

ISADORA REBOUÇAS NOLASCO DE OLIVEIRA

**ANTOCIANINAS EXTRAÍDAS DE CAPIM-GORDURA (*Melinis
minutiflora*): ATIVIDADE ANTIOXIDANTE,
MICROENCAPSULAMENTO POR ATOMIZAÇÃO E ESTABILIDADE**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2011

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV

T

O48a
2011

Oliveira, Isadora Rebouças Nolasco de, 1985-
Antocianinas extraídas de Capim-gordura
(*Melinis minutiflora*): atividade antioxidante, microencap-
sulamento por atomização e estabilidade / Isadora Rebouças
Nolasco de Oliveira. – Viçosa, MG, 2011.
xx, 130f. : il. (algumas col.) ; 29cm.

Orientador: Paulo Cesar Stringheta.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
Inclui bibliografia.

1. Secagem. 2. Corantes. 3. Maltodextrinas. 4. Otimização.
I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 22. ed. 664.07

ISADORA REBOUÇAS NOLASCO DE OLIVEIRA

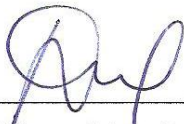
ANTOCIANINAS EXTRAÍDAS DE CAPIM-GORDURA (*Melinis minutiflora*): ATIVIDADE ANTIOXIDANTE, MICROENCAPSULAMENTO POR ATOMIZAÇÃO E ESTABILIDADE

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 15 de julho de 2011



Prof. Reinaldo Francisco Teófilo
(Coorientador)




Prof. Afonso Mota Ramos
(Coorientador)



Prof.^a. Michele Corrêa Bertoldi



Prof. Eduardo Basílio de Oliveira



Prof. Paulo Cesar Stringheta
(Orientador)

A Deus, por estar sempre presente em todos
os momentos de minha vida, guiando-me e
iluminando meus caminhos.

OFEREÇO

Aos meus amados
pais, Elizabeth e Raimundo José;
aos meus queridos irmãos Ramon, Rodolfo,
Pedro, Alice e Arthur.
e aos familiares e amigos,
companheiros de todas as horas...

DEDICO

*Deus de meus pais, eu te dou graças e te louvo,
porque me deste sabedoria e força;*

Daniel, 2:23 a

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me segurado nos momentos de desestímulo e por me conceder saúde e sabedoria para a realização deste trabalho.

Aos meus pais, que apesar da distancia de mais de 2000 km que nos separa, sempre está presente no meu dia torcendo pelo meu sucesso.

Aos meus irmãos, Ramon e Rodolfo, que são grandes amigos. Também aos pequeninos irmãos Pedro, Alice e Arthur, que por sua inocência não devem entender a minha ausência, mas saibam que vocês também me impulsionam a crescer!

Aos meus tios e tias, que foram muitas vezes pais e mães para mim.

Ao meu orientador professor Dr. Paulo Stringheta, pela orientação e amizade durante todo o curso, além dos conhecimentos, ensinamentos e histórias compartilhadas.

Ao meu coorientador professor Dr. Reinaldo Teófilo, pela orientação, dedicação e pelo exemplo de competência dedicada ao trabalho.

Aos demais membros da banca, prof. Dr. Eduardo Oliveira, prof. Dr. Afonso Ramos, prof^ª. Dr^ª. Michele Bertoldi, por terem aceitado participar desta banca de defesa de dissertação, enriquecendo ainda mais este trabalho.

A todos os professores e funcionários do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Viçosa, pelos ensinamentos e momentos compartilhados durante o curso de mestrado.

A prof^ª Marília Ventrella, pela dedicação e pronta ajuda nas análises de microscopia vegetal.

Aos colegas e bolsistas do Laboratório de Compostos Bioativos: Paula Ribeiro, Paula Cipriano, Adriana Mendonça, Mayra Martins, Flávia Ramos, Igor Hiroshi pela convivência, disponibilidade de ajuda e pelo excelente ambiente de trabalho, em especial a Paula Ribeiro e Paula Cipriano, que muito contribuiu nessa pesquisa, em que “ganhamos horas” de discussão para interpretação dos resultados e na coleta de amostras.

A minha estagiária, companheira de república e amiga Luana Batista, que me ajudou no início da pesquisa e na coleta das amostras.

A estagiária Gabriela Silveira, que ajudou no desenvolvimento das análises.

Ao Valério Poletto que muito contribuiu na etapa de atomização e organização do laboratório.

Ao Marcelo Crespo por ter disponibilizado o impregnador de glóbulos, que muito auxiliou na concentração dos extratos.

As minhas queridas amigas Ana Clarissa, Geany Peruch, Marali Vilela e Patrícia Bernardes, que estiveram presentes não só nos momentos de felicidades e de descontração, mas também dividindo momentos difíceis. Espero sempre poder contar com a amizade de vocês.

Aos colegas conquistados nas disciplinas e durante o mestrado, obrigada pela amizade e companheirismo.

À Universidade Federal de Viçosa, pelo apoio institucional e pelas facilidades oferecidas.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq), pela concessão da bolsa de estudo.

Ao Núcleo de Microscopia e Microanálise da UFV e aos órgãos financiadores FINEP e FAPEMIG.

Enfim, a todos que contribuíram de forma direta ou indireta, para a realização deste trabalho, meu sincero agradecimento.

Muito obrigada!

BIOGRAFIA

ISADORA REBOUÇAS NOLASCO DE OLIVEIRA, filha de Maria Elizabeth Rebouças Nolasco de Oliveira e Raimundo José de Oliveira, nasceu em 29 de julho de 1985, em Mossoró – RN.

Iniciou seus estudos no colégio Professor Eliseu Viana em 1992 na cidade de Mossoró – RN. Em 1995, transferiu-se para o Colégio Marista Cearense em Fortaleza – CE. No ano de 1997 estudou no Colégio Diocesano Santa Luzia, Mossoró – RN, onde concluiu o ensino médio em 2002.

Em março de 2003, ingressou na Universidade Federal do Ceará (UFC), Fortaleza – CE, onde possui bolsa de monitoria, iniciação científica, entre outros trabalhos. Em dezembro de 2008 graduou-se em Engenharia de Alimentos pela UFC.

Em janeiro de 2009, obteve bolsa de apoio técnico e iniciou seus estudos no curso de pós-graduação como aluno não vinculado no Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa – MG, onde em julho do mesmo ano tornou-se estudante regular, defendendo sua dissertação em julho 2011.

SUMÁRIO

LISTA DE ILUSTRAÇÕES	xi
LISTA DE TABELAS	viv
RESUMO	xvii
ABSTRACT	xix
INTRODUÇÃO GERAL	1
I. INTRODUÇÃO.....	1
II. OBJETIVOS.....	3
Objetivo geral.....	3
Objetivos específicos.....	3
III. DESENHO DOS EXPERIMENTOS.....	4
IV. REFERÊNCIAS.....	5
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	7
I. CAPIM – GORDURA.....	7
1 <i>Morfoanatomia de gramíneas</i>	8
II. COMPOSTOS BIOATIVOS.....	9
1 <i>Compostos fenólicos</i>	9
1.1 Antocianinas.....	12
1.2 Atividade antioxidante.....	17
1.2.1 DPPH.....	18
1.2.2 ABTS.....	19
III. SECAGEM.....	20
1 <i>Secagem por atomização</i>	21
IV. MICROENCAPSULAMENTO.....	23
V. ISOTERMAS.....	24
VI. COLORIMETRIA.....	27
VII. PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL.....	35
1 <i>Metodologia de superfície de resposta</i>	35
2 <i>Otimização simultânea de respostas</i>	37
VIII. REFERÊNCIAS.....	38
CAPÍTULO I	50
EXTRAÇÃO DE ANTOCIANINAS E CARACTERIZAÇÃO DA INFLORESCÊNCIA DE CAPIM-GORDURA (<i>Melinis minutiflora</i>)	
RESUMO	50
I. INTRODUÇÃO.....	51
II. MATERIAIS E MÉTODOS.....	52
1. <i>Delineamento experimental</i>	52

2.	<i>Matéria-prima</i>	53
3.	<i>Caracterização da inflorescência de capim-gordura</i>	53
3.1	Teor de gordura e umidade	53
3.2	Morfoanatomia vegetal.....	53
3.3	Quantificação dos compostos antioxidantes.....	54
	<i>Obtenção dos extratos</i>	54
3.3.1	Antocianinas totais	54
3.3.2	Polifenóis totais.....	55
3.3.3	Atividade antioxidante pelo ensaio TEAC (Capacidade antioxidante equivalente ao trolox)	56
3.4	Caracterização colorimétrica	57
III.	RESULTADOS	57
1	<i>Caracterização da inflorescência de capim-gordura</i>	57
1.1	Teor de gordura e umidade	57
1.2	Morfoanatomia vegetal.....	57
1.3	Quantificação dos compostos antioxidantes.....	58
1.3.1	Antocianinas totais	59
1.3.2	Polifenóis totais.....	60
1.3.3	Atividade antioxidante	60
1.4	Caracterização colorimétrica	61
IV.	CONCLUSÃO.....	62
V.	REFERÊNCIAS	63

CAPÍTULO II..... 66

ESTUDO DE FATORES QUE INFLUENCIAM OS EXTRATOS ANTOCIÂNICO DE INFLORESCÊNCIA DE CAPIM-GORDURA (*Melinis minutiflora*) SECOS POR ATOMIZAÇÃO

RESUMO..... 66

I.	INTRODUÇÃO.....	67
II.	MATERIAIS E MÉTODOS	68
1	<i>Delineamento experimental</i>	68
2	<i>Matéria-prima</i>	70
3	<i>Preparo do extrato</i>	70
3.1	Obtenção do extrato.....	70
3.2	Sólidos solúveis totais	71
3.3	Preparo das amostras	72
3.4	Caracterização dos extratos	72
3.4.1	Antocianinas totais	72
3.4.2	Caracterização colorimétrica.....	73
3.4.3	Umidade	73
4	<i>Secagem dos extratos por atomização</i>	73
5	<i>Caracterização dos extratos em pós</i>	74
5.1	Caracterização dos compostos antioxidante	74
5.1.1	Quantificação das antocianinas totais	74
5.1.2	Determinação da atividade antioxidante	74
5.2	Caracterização colorimétrica	76
5.3	Determinações físicas dos extratos em pó.....	76

5.3.1 Umidade	76
5.3.2 Atividade de água	77
5.3.3 Higroscopicidade	77
III. RESULTADOS	77
1 <i>Caracterização física</i>	79
1.1 Teor de umidade	79
1.2 Higroscopicidade	80
1.3 Atividade de água	82
2 <i>Composição antioxidante</i>	83
2.1 Retenção de antocianinas.....	83
2.2 Atividade antioxidante.....	84
3 <i>Caracterização colorimétrica</i>	87
4 <i>Otimização simultâneas das respostas</i>	91
IV. CONCLUSÃO.....	93
V. REFERÊNCIAS	94

CAPÍTULO III 97

CARACTERIZAÇÃO E ESTABILIDADE DOS EXTRATOS DE ANTOCIANINA EM PÓ

RESUMO..... 97

I. INTRODUÇÃO.....	98
II. MATERIAIS E MÉTODOS	99
1 <i>Delineamento experimental</i>	99
2 <i>Matéria-prima</i>	99
3 <i>Preparo do extrato para atomização</i>	99
3.1 Obtenção do extrato.....	99
3.1.1 Sólidos Solúveis Totais.....	100
3.2 Preparo das amostras para atomização	100
4 <i>secagem dos extratos por Atomização</i>	100
5 <i>Caracterização física dos extratos em pó</i>	101
5.1 Umidade	101
5.2 Atividade de água	101
5.3 Higroscopicidade	101
5.4 Isoterma de sorção	101
5.4.1 Modelagem matemática	103
5.5 Caracterização microscópica	104
6 <i>Estudo da estabilidade</i>	104
6.1 Caracterização colorimétrica	105
6.2 Caracterização dos compostos antioxidantes	105
6.2.1 Antocianinas totais	105
6.2.2 Determinação da atividade antioxidante	107
III. RESULTADOS	108
1 <i>Caracterização física</i>	108
1.1 Umidade, Atividade de água e Higroscopicidade	108
1.2 Isoterma de adsorção	108
1.3 Caracterização morfológica	111
2 <i>Estudo da estabilidade</i>	113

2.1 Cor	113
2.2 Antocianinas	117
2.3 Atividade Antioxidante	118
IV. CONCLUSÃO.....	119
V. REFERÊNCIAS	120
CONCLUSÃO GERAL	124
APÊNDICE	125
<i>Apêndice A – curva padrão de ácido gálico.....</i>	<i>125</i>
<i>Apêndice B – Curva padrão do trolox para o radical ABTS.....</i>	<i>125</i>
<i>Apêndice C – Curva padrão do trolox para o radical DPPH.....</i>	<i>126</i>
<i>Apêndice D – Curva padrão dos extratos para determinação da atividade antioxidante com o radical ABTS.....</i>	<i>127</i>
<i>Apêndice E – Curva padrão das amostras em pó para determinação da atividade antioxidante com o radical DPPH</i>	<i>128</i>
<i>Apêndice F – Curva padrão das amostras em pó para determinação da atividade antioxidante com o radical ABTS.....</i>	<i>129</i>
<i>Apêndice G – Amostras em pó com diferentes concentrações de maltodextrina armazenadas em diferentes umidades relativas, a 25 °C.</i>	<i>130</i>

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Introdução geral

Figura 1 – Desenho dos experimentos da dissertação	4
Figura 2 – Capim-gordura (<i>melinis minutiflora</i>)	7
Figura 3 – Partes de uma gramínea	8
Figura 4 – Esquema geral de uma espiguetta.	8
Figura 5 – Vias de biossíntese dos compostos fenólicos.....	10
Figura 6 – Estrutura química das principais classes de flavonóides distribuídas na natureza..	11
Figura 7 – Estrutura do cátion 2-fenilbenzopirilium (flavilium).....	13
Figura 8 – Estrutura de uma antocianidina genérica e antocianidinas mais encontradas na natureza.....	13
Figura 9 – Estrutura química de antocianina glicosilada (a) e acilada (b).	14
Figura 10 – Possíveis transformações estruturais das antocianinas em meio aquoso em função do pH.	15
Figura 11 – Estabilização do radical livre DPPH.....	18
Figura 12 – Estabilização do radical $ABTS^{\bullet+}$ por um antioxidante e sua formação pela reação com persulfato de potássio.	19
Figura 13 – Espectro de absorção do radical cátion $ABTS^{\bullet+}$, formado pelo persulfato de potássio.....	20
Figura 14 – Diagrama esquemático de <i>spray dryer</i>	22
Figura 15 – Isotermas de sorção de água.....	25
Figura 16 – Tipos de isotermas de sorção (Brunauer, et al. 1938).....	25
Figura 17 – Espectro de luz visível	28
Figura 18 – Apresentação da decomposição da luz branca por prisma de cristal	29
fugura 19 – Representação espacial do modelo de Munsell.....	30
Figura 20 – Modelo de cor CIE XYZ.....	31

Figura 21 – Modelo de cor CIELAB	31
Figura 22 – Modelo de cor CIE LCH	32
Figura 23 – Cabine de luz simulando iluminante A (a) e iluminante D65(b)	33
Figura 24 – Observadores padrão CIE	34
Figura 25 – Modelo cielab tridimensional.....	34
Capítulo I	
Figura 1.1 – Esquema das extrações sucessivas.....	54
Figura 1.2 – Morfoanatomia de inflorescências de capim-gordura (<i>Melinis minutiflora</i>).	58
Figura 1.3 – Extratos oriundos da primeira extração.....	62
Capítulo II	
Figura 2.1 – Desenho espacial do delineamento composto central (DCC), para 2 fatores	68
Figura 2.2 – Etapas de extração.....	71
Figura 2.3 – Impregnador de glóbulos.....	71
Figura 2.4 – Mini <i>spray dryer</i>	73
Figura 2.5 – Superfícies de resposta para hidrosopicidade, relacionando: temperatura do ar de entrada (t_e °C) vs concentração de maltodextrina (MD%).	81
Figura 2.6 – Superfícies de resposta para atividade antioxidante relacionando: temperatura do ar de entrada (t_e °C) vs concentração de maltodextrina (MD%).	87
Figura 2.7 – Superfícies de resposta para h^* (tonalidade) das amostras em pó solubilizadas, relacionando: temperatura do ar de entrada (t_e °C) vs concentração de maltodextrina (MD%).	90
Figura 2.8 – Curvas de níveis para a otimização simultânea das respostas, relacionando: temperatura do ar de entrada \times concentração de maltodextrina.	92
Capítulo III	
Figura 3.1 – disposição das amostras na câmara de luz fluorescente de 40 w (a) e no escuro (b).....	104
Figura 3.2 – Isoterma de adsorção das amostras em pó, ajustada pelo modelo de BET	111
Figura 3.3 – Micrografia eletrônica de varredura (MEV) dos extratos em pó de antocianinas com 3% de maltodextrina, com aumento de 1000 (a) e 10.000(b) vezes.....	112

Figura 3.4 – Micrografia eletrônica de varredura (MEV) dos extratos em pó de antocianinas com 5,5% de maltodextrina, com aumento de 1000 (a) e 10.000(b) vezes.....	112
Figura 3.5 – Micrografia eletrônica de varredura (MEV) dos extratos em pó de antocianinas com 8% de maltodextrina, com aumento de 1000 (a) e 10.000 (b) vezes.....	112
Figura 3.6 – Comportamento de c^* (saturação) e h^* (tonalidade) das amostras em pó, obtidas por secagem por atomização com diferentes concentrações de maltodextrina.	115
Figura 3.7 – Amostras com 3% (a), 5,5% (b) e 8% (c) de maltodextrina.	115
Figura 3.8 – Comportamento de ΔE^* (diferença global de cor) das amostras em pó, obtidas por secagem por atomização com diferentes concentrações de maltodextrina, ao longo do tempo de armazenagem.	116
Figura 3.9 – Comportamento da capacidade antioxidante equivalente ao trolox (TEAC) ao longo do tempo.	118

LISTA DE TABELAS

Introdução Geral

Tabela 1– Tipos de agentes encapsulantes.	24
--	----

Capítulo I

Tabela 1.1 – Teor de antocianinas do capim-gordura (<i>Melinis minutiflora</i>) e sua respectiva eficiência de extração.	59
---	----

Tabela 1.2 – Teor de polifenóis totais do capim-gordura (<i>Melinis minutiflora</i>).	60
--	----

Tabela 1.3 – Atividade antioxidante do capim-gordura (<i>Melinis minutiflora</i>).....	60
--	----

