amostra diluída e 120 µL de fluoresceína diluída em tampão fosfato (pH 7,4). A mistura foi incubada a 37°C por 15 minutos e posterior adicionados 60 µL de solução de AAPH (2,2′-azobis(2-amidino-propane) dihydrochloride) e imediatamente lidos em leitor de microplaca (Biotek, Synergy HTX, EUA) a cada 1 minuto por 80 minutos a 37°C para avaliar o decréscimo da absorbância. A curva padrão foi realizada com Trolox (3 a 40 µM). As análises foram realizadas em duplicatas e expressas em µmol Trolox L^{-1} de extrato.

3.2.5. Atividade antioxidante *in vitro* pelo método FRAP

A atividade antioxidante pelo método de FRAP foi conduzida conforme a metodologia de Rufino et al. (2006). O reagente FRAP é obtido a partir da mistura de tampão acetato (0,3 M, pH 3,6), solução de TPTZ (2,4,6-tri(2-piridil)-1,3,5-*triazina)* a 10 mM e solução de cloreto férrico (20mM). Para a análise é adicionado 20 µl do extrato aquoso otimizado, 30 µl de água destilada e 200 µl de reagente FRAP em microplacas e incubados por 30 minutos. Amostras são lidas a um comprimento de 595 nm em leitor de microplaca (Biotek, Synergy HTX, EUA). Para a determinação da concentração, foram realizadas soluções com concentrações conhecidas de Trolox (10-800 µM) e os resultados foram expressos em µmol Trolox. L^{-1} de extrato.

3.2.6. Quantificação de ácido ascórbico e compostos fenólicos por CLAE

Os extratos obtidos nas condições otimizadas foram analisados quanto ao teor compostos fenólicos (ácido clorogênico, p-cumário e ferúlico) e de ácido ascórbico por CLAE – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com detector de arrajo de diodo (UV/VIS) (Agilent HP, serie 1100, Estados Unidos) e coluna C_{18} Phenomenex® (dimensões 4,6 x 250mm- 5µm) conforme metodologia descrita por Vendramini e Trugo (2004), com modificações. Na fase móvel foi empregada um gradiente de

citrato trissódico (0,01M) (solvente A) e metanol, como solvente B, sendo a eluição da seguinte ordem: 100% do solvente A; seguido de 30% solvente A e 70% solvente B; e por último 10% de solvente A e 90% do solvente B. Os extratos aquosos foram filtrados em membranas de 0,45 µm, congelados e liofilizados. Os extratos liofilizados obtiveram cerca de 22,5 mg. mL^{-1} de sólidos totais para os frutos maduros e 12,37 mg. mL^{-1} de sólidos para os frutos verdes. Em seguida foram ressolubilizados para injeção da amostra, na quantificação de ácido ascórbico e compostos fenólicos. A quantificação foi realizada por curva de padronização para cada padrão analítico e a corrida foi realizada nos comprimentos de 275 nm para o ácido ascórbico e 325 nm para os compostos fenólicos.

3.3. Delineamento e análise estatística dos dados

Para o estudo da extração foi aplicado um planejamento experimental fatorial completo (Tabela 3), tipo composto rotacional central, com 2 variáveis explanatórias (tempo e relação amostra:solvente) e as 3 variáveis dependentes (compostos fenólicos, atividade antioxidante por DPPH e ABTS). Foram avaliados os efeitos pela Metodologia de Superfície de Resposta e submetidos a análise de regressão múltipla, análise de variância e teste F ($p<0,05$) pelo programa *Statistica 13* (Statsoft, Inc. 2015).

3.4. Resultados e Discussão

3.4.1. Determinação do teor de compostos fenólicos totais (CFT) dos extratos

Para avaliar as respostas de todo um processo, bem como os efeitos das variáveis independentes, pode ser aplicada a metodologia de Superfície de Resposta. Essa metodologia pode determinar as influências das variáveis, gerando um modelo matemático que pode ser aplicado no processo tanto para o melhoramento como na otimização (MYERS; MONTGOMERY; ANDERSON-COOK, 2009). A partir de trabalhos anteriores (CRUZ, 2014 e dados não publicados) em que a otimização da extração de compostos fenólicos com a extração em água a 35°C mostrou-se eficaz em relação ao uso de solvente e diferentes temperaturas, fez-se necessário estudar a proporção de amostra e água, bem como o tempo da extração destes compostos para a obtenção de uma condição otimizada desse processo, visando o emprego em grande escala.

A partir do delineamento experimental e a análise de superfície de respostas foi possível avaliar as respostas da influência das variáveis tempo e proporção de acerola para a obtenção de extratos otimizados. No quadro a seguir (Quadro 1) estão expostos os resultados para cada ensaio tanto para os frutos maduros como para os verdes.

Ensaio	Variáveis Explanatórias				Variáveis Dependentes	
	Tempo (minutos)		Proporção de amostra: solvente (m:V)		Maduros (mg EAG.g^{-1} amostra*)	Verdes (mg EAG.g^{-1} amostr a*)
	Valor codificado	Valor Real	Valor codificado	Valor Real		
1	-1	17	-1	1:40	63,06	107,46
2	1	53	-1	1:40	69,16	92,95
3	-1	17	1	1:90	24,76	61,83
4	1	53	1	1:90	26,94	64,14
5	-1,41	10	0	1:65	62,86	105,50
6	1,41	60	0	1:65	83,14	92,79
7	0	35	-1,41	1:30	75,31	102,96
8	0	35	1,41	1:100	25,76	69,68
9	0	35	0	1:65	68,98	95,17
10	0	35	0	1:65	69,41	97,82
11	0	35	0	1:65	65,33	98,35
12	0	35	0	1:65	70,17	95,44

Quadro 1. Delineamento experimental para a otimização com as respostas para a extração de compostos fenólicos dos frutos maduros e verdes.
***Base seca**

A análise de variância (ANOVA) (Tabela 4 e 5) mostrou que a regressão para a extração de compostos fenólicos de ambos os frutos (maduros e verdes) foi significativa (F calculado> F tabelado), sendo que cerca de 87% das causas de variação, para ambas amostras, puderam ser descritas pelos modelos matemáticos.

Os resultados da análise de efeitos apresentada no gráfico de Pareto (Figura 4) e da análise de variância (ANOVA) (Tabela 4) mostraram que para a otimização da extração de compostos fenólicos dos frutos maduros, somente a proporção amostra:solvente foi significativa para o modelo linear e quadrático. Foi observado que o efeito foi negativo para essa mesma variável, o que significa que os menores volumes de água adicionada na amostra resultaram maiores teores de compostos fenólicos. O mesmo ocorreu para os frutos verdes (Tabela 5), sendo que a variável com efeito significativo também foi a proporção, o que pode ser observado no gráfico de Pareto (Figura 5), com o efeito negativo. Dessa mesma forma, ocorre uma tendência na adição de menores concentrações de água para a obtenção de elevados teores de compostos fenólicos.

Tabela 4. Análise de Variância (ANOVA) dos resultados para a extração de compostos fenólicos dos frutos maduros.

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	G.L	Quadrado Médio	Fcalc.
Regressão	4081,7	5	816,3	8,5
Resíduos	578,1	6	96,3	
Total	4659,8	11		

R^2= 0,875 $F_{0,95;5;6}$=4,39

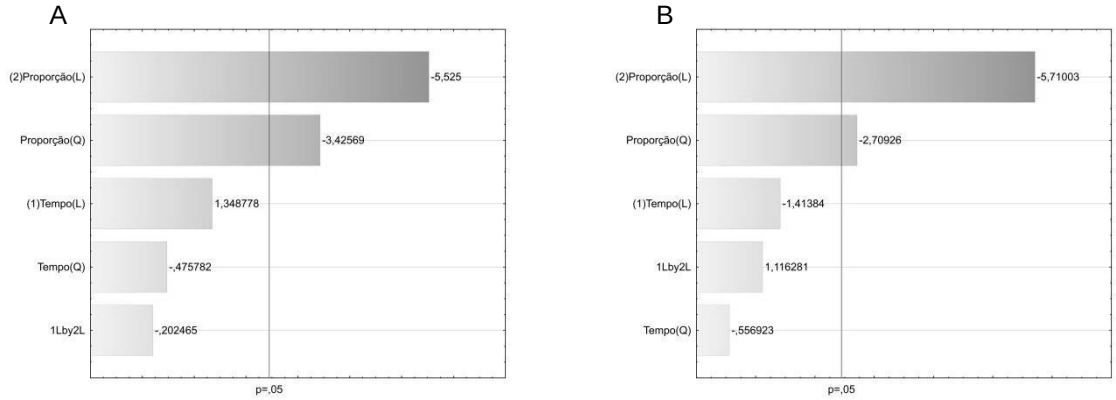
Tabela 5. Análise de Variância (ANOVA) dos resultados para a extração de compostos fenólicos dos frutos verdes.

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	G.L	Quadrado Médio	Fcalc.
Regressão	2436,2	5	487,2	8,3
Resíduos	353,8	6	59,0	
Total	2790,0	11		

R^2= 0,873 $F_{0,95;5;6}$=4,39

Tabela 6. Modelos matemáticos para o teor de compostos fenólicos (TCF) totais para acerola madura e verde

Amostra	Equação polinomial de segunda ordem
Acerola Madura	TCF = 68,47 + 4,62 tempo - 1,68 tempo² - 18,82 proporção - 12,91 proporção² - 0,98 tempo.proporção
Acerola Verde	TCF = 96,70 - 3,77 tempo - 1,56 tempo² - 15,19 proporção - 7,97 proporção² + 4,20 tempo.proporção



L= Linear; Q= quadrático

Figura 5. Diagrama de Pareto para a extração de compostos fenólicos de acerolas maduras (A) e verdes (B)

Conforme a Superfície de Respostas da extração de compostos fenólicos dos frutos maduros (Figura 6), a região ótima ficou entre a proporção de 1:30 e 1:65 (m:V), as quais apresentaram teores de compostos fenólicos entre 75,31 e 83,14 mg EAG .g^{-1}, respectivamente. No entanto, para a extração com os frutos verdes (Figura 7), a região de maior extração dos compostos fenólicos foi para a menor proporção, entre 1:40 e 1:65, em que se verificaram teores de 107,46 e 105,5 mg EAG .g^{-1}, respectivamente. Para ambos, os efeitos do tempo não foi significativo.

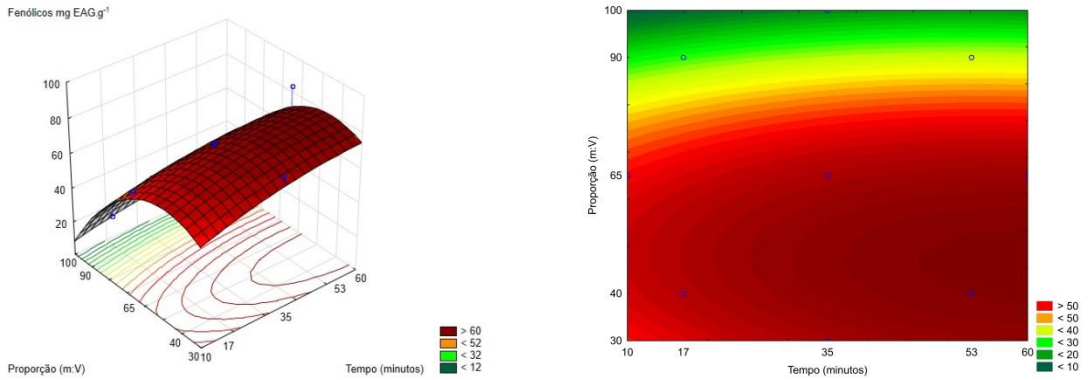


Figura 6. Superfície de Resposta da otimização dos extratos da extração de compostos fenólicos dos frutos maduros de acerola

Conforme a otimização realizada por Cruz (2014), foi avaliado que a extração com água mostrou ser eficaz, apresentando 175 mg EAG g^{-1} para a extração de compostos fenólicos de frutos maduros inteiros, valores superiores ao presente estudo. Prado (2009) também encontrou valores elevados em polpa de acerola (156 mg EAG g^{-1}) obtida na extração com o solvente etanol. Valores inferiores foram encontrados em trabalhos realizados com a extração da polpa do fruto acerola madura, teores entre 2,47 a 8,35 mg EAG g^{-1} (VIEIRA et al., 2010; DELVA; GOODRICH-SCHNEIDER, 2013; SOUSA; VIEIRA; LIMA, 2011), com a aplicação de diferentes solventes para a extração.

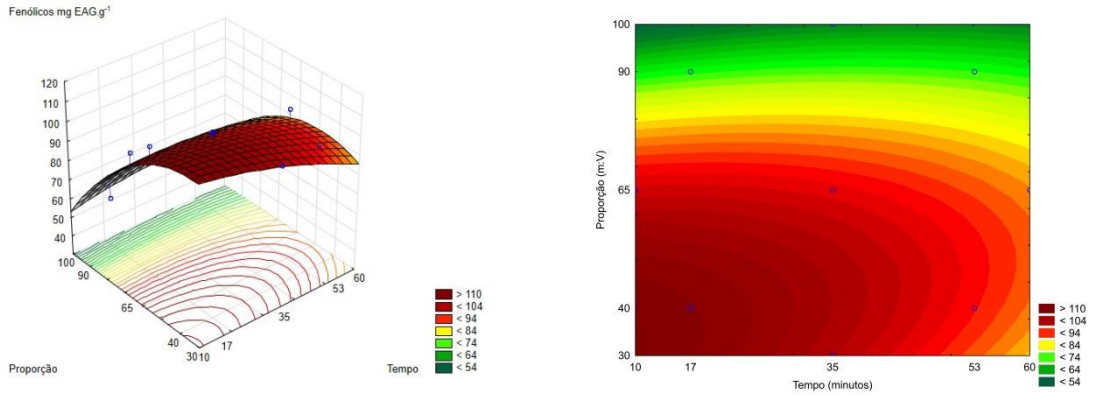


Figura 7. Superfície de Resposta da otimização dos extratos da extração de compostos fenólicos dos frutos verdes de acerola

Na extração dos frutos verdes, identificou-se que a proporção ideal para a extração foi entre 1:40 e 1:65 com cerca de 107,46 e 105,5 mg g^{-1}, respectivamente, sendo que o tempo não foi significativo para a extração dos compostos. Entre os estudos encontrados para a polpa de frutos imaturos (verdes) valores entre 16,28 a 60 mg EAG.g^{-1} foram reportados (DELVA; GOODRICH-SCHNEIDER, 2013; MOURA, 2010), inferiores aos encontrados no presente trabalho. No entanto, vale destacar que os resultados encontrados na literatura estão determinados em polpas e não em frutos liofilizados, como o realizado neste trabalho.

Os frutos verdes se destacam tanto em concentrações elevadas de compostos fenólicos, como também de ácido ascórbico, em relação aos frutos maduros, o que é diretamente relacionado ao processo de amadurecimento dos frutos. Além disso, cada estádio de maturação apresenta perfis diferentes de compostos fenólicos (RIGHETTO; NETTO; CARRARO, 2005). Diversos trabalhos avaliaram os teores de compostos fenólicos e ambos os resultados mostram significativa diferença entre os frutos, sendo os frutos imaturos com elevadas concentrações (LIMA et al., 2005; RIGHETTO; NETTO; CARRARO, 2005; HUNAMURA; UCHIDA; AOKI, 2008).

3.4.2. Estudo da atividade antioxidante *in vitro* por DPPH e ABTS

Os resultados do delineamento experimental para avaliar a atividade antioxidante na extração dos frutos, maduros e verdes, foram obtidos através da metodologia de Superfície de Respostas pelo método do radical DPPH para cada ensaio. Os resultados estão expostos no quadro 2.

Ensaio	Variáveis Explanatórias				Variáveis Dependentes	
	Tempo (minutos)		Proporção de amostra: solvente (m:v)		Maduros (µmol trolox .g^{-1} amostra*)	Verdes µmol trolox .g^{-1} amostra*)
	Valor codificado	Valor Real	Valor codificado	Valor Real		
1	-1	17	-1	1:40	396,30	612,27
2	1	53	-1	1:40	377,47	513,9
3	-1	17	1	1:90	163,62	534,52
4	1	53	1	1:90	92,51	570,82
5	-1,41	10	0	1:65	291,13	593,52
6	1,41	60	0	1:65	291,07	589,97
7	0	35	-1,41	1:30	450,01	580,52
8	0	35	1,41	1:100	106,41	445,85
9	0	35	0	1:65	266,74	595,30
10	0	35	0	1:65	263,96	582,87
11	0	35	0	1:65	247,29	597,08
12	0	35	0	1:65	267,75	588,20

Quadro 2. Delineamento experimental para a otimização com as respostas para a atividade antioxidante por DPPH dos frutos maduros e verdes.
***Base seca**

A regressão determinada para a avaliar a atividade antioxidante dos frutos pelo método do DPPH foi significativa para ambos os estádios de maturação (F calculado> F tabelado), conforme observados pela da análise de variância (ANOVA) (Tabelas 7 e 8) ($p<0,05$). A atividade antioxidante de extratos de frutos maduros pode ser descrita através do modelo matemático de segunda ordem com cerca de 97%, o que pode ser utilizado para fins preditivos. No entanto, para os frutos verdes, o coeficiente de determinação foi de 83%.

Tabela 7. Análise de Variância (ANOVA) dos resultados da otimização para a atividade antioxidante dos frutos maduros (DPPH).

Fonte de variação	Soma dos quadrados	G.L	Quadrado Médio	Fcalc
Regressão	127997,1	5	25599,4	53,2
Resíduos	28886,3	6	481,1	
Total	130883,4	11		

R^2= 0,97 $F_{0,95;5;6}$=4,39

Tabela 8. Análise de Variância (ANOVA) dos resultados da otimização para a atividade antioxidante dos frutos verdes (DPPH).