Tabela 1.4 – Efeito do tipo de extração nos parâmetros de cor do extrato de capim-gordura (<i>Melinis minutiflora</i>).	61
--	----

Capítulo II

Tabela 2.1 – Delineamento experimental.	69
--	----

Tabela 2.2 – Respostas para os extratos em pó de capim-gordura secos por atomização.....	78
--	----

Tabela 2.3 – Efeito estimado, erro puro, coeficiente <i>t</i> e valor de probabilidade estatística (<i>p</i>) para cada fator sobre a determinação de umidade.	79
---	----

Tabela 2.4 – Efeito estimado, erro puro, coeficiente <i>t</i> e valor de probabilidade estatística (<i>p</i>) para cada fator sobre a determinação de higroscopicidade.	80
--	----

Tabela 2.5 – Resumo da análise de variância (anova) para higroscopicidade.	80
---	----

Tabela 2.6 – Efeito estimado, erro puro, coeficiente <i>t</i> e grau de significância estatística (<i>p</i>) para cada fator sobre a determinação da atividade de água.....	82
---	----

Tabela 2.7 – Efeito estimado, erro puro, coeficiente <i>t</i> e grau de significância estatística (<i>p</i>) para cada fator sobre a determinação da retenção de antocianinas.	83
---	----

Tabela 2.8 – Efeito estimado, erro puro, coeficiente <i>t</i> e grau de significância estatística (<i>p</i>) para cada fator sobre a determinação da atividade antioxidante, pelos diferentes métodos. ...	85
--	----

Tabela 2.9 – Resumo da análise de variância (ANOVA) do modelo ajustado para a atividade antioxidante, pelos diferentes métodos.....	86
---	----

Tabela 2.10 – Efeito estimado, erro puro, coeficiente t e grau de significância estatística (p) para cada fator sobre a coloração das amostras em pó solubilizadas.	88
Tabela 2.11 – Resumo da análise de variância (ANOVA) do modelo ajustado para luminosidade.....	89
Tabela 2.12 – Resumo dos efeitos sobre as variáveis respostas	91
Tabela 2.13 – Respostas utilizadas para otimização simultânea	92
Tabela 2.14. Respostas obtidas após a otimização simultânea, usando temperatura de entrada de 170 °C e 5,5 % de maltodextrina.	93

Capítulo III

Tabela 3.1 – Atividade de água (a_w) e umidade relativa (ur) das soluções saturadas de sais a 25 °C.	102
Tabela 3.2 – Modelos utilizados para ajuste das isotermas de adsorção de umidade da amostras em pó.	103
Tabela 3.3 – Determinação física das amostras em pó, obtidas por <i>spray dryer</i> , com diferentes concentrações de maltodextrina, como coadjuvante de secagem.....	108
Tabela 3.4 – Valores experimentais da umidade de equilíbrio (U_{eq}) das amostras em pó em função da atividade de água (a_w) submetida.....	109
Tabela 3.5 – Parâmetros de ajuste dos modelos das isotermas de adsorção da pitanga em pó, coeficientes de determinação (R^2) e desvios percentuais médios (ϵ_m).	109
Tabela 3.6 – Valores experimentais e teóricos da umidade de equilíbrio (%) e erros relativos para as diferentes amostras e modelos.....	110
Tabela 3.7 – Resumo da análise de variância (ANOVA) para determinação da coordenada c^* (saturação).	114
Tabela 3.8 – Resumo da análise de variância (ANOVA) para determinação da coordenada h^* (tonalidade).....	114
Tabela 3.9 – Resumo da análise de variância (ANOVA) para determinação da diferença global de cor (ΔE^*).	116

Tabela 3.10 – Valores de constante de degradação (k_d), tempo de meia-vida e % de antocianina perdida ao longo de 1080h, das amostras em pó, obtidas por spray dryer, com diferentes concentrações de maltodextrina, como coadjuvante de secagem.	117
Tabela 3.11 – Resumo da análise de variância (ANOVA) para determinação da atividade antioxidante.	118

RESUMO

OLIVEIRA, Isadora Rebouças Nolasco de, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2011. **Antocianinas extraídas de capim-gordura (*Melinis minutiflora*): atividade antioxidante, microencapsulamento por atomização e estabilidade.** Orientador: Paulo Cesar Stringheta. Coorientadores: Afonso Mota Ramos e Reinaldo Francisco Teófilo.

As antocianinas são pigmentos bastante instáveis, presente em vegetais como uva, amora, morango, jabuticaba, repolho roxo e outros. Apesar de existirem várias fontes, poucos vegetais se apresentam como fonte comercial, sendo assim, a busca de novas fontes, que apresentem um baixo custo, bem como formas de estabilizar este pigmento tem estimulado o desenvolvimento de pesquisas. O capim-gordura (*Melinis minutiflora*) é uma gramínea que por apresentar alto teor de antocianinas, muitas vezes superiores ao de fontes comerciais, apresenta-se como uma fonte viável. As antocianinas por serem pigmentos bastante instáveis necessitam de métodos de conservação, e atualmente o que mais se utiliza é adição de antioxidantes e o encapsulamento empregando secagem por atomização (*spray dryer*), por ser um processo mais econômico, flexível e contínuo. Diante disto objetivou-se caracterizar a inflorescência de capim-gordura e avaliar as antocianinas extraídas quanto ao teor, atividade antioxidante e a estabilidade de microcápsulas produzidas em diferentes condições de atomização. A anatomia vegetal mostrou que a antocianina está presente nas células epidérmicas das glumas e do lema aristado. A extração com os diferentes sistemas mostrou que o solvente de extração não influenciou a atividade antioxidante, porém foi um fator decisivo para a extração de antocianinas e polifenóis, onde o etanol 70% foi preferido devido a sua eficiência e baixa toxicidade. A produção dos extratos em pó foi realizada por secagem por atomização em mini *spray dryer* e os resultados indicaram que a temperatura de secagem exerceu pouca influência significativa sobre as respostas estudadas, enquanto que a concentração de maltodextrina apresentou efeito significativo sobre todas as respostas avaliadas: a medida que se aumentou a temperatura observou-se diminuição nos teores de umidade, atividade de água, retenção de antocianinas e atividade antioxidante (TEAC_{ABTS}); e a aumentar a concentração de maltodextrina ocorreu diminuição de todas as respostas estudadas, exceto para determinação de cor, onde o aumento de maltodextrina tornou os pós mais claros. Uma análise simultânea de todas as respostas foi realizada e observou-se que a condição ótima de secagem foi temperatura de 175 °C e uma concentração de 5,5 % de maltodextrina, para se obter partículas com ótimo poder corante, alto teor de antocianinas e

atividade antioxidante e baixa higroscopicidade e umidade. As microcápsulas de antocianinas com 3 %, 5,5 % e 8 % de maltodextrina foram secas a 175 °C e submetidas a análise de estabilidade a luz. Durante o estudo de estabilidade, a concentração de maltodextrina apresentou bom efeito protetor do pigmento, pois não se observou perda significativa no teor de antocianina (perda média de 15,19 %) e cor ($\Delta E^* < 10$) quando submetidas à estocagem sob luz e escuro. A concentração de maltodextrina e o tempo apresentaram efeito significativo sobre a atividade antioxidante, mostrando que quanto maior o teor de maltodextrina mais se mantem o potencial protetor da amostra, sendo que a luz não apresentou influencia na redução da atividade antioxidante.

ABSTRACT

OLIVEIRA, Isadora Rebouças Nolasco de, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2011. **Anthocyanin extracted of Molassesgrass (*Melinis minutiflora*): antioxidant activity, micro-encapsulation by atomization and stability.** Adviser: Paulo Cesar Stringheta. Co-advisers: Afonso Mota Ramos and Reinaldo Francisco Teófilo.

Anthocyanins are unstable pigments which are present in vegetables such as grape, blueberry, strawberry, jaboticaba, red cabbage and others. Although there are many sources of anthocyanins, only few vegetables can be considered a commercial source. Therefore, the search for new sources with a low cost of extraction, as well as ways for stabilizing this pigment, has motivated the development of related researches. Molassesgrass (*Melinis minutiflora*) is a perennial mat grass viewed as a viable source of anthocyanins since it presents high content of this pigment, often superior than available commercial sources. Due to the instability of anthocyanins, conservation methods have been used to preserve the integrity of the pigment. The addition of antioxidants and encapsulation, using drying by atomization (*spray dryer*), are the most currently used conservation processes for their economical, flexible and continuous aspects. Thus, this study aimed to characterize the inflorescence of molassesgrass and evaluate the anthocyanins extracted as for the being tenor, antioxidant activity and stability of anthocyanins micro-encapsulate produced by different conditions of atomization. The plant anatomy showed that anthocyanin is present in the epidermal cells of glumes and lemma. The antioxidant activity was not influenced by the extraction solvent, however was a decisive factor when extracting anthocyanins and polyphenols, that the ethanol 70% was preterit due to were the most efficient and less toxic. In the production of powder extracts by spray dryer, the results indicated that the drying temperature exerted little significant influence on the observed responses, however the concentration of maltodextrin showed a significant effect on all studied responses: increased the temperature decrease was observed in the moisture content, water activity, anthocyanin retention and antioxidant activity (TEAC_{ABTS}); increased the concentration of maltodextrin showed decrease all studied responses, except in the determination of color, in which the increase of maltodextrin produced lighter powders. A simultaneous analysis of all responses was performed and it was observed that the optimal atomization condition was reached with a temperature 170 °C and a maltodextrin concentration ranging from 5.5 %, under such conditions, particles with great coloring strength, high contents of anthocyanins and

antioxidant activity, low hygroscopicity and moisture content were obtained. The anthocyanins micro-encapsulate with 3%, 5.5% and 8% of maltodextrin dried 170 °C was submitted stability of light. During the stability study, the concentration of maltodextrin showed a good protective effect on the pigment since no significant loss in the anthocyanin content (average of 15.19%) and color ($\Delta E^* < 10$) were observed when the samples were subjected to storage under light and dark. Time and concentration of maltodextrin had a significant effect on the antioxidant activity, showing that the higher the content of maltodextrin, the longer its protective potential. The light did not have any influence in the reduction of the antioxidant activity.

INTRODUÇÃO GERAL

I. INTRODUÇÃO

É fato conhecido que a cor é um atributo que influencia de forma decisiva na preferência do consumidor ao adquirir determinado alimento. Geralmente, afeta o julgamento, sendo utilizada como forte indicador de qualidade. Assim, o desenvolvimento de produtos com aparência atrativa é importante para a indústria de alimentos.

A prática de colorir os alimentos é muito antiga e os pigmentos naturais encontrados em especiarias e condimentos foram os primeiros a serem estudados para esse fim, dando depois lugar aos pigmentos sintéticos, os quais muitas vezes são considerados prejudiciais à saúde (OZELA, *et al.*, 2007). Existe um interesse crescente no desenvolvimento de corantes alimentares provenientes de fontes naturais como alternativas para os corantes sintéticos, tanto por medidas legislativas como de preocupação com o consumo (GIUSTI & WROLSTAD, 1996). Este fato levou os pesquisadores a investigar toda a biosfera da matéria-prima para a produção de corantes naturais com propriedades adequadas para uso na indústria de alimentos (OZELA, *et al.*, 2007).

Estudos têm investigado a presença das antocianinas, substâncias altamente coloridas encontradas em plantas e que são passíveis de uso em alimentos, produtos farmacêuticos e nutracêuticos (DOUGHALL *et al.*, 1998), possuindo elevado potencial como corante, devido à sua baixa toxicidade (BROUILLARD, 1982). As antocianinas pertencem ao grupo dos compostos fenólicos e são responsáveis pela cor laranja, vermelho, rosa e azul na maioria das frutas, flores e legumes. Ao lado das propriedades de cor, o interesse em antocianinas aumentou devido aos seus possíveis benefícios à saúde (KONG *et al.*, 2003).

São poucas as fontes de antocianinas comercialmente utilizadas. Apesar de existirem aproximadamente 400 tipos de antocianinas (KONG *et al.*, 2003) presentes em diversas frutas e hortaliças como uva, cereja, morango, amora, maçã, azeitona, figo, marmelo, jabuticaba, cacau, repolho roxo, rabanete, berinjela, feijão, entre outras, (MALACRIDA & MOTTA, 2006) poucas delas apresentam-se como fonte comercial desse pigmento, onde apenas a uva e o repolho roxo são empregados comercialmente (CONSTANT, 2003). Torna-se evidente, portanto, a necessidade de avaliar novas fontes de antocianinas, buscando vegetais de menor valor agregado e de fácil disponibilidade. A descoberta de melhores e novas fontes de

antocianinas poderá levar esses corantes a níveis de maior aplicação como corante natural (STRINGHETA, 1991).

A pesquisa sobre novas fontes viáveis de antocianinas e de novos métodos de estabilização e formulação é necessária para que se possam desenvolver corantes com a estabilidade desejável, baixo custo e alta resistência tintorial (GONZÁLEZ-PARAMÁS *et al.*, 2006; GIUSTI & WROLSTAD, 2003; CEVALLOS-CASALS & CISNEROS-ZEVALLOS, 2003; PAZMIÑO-DURÁN, *et al.* 2001).

O capim-gordura (*Melinis minutiflora*) é uma gramínea de origem africana, perene que se reproduz tanto por semente como vegetativamente, tem sido introduzida em muitos países tropicais como forrageira, podendo ser considerada atualmente como uma espécie naturalizada. Essa gramínea não requer solos férteis e de acordo com Costa (2002), o capim-gordura está amplamente distribuído ao longo das estradas. Devido à sua alta agressividade, essa gramínea dificulta o estabelecimento das gramíneas nativas do cerrado em áreas degradadas pela extração de cascalho (MARTINS *et al.*, 2001), sendo, portanto, considerada uma “praga vegetativa” para os produtores rurais, tornando-se necessário um controle de seu desenvolvimento para permitir o estabelecimento de um maior número de espécies nativas do Cerrado.

O capim-gordura não tem benefícios diretos na agricultura, não apresenta aplicabilidade industrial atualmente conhecida, mas por apresentar uma inflorescência de cor roxa cor teor de antocianinas de $84,62 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$, relatado por Teixeira *et al.* (2008), apresenta-se como uma fonte importante destes pigmentos.

Como as antocianinas são moléculas instáveis (à luz, ao oxigênio, entre outras) é imprescindível à utilização da técnica de microencapsulação visando à proteção dos referidos pigmentos. O método mais econômico usado atualmente é o *spray dryer*, que é um método econômico e versátil para a preservação dos corantes naturais, protegendo o ingrediente em um material de revestimento (CAI & CORKE, 2000).

Dessa forma, o estudo de diferentes solventes de extração, o efeito das variáveis do processo de microencapsulamento por atomização sob as características das amostras após a secagem e durante a estocagem torna-se importante, uma vez que este produto representa um potencial corante natural.

II. OBJETIVOS

Objetivo geral

Caracterizar as inflorescência de capim-gordura (*Melinis minutiflora*) e avaliar as características e a estabilidade das antocianinas microencapsuladas com maltodextrina produzidas pelo processo de secagem por atomização.

Objetivos específicos

Caracterizar as inflorescências de capim-gordura.

Investigar a porção da inflorescência que apresenta a antocianina.

Avaliar o efeito de vários solventes sob a extração de antocianinas de capim-gordura.

Desenvolver formulações de extratos antociânicos, com concentrações de maltodextrina abaixo de 10 %.

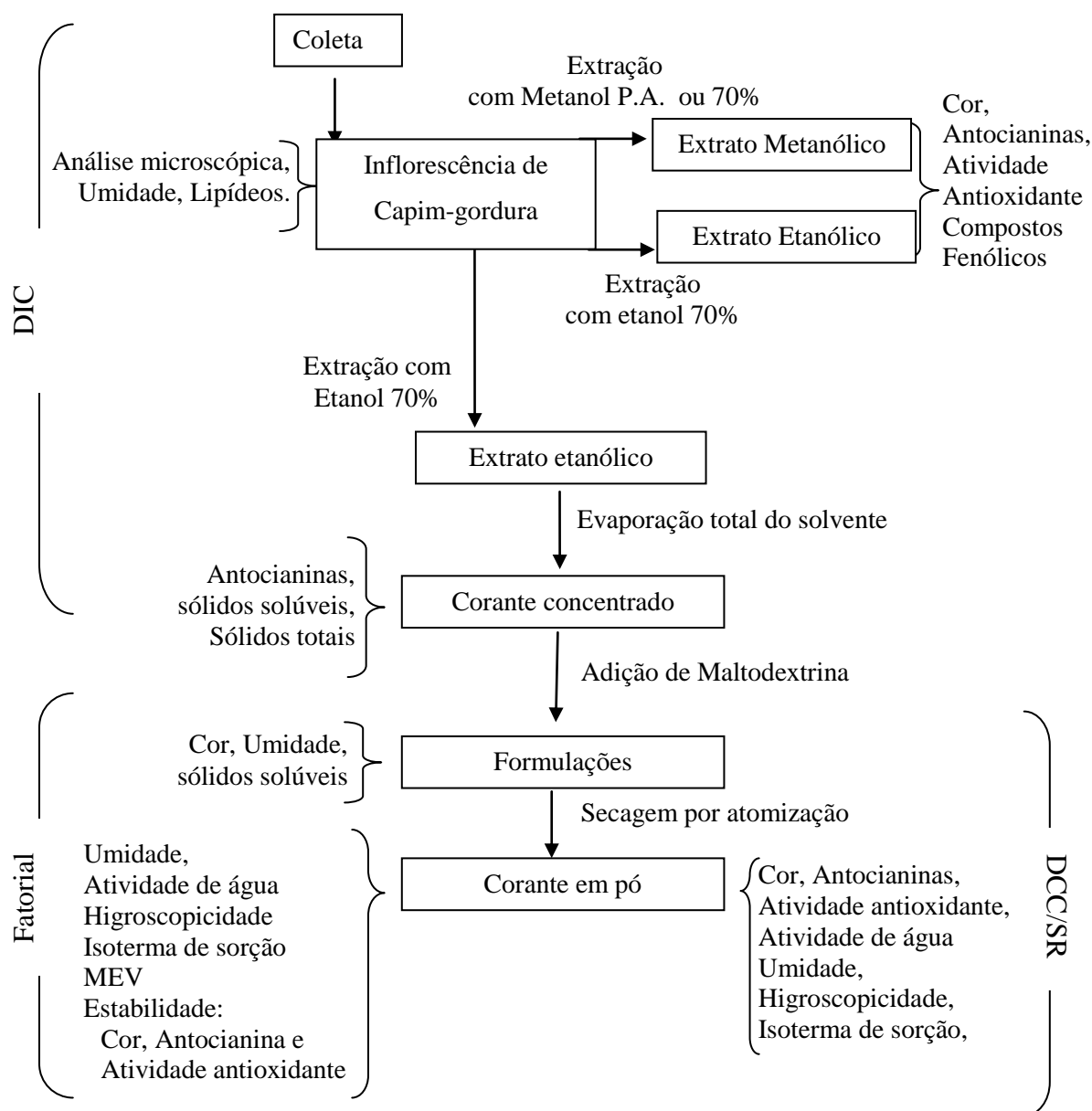
Estudar a influência da temperatura do ar de secagem (160 – 180 °C) e da concentração de maltodextrina (2 – 9 %) nas propriedades dos extratos em pó.

Selecionar a melhor temperatura de secagem e concentração de maltodextrina, visando principalmente, à obtenção de um produto rico em antocianinas.

Avaliar o efeito da concentração de maltodextrina e da luz branca durante o armazenamento na estabilidade dos extratos antociânicos de capim-gordura.

III. DESENHO DOS EXPERIMENTOS

A Figura 1 apresenta o desenho esquemático do experimento realizado nesse trabalho, indicando as análises e o delineamento experimental usado em cada etapa.



DIC – Delineamento composto central; DCC – Delineamento composto central; SR – Superfície de resposta

Figura 1 – Desenho dos experimentos da dissertação

IV. REFERÊNCIAS

BROUILLARD, R. Chemical structure of anthocyanins. In P. Markakis (Ed.). **Anthocyanins as food colors**, London, UK, 1982, 1–40.

CAI, Y. Z.; CORKE, H. Production and properties of spray-dried *Amaranthus* betacyanin pigments, **Journal of Food Science**, 65, 1248–1252, 2000.

CEVALLOS-CASALS, B. A.; CISNEROS-ZEVALLOS, L. Review: Stability of anthocyanin-based aqueous extracts of Andean purple corn and red-fleshed potato compared to synthetic and natural colorants. **Food Chemistry**, 86, 69–77, 2003.

CONSTANT, P. B. L. **Extração, caracterização e aplicação de antocianinas de açaí (*Euterpe oleracea*, M.)**. 2003. 186 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2003.

COSTA, E. M. M. **Líquens e capins invasores como indicadores do estado de conservação das fisionomias de cerrado do Parque Nacional de Brasília**. 2002. Tese (Doutorado em Botânica). Universidade Federal de Brasília, Brasília, 2002.

DOUGHALL, D. K.; BAKER, D. C.; GAKH, E. G.; REDUS, M. A.; WHITTEMORE, N. A. Anthocyanins from wild carrot suspension cultures acylated with supplied carboxylic acids. **Carbohydrate Research**, 310, 177–189, 1998.

GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R. E. Radish anthocyanin extract as a natural red colorant for maraschino cherries. **Journal of Food Science**, 61, 688–694, 1996.

GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R. E. Review: Acylated anthocyanins from edible sources and their application in food systems, **Biochemical Engineering Journal**, 14, 217–225, 2003.

GONZÁLEZ-PARAMÁS, A. M.; SILVA, F. L.; MARTÍN-LÓPEZ, P.; MACZ-POP, G.; GONZÁLEZ-MANZANO, S.; ALCALDE-EON, C.; PEREZ-ALONSO, J. J.; ESCRIBANO-BAILÓN, M. T.; RIVAS-GONZALO, J. C.; SANTOS-BUELGA, C. Flavanol-anthocyanin condensed pigments in plant extracts. **Food Chemistry**, 94, 428–436, 2006.

KONG, J. M.; CHIA, L. S.; GOH, N. K.; CHIA, T. F.; BROUILLARD, R. Review. Analysis and biological activities of anthocyanins. **Phytochemistry**, 64, 923–933, 2003.

MALLACRIDA, S. R.; MOTTA, S. Antocianinas em suco de uva: composição e estabilidade. **Boletim CEPPA**, 24, 59-82, 2006.

MARTINS, C. R.; LEITE, L. L.; HARIDASAN, M. Recuperação de uma área degradada pela mineração de cascalho com uso de gramíneas nativas. **Revista Árvore**, 25, 157-166, 2001.

OZELA, E. F.; STRINGHETA, P. C.; CANO-CHAUCA, M. Stability of anthocyanin in spinach vine (*Basella rubra*) fruits. **Ciencia e Investigación Agraria**, 34, 115-120, 2007.

PAZMIÑO-DURÁN, E. A.; GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R. E.; G, M. B. A. Anthocyanins from *Oxalis triangularis* as potential food colorants. **Food Chemistry**, 75, 211–216, 2001.

STRINGHETA, P. C. **Identificação da estrutura e estudo da estabilidade das antocianinas extraídas da inflorescência de capim-gordura (*Melinis minutiflora*, Pal de Beauv)**. 1991. 152f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos). Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1991.

TEIXEIRA, L. N.; STRINGHETA, P. C.; OLIVEIRA, F. A. Comparação de métodos para quantificação de antocianinas. **Revista Ceres**, 55, 297-304, 2008.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

I. CAPIM – GORDURA

O Brasil possui uma das maiores biodiversidades mundial, e grande parte dela encontra-se no bioma cerrado. A invasão de espécies exóticas representa um grave problema para o funcionamento dos ecossistemas e ameaça a diversidade vegetal nas unidades de conservação (MARTINS *et al.*, 2004).

Gramíneas de origem africana foram introduzidas no Brasil, acidentalmente ou para fins comerciais, e se espalharam por grandes extensões de ecossistemas naturais, deslocando espécies nativas graças à sua agressividade e ao seu grande poder competitivo (BARUCH *et al.*, 1985; PIVELLO *et al.*, 1999). Hoje, essas espécies encontram-se bastante disseminadas no Brasil. No Distrito Federal, segundo Filgueiras (1991), já foram identificadas 305 espécies de gramíneas, e as espécies exóticas representam cerca de 20% do total.

O capim-gordura (*Melinis minutiflora*) é uma gramínea perene, reproduz-se tanto por semente como vegetativamente e foi introduzida em muitos países tropicais como forrageira (MARTINS *et al.*, 2004). Já é considerada como uma espécie naturalizada que ocorre com muita frequência nas áreas de pastagens da maioria dos estados da região Sudeste e Centro-Oeste do Brasil (ANDRADE, 1983). É uma gramínea muito sensível à geada e está bem adaptada às regiões tropicais e subtropicais desenvolvendo-se, inclusive, em solos de baixa fertilidade (PRATES *et al.*, 1993).

Essa gramínea apresenta folha e talos cobertos por tricomas glandulares, que produzem uma secreção viscosa, e possui ramos caracterizados por inflorescência roxa (Figura 2).



Figura 2– Capim-gordura (*Melinis minutiflora*)

1 MORFOANATOMIA DE GRAMINEAS

A morfologia típica de uma gramínea (Figura 3) é muito semelhante em todas as espécies: um caule geralmente oco, com nós engrossados, no qual se inserem as folhas com uma forma tendencialmente linear, e de nervação paralela. Estas folhas têm uma morfologia muito típica: a parte proximal forma uma bainha que envolve parte do caule, a qual termina no limbo foliar. Na articulação entre estas duas partes existe um prolongamento – a lígula – em forma de membrana ou de uma fiada de pelos (PORTO, 2011).

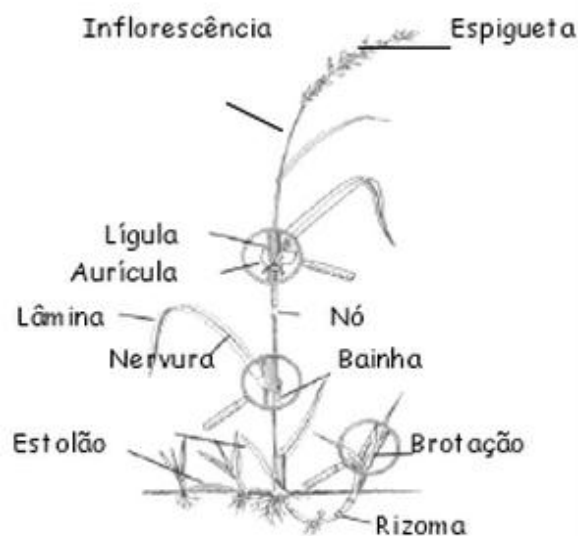


Figura 3 - Partes de uma gramínea

As inflorescências de gramíneas são demasiadamente pequenas para serem observadas a olho nu, portanto é necessário o uso de lentes de aumento, onde é possível observar várias estruturas. A espiguetas (Figura 4) é a unidade básica da inflorescência de uma gramínea e é de grande importância na identificação das espécies.

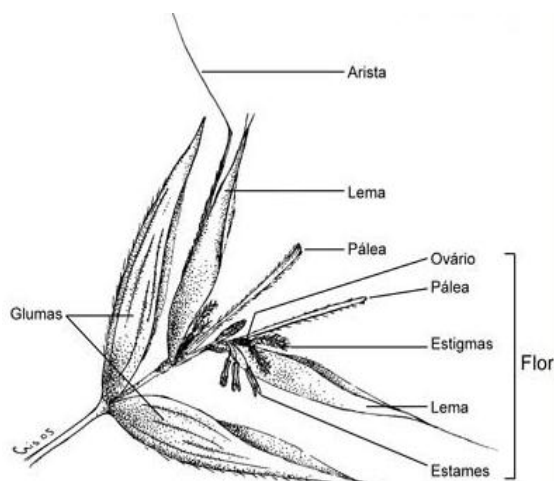


Figura 4 – Esquema geral de uma espiguetas.

As flores das gramíneas não existem pétalas nem sépalas como comumente ocorrem nas flores, já que estas plantas não precisam delas para atração de insetos: a polinização é feita

pelo vento (polinização anemófila). Todas as outras peças – lema, pálea e glumas – são brácteas, isto é, folhas modificadas que, para além de servirem para a proteção das flores como geralmente acontece, neste caso têm também uma função bastante importante na dispersão da semente. Esta função é complementada pela presença, em muitos géneros, da arista – um prolongamento rígido do lema (ou das glumas) provido de diminutos “ganchos” que se ancoram em qualquer superfície minimamente rugosa ou pilosa (PORTO, 2011).

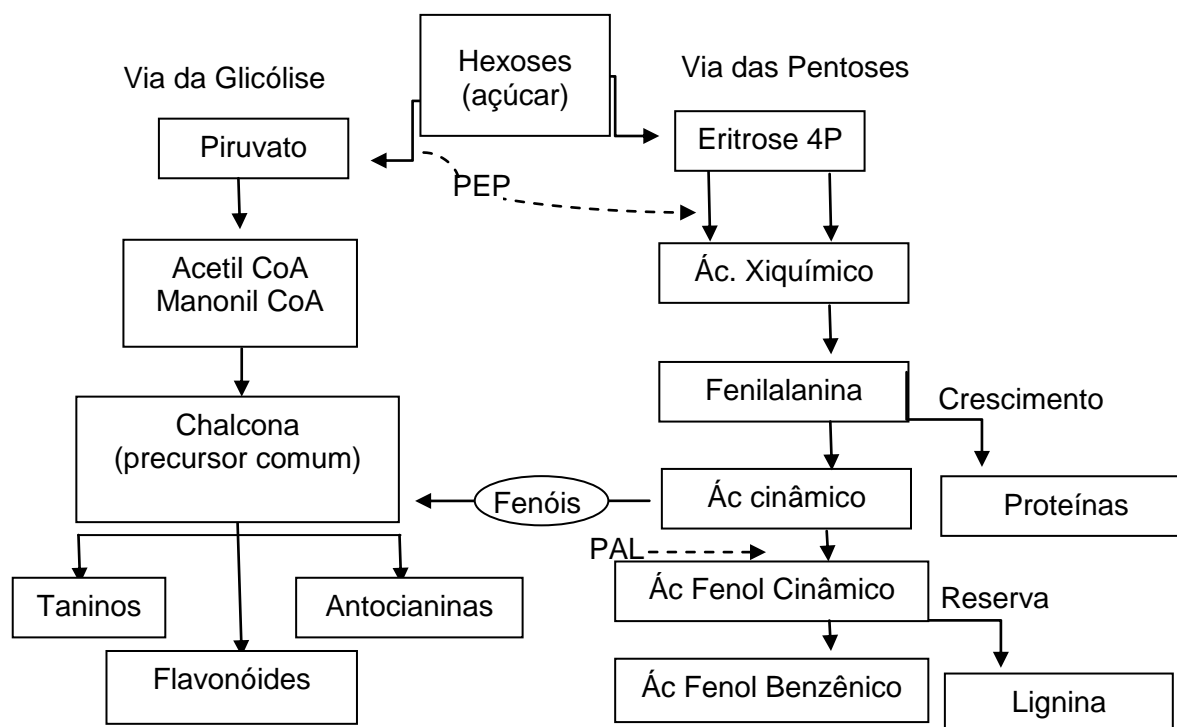
A inflorescência do capim-gordura é denominada panícula, que é uma inflorescência composta por espiguetas. Cada espiguetas contém duas flores denominadas flósculos. Cada flósculo é protegido por duas brácteas estéreis, lema (2) e pálea (2). Uma das flores é fértil e hermafrodita, apresentando três estames e um pistilo na mesma flor. A outra flor é estéril, composta apenas por um lema aristado. As flores são protândricas, o que significa que a parte masculina (estames) diferencia-se, libera grãos de pólen e cai antes da parte feminina (pistilo) se tornar receptiva (CHASE, 1991).

II. COMPOSTOS BIOATIVOS

Os vegetais fornecem não somente nutrientes essenciais necessários para a vida, mas também compostos bioativos que promovem benefícios à saúde e reduzem o risco de desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis. Esse efeito protetor tem sido atribuído, em grande parte, às propriedades biológicas ditas promotoras da saúde, tais como atividade antioxidante, anti-inflamatória e hipocolesterolêmica de nutrientes como as vitaminas C, A e E, e de compostos fenólicos como os flavonoides e as antocianinas.

1 COMPOSTOS FENÓLICOS

Os compostos fenólicos representam a principal classe de metabólitos secundários presentes nas plantas e encontram-se amplamente distribuídos no reino vegetal, sendo importante na determinação da cor e sabor, além de serem importantes sinalizadores químicos (FIGUEIREDO, 2000). Eles são derivados das vias do ácido xiquímico ou via das pentoses (Figura 5) e podem ser definidos como substâncias que possuem um anel aromático com um ou mais grupos hidroxilas, podendo estar presentes na forma livre ou ligados a açúcares (glicosídeos) e proteínas.



PEP – Fosfoenolpiruvato, proveniente da glicólise.

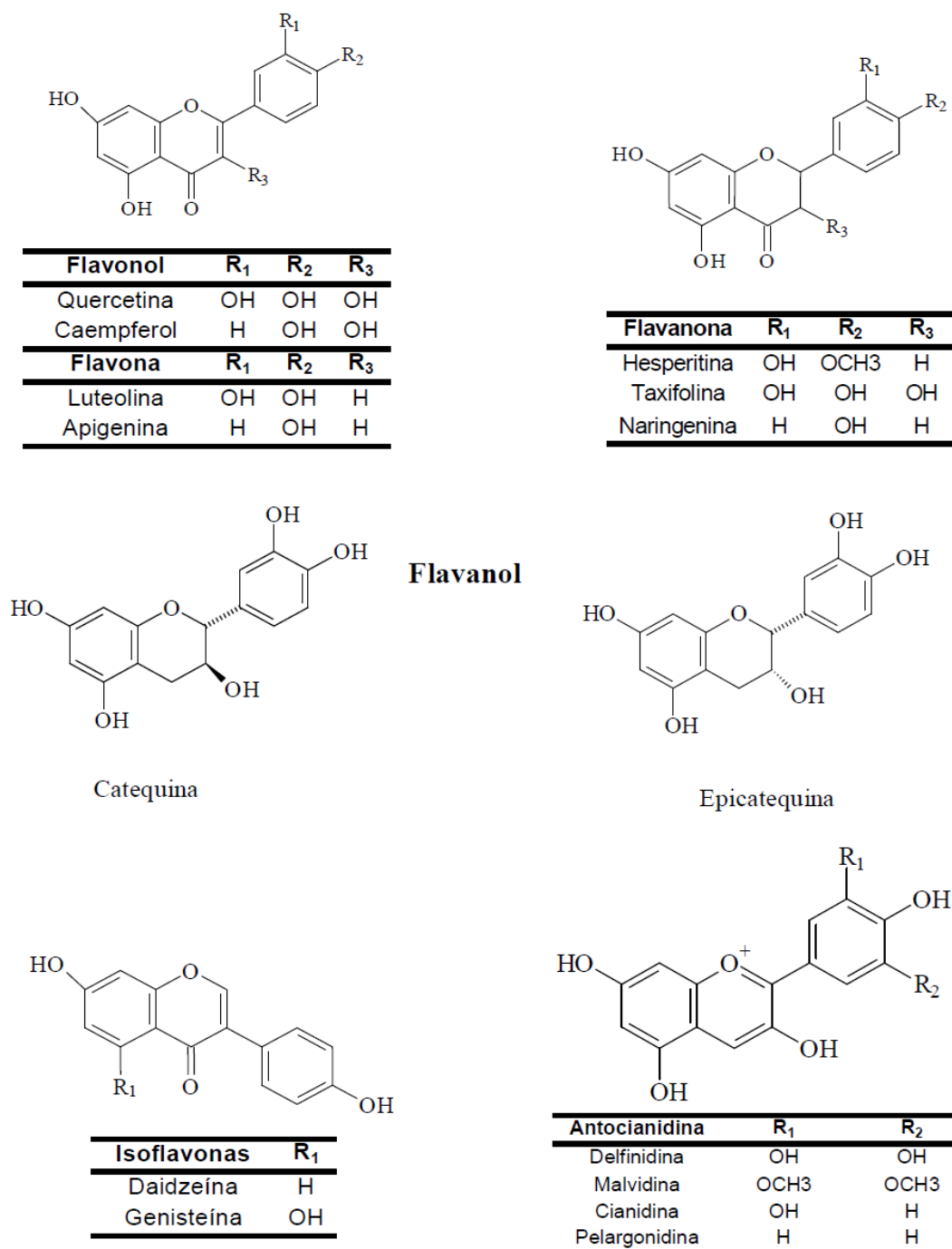
PAL – Fenilalanina-amonialiasiase, enzima ligada ao aparecimento da coloração dos frutos.

FONTE: ROSIER, 2003.

Figura 5 – Vias de biossíntese dos compostos fenólicos.

Os três maiores grupos de fenólicos da dieta são os flavonoides, os ácidos fenólicos (ácido clorogênico), e os taninos (SHAHIDI & NACZK, 2004).