Fonte de variação	Soma dos quadrados	G.L	Quadrado Médio	Fcalc
Regressão	20244,8	5	4049,0	5,8
Resíduos	4191,7	6	698,6	
Total	24436,4	11		

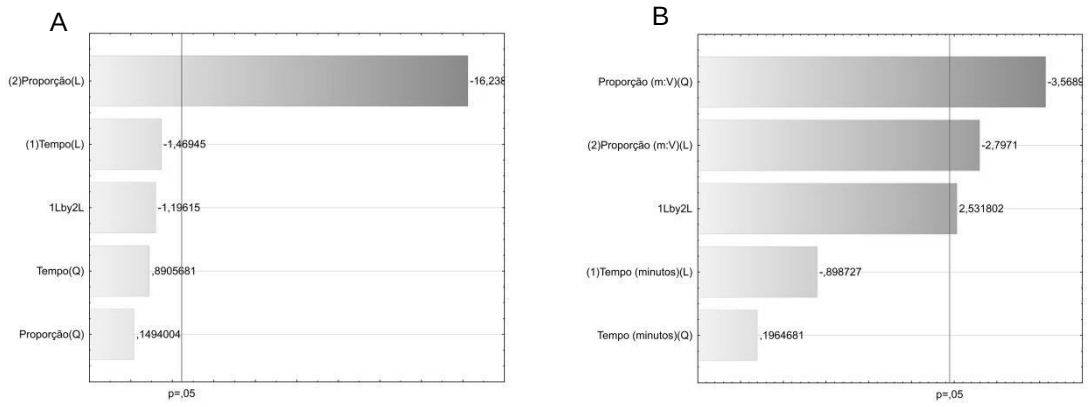
R^2= 0,83 $F_{0,95;5;6}$=4,39

Tabela 9. Modelos matemáticos para a atividade antioxidante por DPPH para acerola madura e verde

Amostra	Equação polinomial de segunda ordem (valores codificados)
Acerola Madura	DPPH = 261,44 - 11,25 tempo + 8,04 tempo² - 125,44 proporção + 1,59 proporção ² - 13,07 tempo.proporção
Acerola Verde	DPPH = 590,87 - 8,39 tempo + 1,80 tempo² - 26,41 proporção - 37,48 proporção² + 33,67 tempo.proporção

Os resultados para a análise de efeitos no diagrama de Pareto para os frutos maduros (Figura 8) apresentaram significância somente para a proporção linear ($p<0,05$), negativo. Com esses resultados, pode depreender que o aumento na proporção de solvente na amostra apresenta uma tendência da redução da atividade antioxidante, esta observação pode estar relacionada a extração de maior diversidade de compostos, incluindo compostos não antioxidantes e até compostos que podem apresentar um efeito pró-oxidante. Os frutos verdes apresentaram o mesmo comportamento, sendo que os efeitos da proporção e a interação entre as variáveis foram significativos (Figura 8). O efeito é negativo, o que pode indicar que uma menor proporção de amostra pode contribuir com uma melhor extração de compostos com atividade antioxidante determinada pelo radical DPPH.

Estes resultados indicam que para ambos os resultados o tempo não apresentou efeitos significativos, mostrando que se houver uma redução de tempo, a extração de compostos que apresentam elevada atividade antioxidante pode ser vantajosa do ponto de vista operacional, devido à redução de tempo de processo. No entanto, como o tempo não foi significativo, há uma ampla faixa que pode ser utilizada sem influenciar o resultado, o que leva à conclusão de que tempo menor para a extração, de 10 minutos, pode ser aplicado por apresentar vantagens e estar relacionado à maior produtividade no processo de extração.



L= Linear; Q= quadrático

Figura 8. Diagrama de Pareto para a atividade antioxidante por DPPH de acerolas maduras (A) e verdes (B)

A Superfície de Resposta obtida para os frutos maduros (Figura 9) indica que extratos com menores proporção, entre 1:30 e 1:40, apresentaram de 450 a 396,4 µmol Trolox.g^{-1} de amostra, respectivamente.

Em trabalhos com polpa de acerola madura *in natura* e sucos de acerola (DELVA; GOODRICH-SCHNEIDER, 2013; MEZADRI et al., 2008), valores próximos ao encontrado neste estudo foram apresentados, com cerca de 40 a 85 µmol Trolox .g^{-1} com base em amostra fresca, o que pode representar acima de 421 µmol Trolox .g^{-1} em base seca (TACO, 2011). Valores superiores foram reportados por Cruz (2014), em extrato aquoso, apresentando de 650 µmol Trolox .g^{-1} e por Freire et al., (2013), representando cerca 1823 µmol Trolox g^{-1}. Tal diferença entre os resultados relatados por pesquisadores e o presente estudo pode ser explicada tanto pela diferença do processo de extração, bem como aos fatores relacionados diretamente com a origem da amostra (LIMA et al., 2005) solos e manejo (CHITARRA; CHITARRA, 2005; THOMÁS-BARBERÁN; ESPÍN, 2001).

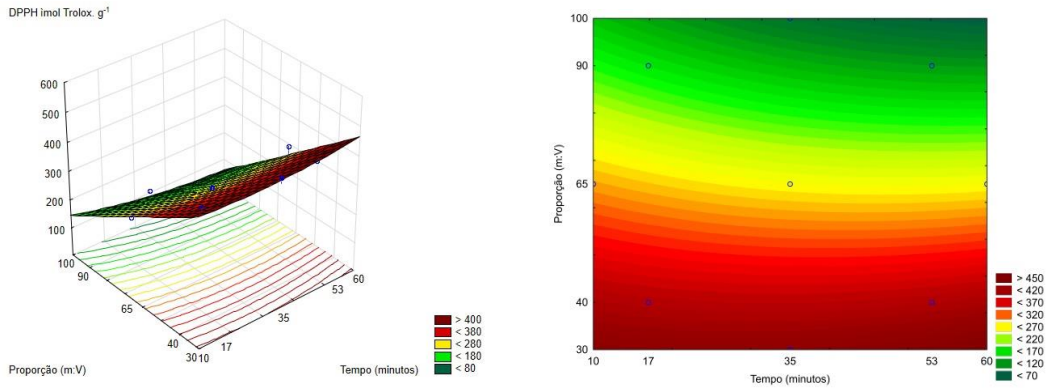


Figura 9. Superfície de Resposta para a atividade antioxidante por DPPH de frutos maduros de acerola

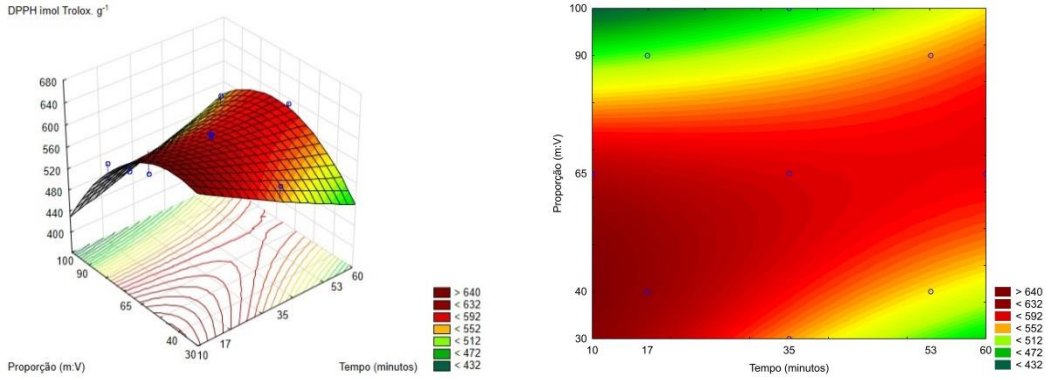


Figura 10. Superfície de Resposta para a atividade antioxidante por DPPH de frutos verdes de acerola

Os frutos verdes apresentaram os maiores valores de atividade antioxidante na faixa de proporção de 1:40 e 1:65, com 612,27 e 597,08 µmol Trolox .g^{-1} de amostra, respectivamente, sendo os frutos verdes com atividade antioxidante significativamente maior que os frutos maduros. Segundo Delva e Goodrich-Schneider (2013), a atividade antioxidante também sofre uma redução durante o processo de maturação dos frutos. No trabalho destes autores, foram apresentados valores de cerca de 74 µmol Trolox.g^{-1} para os frutos maduros e de 136 µmol Trolox.g^{-1} para os frutos verdes.

Os resultados obtidos para a análise de atividade antioxidante determinada pelo método do radical ABTS, para extração dos frutos maduros e verdes estão expostos no quadro 3.

Ensaio	Variáveis Explanatórias				Variáveis Dependentes	
	Tempo (minutos)		Proporção de amostra: solvente (m:v)		Maduros (µmol trolox .g^{-1} amostra*)	Verdes (µmol trolox .g^{-1} amostra*)
	Valor codificado	Valor Real	Valor codificado	Valor Real		
1	-1	17	-1	1:40	177,26	749,39
2	1	53	-1	1:40	179,82	627,62
3	-1	17	1	1:90	53,76	695,57
4	1	53	1	1:90	55,95	688,94
5	-1,41	10	0	1:65	53,8	626,86
6	1,41	60	0	1:65	45,09	614,03
7	0	35	-1,41	1:30	267,23	624,89
8	0	35	1,41	1:100	58,12	683,17
9	0	35	0	1:65	46,75	706,87
10	0	35	0	1:65	46,61	711,1
11	0	35	0	1:65	48,55	694,89
12	0	35	0	1:65	59,72	683,52

Quadro 3. Delineamento experimental para a otimização com as respostas para a extração de atividade antioxidante por ABTS dos frutos maduros e verdes.

***Base seca**

A partir do delineamento experimental (quadro 3), obteve-se a regressão para a atividade antioxidante dos frutos pelo método do radical ABTS dos frutos maduros e verdes. A regressão para os frutos maduros foi significativa (F calculado> F tabelado) (Tabela 10), com coeficiente de determinação de 89%. Para os extratos de frutos verdes, a regressão da atividade antioxidante pelo método do ABTS não foi significativa (Tabela 11) e os resultados não foram considerados para determinar o melhor processo de extração em conjunto com as demais respostas (TCF e DPPH).

Tabela 10. Análise de Variância (ANOVA) dos resultados da otimização para a atividade antioxidante dos frutos maduros (ABTS).

Fonte de variação	Soma dos quadrados	G.L	Quadrado Médio	Fcalc
Regressão	59610,7	5	11922,1	106,3
Resíduos	673	6	112,2	
Total	60283,7	11		

R^2= 0,98 $F_{0,95;5;6}$=4,39

Tabela 11. Análise de Variância (ANOVA) dos resultados da otimização para a atividade antioxidante dos frutos verdes (ABTS).

Fonte de variação	Soma dos quadrados	G.L	Quadrado Médio	Fcalc
Regressão	11547,7	5	2291,5	1,6
Resíduos	8334,3	6	1389,0	
Total	19791,9	11		

R^2= 0,58 $F_{0,95;5;6}$=4,39

Tabela 12. Modelos matemáticos para a atividade antioxidante por ABTS para acerola madura

Amostra	Equação polinomial de segunda ordem (modelo codificado)
Acerola Madura	Y_1 = 50,41 - 0,95 tempo + 2,18 tempo² - 67,89 proporção + 58,79 proporção² - 0,09 tempo.proporção

De acordo com a análise de efeitos, observadas no diagrama (Figura 11), a extração de compostos antioxidantes de frutos maduros para o método de ABTS apresentou efeito significativo somente para a proporção, sendo o efeito linear negativo. Para os frutos verdes, como observado para a regressão não significativa, todos os efeitos não apresentaram significância para o resultado (p<0,05).

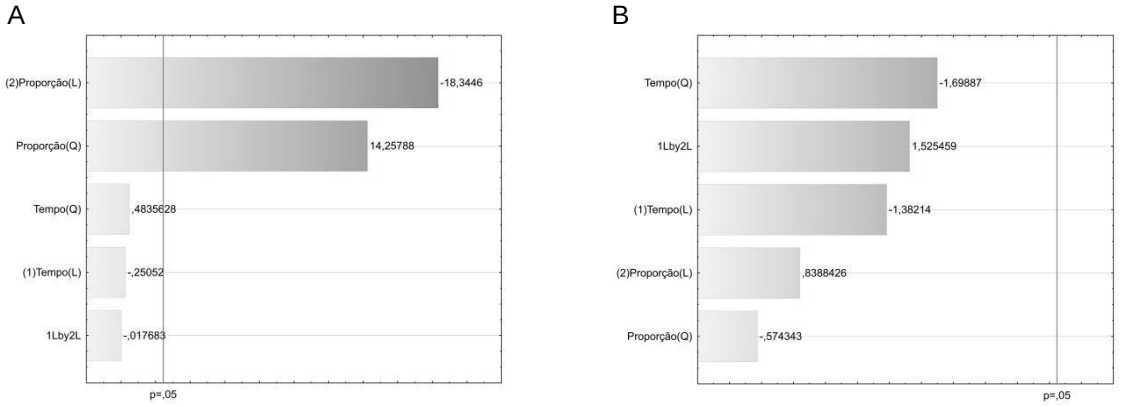


Figura 11. Diagrama de Pareto para a atividade antioxidante por ABTS de acerolas maduras (A) e verdes (B)

Os frutos maduros apresentaram melhores resultados para a atividade antioxidante pelo método ABTS para a proporção de 1:30 (m:V), com cerca de 267 µmol Trolox.g^{-1}. Conforme a superfície de resposta obtida (Figura 12), podemos definir que as proporções menores foram mais eficazes na extração, sendo o tempo devido a não significância ($p<0,05$), pode ser mantido em qualquer nível dentro da faixa estudada. Alguns trabalhos determinaram a atividade antioxidante para frutos de acerola maduros, sendo os valores entre de 46,16 a 1823,5 µmol Trolox.g^{-1} em amostras frescas (MEZADRI et al., 2008; RUFINO et al.,2010; FREIRE et al., 2013) apresentados. Mezadri et al., (2008) avaliaram a diferença entre polpas comerciais e frutos esmagados, sendo este último com elevada capacidade antioxidante. Em relação aos resultados, para amostras de polpas em base seca, Prado (2009) encontrou cerca de 788 µmol Trolox.g^{-1} em matéria seca, superiores ao presente estudo. No entanto, vale ressaltar que no presente trabalho não foi utilizado somente a polpa, o resultado é expresso em valores da fruta integral liofilizada (polpa e semente).

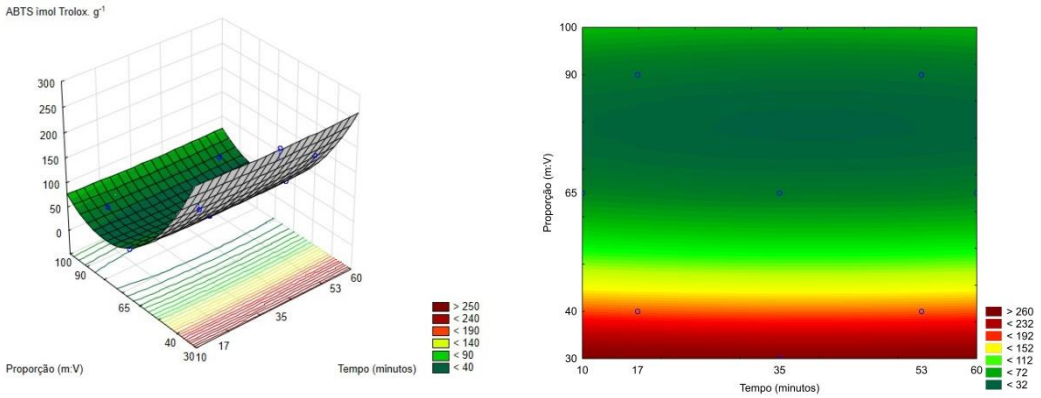


Figura 12. Superfície de Resposta para a atividade antioxidante por ABTS de frutos maduros de acerola

No presente trabalho, os valores da atividade antioxidante por ABTS determinados para os frutos verdes variaram 614 a 749 µmol Trolox.g^{-1} 1:65 e 1:40 (m:V). Valores superiores foram determinado por Moura (2010) em suco de acerola verde atomizado, o qual determinou valores de 1209,76 a 984,27 µmol trolox.g^{-1}, sendo essa redução avaliada nos períodos 0 e 360 dias de armazenamento dos frutos a 20°C, respectivamente.

Foi observado que valor da atividade antioxidante pelo método DPPH foi superior ao do método do ABTS para os frutos maduros. Segundo Kim et al., (2002) o radical DPPH é utilizado para a determinação de componentes solúveis em solventes orgânicos, ou seja, compostos mais lipofílicos, já o radical ABTS abrange compostos hidrofílicos, lipofílicos e pigmentados (FLOEGEL et al., 2011). No entanto, Segundo o trabalho realizado por Le e Le, (2012), valores superiores para a atividade antioxidante pelo método do DPPH para frutos maduros de acerola foram observados, corroborando os resultados do presente estudo. Para estes autores, a presença de flavonoides, como a antocianina, influenciou significativamente a determinação do radical DPPH. Como relatado, o método por DPPH pode ser influenciado por alterações no pH (SCALZO, 2008), como também pela presença de ácidos orgânicos, açúcares, aminoácidos e principalmente dos compostos pigmentados, como as antocianinas (PRIOR; WU; SCHAICH, 2005).

3.4.3. Determinação das condições selecionadas

De acordo com as análises de variância e as superfícies de respostas obtidas para cada estádio de maturação nas análises *in vitro* avaliadas, foram selecionadas as condições de extração. Para os frutos maduros, com base nos modelos válidos (teor de compostos fenólicos, DPPH e ABTS), foi determinada a proporção de 1:30 (m:V) e o menor tempo avaliado na otimização, ou seja, 10 minutos. Em relação aos frutos verdes, os modelos matemáticos válidos foram somente para o teor de compostos fenólicos e DPPH. A proporção definida foi a 1:40 (m:V) e o menor tempo avaliado na otimização, ou seja, 10 minutos.

Foi observado que a redução da proporção favoreceu o aumento da atividade antioxidante, bem como maior concentração de compostos fenólicos. Esta observação pode ser relacionada ao pH das soluções obtidas, em que maiores concentrações de amostra podem vir a reduzir o pH devido a presença de compostos mais ácidos na fruta. Segundo Hosseinzadeh, Khorsandi e Hemmaty (2013), o efeito do pH é um fator importante na extração de compostos fenólicos, os quais são compostos ácidos e apresentam atividade antioxidante, e com a redução de pH pode ocorrer o aumento da extração destes compostos em meio aquoso, e consequentemente, contribuir com o aumento da atividade antioxidante. O pH dos extratos produzidos nas condições otimizadas foi cerca de 3,5.

Os extratos foram preparados nas condições selecionadas e foram realizadas análises de compostos fenólicos e atividade antioxidante (DPPH, ABTS, ORAC-H e FRAP). Os resultados para os extratos selecionados estão expostos na Tabela 13.

Tabela 13. Resultados para atividade antioxidante por diferentes métodos para os extratos otimizados de acerola madura (1:30, 10 minutos a 35°C) e verde (1:40, 10 minutos a 35°C).

Métodos*		Acerola madura*	Acerola verde*
Compostos fenólicos	mg EAG.g^{-1}	69,70	106,33
DPPH	µmol Trolox.g^{-1}	463,57	583,3
ABTS	µmol Trolox.g^{-1}	266	740,83
ORAC- H	µmol Trolox.g^{-1}	16,97	26,27
FRAP	µmol Trolox.g^{-1}	498,22	1016,0

*Valores por g de acerola liofilizada
Teor de compostos fenólicos equivalente a ácido gálico

Delva e Goodrich-Schneider (2013) avaliaram o teor de compostos fenólicos em polpa liofilizada de acerola com diferentes estádios de maturação e encontraram teores bem inferiores aos do presente estudo, 11,94 e 16,28 mg EAG.g^{1} para frutos maduros e verdes, respectivamente. Valores superiores foram encontrados por Cruz (2014) e Prado (2009) para frutos maduros entre 175 e 156 mg EAG.g^{1}. Moura (2010) avaliou suco liofilizado de acerolas verdes, encontrando cerca de 60,04 mg EAG.g^{1}, valor também foi inferior ao presente trabalho.

Para as análises pelo método DPPH, Cruz (2014) determinou valores de 650 µmol Trolox.g^{-1} para frutos maduros, o que foi superior ao encontrado. Outros estudos encontraram valores abaixo inferiores ao presente trabalho, cerca de 39,31 a 101 µmol Trolox.g^{-1} (MEZADRI et al., 2008; DEVLA; GOODRICH-SCHNEIDER, 2013) para os frutos maduros e 136 a 251 µmol Trolox.g^{-1} (DEVLA; GOODRICH-SCHNEIDER, 2013) para os frutos verdes, também inferiores aos do presente estudo. Pelo método do radical ABTS os valores relatados por autores variaram de 56,5 a 1823,5 µmol Trolox.g^{-1} (KUSKOSKI et al., 2005; FREIRE et al., 2013) para frutos maduros, evidenciando ampla variação. Para as acerolas verdes, valores superiores também foram reportados por Moura (2010), entre 984,27 e 1209,76 µmol Trolox.g^{-1} em pó de acerola verde atomizado.

Os resultados de FRAP obtidos no presente trabalho foram de 498,2 e 1016 µmol Trolox.g^{-1} para extratos de frutos maduros e verdes, respectivamente. Foram encontrados trabalhos somente para acerola madura, com uso de outro método, de 141,8 e 148 µmol Trolox.g^{-1} (MALINOWSKA; GLISZCZYNSKA-SWIGLO; SZYMUSIAK, 2014; RUFINO et al., 2010, respectivamente). A acerola verde foi a que apresentou novamente valores relativamente mais elevados que a madura, nas condições do presente estudo.

A atividade antioxidante determinada pelo método de ORAC foi de 16,97 µmol Trolox.g^{-1} para acerola madura e 26,27 µmol Trolox.g^{-1} para verde. Mezadri et al., (2008) avaliaram diferentes processamentos de acerolas maduras e encontraram valores de 34,58 a 50,57 µmol Trolox.g^{-1} para frutos maduros. Delva e Schneider (2013) compararam frutos com diferentes estádios de maturação e diferentes tipos de extração, encontrando cerca de 40 µmol Trolox.g^{-1} para frutos maduros e 48 µmol Trolox.g^{-1} para frutos verdes liofilizados, sendo a verde significativamente maior que a acerola madura.

Como observado para todas as análises avaliadas, os frutos verdes apresentam significativa atividade antioxidante, o que permite concluir que é uma matéria-prima com grande potencial de uso na obtenção de novos ingredientes. As diferenças encontradas entre o presente trabalho e os demais estudos são decorrentes das diferenças entre os métodos de extração, processamentos dos frutos, além disso, podem estar associados as diferenças de condições de cultivos e diferenças de genótipos entre os frutos avaliados.

3.4.4. Quantificação de ácido ascórbico e compostos fenólicos por CLAE dos extratos otimizados

Os resultados para a composição de alguns principais compostos fenólicos e de ácido ascórbico das amostras de acerola madura e verde estão descritos na Tabela 14.

Tabela 14. Composição de principais compostos fenólicos (ug.g^{-1} acerola liofilizada) e ácido ascórbico (mg.g^{-1} acerola liofilizada) para acerola madura e verde

Padrões		Acerola madura*	Acerola verde*
Ácido ascórbico	mg.g^{-1}	36,12	152,2
Ácido clorogênico	ug.g^{-1}	9,58	11,3
Ácido *p*-cumárico	ug.g^{-1}	2,7	3,0
Ácido ferúlico	ug.g^{-1}	0,7	0,85

*Resultados expressos em base seca (g de acerola liofilizada).

Como observado, os valores determinado por CLAE para o teor de ácido ascórbico nos extratos obtidos nas condições otimizadas foi de 36,12 e 152,5 mg.g^{-1} para frutos maduros e verdes, respectivamente. Em base úmida, convertendo os valores de acordo com a umidade da acerola madura (TACO, 2011), os valores poderiam representam cerca de 3,4 e 14,45 mg. g^{-1} de ácido ascórbico, para frutos maduros e verde, respectivamente. Valores próximos a este estudo foram determinado por Delva e Goodrich-Schneider (2013) a partir da extração em frutos liofilizados, sendo 4,05 mg.g^{-1} para frutos maduros e 11,6 mg.g^{-1}em frutos verdes. Mezadri et al (2008), determinaram a concentração de ácido ascórbico por cromatografia em diferentes formas de processamento da acerola madura, variando de 0,42 a 14,5 mg.g^{-1} para sucos, polpas, frutos espremidos e esmagados. Valores superiores de ácido ascórbico foram encontrados por Itoo; Aiba e Ishihata (1990), com média de 15 mg.g^{-1} para frutos maduros e de 24,5 mg.g^{-1} para os verdes. Como observado, os valores para os frutos verdes foram superiores. Durante o processo de amadurecimento dos frutos a concentração de ácido ascórbico se reduz, porém há o aumento de outros compostos como carotenoides, açúcares solúveis e o aumento do ratio, que é a relação entre sólidos solúveis e acidez titulável (MOHAMMED, 2011).

Diante do exposto no presente trabalho, para as condições selecionadas, pode destacar as grandes diferenças entre os trabalhos realizados com o fruto acerola. Isto se deve a diferentes fatores, como as condições ambientais, cultivares, manejos (CHITARRA; CHITARRA, 2005), bem como as formas de extração, visto que no presente trabalho a extração foi otimizada para a obtenção de um extrato com elevada atividade antioxidante, o que pode resultar nas diferenças encontradas entre os estudos.

Os principais ácidos hidroxicinâmicos (como o ácido clorogênico, *p*-cumárico e ferúlico) identificados anteriormente em estudos com a acerola (VENDRAMINI; TRUGO, 2004; DELVA; GOODRICH-SCHNEIDER, 2013) foram quantificados no presente estudo, sendo os frutos verdes (11,3, 3,0 e 0,85 ug.g^{-1}, respectivamente) apresentaram valores maiores que os frutos maduros (9,58, 2,7 e 0,7 ug.g^{-1}, respectivamente). O ácido clorogênico apresentou elevada concentração em relação aos compostos avaliados. Autores relataram que em alguns frutos o teor de fenólicos, como o ácido clorogênico, sofre redução com a maturação dos frutos (BOYER, LIU, 2004; AWAD et al., 2001), o mesmo pode estar relacionado ao ocorrido no presente trabalho.

3.5. Conclusões

A otimização da extração por meio da Metodologia de Superfície de Resposta permitiu a obtenção de extratos com elevada atividade antioxidante e teores de compostos fenólicos. Para os frutos maduros a proporção amostra:solvente otimizada foi de 1:30, e para frutos verdes foi de 1:40. O tempo não foi significativo na extração dos compostos de interesse de ambas amostras, sendo determinado 10 minutos de extração como ideal, com base na produtividade que essa redução representa em um possível processo em escala industrial.

Os extratos de frutos verdes apresentaram atividade antioxidante superior aos de frutos maduros, bem como maior teor de compostos fenólicos totais. A quantificação de ácido ascórbico e fenólicos (ácido clorogênico, *p*-cumárico e ferúlico) entre os frutos também foram superiores nos extratos de frutos verdes. Diante dos resultados, os frutos verdes apresentam-se como matéria-prima promissora como fonte de antioxidantes naturais.

REFERÊNCIAS

ARAÚJO, P. S. R. de; MINAMI, K. **Acerola.** Campinas: Fundação Cargill, 1994. 81p.

ASSIS, S. A.; LIMA, D. C.; DE FARIA OLIVEIRA, O. M. M. Activity of pectinmethylesterase, pectin content and vitamin C in acerola fruit at various stages of fruit development. **Food Chemistry**, v. 74, n. 2, p. 133–137, 2001.

AWAD, M. A; JAGER, A.; WESTING, L. M. V. Flavonoid an chlorogenic acid levels in apple fruit: characterisation of variation. **Science Horticulturae**, n. 83, p. 249-263, 2001.

BOYER, J.; LIU, R. H. Apple phytochemicals and their health benefits. **Nutritional Journal**, v.3, n.1, p. 5-19, 2004.

BRAND-WILLIAMS; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. **Food Science & Technology**, v. 28, p. 25–30, 1995.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças**: fisiologia e manuseio. 2. ed. rev. e ampl. Lavras: UFLA, 2005. 783 p.

CRUZ, R. G. **Atividade antioxidante de extratos vegetais**: **estudo das condições de extração e aplicação em sistema lipídico**. 2014. Dissertação de Mestrado. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP, 2014, 97p.

DÁVALOS, A.; GÓMEZ-CORDOVÉS, C.; BARTOLOMÉ, B. Extending Applicability of the Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC-Fluorescein) Assay. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 1, p. 48–54, 2004.

DELVA, L.; GOODRICH-SCHNEIDER, R. Antioxidant activity and antimicrobial properties of phenolic extracts from acerola (Malpighia emarginata DC) fruit. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 48, n. 5, p. 1048–1056, 2013.

FLOEGEL, A; KIM, D.O.; CHUNG, S. J.; KOO, S.I.; CHUN, O. K. Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 24, n. 7, p. 1043–1048, 2011.

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

HANAMURA, T.; HAGIWARA, T.; KAWAGISHI, H. Structural and functional characterization of polyphenols isolated from acerola (Malpighia emarginata DC) fruit. **Bioscience Biotechnology, and Biochemistry**, v.69, n.2, p. 280–286. 2005.

HOSSEINZADEH, R.; KHORSANDI, K.; HEMMATY, S. Study of the effect of surfactants on extraction and determination of polyphenolic compounds and antioxidant capacity of fruits extracts. **PLoS One**, v. 8, n.3, e.57353, 2013.

ITOO, S. ; AIBA, M. ; ISHIHATA, K. Comparison of ascorbic acid content in acerola fruit from different production region depend on degree of maturity, and it's stability by pocessing. **Nipon Shokuhim Kogyo Gakkaishi**, v.37, n.9, p.726- 729, 1990.

KIM, D. O.; LEE, K. W.; LEE, H. J.; LEE, C. Y. Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolic phytochemicals. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 13, p. 3713–3717, 2002.

KUSKOSKI, E.M.; ASUERO, A.G.; TRONCOSO, A.M.; MANCINI-FILHO, J.; FETT, R. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos,** v,25, n.4, p.726-732, 2005.

LE, H. VAN; LE, V. V. M. Comparison of enzyme-assisted and ultrasound-assisted extraction of vitamin C and phenolic compounds from acerola (*Malpighia emarginata* DC.) fruit. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 47, n. 6, p. 1206–1214, 2012.

LIMA, V. L. A. G. et al. Total phenolic and carotenoid contents in acerola genotypes harvested at three ripening stages. **Food Chemistry**, v. 90, n. 4, p. 565–568, 2005.

MALINOWSKA, P.; GLISZCZYNSKA-SWIGŁO, A.; SZYMUSIAK, H. Protective effect of commercial acerola, willow, and rose extracts against oxidation of cosmetic emulsions containing wheat germ oil. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v.116, n.11,p. 1553–1562, 2014.

MEZADRI, T.; VILLAÑO, M. S.; FERNANDEZ-PACHON, M. S.; GARCIA-PARRILLA, M.C.; TRONCOSO, A.M. Antioxidant compounds and antioxidant activity in acerola (Malpighia emarginata DC.) fruits and derivatives. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 21, n. 4, p. 282–290, 2008.

MOHAMMED, M. **Acerola** (Malpighia emarginata DC.) IN: YAHIA, E. Postharvest Biology And Techonology Of Trofical And Subtropical Fruits: Açaí to citrus. Chapter 2, V. 2 p. 27-47. 2011. 532p.

MOURA, M. S. **Estabilidade de acerola em pó oriunda de cultivo orgânico.** 2010. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE, 2010, 112p.

MYERS, R. H.; MONTGOMERY, D. C.; ANDERSON-COOK, C. M. **Response surface methodology**: Process and product optimization using designed experiments (3ed.). New York: Wiley . 2009. 680p.

PRADO, A. **Composição fenólica e atividade antioxidante de frutas tropicais**. Dissertação de Mestrado. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba SP, 2009, 106p.

PRIOR, R. L.; HOANG, H.; WU, X.; BACCHIOCCA, M.; HOWARD, L.; HAMPSCH-WOODILL, M.; HUANG, D.; OU, B.; JACOB, R. Assays for hydrophilic and lipophilic antioxidant capacity (oxygen radical absorbance capacity (ORACFL)) of plasma and other biological and food samples. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 11, p. 3273–3279, 2003.

PRIOR, R.L.; WU, X.; SCHAICH, K. Standarized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. **methods of enzimology**, v. 53, n. 10, p. 152–178., 2005.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant Activity Applying an Improved Abts Radical Cation Decolorization Assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, n. 9, p. 1231–1237, 1999.

RIGHETTO, A. M.; NETTO, F.M.; CARRARO, F. Chemical Composition and Antioxidant Activity of Juices from Mature and Immature Acerola (*Malpighia emarginata* DC). **Food Science and Technology International**, v. 11, n. 4, p. 315–321, 2005.

RIGHETTO, A.M. **Caracterização físico-química e estabilidade de suco de acerola verde microencapsulado por atomização e liofilização**. 2003. Tese de Doutorado. Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 2003, 178 p.

RUFINO, M. D. S. M.; ALVES, R. E; BRITO, E. S.; MORAIS, S. L.; SAMPAIO, C.G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pelo Método de Redução do Ferro (FRAP). **Comunicado técnico**, v. 125, p. 1–4, 2006.

RUFINO, M.S.M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; PÉREZ-GIMENÉZ, J.; SAURA-CALIXTO, F.; MANCINI-FILHO, J. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v.121, p.996-1002, 2010.

SCALZO, R. L. O. Organic acids influence on DPPH scavenging by ascorbic acid. **Food Chemistry**, v. 107, n. 1, p. 40–43, 2008.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteau reagent. **Methods in Enzymology**, v. 299, p. 152-178, 1999.

SINGLETON, V.L.; ROSSI, J.A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, n. 3, p. 144-158. 1965.

SOUSA, M. S. B.; VIEIRA, L. M.; LIMA, A. Fenólicos totais e capacidade antioxidante in vitro de resíduos de polpas de frutas tropicais Total. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 14, n. 3, p. 202–210, 2011.

STAT SOFT, INC. STATISTICA (data analysis software system), version 13. Disponivel: www.statsoft.com. 2015.

TACO. **Tabela brasileira de composição de alimentos**. NEPA/UNICAMP, 4ed., Campinas, 2011, 161p.

TOMÁS-BARBERÁN, F.; & ESPÍN, J. C. (2001). Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality of fruits and vegetables. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 81, n.9, p. 853–876, 2001.

VENDRAMINI, A. L. A.; TRUGO, L. C. Phenolic compounds in acerola fruit (Malpighia punicifolia, L.). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 15, n. 5, p. 664–668, 2004.

VIEIRA, L. M.; SOUSA, M. S. B.; MANICINI-FILHO, J; LIMA, J. A. Total Phenolics and Antioxidant Capacity “in Vitro” of Tropical Fruit Pulps. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.33, n.3, p. 888-897, 2011.

4. OBTENÇÃO DE MICROPARTÍCULAS DE EXTRATO DE ACEROLA VERDE

RESUMO

A técnica de microencapsulação por *spray drying* pode contribuir para maior estabilidade de compostos antioxidantes, além de permitir a liberação controlada de compostos de interesse e facilidade da aplicação em alimentos. Dessa forma, o presente trabalho objetivou obter micropartículas de extrato de frutos verdes de acerola com diferentes materiais encapsulantes (maltodextrina e goma arábica) pelo método de *spray drying* e avaliar a estabilidade de ácido ascórbico e atividade antioxidante após a atomização. Foram adicionados a maltodextrina ou goma arábica (6%) no extrato aquoso de frutos verdes de acerola obtido sob condições otimizadas (1:40 – m:V, 10 minutos de extração) e submetidos a atomização. Foram determinados a concentração de ácido ascórbico por CLAE, o teor de compostos fenólicos totais (CFT) e a atividade antioxidante por DPPH e ABTS. Os resultados mostraram que ambas as micropartículas apresentaram baixa umidade, atividade de água e alta solubilidade. A menor higroscopicidade foi encontrada para micropartículas com adição de maltodextrina. As partículas apresentaram diâmetros entre 0,87 a 0,91 µm, o que é desejável, pois contribuem com melhor solubilidade. Ambas apresentaram características tecnológicas interessantes, mas a de goma arábica foi a que se destacou pelo elevado rendimento de processo, maior proteção ao ácido ascórbico e manutenção da atividade antioxidante.