Os flavonoides (Figura 6) são o maior e mais estudado dentre esses, possuindo mais de 8.000 compostos identificados em plantas, sendo constituídos por 15 átomos de carbono arranjados em três anéis, caracterizados estruturalmente como difenilpropanos (C6-C3-C6). No grupo dos flavonoides encontram-se as antocianinas, antocianidinas, flavonas, flavonóis e, com menor frequência, as auronas, chalconas e isoflavonas, dependendo da posição, número e combinação dos grupamentos participantes da molécula (SOARES, 2002; LIMA *et al.*, 2005).



FONTE: GONÇALVES, 2008

Figura 6 – Estrutura química das principais classes de flavonoides distribuídas na natureza.

Os flavonóis possuem coloração branca ou amarela clara e geralmente acompanham as antocianinas em frutos, provavelmente porque apresentam rotas de biossíntese semelhantes, além de atuarem na co-pigmentação das antocianinas (MELO *et al.*, 2006).

As propriedades benéficas desses compostos podem ser atribuídas à capacidade de abstrair o elétron desemparelhado dos radicais livres, devido às propriedades de oxidação-redução, desempenhando importante papel na eliminação e desativação desses radicais, tornando as espécies químicas mais estáveis e, assim, menos reativas (BIANCHI & ANTUNES, 1999; DEGASPARI & WASZCZYNSKYJ, 2004).

Estudos epidemiológicos têm demonstrado uma associação entre o consumo de alimentos e bebidas ricos em compostos fenólicos e a prevenção de doenças, tais como câncer e doenças coronárias (STEINMETZ & POTTER, 1996), embora as propriedades biológicas desses compostos dependam muito da sua biodisponibilidade (SCALBERT & WILLIAMSON, 2000).

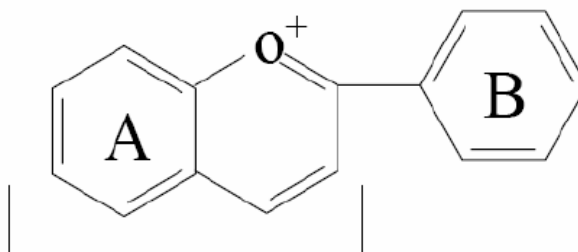
O interesse em compostos fenólicos presentes em alimentos alcançou novo patamar nos últimos anos. Subtraindo o interesse acadêmico usual na biologia e química de descoberta e identificação de compostos fenólicos na natureza, tem-se notado um crescente interesse comercial incentivando novos estudos e trabalhos sobre estes compostos, a fim de agregar maior valor ao alimento, além de proporcionar efeitos que tragam benefícios à saúde (SILVA, 2003).

Para a quantificação de polifenóis totais, o método Folin-Denis é o mais indicado em materiais vegetais e bebidas, pois não há influência de interferentes como proteínas, açúcares ou outras substâncias redutoras que não sejam polifenóis e, portanto, os resultados são mais exatos. Este método é baseado na redução do reagente ácido fomicídico-fosfotungstico (reagente Folin-Denis) para um complexo de coloração azul em solução alcalina, pelos compostos fenólicos. É também um método referencial usado para a determinação de compostos fenólicos totais pela AOAC (SHAHIDI & NACZK, 1995).

1.1 Antocianinas

Antocianinas (do grego: *anthos*, flor e *kyanos*, azul) (MANHITA *et al.*, 2006) são um grupo de pigmentos vegetais hidrossolúveis (DEGASPARI & WASZCZYNSKYJ, 2004). São pertencentes ao grupo flavonoides dos compostos fenólicos, e estão amplamente distribuídos na natureza, são responsáveis por várias nuances entre laranja, vermelho e azul, exibidos pelas frutas, hortaliças, flores, folhas e raízes (CHITARRA & CHITARRA, 2005; LIMA *et al.*, 2006).

De acordo com Mazza (2007), quimicamente estes compostos são glicosídeos polihidroxilados ou polimetoxilados ou acilglicosídeos de antocianidinas, que são derivados oxigenados do 2-fenilbenzopirilum (Figura 7).



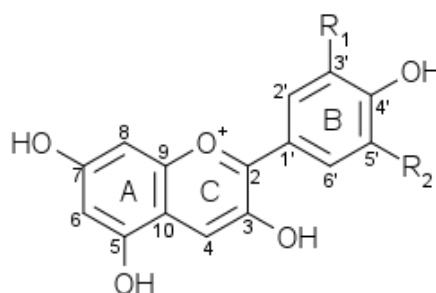
FONTE: VOLP *et al.* 2008.

Figura 7 – Estrutura do cátion 2-fenilbenzopirilum (flavilium)

Geralmente estão localizadas nos vacúolos epidérmicos das células vegetais, que são genuínos “bolsos” d’água (BROUILLARD, 1983); também podem ser encontradas em raízes, hastes, folhas e sementes (RODRIGUEZ - SAONA, *et al.*, 1998).

A estrutura das antocianinas é baseada em um esqueleto C₁₅, consistindo de um anel aromático ligado a um segundo anel na posição de C₂. São heteroglicosídeos, isto é, sua estrutura é completada por uma ou mais moléculas de açúcar ligadas em diferentes posições hidroxiladas da estrutura básica (DELGADO-VARGAS & PAREDES-LOPEZ, 2003); quando estão livres de moléculas de açúcar são denominadas antocianidinas (agliconas).

A Figura 8 mostra os grupos ligantes das seis antocianidinas mais frequentemente encontradas nos pigmentos naturais.



Aglicona	Símbolo	R ₂	R ₁
Pelargonidina	Pg	H	H
Cianidina	Cy	OH	H
Peonidina	Pe	OMe	H
Delfinidina	Dp	OH	OH
Petunidina	Pt	OMe	OH
Malvidina	Mv	OMe	OMe

FONTE: GIUSTI & WROLSTAD (2003).

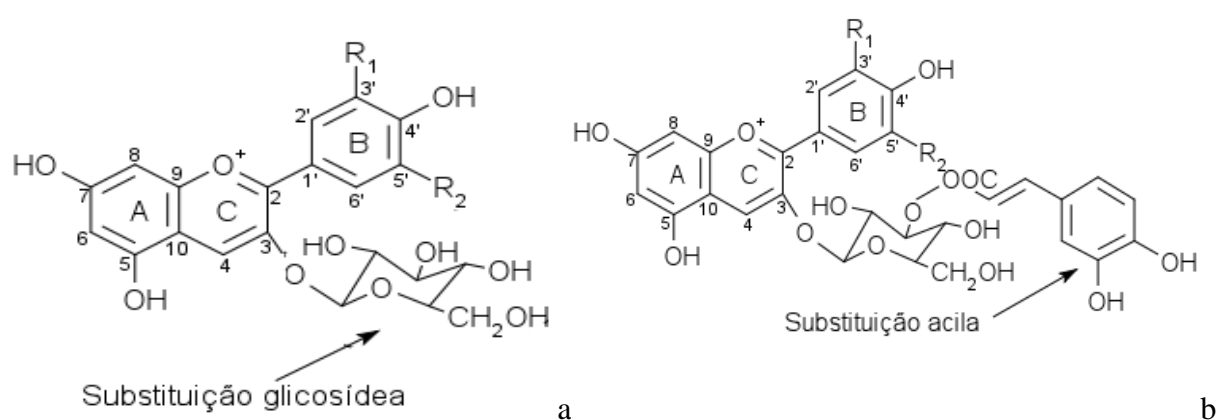
Figura 8 – Estrutura de uma antocianidina genérica e antocianidinas mais encontradas na natureza.

A metoxilação (substituição dos radicais R_1 e R_3) é mais frequente nas posições 3' e 5' e menos comum nas 5 e 7 (Figura 8). É importante salientar que a antocianina natural nunca apresenta as hidroxilas das posições 5, 7 e 4' substituídas ao mesmo tempo, pois um dos grupos hidroxila deve permanecer livre numa dessas posições para a formação da estrutura quinoidal responsável pela cor (BROUILLARD, 1982).

As antocianinas são potentes antioxidantes, superiores aos antioxidantes clássicos como butilhidroxianol (BHA), butilhidroxitolueno (BHT) e α -tocoferol (MAZZA, 2007). A atividade antioxidante está relacionada à presença de grupos hidroxila nas posições 3' e 4' do anel B (Figura 8), os quais conferem estabilidade ao radical formado (KUSKOSKI *et al.*, 2005).

Antocianinas livres são raramente encontradas em plantas, ocorrendo comumente glicosiladas que estabilizam a molécula. Diferentes monossacarídeos (glicose, galactose, ramanose, arabinose), dissacarídeos e trissacarídeos podem compor as antocianinas, sendo a forma diglicosídica mais estável ao aquecimento e à luz do que a monoglicosídica (BROUILLARD, 1982). Segundo Cooper-Driver (2001), a maioria das antocianinas é substituída nas posições de hidroxila 3 e 5 e menos frequente, na posição 7 (Figura 9a). Os carboidratos mais encontrados ligados a estes compostos são D-glicose, L-raminose, glicoraminose, galactose e arabinose (SCALBERT *et al.*, 2005; RICE-EVANS *et al.*, 1996).

Os açúcares das antocianinas podem aparecer acilados pelos ácidos *p*-cumárico, ferúlico, caféico, *p*-hidroxibenzóico, sinápico, malônico, acético, succínico, oxálico e málico (FRANCIS, 1989). Os substituintes acila encontram-se usualmente ligados à hidroxila do açúcar na posição 3 (Figura 9b) e com menor frequência nas posições 4 e 6.

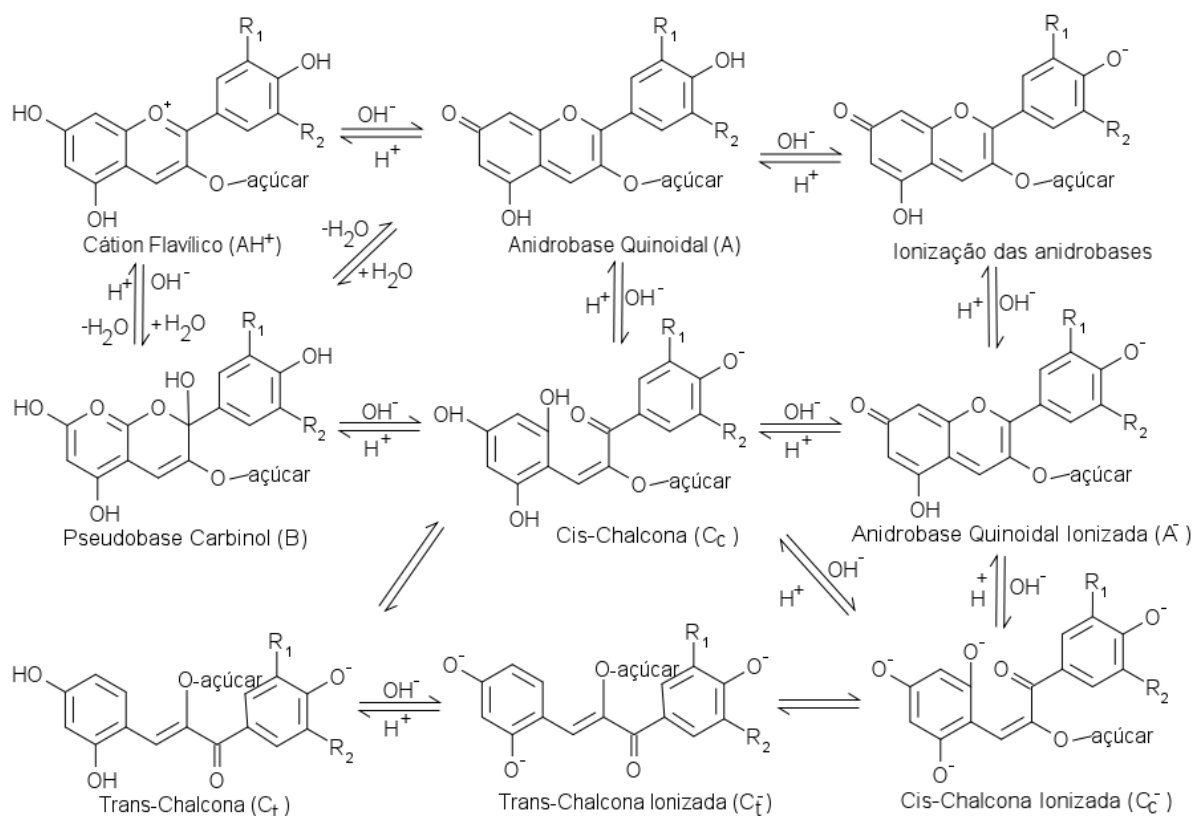


FONTE: adaptado de MALACRIDA & MOTTA (2006).

Figura 9 – Estrutura química de antocianina glicosilada (a) e acilada (b).

Diferenças de cor entre antocianinas são largamente determinadas pelo padrão de substituição do anel de aglicona, padrão de glicosilação, bem como pelo grau e a natureza da esterificação dos açúcares com os ácidos alifáticos ou aromáticos, pH, temperatura, tipo de solvente e a presença de co-pigmentos (MAZZA, 2007).

As antocianinas, como os demais corantes naturais, apresentam problemas de estabilidade. A degradação pode ocorrer desde a extração, purificação dos pigmentos até o processamento e estocagem, sendo os fatores que afetam a estabilidade: a estrutura e concentração, pH, temperatura, luz, presença de co-pigmentos, associação independente, íons metálico, enzimas, oxigênio, ácido ascórbico, açúcares e produtos de sua degradação, proteínas e dióxido de enxofre (FRANCIS, 1989; MAZZA & MINIATI, 1993; RODRIGUEZ - SAONA, *et al.*, 1999).



FONTE: MARÇO *et al.*, 2008.

Figura 10 – Possíveis transformações estruturais das antocianinas em meio aquoso em função do pH.

Conforme Aguiar (2001), o pH é o fator que afeta de forma mais significativa a cor das antocianinas, pois em diferentes valores de pH, esses pigmentos encontram-se em formas

variadas, apresentando cores diferentes. Em meio ácido, as antocianinas apresentam-se na forma de sais de ozônio e são geralmente de coloração vermelha brilhante. Com o aumento do pH até a neutralidade elas passam a ter uma estrutura quinoidal com coloração púrpura. E em meio alcalino a sua tonalidade passa para azul. Desta forma, as antocianinas e antocianidinas estão sujeitas a transformações químicas em meio aquoso no estado fundamental, envolvendo uma série de equilíbrios reversíveis e dependentes do pH do meio, que estão representadas na Figura 10.

Todas estas transformações provocam profundas mudanças na coloração das antocianinas. A desprotonação do cátion flavílico (HA^+) resulta na formação da base quinoidal (A) que, dependendo do número de grupos OH presentes na molécula, pode estar em equilíbrio de tautomerização com as demais formas. O cátion flavílico e a base quinoidal são as únicas espécies que absorvem na região visível, sendo que o cátion sempre absorve em comprimentos de onda menores que a base (FREITAS, 2005).

A exigência do consumidor quanto à qualidade dos alimentos, bem como ações legislativas que frequentemente proíbem ou limitam o uso de corantes sintéticos como aditivos em alimentos, têm aumentado o interesse no desenvolvimento de corantes de fontes naturais visando à substituição dos artificiais (RODRIGUEZ - SAONA, *et al.*, 1998). Para o suprimento da cor vermelha, as antocianinas são uma alternativa atrativa.

Entretanto, a utilização de antocianinas na indústria de alimentos ainda é restrita devido à sua baixa estabilidade em meios aquosos, à luz e ao pH acima de 2,0, sendo, isso considerado uma desvantagem para aplicação de antocianinas em produtos levemente ácidos a neutros (FALCÃO, 2003). De acordo com Dyrby *et al.* (2001), a elevação da temperatura provoca aumento logarítmico na degradação das antocianinas, com aparecimento da forma molecular chalcona.

O corante antociânico é encontrado em diversas fontes vegetais, sendo as principais: morango, uva, jabuticaba, cereja, berinjela e repolho roxo. As antocianinas são comercialmente usadas em soluções ácidas como em refrigerantes (pH entre 2,5 e 3,8, em que se apresentam na cor vermelha). São ainda usadas em doces, produtos de confeitaria, refrescos, pós para refrescos, coberturas de bolo, gelatinas e geleias. Para aplicação geral, o pH entre 1,0 e 3,5 confere maior estabilidade ao pigmento (BARROS & STRINGHETA, 2006).

Como as antocianinas estão localizadas nos vacúolos das células hipodérmicas, próximas à superfície (JACKMAN *et al.*, 1987; BROUILLARD, 1982), o procedimento de

extração geralmente envolve o uso de soluções ácidas que desnaturam a membrana do tecido celular e simultaneamente dissolvem os pigmentos (WROLSTAD & GIUSTI, 2001).

O etanol, apesar de seu potencial de extração ser levemente inferior ao metanol, pode ser preferido para extração de antocianinas em alimentos, pois pode evitar a toxicidade das soluções metanólicas (METIVIER *et al.*, 1980; MARKAKIS, 1982). Os solventes podem ser parcialmente ou totalmente eliminados em evaporador rotacional à vácuo em temperaturas que variam de 30 à 40 °C. Temperaturas mais elevadas podem degradar as antocianinas durante a concentração do extrato (WROLSTAD & GIUSTI, 2001).

A quantificação de antocianinas envolve diferentes técnicas, podendo-se avaliar o conteúdo das antocianinas totais ou individualmente. O teor de antocianinas totais é determinado em extratos brutos contendo outros compostos fenólicos naturalmente presentes, pela medida da absorvância da solução em um comprimento de onda (nm) específico (FULEKI & FRANCIS, 1968). Isso é possível porque as antocianinas possuem absorção máxima na região visível entre 500 e 535 nm (MARKAKIS, 1982).

O método espectrofotométrico de quantificação das antocianinas totais, proposto por Lees & Francis (1972), utiliza etanol: HCl 1,5 N (85:15) como solvente extrator e o coeficiente de absorvância de $98,2 \text{ L} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ (FULEKI & FRANCIS, 1968).

1.2 Atividade antioxidante

A atividade antioxidante pode ser definida como a capacidade de um composto em inibir a degradação oxidativa. Pode ser avaliada pelo potencial antioxidante, que é determinado pela composição e propriedades dos constituintes e, ainda, pela atividade biológica, que depende da biodisponibilidade do antioxidante (SANTOS *et al.*, 2007).

Quando há limitação na disponibilidade de antioxidantes no organismo podem ocorrer lesões oxidativas de caráter cumulativo, então, os antioxidantes exógenos são capazes de estabilizar ou desativar os radicais livres antes que ataquem os alvos biológicos nas células (SOUSA *et al.*, 2007).

Entre os antioxidantes presentes nos vegetais, os mais ativos e frequentemente encontrados são os compostos fenólicos, tais como os ácidos fenólicos e flavonoides (SOARES, 2002).

O termo radical livre é frequentemente usado para designar qualquer átomo ou molécula contendo um ou mais elétrons desemparelhados nos orbitais mais externos, o que

torna estas moléculas altamente reativas, capazes de reagir com qualquer composto que esteja próximo, possuindo papel oxidante (HALLIWEL & GUTTERIDGE, 1999).

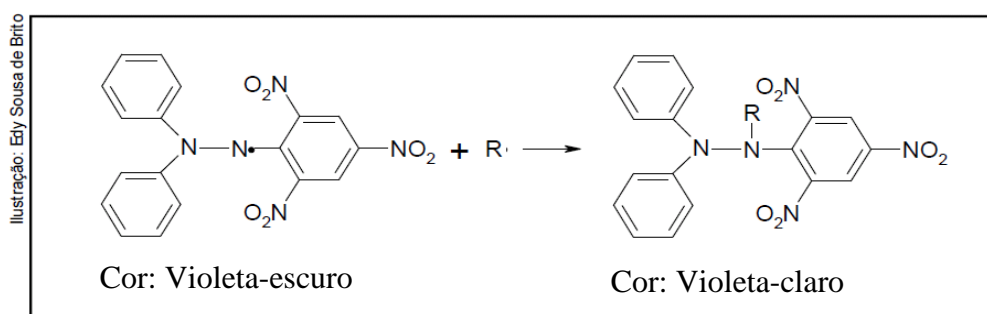
Os métodos para avaliação da atividade antioxidante total propostos na literatura são diversos, porém alguns são mais apropriados que outros dependendo da natureza dos compostos presentes na constituição de cada amostra. Deste modo, existem métodos para amostras ricas em compostos hidrofílicos e métodos para amostras ricas em compostos lipofílicos.

Uma das maiores dificuldades na comparação de resultados é a falta de padronização das metodologias usadas, bem como na apresentação e/ou expressão dos resultados.

Dentre os métodos mais utilizados para determinação da atividade antioxidante em alimentos estão: DPPH (2,2-difenil-1-picril hidrazina), FRAP (Poder Antioxidante de Redução do Ferro), ORAC (Capacidade de Absorção de Radicais de Oxigênio), Sistema β -caroteno/ácido linoléico e o ABTS (2,2'-azinobis-3-etil-benzotiazolina-6-sulfonado). Verifica-se que os mais usados atualmente são o ABTS e o DPPH (LEONG & SHUI, 2001; NENADIS *et al.*, 2004; WU *et al.*, 2006; MELO *et al.*, 2006; DUARTE-ALMEIDA *et al.*, 2006). Os métodos mais empregados são descritos de forma mais detalhada nas seções seguintes.

1.2.1 DPPH

De acordo com Brand-Williams *et al.*(1995), o método do DPPH[•] (radical livre que pode ser obtido diretamente por dissolução do reagente em meio orgânico) é baseado na inativação ou estabilização do radical DPPH[•](2,2-difenil-1-picril hidrazina) por antioxidantes, o qual produz um decréscimo da absorbância a 515 nm. Este método foi modificado por Sánchez-Moreno *et al.*(1998) para medir os parâmetros cinéticos.



FONTE: RUFINO *et. al.*, 2007b.

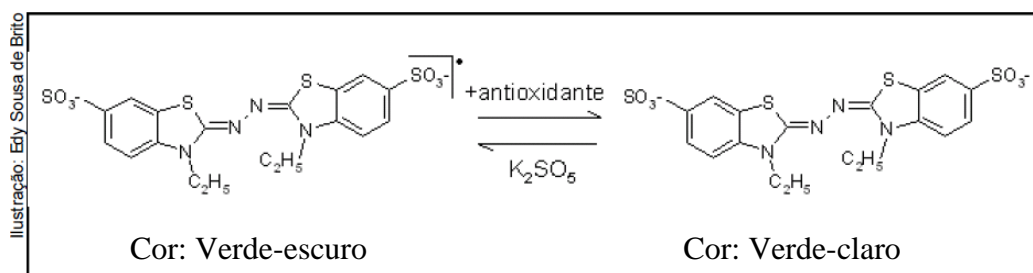
Figura 11 - Estabilização do radical livre DPPH.

A reação do DPPH com um antioxidante (AH) ou um radical livre (R^\bullet) (Figura 11), promove um decaimento de absorção, e o DPPH é reduzido, modificando a coloração inicial violeta-escuro para violeta-claro, sendo possível monitorá-la pela leitura da absorbância a 515 nm.

A partir da redução da absorbância, determina-se a porcentagem de atividade antioxidante ou sequestradora de radicais livres e/ou a porcentagem de DPPH $^\bullet$ remanescente no meio reacional, em um determinado tempo (BRAND-WILLIAMS *et al.*, 1995; SANCHEZ-MORENO *et al.*, 1998).

1.2.2 ABTS

O ABTS (2,2'-azinobis-3-etil-benzotiazolína-6-sulfonado) é um método baseado na habilidade dos antioxidantes de inativar o radical catiônico ABTS $^{\bullet+}$, que é gerado após uma reação eletroquímica, enzimática ou química, sendo essa podendo ser com o persulfato de potássio (Figura 12) ou dióxido de manganês (KUSKOSKI *et al.*, 2005). O radical catiônico ABTS $^{\bullet+}$ (de cor esverdeada) quando em um meio contendo antioxidantes (Figura 12), sofre decréscimo na absorbância, o que permite avaliar a capacidade antioxidante do mesmo (PÉREZ-JIMÉNEZ & SAURA-CALIXTO, 2006).

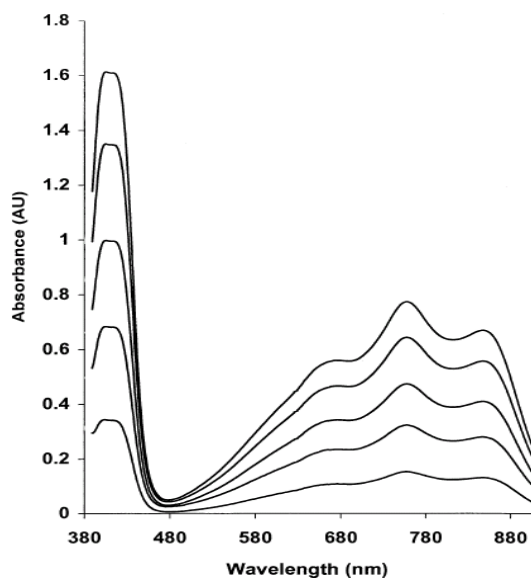


FONTE: RUFINO *et al.*, 2007a.

Figura 12 – Estabilização do radical ABTS $^{\bullet+}$ por um antioxidante e sua formação pela reação com persulfato de potássio.

Com o ABTS pode-se medir a atividade dos compostos de natureza hidrofílica e lipofílica. O radical ABTS $^{\bullet+}$ apresenta picos de absorbância a 414, 654, 734 e 815 nm, em meio alcoólico (Figura 13), o que é considerado uma vantagem quando comparado a outros radicais, como o DPPH, que possui apenas um pico de absorção máxima a 515 nm

(KUSKOSKI *et al.*, 2005). Outra vantagem do método está na sua relativa simplicidade, o que permite sua aplicação em rotinas de laboratório (SURVESWARAN *et al.*, 2007).



FONTE: RE *et al.*, 1999.

Figura 13 – Espectro de Absorção do radical cátion ABTS^{•+}, formado pelo persulfato de potássio.

O ensaio TEAC (Capacidade antioxidante equivalente ao trolox) foi relatado primeiramente por Miller *et al.* (1993) e foi mais tarde melhorado (RE *et al.*, 1999). O ensaio avalia espectrofotometricamente a habilidade relativa das substâncias antioxidantes em capturar o cátion ABTS^{•+}, quando comparada com a do padrão do antioxidante sintético Trolox (ácido 2-carboxílico-6-hidroxi-2,5,7,8-tetra metil cromano), um análogo hidrossolúvel da vitamina E. A atividade dos compostos é expressa em valores de TEAC, que é definido como a concentração equivalente de trolox por grama de amostra.

III. SECAGEM

A necessidade de conservação dos pigmentos tem incentivado o desenvolvimento de novas pesquisas neste setor, sendo que as formas mais comumente relatadas de conservação do pigmento são o encapsulamento e a adição de antioxidantes (VALDUGA *et al.*, 2008).

Nas últimas décadas, a produção de fitoterápicos tem explorado novas possibilidades tecnológicas para a obtenção de extratos secos. Isso decorre das vantagens apresentadas pelos extratos secos, quando comparados aos extratos fluidos. Os extratos secos vegetais são muito mais adaptados à necessidade moderna, dada à facilidade de padronização e de manuseio, o que contribui para a garantia da homogeneidade de preparações.

O extrato seco é considerado tecnologicamente viável para fins de produção em larga escala, devido à sua estabilidade física, química e microbiológica, além da facilidade de padronização dos princípios ativos. Entre outras vantagens, apresenta maior estabilidade e distribuição granulométrica homogênea dos constituintes da preparação (CORDEIRO, 2000).

Estes extratos podem ser preparados a partir de uma solução extrativa vegetal, submetida a técnicas de secagem como a liofilização, a secagem por atomização (*spray dryer*) e leite fluidizado (DE PAULA, 1996; TEIXEIRA, 1996; CORDEIRO, 2000).

Entre os diferentes métodos, o secador por atomização é o método de microencapsulamento mais comum usado por ser econômico, flexível e contínuo (DEL-VALLE, 2004).

1 SECAGEM POR ATOMIZAÇÃO

A secagem por atomização teve seus primeiros passos na metade do século XVIII, quando foi patenteada a primeira operação de secagem de ovos (1865). Porém, o início de sua utilização como processo em escala industrial data da década de 1920, com leite e sabão em pó. A partir de então, seu uso disseminou-se pela indústria de processos em geral, sendo hoje, especialmente aplicado para a secagem de produtos alimentícios e farmacêuticos. Sua eficácia está baseada na área de contato entre o material a ser seco e o agente dessecante, ou seja, o ar quente (ROSA *et al.*, 2010).

A secagem por atomização é um processo contínuo, onde o líquido ou pasta é transformado em um produto seco, na forma de pó, caracterizando-se por um tempo de secagem relativamente curto. O processo consiste basicamente em introduzir a amostra na forma líquida (em forma de névoa ou spray) em um compartimento que recebe um fluxo de ar quente, de modo que pequenas gotas perdem a umidade devido ao contato íntimo com o ar quente e essa rápida evaporação da água permite manter baixa a temperatura das partículas. O ar quente torna-se úmido, sendo retirado da câmara através de um sistema de exaustão (Figura 14).

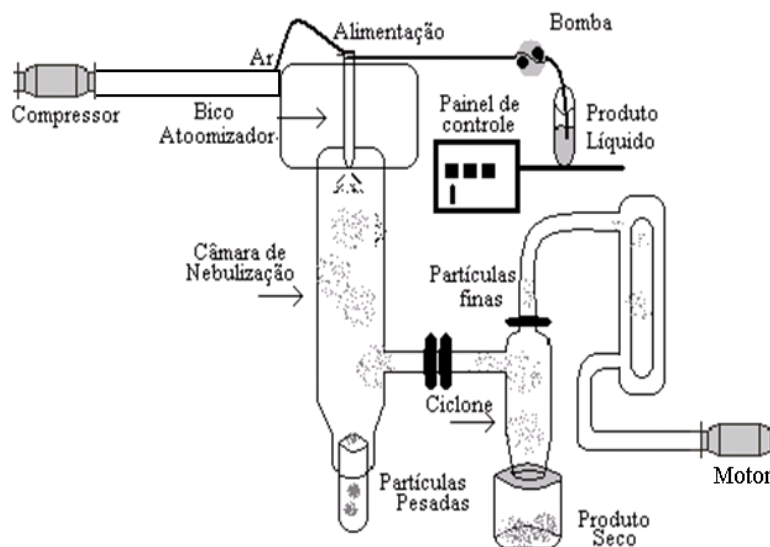


Figura 14 – Diagrama esquemático de *spray dryer*

Dada sua versatilidade e o pequeno tempo de residência dos produtos na câmara de secagem, tornou-se o principal equipamento para a secagem de materiais que apresentam sensibilidade ao calor, como alimentos e materiais de origem biológica. Dentre estes: extratos e produtos oriundos de plantas, corantes, microrganismos, produtos com leveduras, enzimas e proteínas (ROSA *et al.*, 2010).

O tipo de contato líquido – ar quente e a evaporação influenciam não só essas características, como também a capacidade de retenção de aroma e sabor, enquanto a técnica de separação do pó do ar seco influencia a granulometria do produto desejado. Dessa forma, as principais variáveis que afetam as características dos produtos obtidos em *spray dryer* são (TONON, 2009):

- Propriedades do líquido atomizado (concentração, temperatura, vazão mássica, propriedades físico-químicas);
- Atomizador (tipo e mecanismo de funcionamento);
- Ar de secagem (velocidade, temperatura de entrada e de saída, pressão).

Os pós produzidos por secagem por atomização (*spray dryer*) reúnem padrões elevados de qualidade com respeito à granulometria do produto, umidade final, homogeneidade, densidade e forma, sendo que estas características podem ser alteradas por modificações nos parâmetros do processo (SOUZA, 2003).

IV. MICROENCAPSULAMENTO

Microencapsulamento é um processo no qual minúsculas partículas de ingredientes ativos de gás, líquidos ou sólidos são empacotados dentro de um segundo material (RISCH & REINECCIUS, 1995).

Em função dos tamanhos das cápsulas formadas pode-se classificar o processo como: macro ($> 5000 \mu\text{m}$), micro ($0,2 - 5000 \mu\text{m}$) e nano ($< 0,2 \mu\text{m}$). Quanto à forma, as cápsulas são idealmente esféricas, embora seu formato seja influenciado pela estrutura original do ingrediente encapsulado (RISCH & REINECCIUS, 1995).

A finalidade básica da microencapsulação na indústria de alimentos é proteger os ingredientes encapsulados contra oxidação química ou de fatores do ambiente como no caso de algumas vitaminas, polipeptídios, pigmentos e compostos bioativos como a luteína e o licopeno. Este processo contribui preservar a substância ativa, evitar perdas nutricionais, inibir reações com outros agentes, mascarar cor e sabores, aumentar a vida útil na prateleira, reduzir o risco de toxicidade na manipulação de produtos e diminuir os riscos de contaminação. Também tem como objetivo o retardamento da evaporação de núcleos voláteis como alguns óleos essenciais. Em algumas técnicas, a cápsula pode ser também projetada para liberar lentamente o produto com o passar do tempo ou até que determinada condição físico-química seja alcançada (THIES, 1994).

O primeiro passo para efetuar o microencapsulamento é selecionar o agente encapsulante adequado. O encapsulante ideal deve ter propriedades emulsificantes, ser capaz de formar filmes, ser biodegradável, resistente ao trato gastrointestinal, ter baixa viscosidade a altos níveis de sólidos, exibir baixa higroscopicidade e ser de baixo custo (CONSTANT, 1999).

A técnica de microencapsulação mais utilizada na indústria de alimentos é a de secagem por atomização (*spray dryer*), por ser considerada um processo econômico e flexível, realizado em um equipamento de fácil acesso e resultando em partículas de qualidade (DZIEZAK, 1988).

Os principais agentes carreadores utilizados em alimentos são os amidos e seus derivados, algumas gomas, lipídeos e proteínas, que são também utilizados nos processos de microencapsulação de alimentos e ingredientes por *spray dryer* (Tabela 1). Goma arábica, amidos modificados e amidos hidrolisados são os agentes encapsulantes mais frequentemente usados (CONSTANT, 1999).

Tabela 1– Tipos de agentes encapsulantes.

Classe	Agente encapsulantes / carreadores
Gomas	Goma-arábica, carragena, ágar, alginato de sódio
Carboidratos	Amido, maltodextrina, amido modificado, ciclodextrina
Celulose	Carboximetil celulose, metil celulose, acetilcelulose, nitrocelulose.
Lipídeos	Cera, parafina, ácido esteárico, gorduras monoglicéridos.
Proteínas	Glúten, caseína, gelatina, albumina, hemoglobina.

FONTE: SHAHIDI & HAN (1993).

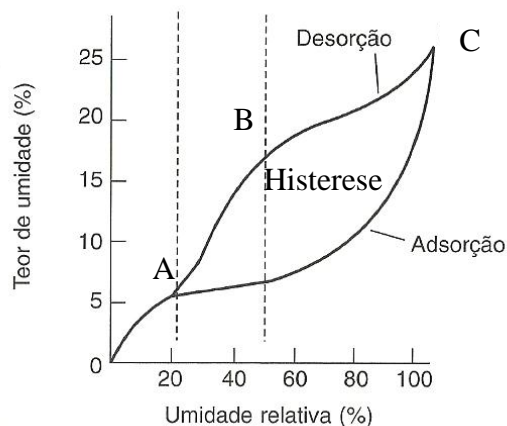
Ao longo da última década, têm aparecido na literatura vários trabalhos que utilizam a maltodextrina e a goma arábica como agentes carreadores utilizados na secagem por atomização de sucos de frutas, como por exemplo, suco de camu-camu (DIB TAXI, 2001), acerola (RIGHETTO, 2003), manga (CANO-CHAUCA *et al.*, 2005), suco de figo da Índia (RODRÍGUEZ-HERNÁNDEZ *et al.*, 2005), antocianinas de cenoura roxa (ERSUS & YURDAGEL, 2007), antocianinas de mirtilo (ROCHA, 2009), suco de açaí (TONON *et al.*, 2010), entre outros.

V. ISOTERMAS

As isotermas de sorção são utilizadas para a expressão gráfica da relação funcional entre o conteúdo de umidade de uma substância e a atividade de água da mesma substância, medidas a uma temperatura constante.

As isotermas de sorção podem ser obtidas em duas direções: durante a hidratação do material (adsorção) ou durante a sua secagem (dessorção). Segundo Labuza (1968), essas curvas, que teoricamente são idênticas, não se sobrepõem na prática, sendo comum haver diferenças entre as isotermas de dessorção e adsorção com os valores obtidos por determinações experimentais, esse fenômeno é denominado de histerese.

Cada alimento possui um conjunto particular de isotermas de sorção sob diferentes temperaturas. A forma precisa dessas isotermas é resultado de diferenças na estrutura física, composição química e quantidade de água ligada ao alimento, apesar disso elas possuem uma forma característica, similar à mostrada na Figura 15.



FONTE: FELLOWS, 2006.