Palavras-chaves: Microencapsulação; Goma arábica; Maltodextrina; Atividade antioxidante; Acerola verde

ABSTRACT

The technique of microencapsulation by spray drying can contribute to greater stability of antioxidants compounds, besides allowing controlled release of compounds of interest and ease of applications in food. Thus, the present work aimed to obtain microparticles of green acerola extract with different encapsulating materials (maltodextrin and gum arabic) by the spray drying method and to evaluate the stability of ascorbic acid and antioxidant activity after the atomization. Maltodextrina and gum arabic (6%) were added to the aqueous green acerola extracts under optimized conditions (1:40 – m:V, 10 minutes) and submitted to atomization. The concentration of ascorbic acid by HPLC, total phenolic compounds content (TPC) and antioxidant activity by DPPH and ABTS were determined. The results showed that both microparticles presented low moisture and water activity and high solubility. The lowest hygroscopicity was found for microparticles with addition of maltodextrin. The particles had diameters between 0.87 and 0.91 µm, which is desirable because they contribute with better solubility. Both presented interesting technological characteristics, but the gum arabic microparticles was the one that presented a high yield, greater protection of ascorbic acid and maintenance of the antioxidant activity.

Keywords: Microencapsulation; Gum arabic; Maltodextrin; Antioxidant activity; Green acerola

4.1. Introdução

A acerola (*Malpighia emarginata*) é conhecida como uma fruta originária das Antilhas, América do Sul e Central, a qual tem grande aceitação no mercado global (DELVA; GOODRICH-SCHNEIDER, 2013). Sua composição confere à fruta elevada atividade antioxidante, que pode variar com o estádio de maturação. O estádio verde apresenta maior atividade antioxidante, relacionada as maiores concentrações de ácido ascórbico e compostos fenólicos (DELVA; GOODRICH-SCHNEIDER, 2013; LIMA et al., 2005; CARVALHO; MANICA, 1994). Tais compostos são instáveis, o que torna difícil a extração e a estabilização de produtos a base de acerola com foco em

propriedades antioxidantes (ÇAM; ICYER; ERDOGAN, 2014; YANG et al., 2003). Dessa forma, para que ocorra maior estabilidade dos compostos, facilidade em aplicações e redução de custos com armazenamento, técnicas de secagem podem ser empregadas (KRISHNAIAH; NITHYANANDAM; SARBATLY, 2014). A atomização ou microencapsulação por *spray drying* consiste em um processo de secagem em que ocorre a transformação de um produto líquido ou fluído em um pó, por meio da aspersão. Durante o processo, o líquido é aspergido pelo bico atomizador e ao entrar em contato com ar quente, ocorre a secagem rápida dessas partículas e consequente a formação de um pó (COSTA et al, 2015). O tempo de secagem é considerado curto, comparado a processos convencionais de secagem (KRISHNAIAH; NITHYANANDAM; SARBATLY, 2014). Para garantir a proteção de compostos bioativos presente nos materiais, bem como uma secagem mais rápida e uniforme, são utilizados materiais encapsulantes, como proteínas, gomas, polissacarídeos, entre outros. A maltodextrina e a goma arábica são materiais comumente aplicados no processo de microencapsulação, os quais possuem características que contribuem com a estabilidade dos produtos encapsulados e de fáceis aplicações pela obtenção de partículas muito pequenas (RIGHETTO; NETTO, 2005).

O processo de atomização permite que as micropartículas obtidas de extratos de frutas possam ser aplicadas com inúmeras funções, como a preservação de compostos bioativos (FIGUEIREDO; GRANDIM; MARTUCCI, 2001), vitaminas e minerais, retenção de aromas; redução de sabores fortes e/ou adstringentes e também permitem a liberação controlada de compostos, o que depende de cada material utilizado no processo (COSTA et al., 2015; SHAHIDI; HAN, 1993).

Diante do exposto, o presente estudo teve como objetivo a obtenção de micropartículas de extrato aquoso de frutos verdes de acerola com diferentes agentes encapsulantes (maltodextrina e goma arábica), avaliação da estabilidade de ácido ascórbico e da atividade antioxidante após a atomização, visando aplicações futuras como um antioxidante natural em alimentos.

4.2. Material e Métodos

4.2.1. Obtenção dos extratos

Frutos verdes de acerola utilizados para o preparo dos extratos foram fornecidos pela Associação Agrícola de Junqueirópolis, localizada no munícipio de Junqueirópolis, (21° 30’ 52” S, 51° 26’ 01” O), São Paulo, Brasil, em setembro de 2016. Os frutos congelados a -80°C foram liofilizados (Liobras,Liotop L-101, Brasi), triturados e armazenados em sacos plásticos cobertos por sacos metalizados a -28 °C ± 1 até o preparo dos extratos.

Os extratos foram preparados de acordo com a prévia otimização (Capítulo 3). A proporção de acerola verde liofilizada dispersa em água foi de 1:40 (m:V), seguida de agitação em banho-maria (Nova Instruments, Dubnoff, Brasil) a 35°C, por 10 minutos a 200 rpm. Posteriormente as soluções obtidas foram centrifugadas a 5000 g (Hettich, 320/320R, Alemanha) por 20 minutos a 4°C e em seguida, filtradas em papel qualitativo (Qualy) e armazenadas em frascos âmbar a -28°C ± 1.

4.2.2. Obtenção das micropartículas

O extrato de frutos verdes de acerola foi então submetido a atomização por *spray dryer*. Para isso, foi adicionada proporção de 6% de material encapsulante ao extrato para a produção de micropartículas de goma arábica e micropartículas de maltodextrina (TONON; BRABET; HUBINGER, 2010). Para cada processo foi utilizado 2 litros de extrato, sendo o processo realizado em duplicata. Os agentes encapsulantes utilizados foram a goma arábica, fornecida pela Nexira Brazil Comercial Ltda.(São Paulo, Brasil) e maltodextrina MOR-REX 1920®, fornecida pela Matrix Ingredientes (São Paulo, Brasil). As misturas foram homogeneizadas em agitador magnético (IKA, Color squid, Estados Unidos) até completa solubilização, e em seguida foram atomizadas em *spray dryer* (Eikonal, LM MSD 1.0, Brasil). Para atomização foi utilizando bico aspersor de 1,2 mm, temperatura de entrada de 140°± 2 e temperatura de saída de 80°C ± 2, sendo a vazão de $1L^{-1}$ h. Os pós resultantes foram armazenados em recipientes de vidros a -28°C ± até o momento das análises e aplicação.

4.2.3. Caracterização das micropartículas

4.2.3.1. Umidade e atividade de água (aw)

A umidade das micropartículas foi determinada em analisador de umidade com lâmpada halógena (Ohaus, MB35, USA). Foram adicionadas cerca de 0,5 g de amostra no equipamento e submetidas ao aquecimento da lâmpada até atingir 105°C e peso constante. Os valores da umidade foram dados em porcentagem pelo analisador. Para a determinação da atividade de água foi utilizado um analisador de atividade de água de bancada (Decagon, Aqualab Lite, EUA).

4.2.3.2. Solubilidade

A solubilidade das micropartículas foi determinada segundo a metodologia descrita por Eastman e Moore (1984), com modificações realizadas por Cano-Chauca et al. (2005). Foi adicionado cerca de 1g de pó em 100 mL de água destilada a temperatura ambiente. A dispersão foi agitada em agitador magnético por cerca de 5 minutos a 400 rpm (IKA RH, digital KT/C, Alemanha). A solução foi centrifugada a 3000×g por 5 minutos (Hettich, 320/320R, Alemanha) a 20°C. Alíquotas de 25 mL foram transferidas em cadinhos previamente pesados. Posteriormente, foram colocados em estufa a 105°C por 5 horas. A solubilidade foi determinada pela diferença de peso e expressas em g 100^{-1} g de água.

4.2.3.3. Higroscopicidade

A higroscopicidade das micropartículas foi determinada conforme metodologia descrita por Cai e Corke (2000). Foram colocados 2 g de micropartículas em placas de Petri previamente taradas e estas foram armazenados em dessecador com solução saturada de Sulfato de Sódio (81RH), o

qual permaneceu por 7 dias, a 25 °C controlada por B.O.D (Tecnal, TE-391, Brasil). Após esse tempo, foram pesadas novamente e os resultados expressos em g de água absorvida por 100g de sólidos secos.

4.2.3.4. Diâmetro médio e distribuição do tamanho das partículas

As micropartículas foram avaliadas de acordo com o diâmetro e a distribuição do tamanho das partículas por difração a Laser (SHIMADZU, SALD 201V, Japão). Para essa análise, uma pequena quantidade de amostra foi dispersa em etanol PA e imediatamente analisada no equipamento a temperatura ambiente. Os diâmetros foram dados em micrômetros (µm).

4.2.3.5. Morfologia das micropartículas por microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A estrutura e Morfologia das micropartículas foi analisada utilizando um microscópio eletrônico de varredura (MEV) (Hitachi, TM 3000, Japão) com vácuo e captação de imagem. As amostras foram colocadas em pequenas quantidades em uma fita dupla-face no suporte do equipamento. As estruturas foram observadas com aumento de 1000 e 4000 vezes e voltagem de 15kV.

4.2.4. Quantificação de ácido ascórbico por CLAE

A quantificação de ácido ascórbico dos extratos aquosos e das micropartículas foram realizadas por CLAE de acordo com Vendramini e Trugo (2004), com modificações. Foi utilizada uma coluna C_{18} Phenomenex® (dimensões 4,6 x 250mm- 5µm) com detector de arrajo de diodo (UV/VIS) (Agilent HP, serie 1100, Estados Unidos). Na fase móvel foi empregada um gradiente de citrato trissódico (0,01M) (solvente A) e metanol, como solvente B, sendo a eluição da seguinte ordem: 100% do solvente A; seguido de 30% solvente A e 70% solvente B; e por último 10% de solvente A e 90% do solvente B. Os extratos otimizado e os extratos das micropartículas foram filtrados em membranas de 0,45 µm. Em seguida, foram injetados para a quantificação de ácido ascórbico. A quantificação foi realizada por curva de padronização para o ácido ascórbico e a corrida foi realizada nos comprimentos de 275nm.

4.2.5. Teor de compostos fenólicos totais (CFT) e atividade antioxidante

O teor de compostos fenólicos foi quantificado conforme metodologia descrita por Singleton e Rossi (1965) e Singleton, Orthofer e Lamuela-Raventos (1999) pela metodologia de Folin-Ciocalteau. A concentração da solução de carbonato de sódio e de Folin-Ciocalteau foi de 7,5% e 10%, respectivamente. Foram adicionados em tubos de ensaio 500 µL de amostra, 2,5 mL de

reagente de Folin-Ciocalteau e 2,0 mL de Carbonato de Sódio. A leitura foi realizada em espectrofotômetro (Shimadzu UV Mini 1240, Japão) ao comprimento de 760 nm após 2 horas de reação. A curva padrão foi determinada em ácido gálico e os resultados foram expressos em mg de ácido gálico por g de amostra.

A atividade antioxidante foi avaliada pelo método do sequestro do radical DPPH (1,1-diphenyl-2–picryl-hydrazy) de acordo com a metodologia de Brand-Williams; Cuvelier e Berset (1995). Em tubos de ensaio foram adicionados 500 µL de amostra, 3 mL de etanol e 300 µL da solução de DPPH. Em seguida foram agitados e acondicionados ao abrigo da luz, em temperatura ambiente por 45 minutos. Após o tempo de reação, a leitura foi realizada em espectrofotômetro a 515 nm e os resultados foram expressos em µmol de equivalente ao Trolox por grama de amostra. A atividade antioxidante pela captura do radical 2,2-*azino-bis 3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic* (ABTS), foi determinada pela metodologia descrita por Re et al. (1999) cujo radical ABTS é formado com a reação de ABTS 7mM com persulfato de potássio 140 mM. Em tubos de ensaio foram adicionados, 20 µL de amostra, 2 mL da solução de ABTS e cronometrado 6 minutos para a reação. Os resultados foram dados com leitura a 734 nm em espectrofotômetro (Shimadzu UV Mini 1240, Japão) e expressos em µmol de Trolox por grama da amostra.

4.3. Análise Estatística

Os dados foram apresentados com médias e desvio padrão das três repetições realizadas para cada processo. Todos os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e teste Tukey ($p<0,05$) para a comparação dos materiais encapsulantes com o auxílio do software SPSS 15.0 (SPSS Inc, Chicago, EUA).

4.4. Resultados e Discussão

4.4.1. Caracterização das micropartículas

Os resultados das análises que compõem a caracterização das micropartículas estão expostos na Tabela 15. Como observado, os valores de umidade e atividade de água para ambos os materiais não apresentaram diferenças significativas. A umidade das amostras está dentro do avaliado por autores que trabalharam com suco de acerola verde microencapsulado, tanto para maltodextrina (3,17%) como goma arábica (6,39%) (RIGHETTO; NETTO, 2005) e polpa de acerola com goma de caju (3,09 - 5,43%) (MOREIRA et al., 2009). Apesar dessa concordância entre resultados, Tonon; Freitas e Hubinger (2011) encontraram valores inferiores a 2,9% com uso de diferentes temperaturas de entrada no *spray dryer* e diferentes materiais encapsulantes, sendo que as temperaturas mais elevadas resultaram em menores conteúdos de umidade. Segundo Rajabi et al. (2015), a umidade também está relacionada a concentração do material de parede: quanto maior a concentração, menor pode ser a umidade. A atividade de água das micropartículas encontra-se baixa (0,31-0,32), o que está dentro do esperado para produtos desidratados, reduzindo preocupações

quanto ao desenvolvimento de microrganismos patógenos (BEUCHAT et al., 2013). Além disso, valores entre 0,2 e 0,4 podem apresentar boa estabilidade, reduzindo as taxas de oxidação de produtos encapsulados (SERRIS; BILIADERIS, 2001).

Tabela 15. Caracterização das micropartículas obtidas de extratos aquosos de acerola verde com goma arábica e maltodextrina

	Micropartículas	
Características	**MG***	**MM***
Umidade (%)	5,43 ± 0,8[a]	5,21 ± 0,37[a]
Atividade de água	0,32 ± 0,02[a]	0,31 ± 0,01[a]
Solubilidade (g 100^{-1} g)	91,87 ± 0,73[b]	97,85 ± 0,6[a]
Higroscopicidade (g 100^{-1} g)	24,6 ± 0,6[a]	20,70 ± 0,11[b]
Rendimento (%)	61,60 ± 2,08[a]	38,95 ± 0,45[b]

* MG (micropartículas de goma arábica); MM (micropartículas de maltodextrina).

A micropartícula que apresentou maior solubilidade e menor higroscopicidade foi a de maltodextrina (97,85%). Autores relataram uma alta solubilidade com maltodextrina, seguida da goma arábica, ambas acima de 90% em suco de manga (CANO-CHAUCA, et al, 2005). Em sucos de cereja microencapsulados foram apresentados valores inferiores ao presente estudo de solubilidade, sendo que para a goma arábica a solubilidade também foi menor (GAROFULIC et al, 2016). A menor higroscopicidade dada para a micropartícula de maltodextrina também foi relatada por Ferrari et al. (2012) e Garofulic et al. (2016), com micropartículas de suco de amora e de cereja, respectivamente, avaliando ambos materiais encapsulantes. Diversos fatores podem interferir nas características das micropartículas, como a concentração de material encapsulante, temperatura de entrada do processo (TONON; BRABET; HUBINGER, 2009), bem como os diferentes agentes utilizados (GAROFULIC et al., 2016), o que deve ser avaliado para cada processo em estudo.

O rendimento das micropartículas produzidas com goma arábica foi superior ao observado com maltodextrina. Segundo Bhandari et al (1993), um rendimento superior a 50% em um processo de microencapsulação é considerado viável para a produção. Entre os fatores que podem reduzir esse rendimento, está o uso de baixas concentrações de material encapsulante, uma vez que reduzem a densidade, viscosidade e a temperatura de transição vítrea (FERNANDES et al., 2014; MASTERS, 1991), contribuindo com elevado depósito na câmara interna de secagem (TONTUL; TOPUS, 2017). As propriedades da goma arábica como um agente emulsificante (DICKINSON, 2003) pode ter contribuído com o aumento de densidade (OSORIO; FORERO; CARRIAZO, 2011) e como consequência, o aumento do rendimento no presente estudo.

4.4.2. Diâmetro médio e distribuição do tamanho das partículas

A média de diâmetro para as micropartículas formuladas com goma arábica foi de 0,91 ± 0,21 µm e para as micropartículas formuladas com maltodextrina, 0,87 µm ± 0,19. A distribuição de

partículas para cada formulação estão expostas na Figura 13. As micropartículas não apresentaram diferenças significativas e ambas apresentaram um modelo assimétrico.

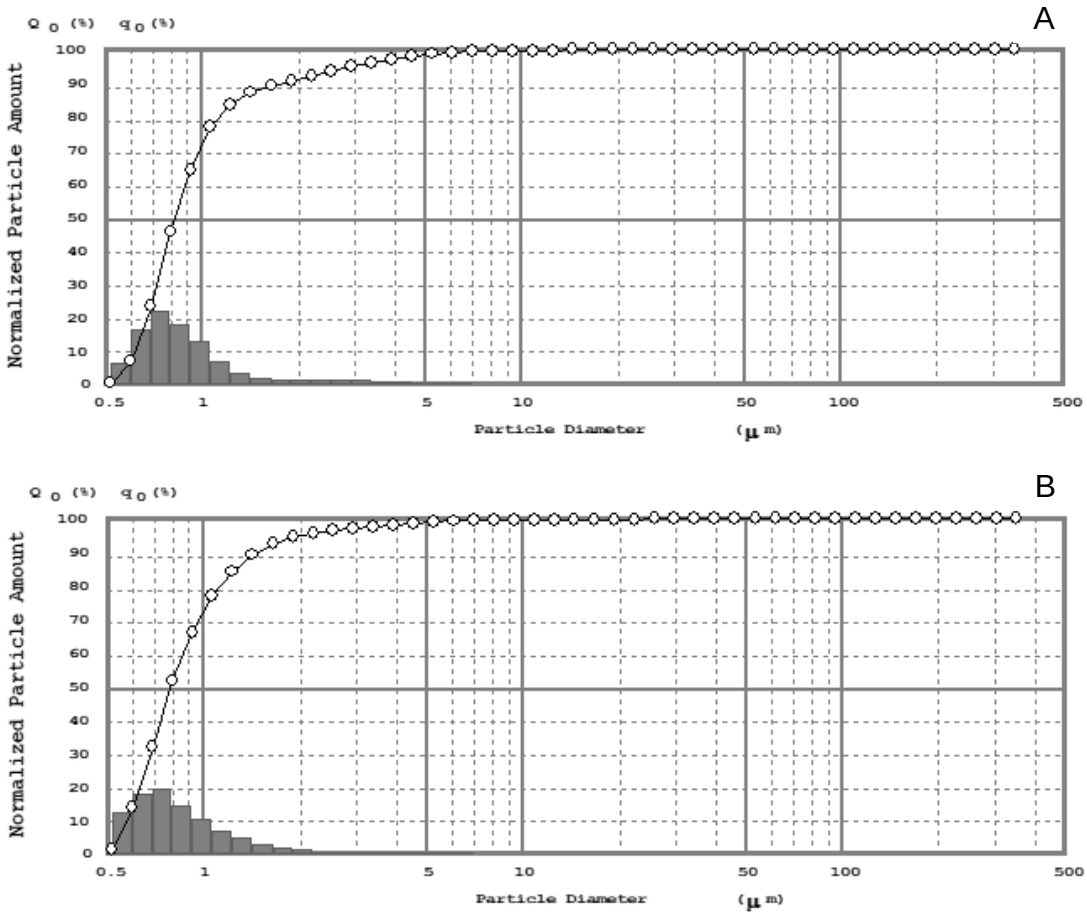


Figura 13. Distribuição de partículas das micropartículas de goma arábica (A) e maltodextrina (B)

As partículas são relativamente pequenas quando comparado com demais estudos que trabalharam com ambos os agentes encapsulantes, o que pode estar relacionado a concentração dos materiais encapsulantes adicionados. Segundo Silva et al., (2013), partículas pequenas são muito desejáveis para este tipo de produto, pois a solubilidade em água pode aumentar quando as partículas são reduzidas, o que pode ser interessante para aplicações futuras. Este mesmo trabalho determinou uma média de 1,68 µm para maltodextrina e 2,30 µm para goma arábica em polpa de camu-camu com concentração de 15% de material encapsulante.

Tonon, Brabet e Hubinger (2008), mostraram que elevadas concentrações de maltodextrina pode formar tamanhos de partículas muito maiores, sendo que a variação utilizada foi de 10 a 30% de materiais em suco de açaí e obtiveram partículas de 13,3 a 21,35 µm, respectivamente, ambos superiores ao determinado no presente estudo. No caso do trabalho realizado por Righetto (2003), utilizando 20% de material encapsulante, determinou valores entre 16 e 17 µm para micropartículas de maltodextrina e entre 19 e 20 µm para as micropartículas formadas por goma arábica. Com a redução de material encapsulante, como é o caso de estudo realizado por Tonon, Brabet e Hubinger

(2010), utilizando 6% de material em sucos de açaí, a mesma adicionada no presente estudo, obteve micropartículas de 8,91 a 9,01 µm, com o uso de goma arábica e maltodextrina, respectivamente. Além disso, outra variável importante a ser discutida é a temperatura de entrada, segundo Tonon, Freitas e Hubinger (2011), o uso de temperaturas menores (140°C) contribui com a obtenção de partículas de tamanho reduzidas, apresentando tamanhos entre 10,82 a 13, 83 µm para o uso de goma arábica e de 9,28 a 12,81 µm para maltodextrina, com a variação de temperatura de 140° a 200°C, respectivamente.

4.4.3. Morfologia das micropartículas por microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A Figura 14 demonstra a estrutura avaliada por microscopia eletrônica de varredura das micropartículas produzidas a partir de extrato aquosos de acerola verde. Ambas as micropartículas apresentaram pequenas variações de tamanho, o que é considerado normal para partículas produzidas por *spray-dryer* (TONON, BRABET, HUBINGER, 2008).

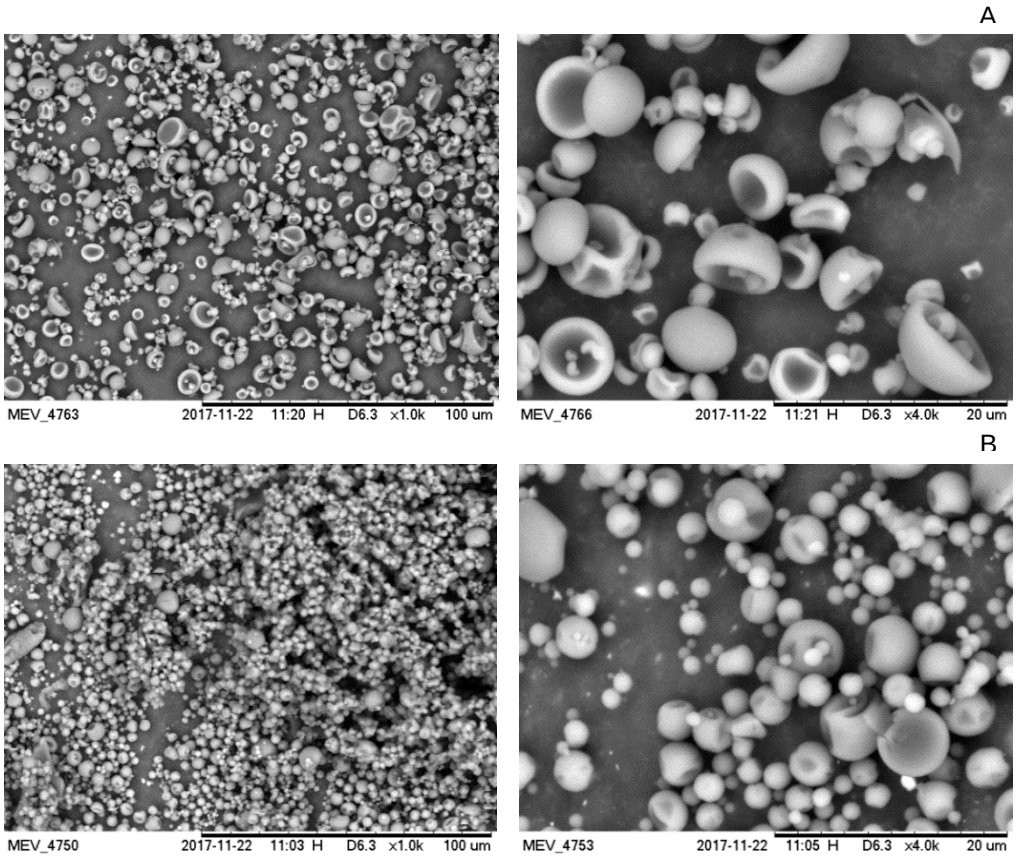


Figura 14. Morfologia por Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) das micropartículas de Goma arábica (A) e Maltodextrina (B).

As micropartículas produzidas com maltodextrina mostraram-se mais esféricas que as de goma arábica, sendo que as micropartículas formadas por goma arábica apresentaram leve enrugamento da superfície. Esse comportamento pode estar relacionado às variações de temperaturas de entrada, ou seja, temperaturas maiores são relacionadas à formação de partículas

mais lisas, já em temperaturas baixas, pode ocorrer a formação de paredes rugosas, devido à menor taxa de secagem que permite o encolhimento das partículas (TONON; FREITAS; HUBINGER, 2011). Embora a temperatura de secagem utilizada no presente trabalho tenha sido baixa (140°C) em relação a literatura consultada, ambas apresentaram superfícies lisas, principalmente, as produzidas com maltodextrina. A baixa concentração de material encapsulante, pode ter contribuído em uma secagem mais rápida, reduzindo a formação de paredes enrugadas. Segundo o trabalho de Righetto (2003), as micropartículas produzidas de extrato de acerola com maltodextrina e goma arábica obtiveram micropartículas predominantemente com paredes muito rugosas, o que pode estar relacionado a concentração dos materiais (20%), bem como a menor temperatura utilizada (120°C) no estudo, o que não aconteceu no presente trabalho.

Com as condições utilizada neste estudo, as micropartículas apresentaram uma superfície sem fissuras, o que é muito interessante, pois segundo Rocha, Fávaro-Trindade e Grosso (2012), se houvesse algum tipo de rompimento da micropartícula, poderia afetar a proteção dos compostos ativos, pelo aumento da permeabilidade de gases.

4.4.4. Quantificação de ácido ascórbico, teor de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante das micropartículas

Os teores de ácido ascórbico (AA), compostos fenólicos e a atividade antioxidante determinados para as micropartículas estão expostos na Tabela 16. As reduções observadas para as concentrações de ácido ascórbico foram de cerca de 20 e 14,5% para as micropartículas de maltodextrina e goma arábica, respectivamente, devido ao processo de microencapsulação. Aparentemente a micropartícula de goma arábica apresentou maior retenção de ácido ascórbico, mas que não foi diferente da maltodextrina ($p<0,05$). Segundo autores (SILVA et al., 2013), a elevada retenção de ácido ascórbico foi determinada em polpa microencapsulada de camu-camu com o material goma arábica.

O processo de atomização acarretou perdas de compostos após a microencapsulação para os compostos fenólicos e ácido ascórbico, o que pode ter acarretado também na observação da menor atividade antioxidante após a microencapsulação. No entanto, a perda foi maior para as micropartículas produzidas com maltodextrina para a atividade antioxidante por DPPH, mas ambas apresentaram perdas significativas para as análises por ABTS.

Tabela 16. Teores de ácido ascórbico, compostos fenólicos totais e atividade antioxidante das micropartículas de goma arábica e maltodextrina.

	Resultados *	Extrato	MG	MM
Ácido ascórbico	mg AA . 100 mg	30,82 ± 0,18	26,41 ± 0,44[a]	24,55 ± 0,45[a]
Compostos fenólicos	mg EAG. 100 mg	21,47 ± 0,1	18,8 ± 0,3[a]	17,30 ± 0,7[a]
DPPH	µmol Trolox.100 mg	118, 12 ± 5,9	94,56 ± 3,8[a]	81,98 ± 2,24[b]
ABTS	µmol Trolox.g.100 mg	150,81 ± 2,56	93,0 ± 1,8[a]	95,5 ± 2,4[a]

* Resultados expressos por 100 mg de extrato
MG – Micropartículas de goma arábica; MM- Micropartículas de maltodextrina

A perda de compostos durante o processo de atomização pode estar relacionada ao rendimento, visto que o rendimento para a maltodextrina foi inferior ao da goma arábica, bem como a proporção de material encapsulante. Segundo estudo de Moreira et al. (2009), a microencapsulação de extrato de acerola com maltodextrina (5:1) propiciou elevada retenção de compostos avaliados, como ácido ascórbico e antocianinas. O mesmo foi observado por Figueiredo, Grandim e Martucci (2001), obtendo perdas em torno de 2 a 3 % de ácido ascórbico ao longo do armazenamento durante 365 dias, utilizando a concentração de 20% de mistura de goma arábica e maltodextrina em suco de acerola verde. Perdas significativas foram observadas no trabalho de Rezende, Nogueira e Narain (2018) para compostos fenólicos e ácido ascórbico em suco de acerola microencapsulado com mistura de agentes encapsulantes (maltodextrina e goma arábica) a 10 %. Autores relacionaram diversos fatores que podem acarretar a perda dos compostos avaliados como as altas temperaturas de entrada, baixos rendimentos do processo, baixas concentrações de material encapsulante e reações oxidativas no produto (WILKOWSKA et al., 2016; MOREIRA et al., 2009; MOURE et al., 2001).

4.5. Conclusões

As micropartículas produzidas a partir do extrato aquoso de frutos verdes de acerola apresentaram características interessantes para possíveis aplicações. Os resultados mostraram que ambas as micropartículas apresentaram baixa umidade e atividade de água. Ambas apresentaram boa solubilidade, mas a com maltodextrina se destacou com cerca de 97%. A menor higroscopicidade também foi dada para a micropartícula de maltodextrina. Ambas apresentaram diâmetros entre 0,87 a 0,91 µm, o que é desejável, pois contribuem com melhor solubilidade. As micropartículas apresentaram características tecnológicas interessantes, mas a de goma arábica foi a que se destacou pelo maior rendimento de processo e maior proteção em relação às propriedades funcionais desejadas. Dessa forma, as micropartículas apresentaram propriedades interessantes, as quais devem ser avaliadas para futuras aplicações como um aditivo.

REFERÊNCIAS

BEUCHAT, L. R.; KOMITOPOULOU, E.; BECKERS, H.; BETTS, R. P.; BOURDICHON, F.; FANNING, S.; JOOSTEN, H.M; TER-KULIE, B.H. Low water activity foods: increased concern as vehicles of foodborne pathogens. **Journal of Food Protection**, n. 76, p. 150–172, 2013.

BHANDARI, B.R.; SENOUSSI, A.; DUMOULIN, E.D.; LEBERT, A. Spray drying of concentrated fruit juices. **Drying Technology**, v. 11, p.1081–92, 1993.

BRAND-WILLIAMS; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. **Food Science & Technology**, v. 28, p. 25–30, 1995.

CAI, Y. Z.; CORKE, H. Production and properties of spray dried Amaranthus Betacyanin pigments. **Journal of Food Science**, v. 65, n. 6, p. 1248-1252, 2000.

ÇAM, M.; İÇYER, N. C.; ERDOĞAN, F. Pomegranate peel phenolics: Microecapsulation, storage stability and potential ingredient for functional food development. **LWT-Food Science and Technology**, v. 55, p. 117-123, 2014.

CANO-CHAUCA, MILTON.; STRINGHETA, P. C.; RAMOS, A. M., CAL-VIDAL, J. Effect of the carriers on the microstructure of mango powder obtained by spray drying and its functional characterization. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 5, p. 420-428, 2005.

CARVALHO, R. I. N.; MANICA, I. Influência de estádios de maturação e condições de armazenamento na conservação da acerola (Malpighia glabra L.). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 29, n. 5, p. 681-688, 1994.

COSTA, S. S.; MACHADO, B. A. S.; MARTIN, A. R.; BAGNARA, F.; RAGADALI, S. A.; ALVES, A. R. Drying by spray drying in the food industry: Micro-encapsulation, process parameters and main carriers used. **African Journal of Food Science**, v. 9, n.9, p. 462–470, 2015.

DELVA, L.; GOODRICH-SCHNEIDER, R. Antioxidant activity and antimicrobial properties of phenolic extracts from acerola (Malpighia emarginata DC) fruit. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 48, n. 5, p. 1048–1056, 2013.

DICKINSON, E. Hydrocolloids at interfaces and the influence on thermoproperties of dispersed systems**. Food Hydrocolloids**, v.17, p. 25–39, 2003.

EASTMAN, J. E.; MOORE, C. O. Cold water soluble granular starch for gelled food composition. **US Patent**, n. 4, p. 465–702, 1984.

FERNANDES, R. V. B.; BORGES, S. V.; BOTREL, D. A.; & OLIVEIRA, C. R. Physical and chemical properties of encapsulated rosemary essential oil by spray drying using whey protein–inulin blends as carriers. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 49(6), p. 1522–1529, 2014.

FERRARI, C. C.; GERMER, S. P. M.; ALVIM, I. D.; VISSOTTO, F. Z.; AGUIRRE, J. M. Influence of carrier agents on the physicochemical properties of blackberry powder produced by spray drying. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 47, n. 6, p. 1237-1245, 2012.

FIGUEIRÊDO, R. M. F.; GRANDIN, A.; MARTUCCI, E. T. Armazenamento do suco de acerola microencapsulado. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 3, n. 1, p. 1-6, 2001.

GAROFULIC, I. E,; ZORIC, Z.; PEDISIC, S.; DRAGOVIC-UZELAC, V. Optimization of sour cherry juice spray drying as affected by carrier material and temperature. **Food Technology and Biotechnology**, v. 54, p. 441-449, 2016.

KRISHNAIAH, D.; NITHYANANDAM, R.; SARBATLY, R. A critical review on the spray drying of fruit extract: effect of additives on physicochemical properties. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 54, n. 4, p. 449–473. 2014.

LIMA, V. L. A. G. et al. Total phenolic and carotenoid contents in acerola genotypes harvested at three ripening stages. **Food Chemistry**, v. 90, n. 4, p. 565–568, 2005.

MASTERS, K**. Spray Drying Handbook**. 5th ed. New York, USA: Wiley, 1991, 725p.

MOREIRA, G.É.G.; MAIA COSTA, M.G.; SOUZA, A.C.R.D.; BRITO, E.S.D.; MEDEIROS, M.D.F.D.D.; AZEREDO, H.M.C.D. Physical properties of spray dried Acerola pomace extract as affected by temperature and drying aids. **LWT Food Science and Technology**, n. 42, p. 641–645, 2009.

MOURE, A.; CRUZ, J.M.; FRANCO, D.; DOMINGUEZ, J.M.; SINEIRO, J.; DOMINGUEZ, H.;, NÚÑES, M.J.; PARAJÓ, J.C. Natural antioxidants from residual sources**. Food Chemistry**, v. 72, p.145–171, 2001.