Figura 15 – Isotermas de sorção de água.

A primeira parte da curva, até o ponto A, representa a água da monocamada, que é muito estável, não-congelável e não-removível por secagem ou desidratação. A segunda (AB) representa a água adsorvida nas múltiplas camadas dentro do alimento e soluções de componentes solúveis. A terceira porção (acima do ponto B) é água “livre” condensada dentro da estrutura capilar ou nas células do alimento. Ela está mecanicamente presa dentro do alimento e é mantida apenas por forças fracas, sendo facilmente congelada ou removida pela secagem, como indicado pela inclinação acentuada da curva. A água livre está disponível para o crescimento microbiano e atividade enzimática, e o alimento que possui em teor de umidade acima do ponto B na curva estão propensos à deterioração (FELLOWS, 2006).

A isoterma de sorção indica a a_w na qual o alimento é estável e permite previsões do efeito de alterações do teor de umidade na a_w e, como consequência, na estabilidade da armazenagem. Ela é utilizada para determinar a taxa e a capacidade de secagem, as temperaturas ideais de armazenagem congelada e as propriedades de barreira à umidade necessária para os materiais de embalagem (FELLOWS, 2006).

As isotermas podem ser classificadas de acordo com os formatos, que podem ser de cinco tipos, apresentados na Figura 16. No caso de alimentos, as isotermas de maior interesse são as do tipo II e III (BRUNAUER, *et al.* 1938).

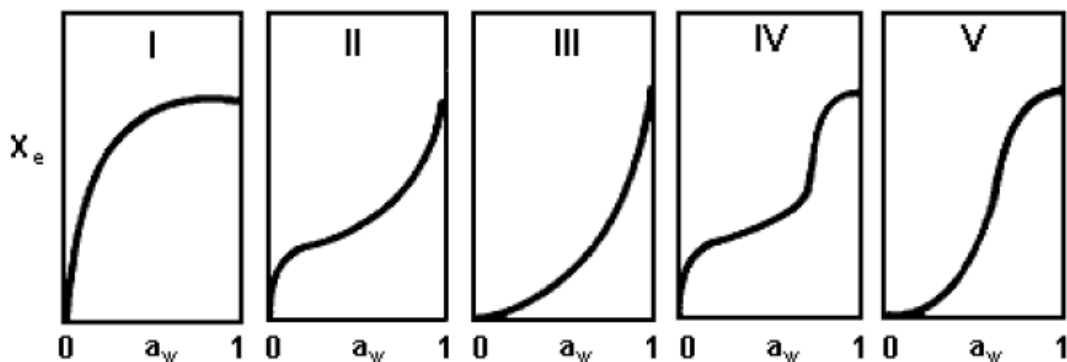


Figura 16 – Tipos de isothermas de sorção (BRUNAUER, et al. 1938).

Materiais como farinha de trigo, amidos, amidos modificados, etc. apresentam isothermas de sorção do tipo II, cuja forma é sigmoideal. A forma dessas curvas indica o tipo de forças existentes na ligação de água com a superfície do material higroscópico e permite avaliar a estrutura superficial do material.

Os alimentos que possuem elevadas concentrações de açúcar, como a maior parte das frutas, apresentam isothermas de sorção que se assemelham tanto às isothermas do tipo II, com baixo valor da constante C_{BET} , quanto às isothermas do tipo III. Nas isothermas do tipo II, a primeira inflexão da curva depende do valor numérico do parâmetro C_{BET} , e o ângulo se torna menos agudo quando o valor da constante diminui. Quando C_{BET} tem um valor positivo menor que 2, o resultado é uma curva com formato de isoterma tipo III (GREGG e SING, 1967); a curva agora é inteiramente convexa em relação ao eixo de atividade de água. De acordo com Nogueira (2001), nestes alimentos, os sólidos solúveis (na maioria açúcares) adsorvem pouca água sob baixas umidades relativas e a sorção é principalmente devida aos polímeros que geralmente acompanham os açúcares. Com o aumento da umidade relativa, a sorção se aumenta consideravelmente levando à dissolução dos açúcares. Conforme BET, as isothermas do tipo I, IV e V não são de interesse para a área de alimentos.

Existem vários modelos matemáticos para descrever o comportamento das isothermas de sorção de umidade de alimentos, sendo alguns desses baseados em teoria de sorção, como BET (BRUNAUER *et al.*, 1938) e GAB (BERG, 1981); e outros puramente empíricos ou semiempíricos: OSWIN (OSWIN, 1946) e PELEG (PELEG, 1993). A Tabela 2 mostra o modelo matemático de alguns modelos.

Tabela 2 – Modelos utilizados para ajuste das isotermas de adsorção de umidade da amostras em pó.

Modelo	Equação
BET	$X_e = X_m \left[\frac{Ca_w}{1-a_w} \right] \left[\frac{1-(n+1)a_w^n + n(a_w)^{n+1}}{1-(1-C)a_w - C(a_w)^{n+1}} \right]$
GAB	$X_e = \frac{X_m CKa_w}{[(1-Ka_w)(1-Ka_w + CKa_w)]}$
OSWIN	$X_e = a \left(\frac{a_w}{1-a_w} \right)^b$
PELEG	$X_e = K_A a_w^{n_A} + K_B a_w^{n_B}$

Legenda:

X_e = conteúdo de umidade de equilíbrio (g de água/g de sólidos secos);

X_m = conteúdo de umidade na monocamada (g de água/g de sólidos secos);

a_w = atividade de água (adimensional);

a, b, n, K e C = constantes das Equações (adimensional).

Equação de BET (BRUNAUER, *et al.* 1938): é provavelmente a Equação mais utilizada, sendo baseada no conceito de LANGMUIR (1918) de adsorção de água na monocamada molecular.

Equação de GAB (Guggenheim-Anderson-De Boer): constitui em uma extensão do modelo BET, sendo introduzida por BERG (1984) para padronizar a descrição e comparação do material biológico. A Equação de GAB é uma Equação de três parâmetros. Em que C_{GAB} e K_{GAB} são constantes de adsorção relacionadas com as interações energéticas entre moléculas da monocamada e as subsequentes, em um dado sítio de sorção. As vantagens da utilização do modelo GAB são a descrição da sorção de alimentos em uma faixa de atividade de água de 0,1 a 0,9; é uma Equação matemática de três parâmetros simples; é capaz de descrever algum efeito da temperatura no processo de sorção; e de possuir base teórica fundamentada.

Equação de Oswin: ajusta cerca de 57 % das isotermas de alimentos, segundo LOMAURO, *et al.* (1985).

Equação de Peleg: representa um modelo com quatro parâmetros para ajustar os dados de isotermas de sorção. A restrição para esta Equação é $n_A < 1$ e $n_B > 1$.

VI. COLORIMETRIA

Antes de saber o que é a cor, é necessário saber o que é a luz, pois as cores não podem ser vistas no escuro. A parte do espectro que chamamos de luz são ondas eletromagnéticas visíveis pelos seres humanos (LUCAS et al., 1996). Conforme Tornquist (2008), estas ocupam uma pequena parte do espectro, que se iniciam entre 380- 400 nm e segue até os 700- 780 nm (Figura 17).

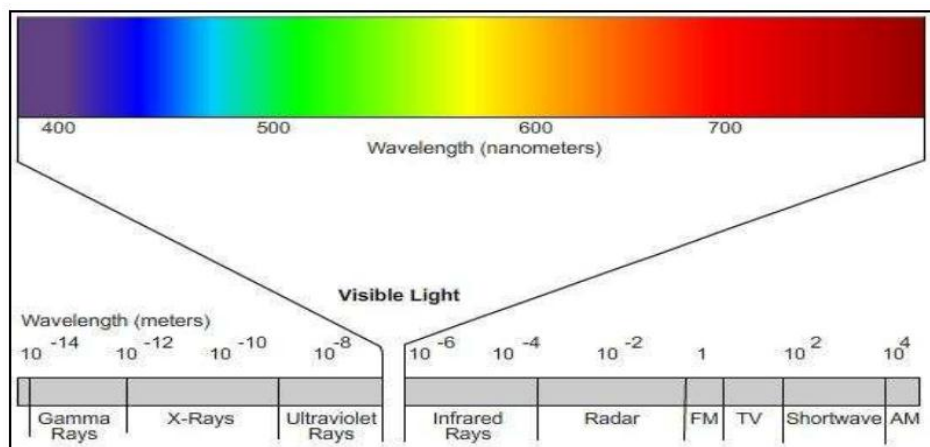


Figura 17 – Espectro de luz visível

Um objeto qualquer possui um poder individual de absorção, que lhe permite captar e absorver determinadas faixas do espectro de luz. A luz que não é absorvida é refletida. Estes mesmos raios de luz refletida não possuem cor, eles possuem apenas as informações de composição espectral. A cor somente existe quando os raios de luz refletidos de um objeto chegam ao sistema visual de um observador e este produz a sensação de cor (KÜPPERS, 1995), onde as ondas de luz nos diferentes comprimentos de onda, ao chegarem aos cones da retina produzem a sensação de cor (SACHS, 2007).

Newton (1704) interceptou um raio de luz utilizando-se de um prisma de cristal e decompôs a luz solar, obtendo uma faixa colorida a qual deu o nome de “Espectro Solar”, formado por seis cores divididas em cores primárias e secundárias (Figura 18). As cores primárias são cada uma das três cores indecomponíveis que misturadas, em proporções variáveis, produzem todas as cores do espectro. As cores primárias são o azul-violeta, o verde e o vermelho-alaranjado. A decomposição da luz branca (mistura de todas as cores primárias) pelo prisma permitiu-lhe deduzir que a separação das cores simples é obtida graças ao grau diferente de refração de cada cor, revelado ao atravessar corpos transparentes. Essa refração é caracterizada por certa grandeza, denominada índice de refração. Essas aferições permitiram que Newton iniciasse o caminho das medidas e verificações matemáticas das cores.



Figura 18 – Representação da decomposição da luz branca por prisma de cristal

Segundo Guimarães (2004), a cor é definida por três características: a matiz ou tonalidade, o brilho ou luminosidade e a saturação ou croma. A matiz é a cor definida pelo comprimento de onda. O brilho é a luminosidade da cor, referente à proximidade do branco ou preto. A croma é definida como sendo o grau de pureza da cor.

Como a observação do olho humano é muito subjetiva, teve-se a necessidade de se criar métodos quantitativos de medição da cor. Com a evolução da ciência já foram criados vários e métodos e escalas, aqui mostraremos os principais e atuais métodos empregados.

Munsell (1905) publicou um livro, no qual descreveu os principais dados de seu trabalho e afirmou que a cor torna-se perceptível quando está numa porção visível do espectro eletromagnético. Com a finalidade de ordenar os valores cromáticos da cor, dez anos mais tarde publicou o Atlas do Sistema Munsell. Munsell criou o sistema espacial de ordenação de cores denominado de HVC, que é uma técnica visual que corresponde aos parâmetros de cores em três dimensões e que determinam as propriedades da cor. A letra H significa o matiz, ou seja, a coloração de um objeto (amarelo, azul, etc.). A letra V significa o valor (luminosidade ou brilho), e a letra C, o croma (grau de saturação).

As matizes são organizadas verticalmente em seqüência ao redor desse eixo (Figura 19). As diferenças de matizes são organizadas ao redor do eixo do valor, ficando as cores mais escuras em direção à base e as mais claras na direção do topo. As cores ficam gradualmente mais saturadas em direção à periferia da árvore, e progressivamente menos intensas à medida que se aproximam do eixo central.

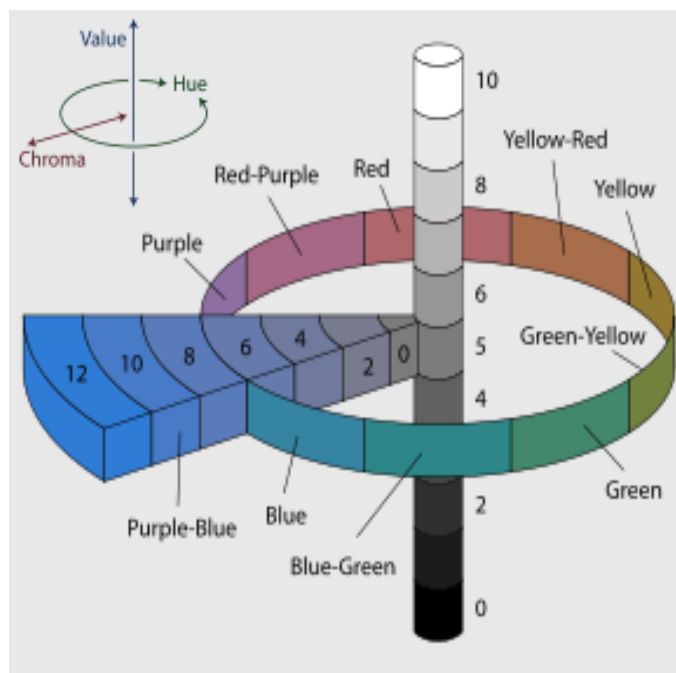


Figura 19 – Representação espacial do modelo de Munsell

Em 1931, a Comissão Internacional de L'Eclairage (CIE) desenvolveu um sistema para especificação de sinais de cor e recomendou-o para ser utilizado em larga escala. Os três atributos da cor poderiam ser expressos como uma esfera tridimensional, expressos numericamente por um sistema de ordens de cores podendo a cor ser quantificada e expressa de maneira objetiva e precisa. Pelo princípio da síntese de cores aditivas, todas as tonalidades partem da combinação das cores primárias (o vermelho, o verde e o azul). Por suas características de capacidade analítica e objetividade é muito usado para o método de análise espectral da luz refletida, reemitida ou absorvida de um objeto, que é feita com a utilização de um espectrofotômetro (BERTOLINI, 2010).

O sistema CIE (Figura 20), como é atualmente conhecido, baseia-se na transformação de funções das cores originárias das cores primárias conhecidas como X (vermelho), Y (verde) e Z (azul). Onde os três valores especificam as quantidades de cores para se descrever uma cor do espectro de luz visível. Para o sistema CIE XYZ, existem três condições que definem a existência da cor, o objeto, o iluminante e o observador.

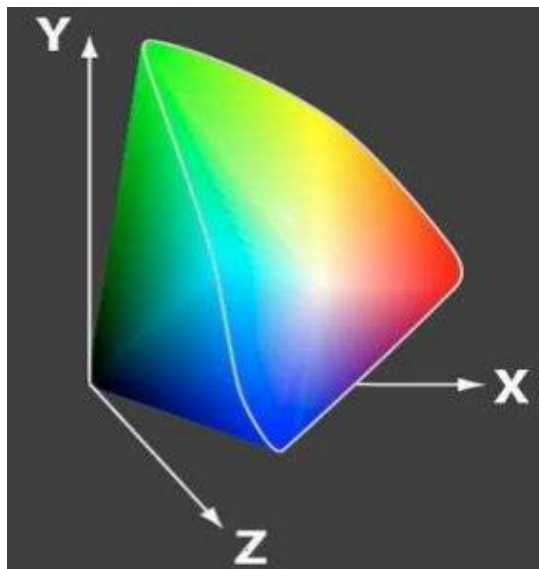
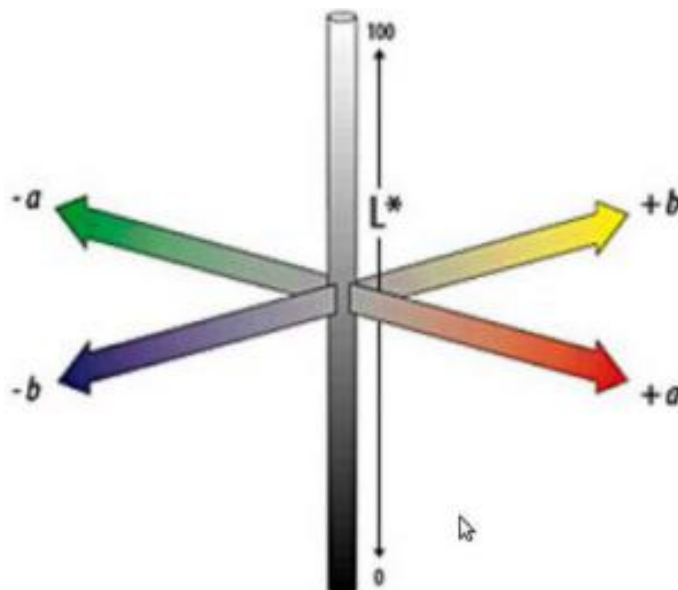


Figura 20 – Modelo de cor CIE XYZ

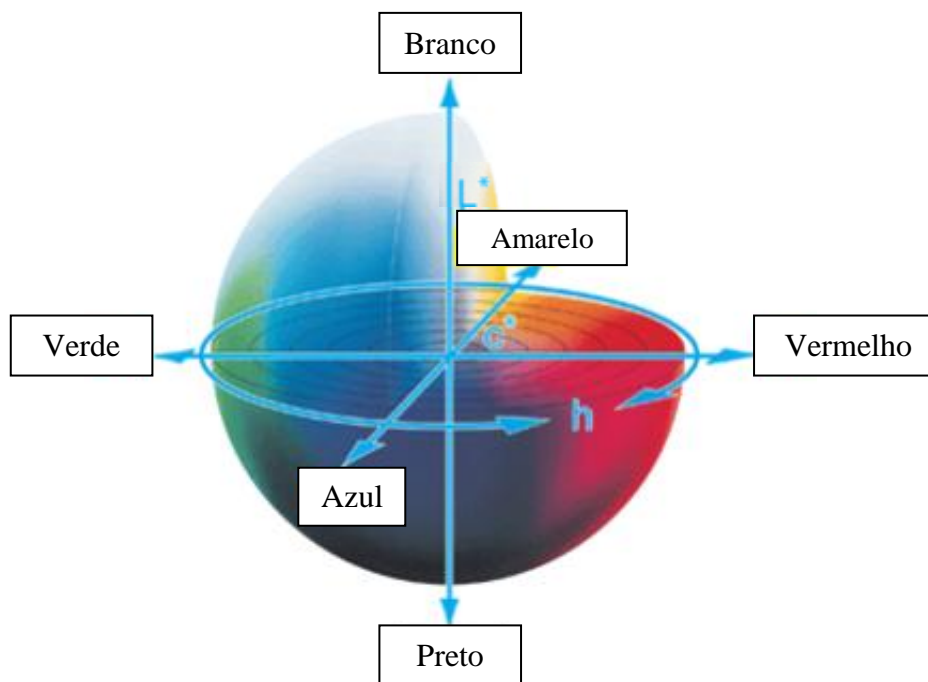
O CIELAB (Figura 21) determina um espaço de cor tridimensional onde o eixo do a^* e o de b^* formam um plano ortogonal ao eixo do L^* . O CIELAB representa o estímulo de cor como um sinal acromático (L^*) e dois canais cromáticos representando o amarelo – azul (b^*) e vermelho – verde (a^*).