OSORIO, C.; FORERO, D.P.; CARRIAZO, J.G. Characterization and performance assessment of guava (*Psidium guajava* L.) microencapsulates obtained by spray drying**. Food Research International**, v. 44, p. 1174–1181, 2011.

RAJABI, H.; GHORBANI, M.; JAFARI, S.M.; SADEGHI, A.R.; RAJABZADEH, G. Retention of saffron bioactive components by spray drying encapsulation using maltodextrin, gum Arabic and gelatin as wall materials. **Food Hydrocolloids, v.** 51, p. 327–337, 2015.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant Activity Applying an Improved Abts Radical Cation Decolorization Assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, n. 9, p. 1231–1237, 1999.

REZENDE, Y. R. R. S.; NOGUEIRA, J. P.; NARAIN, N. Microencapsulation of extracts of bioactive compounds obtained from acerola (Malpighia emarginata DC) pulp and residue by spray and freeze drying: Chemical, morphological and chemometric characterization. **Food Chemistry**, v.254, p. 291- 291, 2018.

RIGHETTO, A.M. **Caracterização físico-química e estabilidade de suco de acerola verde microencapsulado por atomização e liofilização**. 2003. Tese de Doutorado. Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 2003, 178 p.

RIGHETTO, A. M.; NETTO, F. M. Effect of Encapsulating Materials on Water Sorption, Glass Transition and Stability of Juice From Immature Acerola. **International Journal of Food Properties**, v. 8, n. 2, p. 337–346, 2005.

ROCHA, G. A.; FÁVARO-TRINDADE, C. S.; GROSSO, C. R. F. Microencapsulation of lycopene by spray drying: Characterization, stability and application of micro- capsules. **Food and Bioproducts Processing**, v. 90, p. 37–42, 2012.

SERRIS, G. S.; BILIADERIS, C.G. Degradation kinetics of beetroot pigment encapsulated in polymeric matrices. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.81, n.8, p. 691-700, 2001.

SHAHIDI, F; HAN, X. Q. Encapsulation of food ingredients. **Critical Review in Food Science and Nutrition**, v. 33, p. 501–547, 1993.

SILVA, N. K.; CORNEJO, F.E.P.; GOMES, F.S.; PONTES, S.M.; MATTA, V.M.;FREITAS, S.P. Influence of shell material on vitamin C content, total phenolic compounds, sorption isotherms and particle size of spray-dried camu-camu juice. **Fruits**, v. 68, p. 175-183, 2013.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteau reagent. **Methods in Enzymology**, v. 299, p. 152-178, 1999.

SINGLETON, V.L.; ROSSI, J.A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, n. 3, p. 144-158. 1965.

TONON, R. V.; BRABET, C.; HUBINGER, N. D. Influence of process conditions on the physicochemical properties of ac¸ ai (Euterpe oleraceae Mert.) powder produced by spray drying. **Journal of Food Engineering**, v. 88, p. 411–418, 2008.

TONON, R. V.; BRABET, C.; HUBINGER, M. D. Anthocyanin stability and antioxidant activity of spray-dried açaí (Euterpe oleracea Mart.) juice produced with different carrier agents. **Food Research International**, v. 43, p. 907−914, 2010.

TONON, R. V.; FREITAS, S. S.; HUBINGER, M. D. Spray drying of açai (Euterpe oleraceae Mart.) juice: Effect of inlet air temperature and type of carrier agent. **Journal of Food Processing and Preservation**, v; 35, p. 691-700, 2011.

TONON, R.; BRABET C.; HUBINGER, N. Influence of drying air temperature and carrier agent concentration on the physicochemical properties of açaí juice powder. **Ciência e Tecnologia de Alimentos,** v. 29, n. 9, p. 444-450, 2009.

TONTUL, I.; TOPUZ, A. Spray-drying of fruit and vegetable juices: Effect of drying conditions on the product yield and physical properties**. Trends of Food Science and Technoogy**, v. 63, p. 91–102, 2017.

VENDRAMINI, A. L. A.; TRUGO, L. C. Phenolic compounds in acerola fruit (Malpighia punicifolia, L.). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 15, n. 5, p. 664–668, 2004.

WILKOWSK, W.; AMBROZIAK, A.; CZYŻOWSKA, J; ADAMIEC. Effect of microencapsulation by spray-drying and freeze-drying technique on the antioxidant properties of blueberry (Vaccinium myrtillus) juice polyphenolic compounds. **Polish Jounal of Food Nutrition Sciences**, v. 66, p. 11–16, 2016.

YANG, J.H.; LEE, S.Y., HAN, Y.S.; PARK, K.C.; CHOY, J.H. Efficient transdermal penetration and improved stability of L-ascorbic acid encapsulated in an inorganic nanocapsule. Bull. **Korean Chemical Society**, v. 24, p. 499–503, 2003.

5. APLICAÇÃO DE EXTRATO DE ACEROLA VERDE MICROENCAPSULADO EM SISTEMA MODELO DE EMULSÃO

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo determinar a estabilidade oxidativa de um modelo de emulsão adicionada de extrato de acerola verde, extrato de acerola microencapsulado e de TBHQ (antioxidante sintético). Foram produzidas emulsões do tipo óleo em água (o/a), adicionadas de antioxidantes naturais (extrato aquoso de acerola verde e micropartículas produzidas com goma arábica e/ou maltodextrina) e de sintético (TBHQ) nas concentrações de 0, 100 e 200 $mg.kg^{-1}$. As emulsões foram submetidas ao teste acelerado de oxidação, em estufa a 40°C por 9 dias. Foram determinados os teores de hidroperóxidos, dienos conjugados (absorbância específica) e índice de cremeação (% CI) a cada 3 dias. Os tratamentos com micropartículas apresentaram efeito protetor significativo e semelhante ao antioxidante sintético TBHQ. O efeito protetor dado as micropartículas com goma arábica e a mistura de micropartículas (200 $mg.kg^{-1}$) contribuiu para a manutenção de baixos teores de hidroperóxidos, dienos conjugados e índice de cremeação, indicando melhor efetividade em comparação aos demais tratamentos. Os resultados mostram que as micropartículas apresentaram comportamento efetivo na proteção da oxidação lipídica, mostrando-os como potencial antioxidante a ser explorado para aplicação em emulsões de base lipídica.

Palavras-chaves: Acerola verde; Hidroperóxidos; Oxidação lipídica; Antioxidantes; Emulsões

ABSTRACT

The objective of the present work was to determine the oxidative stability of an emulsion model added of green acerola extract, microencapsulated green acerola extract and TBHQ (synthetic antioxidant). The oil-in-water (o / w) emulsions were produced and concentration of 0, 100 and 200 $mg.kg-^{1}$ of synthetic (TBHQ) and natural antioxidants (arabic gum and/or maltodextrin microencapsulated green acerola extracts and non-encapsulated green acerola extract) were applied. The emulsions were submitted to the accelerated oven test at 40° C for 9 days. The hydroperoxides content, conjugated dienes (specific absorbance) and creaming index (% CI) were determined every 3 days. The treatments with microparticles showed a significant protective effect, similar to the synthetic antioxidant (TBHQ). The protective effect of microparticles produced with gum arabic and a mixture of microparticles (200 mg.kg-1) contributed to the maintenance of low levels of hydroperoxide, conjugated dienes and creaming index, indicating a better effectiveness in comparison to the other treatments. The results show that the microparticles presented an effective behavior in the protection of lipid oxidation, showing a potential to be exploited as antioxidant in lipid-based emulsion.

Keywords: Green acerola; hydroperoxides; Lipid oxidation; Antioxidants; Emulsions

5.1. Introdução

Os óleos vegetais são componentes da dieta e essenciais para as reações e bom funcionamento do organismo (IQBAL; BHANGER, 2007). Diversos produtos disponíveis no mercado são à base de óleos e principalmente, são formados por emulsão óleo em água, como é o caso de maionese, sopas, cremes, os quais conferem aos produtos, sabores, aromas e texturas de grande aceitação (O'BRIEN, 2009). Produtos com alto teor de lipídeos são propensos a oxidação lipídica, uma das maiores causas de perda de qualidade de produtos de base lipídica. Em óleos vegetais, por exemplo, a taxa de oxidação é maior com o alto teor de ácidos graxos poli-insaturados, sendo o óleo soja mais suscetível à oxidação do que os óleos de milho, amendoim e o azeite de oliva (NAZ et al., 2004; SMITH; KING; MIN, 2007). Já em produtos que se apresentam em um sistema mais complexo,

como o caso de emulsões óleo em água, a taxa de oxidação pode ser ainda maior, devido ao contato maior dos ácidos graxos insaturados com agentes oxidantes que podem estar dissolvidos na fase aquosa, à presença de oxigênio durante o processo de emulsificação, entre outros fatores (BERTON-CARABIN; ROPERS; GENOT, 2014). A perda de qualidade dos produtos proveniente da reação de oxidação está relacionada a alteração das propriedades físico-químicas, e como consequência a perda de nutrientes e da qualidade sensorial, com a produção de compostos voláteis e alterações nas texturas (SMITH; KING; MIN, 2007).

A inibição ou redução da taxa de oxidação lipídica pode ser conduzida pelo emprego de antioxidantes, tanto sintéticos como naturais. Os antioxidantes sintéticos mais empregados na indústria são o BHT, BHA, PG e TBHQ (O'BRIEN, 2009), sendo este último considerado o mais efetivo. No entanto, devido a preocupação de efeitos adversos ao organismo, os sintéticos estão sendo rejeitados pelos consumidores (LI et al., 2014). Como consequência dessa preocupação, diversos trabalhos têm procurado alternativas, utilizando ervas (alecrim tomilho, orégano) frutas e folhas (ALMEIDA-DORIA; REGITANO-D'ARCE, 2000; AHN et al., 2008; DOOLAEGE et al., 2011; MALINOWSKA; GLISZCZYNSKA-SWIGLO; SZYMUSIAK, 2014; TAGHVAEI et al., 2014; CASEMIRO, 2016) em produtos com elevado teor lipídico, como óleos e emulsões, os quais apresentaram resultados promissores para o emprego como aditivo, mas que ainda é pouco explorado pela indústria.

A acerola (*Malpighia emarginata*) tem se destacado pela elevada atividade antioxidante, a qual é proveniente de compostos bioativos, como ácido ascórbico, compostos fenólicos e flavonoides. No entanto, o interesse é ainda maior no estádio de maturação verde, o qual apresenta atividade antioxidante, concentração de ácido ascórbico e de compostos fenólicos superiores a madura (RIGHETTO; NETTO; CARRARO, 2005; VENDRAMINI; TRUGO, 2000). Diversos estudos já a abordaram como um potencial produto no uso para o enriquecimento de alimentos e em cosméticos (ASSIS et al., 2001; MALINOWSKA; GLISZCZYNSKA-SWIGLO; SZYMUSIAK, 2014), bem como em aplicações em produtos por meio da microencapsulação de extrato (RIGHETTO; NETTO, 2005; MOREIRA et al., 2009). A microencapsulação por *spray drying* de extratos de frutas é uma técnica de secagem que pode se obter um pó, o qual contribui na manutenção de compostos e na liberação controlada de compostos, bem como pode facilitar a aplicação destes compostos em um meio de interesse (FÁVARO-TRINDADE; PINHO; ROCHA, 2008). No entanto, não há trabalhos que avaliem o emprego de micropartículas de acerola verde em sistemas lipídicos como um antioxidante natural em alimentos. Dessa forma, partindo desses estudos, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o potencial antioxidante do extrato de acerola verde microencapsulado na estabilidade oxidativa de emulsão modelo do tipo óleo em água.

5.2. Material e métodos

5.2.1. Obtenção do extrato de acerola verde microencapsulado

Frutos verdes de acerola fornecidas pela Associação Agrícola de Junqueirópolis, localizada no munícipio de Junqueirópolis, (21° 30’ 52” S, 51° 26’ 01” O), São Paulo, Brasil, em setembro de 2016. Os frutos foram congelados a -80°C, liofilizados (Liobras,Liotop L-101, Brasi), triturados e armazenados em sacos metalizados a -28 °C ± 1 até o preparo dos extratos. O extrato otimizado (Capítulo 3) foi preparado na proporção de 1:40 (m:V) de acerola verde liofilizada em água destilada, seguida de agitação em banho-maria (Nova Instruments, Dubnoff, Brasil) a 35°C, por 10 minutos a 200 rpm. Após isso, foram centrifugados a 5000 g (Hettich, 320/320R, Alemanha) por 20 minutos a 4°C e em seguida, filtrados em papel qualitativo (Qualy) e armazenados em frascos âmbar a -28°C ± 1.

O extrato filtrado foi submetido a atomização por *spray dryer*, com 6% de material encapsulante, seguindo metodologia descrita por Tonon, Brabet e Hubinger (2010). Para cada processo foram utilizados 2 litros de extrato. Os agentes encapsulantes utilizados foram a goma arábica, fornecida pela Nexira Brazil Comercial Ltda. (São Paulo, Brasil), ou maltodextrina MOR-REX 1920®, fornecida pela Matrix Ingredientes (São Paulo, Brasil). Os materiais encapsulantes foram adicionados ao extrato, homogeneizados em agitador magnético (IKA, Color squid, Estados Unidos), e em seguida foi atomizada em *spray dryer* (Eikonal, LM MSD 1.0, Brasil). A atomização foi utilizando bico aspersor de 1,2 mm, com temperatura de entrada a 140°± 2 e de saída 80°C ± 2, sendo a vazão de 1 L^{-1} h. Os pós resultantes da microencapsulação foram armazenados em recipientes de vidros a -28°C ± até o momento da aplicação.

5.2.2. Preparo das emulsões

As emulsões do tipo óleo em água (o/a) foram formuladas de acordo com a metodologia de Huang et al (1996), com modificações. As emulsões foram preparadas com a proporção de 50%: 45%: 5% (óleo: água destilada: tween 20). O óleo de soja foi cedido pela CARGILL Agrícola S.A. O tween 20, a água e os antioxidantes (TBHQ e as micropartículas de acerola) foram pesados e adicionados ao recipiente para a homogeneização e somente o óleo foi adicionado aos poucos durante a homogeneização realizada por Ultraturrax (T18 basica, IKA) à 18000 rpm durante 5 minutos.

As concentrações de antioxidante adicionadas (100 e 200 $mg.kg^{-1}$) foram calculadas com base no valor compostos fenólicos obtidos para o extrato e micropartículas (Capítulo 4). Os tratamentos preparados foram: T1 (controle - sem antioxidantes); T2 (TBHQ 100 $mg.kg^{-1}$) ; T3 (TBHQ 200 $mg.kg^{-1}$); T4 (Micropartícula de goma arábica 100 $mg.Kg^{-1}$); T5 (Micropartícula de goma arábica 200 $mg.Kg^{-1}$); T6 (Micropartícula de maltodextrina 100 $mg.kg^{-1}$); T7 (Micropartícula de maltodextrina 200 $mg.kg^{-1}$); T8 (Micropartícula de goma arábica + Micropartícula de maltodextrina - 50 $mg.kg^{-1}$ + 50 $mg.kg^{-1}$);T9 (Micropartícula de goma arábica + micropartícula de maltodextrina - 100 $mg.kg^{-1}$ + 100

mg.kg^{-1}); T10 (Goma arábica 100 mg.kg^{-1}); T11 (Goma arábica 200 mg.kg^{-1});T12 (Maltodextrina 100 mg.kg^{-1}); T13 (Maltodextrina 200 mg.kg^{-1}); T14 (Extrato 100 mg.kg^{-1}); T15 (Extrato 200 mg.kg^{-1}).

5.2.3. Estabilidade oxidativa das emulsões

Para a avaliação da estabilidade oxidativa, as emulsões foram submetidas ao teste de estufa. Amostras de emulsões (10 mL) representando os 15 tratamentos foram acondicionadas em tubos de ensaio, em triplicata, e dispostas de forma aleatória dentro da estufa (Fanem, 315 SE, Brasil) a uma temperatura de 40°C (KARGAR; SPYROPOULOS; NORTON, 2011) para acelerar as taxas de oxidação. A avaliação da estabilidade foi realizada durante 9 dias, sendo que a cada 3 dias foram retiradas amostras para as análises subsequentes.

5.2.3.1. Teor de hidroperóxidos

O teor de hidroperóxido foi determinado pela metodologia descrita por Shantha e Decker (1994), com modificações. Alíquotas de 300 µL de emulsão foram adicionadas de 1,5 mL de solução de isooctano e isopropanol (3:1/ v:v) em tubos de ensaio e agitadas por três vezes consecutivas (10 segundos cada) em intervalos de 20 segundos em vórtex (Labdancer, IKA, Alemanha). Foram retiradas alíquotas de 200 µL da mistura, adicionadas a um segundo tubo, seguido da adição de 2,8 mL de solução de metano e n-butanol (2:1/ v:v) e agitação em vórtex. Neste mesmo tubo, foram adicionados 30 µL de uma solução de NH4SCN:Fe^{+2} (1:1v:v), obtida pela da mistura de NH_4SCN (3.94 M) e Fe^{+2}. A solução de Fe^{+2} (0.072 M) foi obtida pela mistura (1:1/ v:v) de $FeSO_4$ (0.144 M) e $BaCl_2$ (0.132). Após a adição do NH4SCN:Fe^{+2} (1:1/ v:v), os tubos foram agitados e acondicionados a temperatura ambiente, em local com incidência de luz reduzida, por 20 minutos. A leitura foi realizada a um comprimento de 510 nm em espectrofotômetro (Shimadzu UV Mini 1240, Japão). A partir de uma curva de calibração realizada em hidroperóxido de cumeno, os resultados foram expressos em mmol hidroperóxido.kg^{-1} de óleo.

5.2.3.2. Dienos conjugados

O teor de dienos conjugados foi determinado de acordo com método Ch 5-91 oficial da American Oil Chemists Society, (AOCS, 2009). Foram adicionadas 0,2 gramas de amostra em balões volumétricos, completados com isooctano e agitados manualmente para a solubilização, por aproximadamente 30 segundos. A leitura foi realizada a um comprimento de onda de 232 nm em espectrofotômetro (Shimadzu UV Mini 1240, Japão) e os resultados foram dados em absorbância específica. O cálculo foi realizado a partir da equação $E_{1\% (1cm)}$= A/C, em que A = absorbância e C= concentração da solução de emulsão e isooctano (g.100 mL $^{-1}$).

5.2.3.3. Índice de Cremeação (IC)

O índice de cremeação foi avaliado para comparar a estabilidade física entre os tratamentos realizados, conforme metodologia descrita por Keowmaneechai e McClements (2002), com modificações. A metodologia consiste em medir a altura total ($H_{e)}$ das emulsões e a altura da separação das fases (soro, H_s), conforme o cálculo = 100 x (H_s/H_e). As emulsões (10 mL) foram acondicionadas em tubos de ensaio com tampa de rosca (9 x 1,5 cm) e submetidas ao mesmo teste de estufa acelerado (40°C por 9 dias).

5.3. Análise estatística

O delineamento experimental foi realizado em triplicata, sendo que os resultados foram expressos em média ± desvio padrão. Todos os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e teste F ($p<0,05$). Para a comparação de médias foi avaliado somente entre tratamentos pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5% em Software SPSS 15 (SPSS, Chicago, IL).

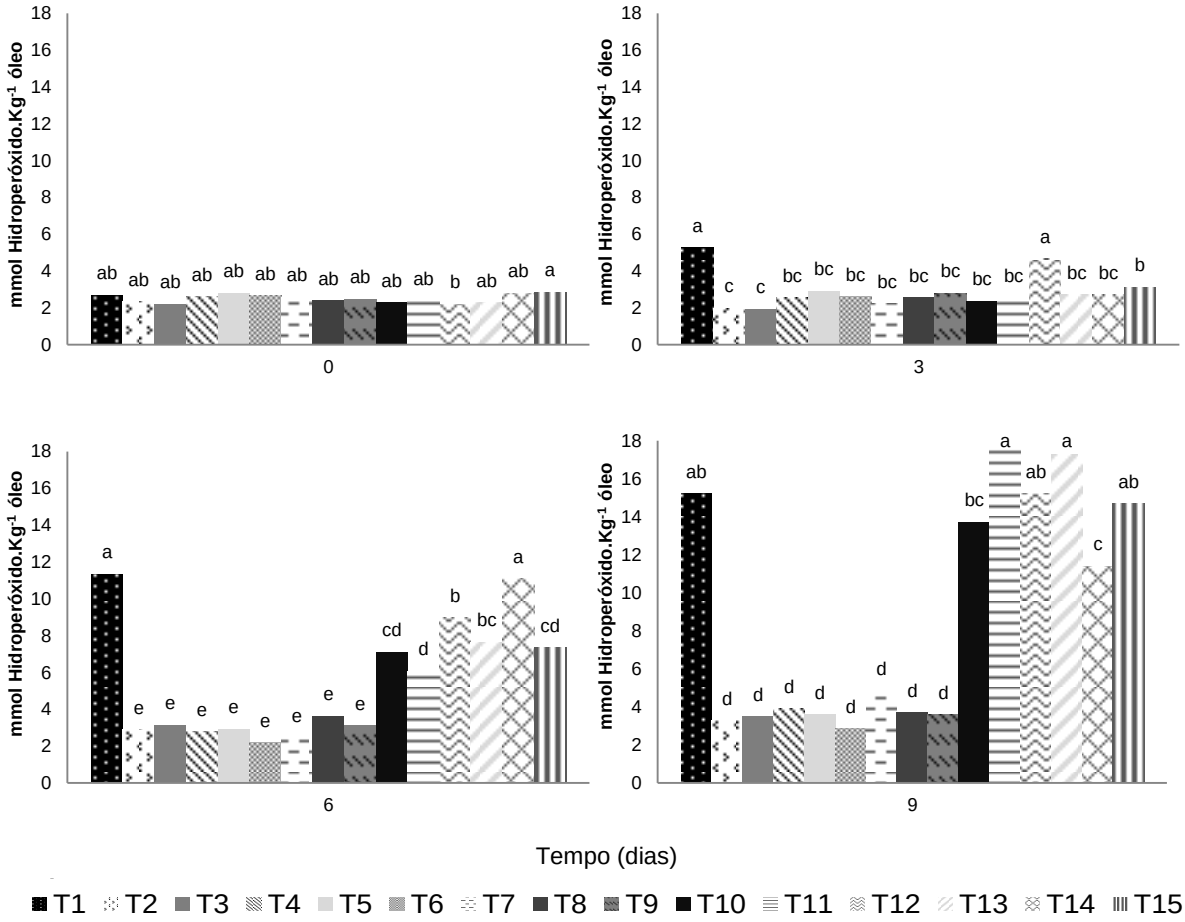
5.4. Resultados e discussão

5.4.1. Estabilidade oxidativa das emulsões

5.4.1.1. Teor de hidroperóxidos e dienos conjugados

A oxidação lipídica está relacionada ao processo de deterioração e perda de qualidade de produtos, uma vez que contribuem na alteração de odor, cor e sabor de produtos. Os valores de hidroperóxidos e de dienos conjugados são importantes parâmetros a serem determinados em óleo e gorduras, estes indicam a formação de produtos da oxidação primária. Diferentes métodos podem ser aplicados para determinar a concentração de hidroperóxidos na amostra. No entanto, o método por colorimetria, que consiste na oxidação de íons férrico por hidroperóxidos, é considerado mais sensível, rápido e pode detectar concentrações muito baixas de hidroperóxidos (SHANTA; DECKER, 1994).

Os resultados de hidroperóxidos avaliados nas emulsões de óleo de soja estão expostos na Figura 16. Os resultados foram separados por período (0, 3, 6 e 9 dias) para avaliar as diferenças somente entre os tratamentos em cada tempo, pelo teste acelerado em estufa a 40°C.



40°C

realizado para cada tempo e comparado entre tratamentos ($p<0,05$). Legendas = T1: Controle; T2: TBHQ (100 mg.Kg^{-1}); T3: TBHQ (200 mg.Kg^{-1}); T4: Micropartícula de goma arábica (100 mg.kg^{-1}); T5: Micropartícula de goma arábica (200 mg.kg^{-1}); T6: Micropartícula de maltodextrina (100 mg.kg^{-1}); T7: Micropartícula de maltodextrina (200 mg.kg^{-1}); T8: Micropartícula de goma arábica + Micropartícula de maltodextrina (50 mg.kg^{-1} + 50 mg.kg^{-1}); T9: Micropartícula de goma arábica + Micropartícula de maltodextrina (100 mg.kg^{-1} + 100 mg.kg^{-1}); T10: Goma arábica (100 mg.kg^{-1}); T11: Goma arábica (200 mg.kg^{-1}); T12: Maltodextrina (100 mg.kg^{-1}); T13: Maltodextrina (200 mg.kg^{-1}); T14: Extrato (100 mg.kg^{-1}); T15: Extrato (200 mg.Kg^{-1}).

Com os resultados demonstrados na Figura 16, observa-se a diferença entre os tratamentos e o aumento da oxidação ao longo do tempo. A goma arábica e a maltodextrina utilizadas no processo de microencapsulação foram aplicadas a fim de avaliar se estes materiais influenciam o processo oxidativo, visto que há relatos que a goma arábica apresenta efeitos antioxidantes (KONG et al., 2014). Ao final do teste acelerado (9°dia) foi observado que o tratamento controle e os tratamentos somente com os materiais goma arábica e maltodextrina mostraram teores de hidroperóxidos superiores (11,40 a 17,62 mmol HP. kg^{-1} óleo) aos demais tratamentos, mostrando que os materiais encapsulantes foram ineficazes na inibição da oxidação lipídica ($p<0,05$). Além disso, pode ser observado elevada taxa de oxidação nos tratamentos controle (T1), dos materiais e do extrato líquido (T10 em diante) em relação aos tratamentos com o antioxidante sintético e com as micropartículas, sendo estes últimos eficazes na inibição da oxidação, os quais apresentaram o mesmo efeito protetor ($p<0,05$) ao final do período avaliado a 40°C.

Apesar dos resultados para os tratamentos com micropartículas não apresentarem diferenças significativas, os tratamentos de micropartículas de maltodextrina mostraram valores maiores de hidroperóxidos em relação a goma arábica e as mistura de micropartículas. A microencapsulação foi importante fator para a inibição da oxidação lipídica, comparado com o extrato (T14 e T15). O tratamento com o extrato líquido apresentou até o 3° dia valores próximos aos tratamentos de micropartículas, mas no 6° e 9° dia estes valores foram superiores. Este efeito pode estar relacionado tanto na proteção aos compostos como também na liberação controlada ao meio, favorecido pelo uso dos materiais encapsulantes, nesse caso a goma arábica e a maltodextrina, os quais podem apresentar mecanismos de liberação térmicos, mecânicos ou por dissolução, dependendo do meio inserido (FÁVARO-TRINDADE; PINHO; ROCHA, 2008).

Estudo com extratos de resíduos de acerola madura mostraram resultados promissores em óleo de soja, sendo que todos os extratos foram mais eficazes do que o antioxidante sintético BHT, pelo menor índice de peróxido formado, mas em destaque para a aplicação de extratos etanólicos (CAETANO et al., 2011). Taghvaei et al., (2014) avaliaram a estabilidade oxidativa de óleo de soja a 110°C em diferentes tratamentos, com o extratos líquido de folhas de oliva e micropartículas do mesmo extrato. Como resultado, observaram que a melhor estabilidade térmica foi dada para o extrato microencapsulado com goma arábica, e o mesmo conferiu melhor proteção dos compostos fenólicos do extrato. Este comportamento possivelmente ocorreu também no presente estudo.

Os dienos conjugados são também indicadores da oxidação: enquanto há a formação de hidroperóxidos, os dienos são produzidos por meio do rearranjo de duplas ligações. O aumento da absortividade indica a formação de produtos primários da oxidação (WANASUNDARA; SHAHIDI; JABLONSKI, 1995), o que determina o estado da oxidação de óleos, bem como pode indicar a efetividade de antioxidantes (IQBAL; BHANGER, 2007). Os resultados para a absortividade a 232 nm, correspondente a formação de dienos, estão expostos na Figura 17.

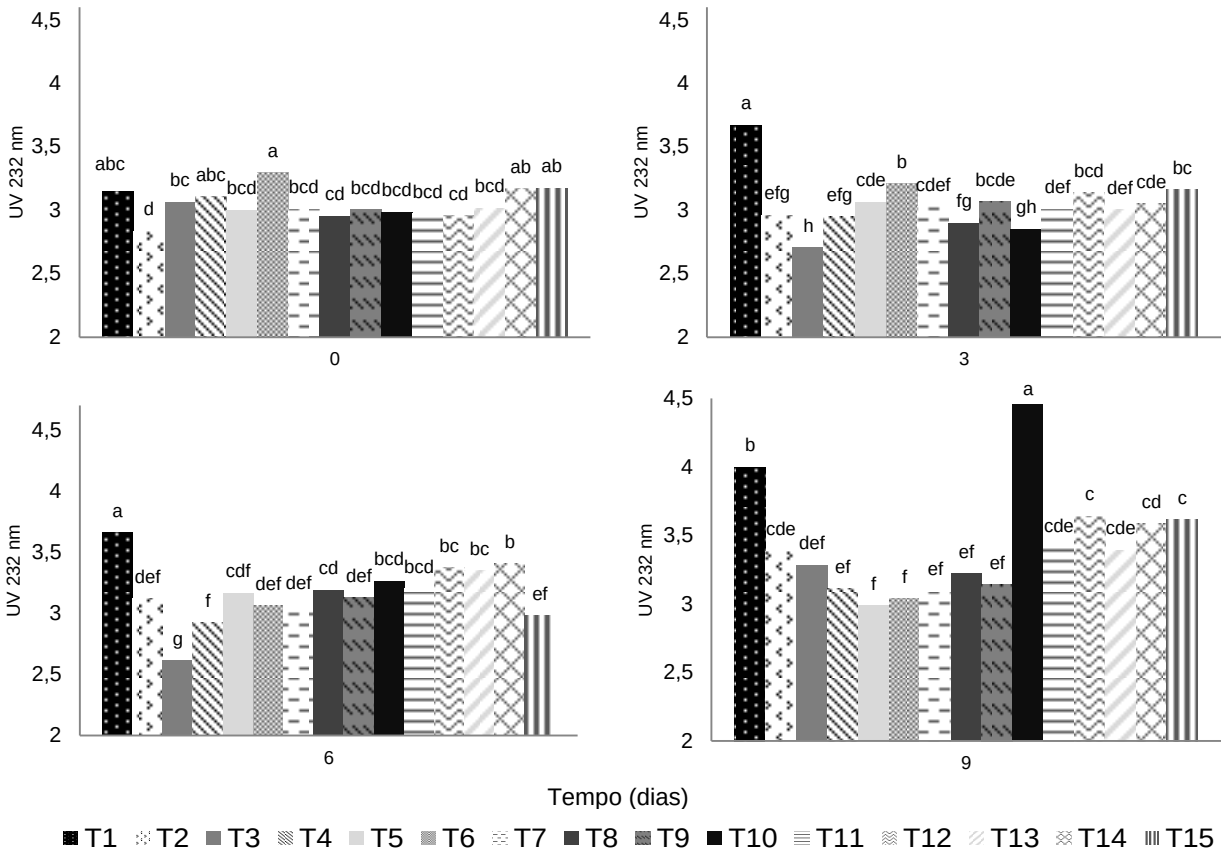


Figura 17. Absorbância específica do UV 232nm em emulsões de óleo de soja durante teste acelerado em estufa a 40°C realizado para cada tempo e comparado entre tratamentos ($p<0,05$). Legendas = Controle; T2: TBHQ (100 $mg.kg^{-1}$); T3: TBHQ (200 $mg.kg^{-1}$); T4: Micropartícula de goma arábica (100 $mg.kg^{-1}$); T5: Micropartícula de goma arábica (200 $mg.kg^{-1}$); T6: Micropartícula de maltodextrina (100 $mg.kg^{-1}$); T7: Micropartícula de maltodextrina (200 $mg.kg^{-1}$); T8: Micropartícula de goma arábica + Micropartícula de maltodextrina (50 $mg.kg^{-1}$ + 50 $mg.kg^{-1}$); T9: Micropartícula de goma arábica + Micropartícula de maltodextrina (100 $mg.kg^{-1}$ + 100 $mg.kg^{-1}$); T10: Goma arábica (100 $mg.kg^{-1}$); T11: Goma arábica (200 $mg.kg^{-1}$); T12: Maltodextrina (100 $mg.kg^{-1}$); T13: Maltodextrina (200 $mg.kg^{-1}$); T14: Extrato (100 $mg.kg^{-1}$); T15: Extrato (200 $mg.kg^{-1}$).

Os resultados mostraram um pequeno aumento durante os dias de avaliação, sendo que os maiores valores foram para o controle e para o tratamento com o material encapsulante goma arábica (T10). Ao final do tempo avaliado (9°dia), os menores valores de absorbância específica foram dados para os tratamentos de micropartículas de goma arábica, sendo que estes valores não apresentaram diferença significativa ($p<0,05$) entre os tratamentos com TBHQ (200 $mg.kg^{-1}$), micropartículas de maltodextrina e a mistura de ambas micropartículas.

Autores indicam que a formação de hidroperóxidos pode correlacionar com a formação de dienos (VIEIRA; REGITANO-D'ARCE, 2001) o que pode ser observado no controle e o tratamento T10, entretanto, não pode ser generalizado, pois a taxa de oxidação é diferente para cada tipo de ácido graxo poli-insaturado (JACKSON, 1981). Tanto os hidroperóxidos quanto os dienos conjugados (absorbância específica) são produtos instáveis e podem ser oxidados a produtos secundários, como em compostos carbonílicos (SHAHIDI; ZONG, 2015). Dessa forma, o menor valor de absorbância específica dado para os tratamentos T12, T13, T14 E T15, podem estar relacionados a rápida

decomposição destes compostos, visto que apresentaram teores de hidroperóxidos (Figura 15) muito próximos ao controle.

Segundo trabalho de Caetano et al. (2011), extratos hidroalcoólicos (125 ppm) de resíduos de acerola resultaram em baixas concentrações de dienos conjugados em óleo de soja, sendo encontrados valores superiores para controle, com a adição de ácido ascórbico e de BHT (ambos a 200 ppm).

A oxidação lipídica e o uso de antioxidantes relacionam-se à polaridade dos compostos. Segundo McClements e Decker (2000), antioxidantes polares em emulsões óleo em água apresentam baixa efetividade, pois os antioxidantes polares estão na camada aquosa da emulsão e não da parte lipídica, onde há maior suscetibilidade à oxidação. Por outro lado, o uso de materiais emulsificantes (goma arábica e amidos), utilizados no presente estudo como agentes encapsulantes, apresentam estruturas polares a apolares que podem contribuir na inibição da oxidação lipídica, por separar o substrato de reação da fase contínua, e impedindo também a ação de pró-oxidantes.

O uso de um extrato com elevado teor de ácido ascórbico também pode ter contribuído com os resultados obtidos, uma vez que este possui a capacidade de regenerar moléculas antioxidantes, atuar como sinergista, atuar na captura de radicais livres e quelar agentes pró-oxidantes, como oxigênio e metais dissolvidos na fase aquosa, reduzindo a velocidade da reação de oxidação lipídica (REISHE; LILLIARD; EITENMILLER, 2002). No entanto, como o ácido ascórbico é um composto instável, a microencapsulação pode ter contribuído com sua estabilidade durante o tempo avaliado em estufa (UDDIN; HAWLADER; ZHU, 2001), ao contrário do extrato líquido aplicado (Figura 15).