FONTE: LEITE, 2006

Figura 21 – Modelo de cor CIELAB

Conforme Minolta (2007) o modelo de cor CIE LCH (Figura 22) é muito semelhante ao modelo de cor CIE LAB, porém ao invés de utilizar coordenadas retangulares, ele utiliza coordenadas cilíndricas, onde L^* indica a luminosidade exatamente como no modelo CIE LAB, o valor C^* indica o croma e h o ângulo de tonalidade.



FONTE: MINOLTA, 2007

Figura 22 – Modelo de cor CIE LCH

Schanda (2007) define que as coordenadas do sistema CIE LCH são obtidas através do modelo CIE LAB com equações 1 e 2, sendo os valores a^* e b^* obtidos do modelo CIE LAB, e o valor de L^* é o mesmo nos dois modelos.

$$h^* = \arctan\left(\frac{b^*}{a^*}\right) \quad (\text{eq. 1}) \quad c^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad (\text{eq. 2})$$

Com o desenvolvimento de técnicas de medição óptica e os vários padrões definidos pelas CIE, os olhos foram substituídos por aparelhos e funções matemáticas para calcular as cores e suas diferenças (SCHANDA, 2007). Conforme Schanda (2007) um dos métodos mais utilizados para cálculo de diferenças de cor é Delta E – ΔE – (CIE 1976), que usa os valores numéricos do modelo CIE LAB, conforme a equação 3.

$$\Delta E^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad (\text{eq. 3})$$

Assim como no sistema CIE XYZ, o sistema CIELAB, também precisa especificar o iluminante e o ângulo de observação.

Os iluminantes são a fonte de luz que está sendo utilizada na medição do objeto. A CIE definiu os valores espectrais de cada comprimento de onda para os vários tipos de iluminantes como a luz do dia, luz incandescente e outros (SHEVELL, 2003).

A CIE em conjunto com a ISO, definiram dois iluminantes padrões usados na colorimetria, que são o iluminante A e o iluminante D65, e como qualquer padrão iluminante são representados por uma tabela de média espectrofotométrica de dados, e qualquer fonte de luz que estatisticamente tem a mesma relação de distribuição de energia espectral pode ser considerado uma fonte de luz correspondente.

O iluminante A (Figura 23a) tem a intenção de representar a lâmpada doméstica de tungstênio, cuja temperatura é de aproximadamente 2856 K (2583 °C). Este iluminante deve ser usado em todas as aplicações de colorimetria que envolvem a utilização de lâmpadas incandescentes, a não ser que haja razões específicas para a utilização de outros iluminantes (INTERNATIONAL COMMISSION ON ILLUMINATION, 2010).

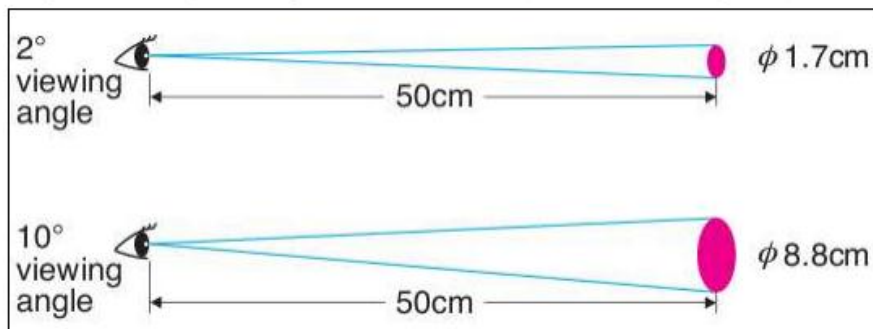
O iluminante D65 (Figura 23b) corresponde aproximadamente a um sol do meio-dia na Europa Ocidental, por isso é também chamado de luz iluminante, por isso destina-se a representar a luz do dia e tem uma temperatura de cor correlacionada de cerca de 6500 K (6227 °C). Este iluminante deve ser usado em todos os cálculos colorimétricos que requerem a representação da luz do dia, a menos que haja razões específicas para a utilização de um iluminante diferente (SCHANDA, 2007; INTERNATIONAL COMMISSION ON ILLUMINATION, 2010).



FONTE: BERTOLINI, 2010

Figura 23 – Cabine de luz simulando iluminante A (a) e iluminante D65(b)

Os observadores padrão CIE 1931 (2 °) e CIE 1964 (10 °) (Figura 24) foram definidos pela CIE nas respectivas datas e possuem seus valores espectrais para cada comprimento de onda. Como a sensibilidade da cor nos olhos muda de acordo com o ângulo de visão, o observador definido em 1931 utiliza um campo de visão de 2 ° para visualização do objeto, sendo que este é recomendado para ângulos de visualização de objetos de 1 ° até 4 °. O observador definido em 1964 usa um campo de visão de 10 ° para visualização e deve ser utilizado para visualização de ângulos com mais de 4 ° (SHEVELL, 2003).



FONTE: MINOLTA, 2007

Figura 24 – Observadores padrão CIE

As coordenadas de cores do sistema CIELAB permanecem constantes onde o $L^* = 100$, e o $a^* = b^* = 0$ para uma perfeita superfície branca, esse sistema também permite a representação dos estímulos de cor pelas dimensões de Croma e Matiz. Por isso o sistema CIELAB pode ser descrito como um sistema para aparência da cor no espaço. Uma boa representação desse sistema pode ser observada na Figura 25.

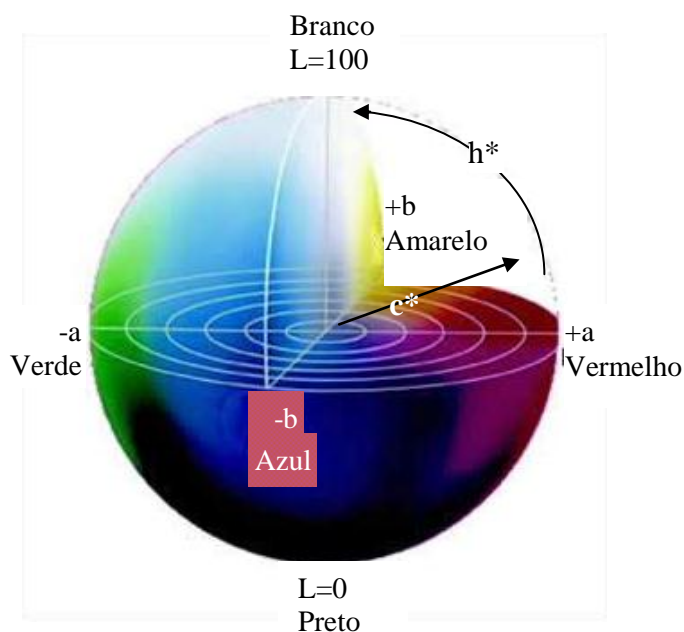


Figura 25 – Modelo CIELAB tridimensional.

A coordenada L^* representa quanto mais clara ou mais escura é a amostra, com valores variando de 0 (totalmente preta) a 100 (totalmente branca). A coordenada a^* pode assumir valores de -80 (verde) a $+100$ (vermelho) e a coordenada de cromaticidade b^* pode variar de -50 (azul) a $+70$ (amarelo) (ALVES et al., 2008).

Os dados referentes ao parâmetro h^* (tonalidade) demonstraram que o aumento do teor de antocianinas indica uma cor vermelha mais intensa, pois quanto menor o ângulo h^* ,

mais próximo estará do eixo a^* e com isso, mais vermelha será a coloração (LIMA, *et al.* 2007).

A saturação (c^*) representa a intensidade de uma cor particular, indicando a pureza da cor em relação ao branco, sendo definida pela quantidade de cinza que contém uma cor: quanto mais cinza ou mais neutra for, menos brilhante ou menos "saturada" é a cor. Um maior valor de c^* indica uma maior pureza ou intensidade da cor.

VII. PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL

1 METODOLOGIA DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA

A metodologia de superfície de resposta (MSR) é uma técnica que tem sido aplicada com sucesso na otimização de processos alimentícios, e consiste em um grupo de procedimentos matemáticos e estatísticos que são usados para estudar a relação entre uma ou mais respostas (variáveis dependentes) e um número de fatores (variáveis independentes).

A metodologia de superfície a resposta (MSR), pode ser aplicada usando o delineamento Composto Central (DCC), que possui as seguintes vantagens: rotabilidade, blocos ortogonais e a exigência de menos ensaios devido à presença de:

- (1) planejamento fatorial completo;
- (2) experimentos no ponto central; e
- (3) experimentos nos pontos axiais, que se situam no centro do sistema com distâncias axiais iguais a $\pm \alpha$ a partir da origem, que compõe a região estrela do planejamento, onde $\alpha = 1,4142$ para as duas variáveis (MYERS & MONTGOMERY, 2002).

Esta metodologia gera um modelo matemático que descreve o processo em estudo e os resultados são apresentados pelos efeitos e coeficientes do modelo. O modelo quadrático é dado por:

$$y = \beta_0 + \sum_{j=1}^K \beta_j x_j + \sum_{i < j} \sum \beta_{ij} x_i x_j + \sum_{j=1}^K \beta_{jj} x_j^2 + \varepsilon \quad (\text{eq. 4}),$$

onde:

x_i = representa os fatores;

β = coeficiente do modelo;

ε = erro experimental

Os valores dos coeficientes estimados indicam quanto cada variável influencia na resposta estudada. Quanto maior é o seu valor (em módulo), maior é a sua influência, e um efeito positivo indica que ao passar de um valor um nível menor para um nível maior da variável, a resposta aumenta. Um efeito negativo indica o contrário, ou seja, ao passar de um nível mínimo para o nível máximo, a resposta diminui.

A qualidade do modelo foi avaliada pelo uso de Análise de Variância (ANOVA), estimando a soma quadrática da regressão, soma de quadrado do resíduo, a falta de ajuste e coeficiente de correlação (R^2). Uma análise dos valores medidos (y_i) contra os preditos pelo modelo (\hat{y}_i), e avaliação da parcela residual ($y_i - \hat{y}_i$ vs y_i) foram também realizadas. Esses parâmetros indicam se toda a variância dos dados em torno da média foi explicada pelo modelo de regressão. Uma parcela dos resíduos com distribuição aleatória indica que o modelo foi bem ajustado.

O valor de R^2 pode ser interpretado como a proporção da variabilidade em torno da média para a variável dependente que pode ser explicado por cada modelo.

O erro dos coeficientes ou os efeitos podem ser estimados usando várias abordagens, sendo comumente empregado o erro puro ou o quadrado médio dos resíduos (SQr). O erro da SQr está associando ao erro do modelo ajustado, ao contrário do erro puro, que está associando aos erros aleatórios do experimento.

O erro padrão e as avaliações do efeito dos coeficientes podem ser obtidos pelo quadrado médio residual (SQr), conforme a Equação 5.

$$SQ_{residual} = \frac{\sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^r (y_{ij} - \hat{y}_i)^2}{n - q} \quad (\text{eq.: 5})$$

onde:

m é o número de níveis (pontos totais do delineamento experimental),

r é o número total de repetições;

$n - q$ é o número de graus de liberdade dos resíduos,

n é o número de ensaios; e

q é o número de parâmetros calculados (coeficientes ou efeitos).

O erro puro é calculado utilizando as Equações 6 – 8.

$$S^2 = \frac{\sum_{i=1}^r (y_i - \bar{y})^2}{r-1} \quad (\text{eq.: 6})$$

$$v(b) = (X'X)^{-1} \cdot S^2 \quad (\text{eq.: 7})$$

$$\text{Erro padrão} = \pm \sqrt{v(b)_{ii}} \quad i = 1, 2, \dots, k \quad (\text{eq.: 8})$$

A Equação 3 fornece o cálculo de variância e Equação 4 fornece a matriz $V(b)$ (variância-covariância da matriz). Esta matriz é simétrica e seus elementos na diagonal, $v_{iii} = 1, 2, \dots, n$, são as variações dos parâmetros de regressão dada na mesma ordem em que estão na Equação de regressão. A raiz quadrada de $v(b)_{ii}$ determina o correspondente erro padrão dos coeficientes e é calculados pela Equação 8.

Quando o erro puro apresenta um valor muito baixo devido à alta precisão dos valores obtidos experimentalmente, não é indicada para avaliação dos efeitos e coeficientes. Caso contrário, ele deve ser usado. Quando se deseja calcula o erro padrão a partir da soma quadrática dos resíduos, utiliza-se as Equações 7 e 8, onde na Equação 7 substitui-se a variância (S^2) pela soma de quadrados residual ($SQ_{residual}$).

As avaliações significativas na decisão estatísticas são realizadas pelo teste t por meio do valor p . O valor p representa a probabilidade da validade do erro envolvido no resultado observado; como representativo da população. O valor p do teste de amostra da população estatística é o menor nível de significância necessária para rejeitar a hipótese nula H_0 (as médias são iguais). Desta forma, é necessário comparar o valor p com α e, quando $p \leq \alpha$, a H_0 é rejeitada, e afirmamos que as médias são significativamente diferentes; caso contrário a H_0 é aceita.

2 OTIMIZAÇÃO SIMULTÂNEA DE RESPOSTAS

Quando se trabalha com muitas respostas (variáveis dependentes) fica difícil de seleccionar a combinação ideal das variáveis independentes (fatores) que gere ótimas respostas para todas as variáveis, diante disso se utiliza o método desejabilidade, o qual otimiza simultaneamente todas as respostas, em uma resposta global.

O Método *Desirability* (ou desejabilidade) é um algoritmo criado originalmente por Harrington (1965) e, posteriormente aprimorado por Derringer & Suich (1980), para tratar da otimização simultânea dos modelos de múltiplas respostas.

Segundo Van Gyseghe *et al.* (2004), o *Desirability* é um método multicritério capaz de avaliar um conjunto de respostas simultaneamente, e que permite a determinação do conjunto de condições mais desejável para as propriedades estudadas. Este método condensa um problema de otimização multivariada em um problema univariado.

A otimização simultânea de respostas é obtida através de uma função de desejabilidade (Derringer & Suich, 1980), onde cada variável resposta estimada \hat{y}_i (calculada pela superfície de resposta) é transformada em um valor desejado d_i , a seguinte Equação:

$$d_i = \begin{cases} 0 & \hat{y}_i \leq y_{i\min} \\ \left[\frac{\hat{y}_i - y_{i\min}}{y_{i\max} - y_{i\min}} \right] & y_{i\min} < \hat{y}_i < y_{i\max} \\ 1 & \hat{y}_i \geq y_{i\max} \end{cases}, \text{ Para } i = 1, 2, \dots, k \quad (\text{eq.: } 9)$$

em que os valores $y_{i\min}$ e $y_{i\max}$ são respectivamente: os valores de \hat{y}_i mínimo e máximo aceitáveis. Os valores de d_i variam no intervalo $0 \leq d_i \leq 1$, aumentando a medida que a desejabilidade de uma resposta correspondente aumenta.

As desejabilidades individuais de cada resposta são então combinadas usando a média geométrica para fornecer uma desejabilidade global, D . (Equação 10).

$$D = (d_1 \times d_2 \times \dots \times d_k)^{1/k} \quad (\text{eq.: } 10)$$

A utilização da média geométrica tem a vantagem de fazer com que a solução global seja alcançada de maneira balanceada, permitindo que todas as respostas atinjam os valores esperados e forçando o algoritmo a se aproximar das especificações impostas. O valor D é um índice também pertencente ao intervalo $[0, 1]$ e será maximizado quando todas as respostas se aproximarem o máximo possível de suas especificações anteriormente determinadas.

VIII. REFERÊNCIAS

AGUIAR, L. P. **β -Caroteno, vitamina C e outras características de qualidade de acerola, caju e melão em utilização no melhoramento genético.** 2001. 87f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2001.

ALVES, C. C. O.; RESENDE, J. V.; CRUVINEL, R. S. R.; PRADO, M. E. T. Estabilidade da microestrutura e do teor de carotenóides de pós obtidos da polpa de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) liofilizada. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 28, 830-839, 2008.

ANDRADE, R. V. de. Épocas de colheita, produção e qualidade de sementes de capim-gordura. **Revista Brasileira de Sementes**, 5, 9-22, 1983.

BARROS, F. A. R. DE & STRINGHETA, P. C. Microencapsulamento de antocianinas: Uma alternativa para o aumento de sua aplicabilidade como ingrediente alimentício. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, 36, 18-24, 2006.

BARUCH, Z.; LUDLOW, M. M.; DAVIS, R. Photosynthetic responses of native and introduced C4 grasses from Venezuela savannas. **Oecologia**, 67, 388-393, 1985.

BIANCHI, M. L. P., ANTUNES, L. M. G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista de Nutrição**, 12, 123-130, 1999.

BERG, V. D. C. **Vapour sorption equilibria and other water-starch interactions: a physico-chemical approach**. 1981. 186p. Tese (Doctored). University Wageningen. The Netherlands, 1981.

BERG, V. D. C. Description of water activity of foods for engineering purposes. In: MCKENNA, B. M. (ed.), **Engineering and food**. 1.ed. London: Elsevier Applied Science. 1984. v.1, p.311-321.

BERTOLINI, C. **Sistema para medição de cores utilizando espectrofotômetro**. 2010. 96f. Trabalho de conclusão de curso – (Bacharelado em Ciência da Computação). Universidade Regional de Blumenau, Blumenau, 2010.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity, *Lebensm. Wiss. Technology*, 28, 25-30, 1995.

BROUILLARD, R. Chemical structure of anthocyanins. In P. Markakis (Ed.), **Anthocyanins as food colors**, London, UK, 1982, 1-40.

BROUILLARD, R. The in vivo expression of anthocyanin color in plants. **Phytochemistry, Great Britain**, 22, 1311-1323, 1983.

BRUNAUER, S.; EMMETT, P. H.; TELLER, E. Adsorption of gases in multimolecular layer. **Journal of the American Chemists' Society**, 60, 309-319, 1938.

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

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio**. Lavras: UFLA, 2005, 785.

CHASE, A. **Primeiro livro de gramíneas**. Tradução e adaptação de T. Sendulsky. São Paulo, Instituto de Botânica, 1991, 125.

Commission International de l'Eclairage (CIE), 1931. Disponível em <<http://www.colourware.co.uk/cpfaq/q3-21.htm>>. Acesso em: 07 de setembro de 2011.

Commission International de l'Eclairage (CIE), 1976. Disponível em <<http://www.colourware.co.uk/cpfaq/q3-21.htm>>. Acesso em: 07 de setembro de 2011.