Diante do exposto, é provável que o uso dos materiais emulsificantes para a microencapsulação possa ter contribuído com a interação do material e os compostos antioxidantes (compostos mais hidrofílicos presentes no extrato) entre as fases contínua e dispersa, além de propiciar a estabilidade dos compostos e a liberação controlada ao meio (FÁVARO-TRINDADE; PINHO; ROCHA, 2008).

5.4.1.2. Índice de cremeação

O índice de cremeação é um valor determinado para avaliar a estabilidade física das emulsões, que indica a extensão da agregação das gotículas em uma emulsão (KULMYRZAEV; CHANAMAI; MCCLEMENTS, 2000). Os índices de cremeação determinados para os tratamentos estão expostos na Figura 18.

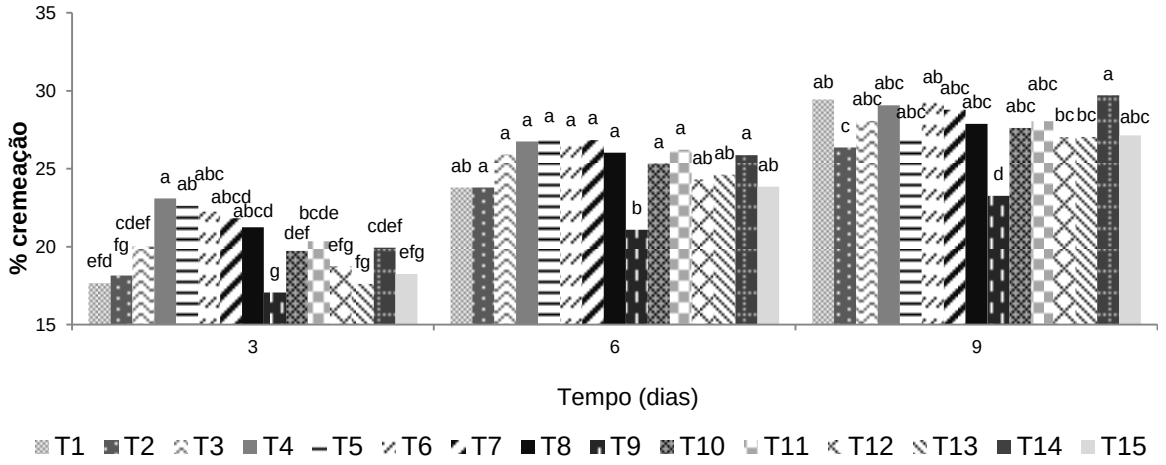


Figura 18. Índice de cremeação das emulsões submetidas ao teste acelerado a 40°C. Legendas = T1: Controle; T2: TBHQ (100 mg.kg^{-1}); T3: TBHQ (200 mg.kg^{-1}); T4: Micropartícula de goma arábica (100 mg.kg^{-1}); T5: Micropartícula de goma arábica (200 mg.kg^{-1}); T6: Micropartícula de maltodextrina (100 mg.kg^{-1}); T7: Micropartícula de maltodextrina (200 mg.kg^{-1}); T8: Micropartícula de goma arábica + Micropartícula de maltodextrina (50 mg.kg^{-1} + 50 mg.kg^{-1}); T9: Micropartícula de goma arábica + Micropartícula de maltodextrina (100 mg.kg^{-1} + 100 mg.kg^{-1}); T10: Goma arábica (100 mg.kg^{-1}); T11: Goma arábica (200 mg.kg^{-1}); T12: Maltodextrina (100 mg.kg^{-1}); T13: Maltodextrina (200 mg.kg^{-1}); T14: Extrato (100 mg.kg^{-1}); T15: Extrato (200 mg.kg^{-1}).

Durante o armazenamento em estufa a 40°C, foi observado o aumento da cremeação em todos os tratamentos. Os tratamentos com a mistura das micropartículas (T9) no 9° apresentou a menor cremeação, o que pode estar relacionada a combinação dos encapsulantes goma arábica e maltodextrina, pois estes podem apresentar características emulsificantes. Destaca-se que a cremeação foi mais rápida para o tratamento com extrato (T14), mas que foi diferente somente dos tratamentos T12, T13, T2 e T9 ($P<0,05$), não diferindo dos demais. Segundo autores (KARGAR et al., 2012), a alteração de pH pode contribuir com a separação das emulsões. Dessa forma, a adição do extrato aquoso nas emulsões pode ter contribuído com essa alteração do pH do meio e consequentemente maior separação, ao contrário das misturas de micropartículas que podem ter apresentado a liberação controlada ao meio.

No presente trabalho observa-se baixa estabilidade das emulsões durante o armazenamento, o que pode também ser relacionado ao uso de estufa a 40°C. Roland et al. (2003) observaram que altas temperaturas e a baixa concentração de surfactantes adicionados são os principais fatores que contribuem com a redução da estabilidade de emulsões. Além disso, autores avaliaram que a adição de polímeros em emulsões e o armazenamento com temperaturas de aquecimento podem contribuir com a coalescência, visto que estes podem perder a capacidade como emulsificante (FLOURY et al., 2003). Muitos trabalhos avaliam a estabilidade das emulsões (IC) e mostram que a estabilidade física pode estar relacionada a diferentes fatores como a concentração de óleo e surfactantes, temperatura, pH e concentração de sais no meio (SUN; GUNASEKARAN, 2009; KARGAR et al., 2012), o que deve se estudado para cada tipo de emulsão e diferentes condições.

5.5. Conclusões

Na avaliação da oxidação lipídica, foi possível concluir que os tratamentos com micropartículas apresentaram efeito protetor significativo e semelhante ao antioxidante sintético (TBHQ), tanto nas doses de 100 e 200 $mg.kg^{-1}$. No entanto, destaca-se o efeito protetor dado às micropartículas de goma arábica e a mistura de micropartículas (200 $mg.kg^{-1}$), que permitiram a manutenção de baixos teores de hidroperóxidos, dienos conjugados e baixo índice de cremeação das emulsões submetidas a 9 dias de teste acelerado, em relação ao demais tratamentos. Dessa forma, a microencapsulação foi um fator determinante para atuar como antioxidante em emulsões modelos.

REFERÊNCIAS

AHN, J.H.; KIM, Y.P.; LEE, Y.M.; SEO, E.M.; LEE, K.W.; KIM, H.S. Optimization of microencapsulation of seed oil by response surface methodology. **Food Chemistry**, v. 107, n. 1, p. 98–105, 2008.

ALMEIDA-DORIA, R. F.; REGITANO-D'ARCE, M. A. B. Antioxidant activity of rosemary and oregano ethanol extracts in soybean oil under thermal oxidation. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 20, n. 2, p. 197-203, 2000.

AOCS. AMERICAN OIL CHEMISTS' SOCIETY. **Methods and Recommended Pratices of the American Oil Chemistis Society**. 5a.ed. AOCS Press, Champaign. Washington, 1998.

ASSIS, S. A.; LIMA, D. C.; OLIVEIRA, O. M. M. F. Activity of pectinmethylesterase, pectin content and vitamin C in acerola fruit at various stages of fruit development. **Food Chemistry**, v. 74, n. 2, p. 133–137, 2001.

BERTON-CARABIN, C.C.; ROPERS, M-H.; GENOT, C. Lipid oxidation in oil-in-water emulsions: involvement of the interfacial layer. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 13, p.945–77. 2014.

CAETANO, A.C.D.S.; ARAÚJO, C.R.D.; LIMA, V.L.A.G.D.; MACIEL, M.I.S.; MELO, E.D.A. Evaluation of antioxidant activity of agro-industrial waste of acerola (*Malpighia emarginata* D.C.) fruit extracts. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. *31*, p. 769–77, 2011.

CASEMIRO, R. C.. **Estabilidade oxidativa e avaliação sensorial de emulsões com extratos de ervas antioxidantes**. 2016. Dissertação de Mestrado. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2016.

DOOLAEGE, E.H.; RAES, K.; DE VOS, F.; VERHÉ, R.; DE SMET, S. Absorption, distribution and elimination of carnosic acid, a natural antioxidant from Rosmarinus officinalis, in rats. **Plant Food for Human Nutrition**, v.66, n.2, 196–202. 2011

FÁVARO-TRINDADE, C. S.; PINHO, S. C.; ROCHA, G. A. Revisão: Microencapsulação de ingredientes alimentícios. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 11, p. 103-112, 2008.

FLOURY, J.; DESRUMAUX, A.; AXELOS, M.A.V.; LEGRAND, J. Effect of high pressure homogenisation on methylcellulose as food emulsifier. **Journal of Food Engineering**, v. 58, p. 227–238, 2003.

HUANG, S. W.; HOPIA, A.; SCHWARZ, K.; FRANKEL, E.N.; GERMAN, J. B. Antioxidant activity of a-tocopherol and Trolox in different lipid substrates: bulk oils vs. oil-in-water emulsions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 44, p. 444-452, 1996.

IQBAL, C.; BHANGER, M. I. Stabilization of sunflower oil by garlic extract during accelerated storage. **Food Chemistry**, v. 100, p. 246-254, 2007.

JACKSON, H. W. Techniques for flavour and odour evaluation of soy oil**. Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 58, p. 227-31, 1981.

KARGAR, M.; FAYAZMANESH, K.; ALAVI, M.; SPYROPOULOS, F.; NORTON, I.T. Investigation into the potential ability of Pickering emulsions (food-grade particles) to enhance the oxidative stability of oil-in-water emulsions. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 366, p.209–15, 2012.

KARGAR, M; SPYROPOULOS, F.; NORTON, I.T. The effect of interfacialmicrostructure on the lipid oxidation stability of oil-in-water emulsions. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 357, p.527–33, 2011.

KEOWMANEECHAI, E.; MCCLEMENTS, D. J. Influence of EDTA and citrate on physicochemical properties of whey protein-stabilized oil-inwater emulsions containing CaCl2. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 7145–7153, 2002.

KONG, H.; YANG, J.; ZHANG, Y.; FANG, Y.; NISHINARI, K.; PHILLIPS, G.O. Synthesis and antioxidant properties of gum arabic-stabilized selenium nanoparticles. **International Journal of Biological Macromolecules**, v, 65, p.155–162, 2014.

KULMYRZAEV, A.; CHANAMAI, R.; MCCLEMENTS, J. Influence of pH and CaCl2 on the stability of dilute whey protein stabilized emulsions**, Food Research International**, v. 33, p. 15-20, 2000.

LI, J.H.; MIAO, J.; WU, J. L.; CHEN, S.-F.; ZHANG, Q.Q. Preparation and Characterization of Active Gelatin-Based Films Incorporated with Natural Antioxidants**. Food Hydrocolloids**, v. 37, p. 166-173, 2014.

MALINOWSKA, P.; GLISZCZYNSKA-SWIGŁO, A.; SZYMUSIAK, H. Protective effect of commercial acerola, willow, and rose extracts against oxidation of cosmetic emulsions containing wheat germ oil. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v.116, n.11,p. 1553–1562, 2014.

MCCLEMENTS, D.J; DECKER, E.A. Lipid oxidation in oil-in-water emulsions: impact of molecular environment on chemical reactions in heterogeneous food systems. **Journal of Food Science**, v. 65, n. 8, p.1270–82, 2000.

MOREIRA, G. E. G.; COSTA, M. G. M.; SOUZA, A. C. R.; BRITO, E. S.; MEDEIROS, M. F. D.; AZEREDO, H. M. C. Physical properties of spray dried acerola pomace extract as affected by temperature and drying aids. **Food Science of Technology**, v. 42, n.2, p. 641–645, 2009.

NAZ, S.; SHEIKH, H.; SADDIQI, R.; SAYEED, S. A. Oxidative stability of olive, corn and soybean oil under different conditions. **Food Chemistry**, v. 88, p. 253-259, 2004.

O'BRIEN, R. D. **Fat and oils**: formulating and processing for applications, Third edition, Boca Raton: CRC Press, 2009. 744p.

REISHE, D. W.; LILLIARD, D. A.; EITENMILLER, R. R. **Antioxidants**. In: AKOH, C. C.; MIN, D. B., Food lipids: Chemistry, Nutrition and Biotechnology: New York: Marcel Dekker, 2002, 1005 p.

RIGHETTO, A. M.; NETTO, F. M. Effect of Encapsulating Materials on Water Sorption, Glass Transition and Stability of Juice From Immature Acerola. **International Journal of Food Properties**, v. 8, n. 2, p. 337–346, 2005.

RIGHETTO, A. M.; NETTO, F.M.; CARRARO, F. Chemical Composition and Antioxidant Activity of Juices from Mature and Immature Acerola (Malpighia emarginata DC). **Food Science and Technology International**, v. 11, n. 4, p. 315–321, 2005.

ROLAND, I.; PIEL, G.; DELATTRE, L.; EVRARD, B. Systematic characterization of oil-in-water emulsions for formulation design. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 263, p. 85–94, 2003.

SHAHIDI, F.; ZHONG, Methods for the assessment of antioxidant activity in foods. In: SHAHIDI, F (Ed.), **Handbook of antioxidants for food preservation.** Cambridge: Woodhead Publishing Ltd. 2015, p.287- 322.

SHANTHA, N. C.; & DECKER, E. A. Rapid, sensitive, iron-based spectrophotometric methods for determination of peroxide values of food lipids. **Journal of AOAC International,** Arlington, n. 77, p. 421–424. 1994.

SMITH, S. A.; KING, R. E.; MIN, D. B. Oxidative and thermal stabilities of genetically modified high oleic sunflower oil. **Food Chemistry**, v. 102, p. 1208−1213, 2007.

SUN, C.H.; GUNASEKARAN, S. Effects of protein concentration and oil-phase volume fraction on the stability and rheology of menhaden oil-in-water emulsions stabilized by whey protein isolate with xanthan gum. **Food Hydrocolloids**, v. 23, p. 165–74, 2009.

TAGHVAEI, M.; JAFARI, S.M.; SADEGHI-MAHOONAK, A., MEHREGAN-NIKOO, A.; RAHMANIAN, N.; HAJITABAR, J., MESHGINFAR, N. The effect of natural antioxidants extracted from plant and animal resources on the oxidative stability of soybean oil. **LWT - Food Science and Technology**, v. 56, n.1, p.124-130, 2014.

TONON, R. V.; BRABET, C.; HUBINGER, M. D. Anthocyanin stability and antioxidant activity of spray-dried açaí (Euterpe oleracea Mart.) juice produced with different carrier agents. **Food Research International**, v. 43, p. 907−914, 2010.

UDDIN, M. S.; HAWLADER, M. N. A.; ZHU, H. J. Microencapsulation of ascorbic acid: effect of process variables on product characteristics. **Journal of Microencapsulation: Micro and Nano Carriers**, v. 18, p. 199–209, 2011.

VENDRAMINI, A. L.; TRUGO, L. C. Chemical composition of acerola fruit (Malpighia punicifolia L.) at three stages of maturity. **Food Chemistry**, v. 71, p. 195-198, 2000.

VIEIRA, T.M.F.S.; REGITANO-D'ARCE, M. A.B. Canola oil thermal oxidation during oven test and microwave heating. **LWT-Food Science and Technology**, v. 34, n. 4, p. 215-221, 2001.

WANASUNDARA, U. N.; SHAHIDI, F.; JABLONSKI, C. R. Comparison of standard and NMR methodologies for assessment of oxidative stability of canola and soybean oils. **Food Chemistry**, v. 52, p. 249–25, 1995.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Foi possível concluir que a otimização foi essencial para a obtenção dos extratos com maior atividade antioxidante, tanto de frutos maduros quanto de frutos verdes. Extratos de frutos verdes destacam-se por sua elevada atividade antioxidante *in vitro*, teor de compostos fenólicos totais e concentração de ácido ascórbico e compostos fenólicos.

As micropartículas obtidas a partir dos extratos de frutos verdes de acerola, com materiais encapsulantes goma arábica e maltodextrina, apresentaram características tecnológicas adequadas para aplicação em alimentos de base lipídica. Micropartículas com goma arábica destacam-se pelo elevado rendimento de processo e maior proteção da atividade antioxidante. Essa proteção garantiu resultados promissores na aplicação em emulsão e avaliação da estabilidade oxidativa. As micropartículas de goma arábica, bem como a mistura de micropartículas apresentaram efeito protetor significativo e semelhante ao antioxidante sintético (TBHQ).

Diante dessas considerações o extrato microencapsulado produzido a partir de extratos de frutos verdes de acerola apresentou ótimos resultados, mostrando resultados promissores para a aplicação como um aditivo. Apesar disso, deve ser ressaltado a importância de estudos que avaliem a eficácia em diferentes condições e modelos de emulsões, bem como a estabilidade das micropartículas em períodos longos de armazenamento e o possível impacto sensorial de sua aplicação.

ANEXO

ANEXO A – CERTIFICADO DE ÉTICA AMBIENTAL NA PESQUISA (CEAP)

COMISSÃO DE ÉTICA AMBIENTAL NA PESQUISA - ESALQ/USP

PARECER

Projeto intitulado: "Aplicação de extratos de acerola (Malpighia Emarginata) em emulsões lipídicas", de responsabilidade da Profª Thais Maria Ferreira de Souza Vieira , analisado pela Comissão de Ética Ambiental na Pesquisa – ESALQ/USP, em sua 6ª Reunião Ordinária, realizada em 15 de agosto de 2017, está de acordo com os princípios éticos ambientais adotados das leis e decretos complementares (Lei 6.894/80, Lei 7.803/89, Lei 9.985/00, Lei 9.974/00, Decreto 99.556/90, Decreto 4.340/02, Instrução Normativa 169/2008, ABNT/NBR 10004:2004, Resolução ANVISA RDC 306/2004, Resolução 358/05) acrescida dos dispositivos e alterações, bem como os demais decretos e instruções normativas relativas aos assuntos ambientais pertinentes.

Piracicaba, 15 de agosto de 2017.

Prof. Dr. Fabio Tebaldi Siqueira Nogueira
Presidente da CEAP - ESALQ/USP

Este parecer exclui demais aspectos éticos que envolvam a utilização de animais de laboratório ou seres humanos, os quais são de competência das Comissões de Ética em Pesquisa com Animais e de Seres Humanos, respectivamente.