CONSTANT, P.B.L. **Microencapsulamento de bixina: agentes encapsulantes, avaliação da qualidade e aplicações**. 1999. 136p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1999.

COOPER-DRIVER, G. A., Contributions of Jeffrey Harborne and co-workers to the study of anthocyanins. **Phytochemistry**, 56, 229-236, 2001.

CORDEIRO, D. S., **Produção de Extrato Seco de *Maytenus ilicifolia* Martius Ex Reiss pelo Processo Leito de Jorro**. 2000. 80f. Dissertação (Mestrado em Ciência Farmacêutica). Universidade Federal de São Paulo, Ribeirão Preto, 2000.

DE PAULA, I. C., **Desenvolvimento Tecnológico de Forma Farmacêutica Plástica Contendo Extrato Seco Nebulizado de *Achyrocline satureioides* (LAM.)**. 1996. 192f. Dissertação. (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1996

DEGASPARI, C. H.; WASZCZYNSKYJ, N. Propriedades Antioxidantes de Compostos Fenólicos. **Visão Acadêmica**, 5, 33-40, 2004.

DELGADO-VARGAS, F., PAREDES-LOPEZ, O. Anthocyanins and Betalains. In: DELGADO-VARGAS, F., PAREDES-LOPEZ, O. **Natural Colorants for Food and Nutraceutical Uses**. New York, 2003.

DEL-VALLE, E. M. M. Cyclodextrins and their uses: a review. **Process Biochemistry**, 39, 1033- 1046, 2004.

DIB TAXI, C. M. A. **Suco de camu-camu (*Myrciaria dubia*) microencapsulado obtido através de secagem por atomização**. 2001. 166p. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2001.

DERRINGER, G.; SUICH, R. Simultaneous Optimization of Several Response Variables. **Journal of Quality Tecnology**. 12, 214-219, 1980.

DUARTE-ALMEIDA, J. M; SANTOS, R. J; GENOVESE, M. I; LAJOLO, F. M. Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema b-caroteno/ácido linoleico e método de sequestro de radicais DPPH•. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 26, 446-452, 2006.

DYRBY, M.; WESTERGARD, N.; STAPELFELDT, H. Light and heat sensitivity of red cabbage extract in soft drink models systems. **Food Chemistry**, 72, 431-437, 2001.

DZIEZAK, J. D. Microencapsulation and encapsulated ingredients. **Food Technology**, 42, 136-148, 1988.

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

FALCÃO, L. D. **Estudo da estabilidade de antocianinas extraídas de uvas Cabernet Sauvignon (*Vitis vinifera L.*) adicionadas de ácido tânico e ácido gálico e sua aplicação em bebida isotônica e iogurte**. 2003. 113f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2003.

FELLOWS, P. J. **Tecnologia do processamento de alimentos: princípios e prática**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2006, 602p.

FIGUEIREDO, R. W. **Qualidade e bioquímica de parede celular durante o desenvolvimento, maturação e armazenamento de pedúnculos de cajueiro anão precoce CCP 76 submetidos à aplicação pós-colheita de cálcio**. 2000. 154f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) Universidade de São Paulo, São Paulo, 2000.

FILGUEIRAS, T. S. A floristic analysis of the gramineae of Brasil. Distrito Federal and a list of the species occurring in the area. **Edinburgh Journal of Botany**, 48, 73-80, 1991.

FRANCIS, F. J. Food colorants: anthocyanins. CRC Critical Reviews. **Food Science and Nutrition**, 28, 273–315, 1989.

FREITAS A. A. **Reatividade química e fotoquímica de antocianinas em sistemas organizados**. 2005. 210f. Tese (Doutorado em Química fundamental). Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

FULEKI, T; FRANCIS, F. J. Quantitative methods for anthocyanins: Extraction and determination of total anthocyanins in cranberries. **Journal of Food Science**, 33, 72-77, 1968.

GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R. E. Radish anthocyanin extract as a natural red colorant for maraschino cherries. **Journal of Food Science**, 61, 688–694, 1996.

GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R. E. Review: Acylated anthocyanins from edible sources and their application in food systems, **Biochemical Engineering Journal**, 14, 217–225, 2003.

GONÇALVES, A. E. S. S. **Avaliação da capacidade antioxidante de frutas e polpas de frutas nativas e determinação dos teores de flavonóides e vitamina C**. 2008. 88f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

GREGG, S. J.; SING, K. S. W. **Adsorption, Surface Area and Porosity**. 2. ed. New York: Academic Press, 1967. 303 p

GUIMARÃES, L. **A cor como informação: a construção biofísica, lingüística e cultural da simbologia das cores**. 3. ed. São Paulo: Annablume, 2004.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free radicals in biology and medicine**. 3 ed. New York, Oxford University Press. 1999.

HARRINGTON, E. C. **The Desirability Function**. *Industrial Quality Control*, 21, 494-498, 1965.

INTERNATIONAL COMMISSION ON ILLUMINATION. *Advancing knowledge and providing standardization to improve the lighted environment*. Vienna, 2010.

JACKMAN, R. L.; YADA, R.Y.; TUNG, M.A.; SPEERS, R.A. Anthocyanins as food colorants – A review. **J. Food Biochemical**, 11, 279–308, 1987.

- KÜPPERS, Harald. **Fundamentos de la teoria de los colores**. México: Gustavo Gili, 1995.
- KUSKOSKI, E. M.; ASUERO, A. G.; TRONCOSO, A. M.; MANCINI-FILHO, J.; FETT, R. Aplicação de diversos métodos químicos para determinar atividade antioxidante em polpa de frutos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 25, 726-732, 2005.
- LABUZA, T. P. Sorption phenomena in foods. **Food Technology**, 22, 263-272, 1968.
- LANGMUIR, I. Adsorption of gases on glass, mica and platinum. **Journal of the American Chemical Society**, 46, 1361-1403, 1918.
- LEES, D. H.; FRANCIS, F. G. Standardization of pigment analysis in cranberries. **Hortscience**, 7, 83-84, 1972.
- LEONG, L. P.; SHUI, G. An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. **Food Chemistry**, 76, 69-75, 2002.
- LIMA, V. L. A. G.; MÉLO, E. A.; GUERRA, N. B. Correlação entre o Teor de Antocianinas e Caracterização Cromática de Polpas de Diferentes Genótipos de Aceroleira. **Brazilian Journal of Food Technology**, 10, 51-55, 2007.
- 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**, 90, 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**, 26, 927-935, 2006.
- LEITE, F. N. **Calibração de dispositivos de cores utilizando uma câmera digital**. 2006. 58f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Elétrica), Universidade de Brasília, Brasília, 2006.
- LOMAURO C. J.; BAKSHI, A.S.; LABUZA, T.P. Moisture transfer properties of dry and semimoist foods. **Journal of Food Science**, 50, 397-400, 1985.
- LUCAS, J. et al. **Colour measurement: fundamentals**. Azurém: Eurotex, 1996.

MALLACRIDA, S. R.; MOTTA, S. Antocianinas em suco de uva: composição e estabilidade. **Boletim CEPPA**, 24: 59-82, 2006.

MANHITA, A. C., TEIXEIRA, D. M., COSTA, C. T. Application of sample disruption methods in the extraction of anthocyanins from solid or semi-solid vegetables samples. **Journal of Chromatography A**, 1129, 14-20, 2006.

MARÇO, P. H.; POPPI, R. J. & SCARMINIO, I. S. Procedimentos analíticos para identificação de antocianinas presentes em extratos naturais. **Química Nova**, 31, 1218-1223, 2008.

MARKAKIS, P. **Anthocyanin as food colors**. New York: Academic Press, 1982.

MARTINS, C. R.; LEITE, L. L.; HARIDASAN, M. Capim-gordura (*Melinis minutiflora* p. Beauv.), uma gramínea exótica que compromete a recuperação de áreas degradadas em unidades de conservação. **Revista Árvore**, 28, 739-747, 2004.

MAZZA, G. Anthocyanins and heart health. **Ann Ist Super Sanità**; 4, 369-374, 2007.

MAZZA, G.; MINIATI, E. **Anthocyanins in fruits, vegetables and grains**. London: CRC Press., 1993.

MELO, E. A.; MACIEL, M. I. S.; LIMA, V. L. A. G.; LEAL, F. L. L.; CAETANO, A. C. S.; NASCIMENTO, R. J. Capacidade antioxidante de hortaliças usualmente consumidas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, 639-644, 2006.

METIVIER, R. P.; FRANCIS, F. J.; CLYDESDALE, F. M. Solvent extraction of anthocyanins from wine pomace. **Journal of Food Science**, 45, 1099-1100, 1980.

MILLER, N. J.; RICE-EVANS, C. A.; DAVIES, M. J.; GOPINATHAN, V.; MILNER, A. A. Novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring antioxidant status in premature neonates. **Clinical Science**, 84, 407-412, 1993.

MINOLTA. **Precise color communication: color control from perception to Instrumentation**. Japan: Minolta Co. Ltd., 2007.

MUNSELL, A. H. **A Color Notation**. 1. ed., Boston: Geo. H. Ellis Co., 1905.

MYERS, R. H.; MONTGOMERY, D. C.; **Response surface methodology**, Wiley: New York, 2002.

NENADIS, N.; WANG, L.; TSIMIDOU, M.; ZHANG, H. Estimation of scavenging activity of phenolic compounds using the ABTS*⁺ assay. **Journal Agriculture Food Chemistry**, 52, 4669–4674, 2004.

NEWTON, I. **Óptica – ou um Tratado sobre a Reflexão, a Refração e as Cores da Luz**, 1704.

NOGUEIRA, R. I. **Processo de obtenção de inulina de chicória (*Cichorium intybus*) em pó**. 2001. 104 p. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola). Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2001.

OSWIN, C. R. The kinetics of package life: III isotherm. **Journal of the Society Chemical Industry**, 65, 419-421, 1946.

PELEG, M. Assessment of a semi-empirical four parameter general model for sigmoid moisture sorption isotherm. **Journal of food Process Engineering**, 16, 21-37, 1993.

PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. Effect of solvent and certain food constituents on different antioxidant capacity assays. **Food Research International**, 39, 791-800, 2006.

PIVELLO, V.R. ; CARVALHO, V. M. C.; LOPES, P. F.; PECCININI, A. A.; ROSSO, S. Abundance and distribution of native and alien grasses in a cerrado. (Brazilian savannas) **Biological Reserve. Biotropica**, 31, 72-82, 1999.

PORTO, M. Gramíneas. Disponível em: http://naturlink.sapo.pt/article.aspx?menuid=23&cid=20780&bl=1&viewall=true#Go_1. Acesso em 17/07/2011.

PRATES, H. T.; OLIVEIRA, A. B.; LEITE, R. C.; CRAVEIRO, A. A. Atividade carrapaticida e composição química do óleo essencial do capim-gordura. **Revista Agropecuária Brasileira, Brasília**, 28, 621-625, 1993.

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 & Medicine**, 26, 1231-1237, 1999.

RICE-EVANS, C.; MILLER, N. J.; PAGANGA, G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. **Free radical Biology & Medicine**, 20, 933-956, 1996.

RIGHETTO, A. M. **Caracterização físico-química e estabilidade de suco de acerola verde microencapsulado por atomização e liofilização**. 2003. 178f. Tese (Doutorado em Ciência da Nutrição) Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2003.

RISCH, S. J.; REINECCIUS, G. A. Encapsulation and controlled release of food ingredients. Washington, DC: **American Chemical Society (ACS)**, 1995. 214p.

ROCHA, F. I. G. **Caracterização e avaliação de métodos de secagem da polpa e extrato de mirtilo (*Vaccinium myrtillus*)**. 2009. 118p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de alimentos). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2009.

RODRÍGUEZ-HERNÁNDEZ, G. R.; GONZÁLEZ-GARCÍA, R.; GRAJALES-LAGUNES, A.; RUIZ-CABRERA, M.A. Spray-drying of cactus pear juice (*Opuntia streptacantha*): Effect on the physicochemical properties of powder and reconstituted product. **Drying Technology**, 23, 955-973, 2005.

ROSA, E. D.; TSUKADA, M.; FREITAS, L. A. P. Secagem por atomização na indústria alimentícia: Fundamentos e Aplicações. 12p. Disponível: <http://www.fcf.usp.br/Ensino/Graduacao/Disciplinas/Exclusivo/Inserir/Anexos/LinkAnexos/secag%20de%20materiais.pdf>. Acesso em: 13 de setembro de 2010.

ROSIER, J. P. Novas regiões: vinhos de altitude no sul do Brasil. In: Congresso Brasileiro de Viticultura e Enologia, 10., 2003, Bento Gonçalves. **Anais do...**, Bento Gonçalves, 2003.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, SELENE M.; SAMPAIO, C. G.; Pérez-Jiménez, J.; Saura-Calixto. F. D. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre ABTS^{•+}. **Comunicado Técnico on line**. ISSN 1679-6535, 2007a.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, SELENE M.; SAMPAIO, C. G.; Pérez-Jiménez, J.; Saura-Calixto. F. D. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre DPPH^{•+}. **Comunicado Técnico on line**. ISSN 1679-6535. 2007b.

SACHS, P. G. D. **Uso de software em análise de interesse agrônomo: determinação de dimensões e cores**. 2007. 73 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) Curso de Pós graduação em Agronomia, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2007.

SANCHEZ-MORENO, C.; LARRAURI, J. A.; SAURA-CALIXTO, F.A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. **Journal Science Food Agricultural**, 76, 270, 1998.

SANTOS, M. H.; BATISTA, B. L.; DUARTE, S. M. DA S.; ABREU, C. M. P.; GOUVÊA, C. M. C. P. Influencia do processamento e da torrefação sobre a atividade antioxidante do café (*Coffea arabica*). **Química Nova**, 30, 604-610, 2007.

RODRIGUEZ-SAONA, L. E.; GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R. E. Color and pigment stability of red radish and red fleshed potato anthocyanins in juice model systems. **Journal of Food Science**, 64, 451–456, 1999.

RODRIGUEZ- SAONA, L. E.; GIUSTI, M., M. WROLSTAD, R. E. Anthocyanin pigment composition of red-fleshed potatoes. **Journal of Food Science**, 63, 458-463, 1998.

SCALBERT, A.; MANACH, C.; MORAND, C.; RÉMÉSY, C. Dietary polyphenols and the prevention of diseases. Critical Review. **Food Science and Nutrition**, 45, 287-306, 2005.

SCALBERT, A.; WILLIAMSON, G. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. **Journal of Nutrition**, 130, 2073-2085, 2000.

SCHANDA, J. **Colorimetry: understand the CIE system**. Hoboken: Wiley, 2007.

SHAHIDI, F.; HAN, X. D. Encapsulation of food ingredients. Critical Reviews. **Food Science and Nutrition**, 33, 501-547, 1993.

SHAHIDI, F.; NACZK, M. **Food phenolics: sources, chemistry, effects and applications**. 1. ed. Lancaster: 331p. 1995. Technomic Publishing., 1995.

SHAHIDI, F.; NACZK, M. **Phenolics in Food and Nutraceuticals**. 403- 427, 2004. CRC Press, 2004.

SHEVELL, S. K. **The science of color**. 2. Sd. Chicago: Elsevier, 2003.

SILVA, P. C. F.. **Propriedades antioxidantes in vitro de uvas branca e de uva tinta e de seus respectivos vinhos elaborados**. 138f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2003.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista Nutrição**, 15, 71-81, 2002.

SOUSA, C. M. M.; SILVA, H. R.; VIEIRA-JR., G. M.; AYRES, M. C. C.; COSTA, C. L. S.; ARAÚJO, D. S.; CAVALCANTE, L. C. D.; BARROS, E. D. S.; ARAÚJO, P. B. M.; CHAVES, M. S. B. M. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, 30, 351-355, 2007.

SOUZA, C.R.F. **Estudo comparativo da produção de extrato seco de *Bauhinia forficata* Link pelos processos *spray dryer* e leito de jorro**. 2003. 182p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2003.

STEINMETZ, K. A.; POTTER, J. D. Vegetables, fruit and cancer prevention: a review. **Journal of the American Dietetic Association**, 54, 1027-1039, 1996.

SURVESWARAN, S., CAI, Y.Z., CORKE, H., SUN, M. Systematic evaluation of natural phenolic antioxidants from 133 Indian medicinal plants. **Food Chemistry**, 102, 938–953, 2007.

TEIXEIRA, H. F. **Avaliação da Influência de Adjuvantes Farmacêuticos sobre as Características Físicas, Químicas, Tecnológicas e Farmacológicas de Extratos Secos Nebulizados de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. Compositae - Marcela**. 1996. 146f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1996.

THIES, C. **How to make microcapsules**. Combined lecture and laboratory manual. Sant Lous, Thies Technology, 1994.

TONON, R. V. **Secagem por atomização do suco de açaí: Influência das variáveis de processo, qualidade e estabilidade do produto**. 2009. 242p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2009.

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

TORNQUIST, J. **Color y luz: teoria y práctica**. Barcelona: Gustavo Gili, 2008.

VALDUGA, E.; LIMA, L.; PRADO, DO R., PADILHA, F. F.; TREICHEL, H.. Extração, secagem por atomização e microencapsulamento de antocianinas do bagaço da uva Isabel (*Vitis labrusca*). **Ciência e Agrotecnologia**, 32, 1568-1574, 2008.

VAN GYSEGHEM, E., JIMIDAR, M., SNEYERS, R., REDLICH, D., VERHOEVEN, E., MASSART, D. L., VANDER HEYDEN, Y. Selection of Reversed-Phase Liquid Chromatographic Columns with Diverse Selectivity Towards the Potential Separation of Impurities in Drugs. **Journal of Chromatography A**, 1042, 69-80, 2004.

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

WORLDSTAD, R. E.; GIUSTI, M. M. Characterization and measurement of anthocyanins by uv-visible spectroscopy. **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**. New York, John Willey & Sons, 2001.

WU, L.; HSU, H.; CHEN, Y.; CHIU, C.; LIN, Y.; HO, J. A. Antioxidant and antiproliferative activities of red pitaya. **Food Chemistry**. 95, 319-327, 2006.

CAPÍTULO I

Extração de antocianinas e caracterização da Inflorescência de capim-gordura (*Melinis minutiflora*)

RESUMO

Para a determinação de antocianinas o primeiro passo é a adequada extração do pigmento, que depende de uma série de fatores, tais como: relação volume de solvente/massa de matéria-prima, tipo de solvente, pH e ácido empregado. Diante disto e da necessidade de se avaliar novas fontes de antocianinas, buscando vegetais de menor valor agregado e de fácil disponibilidade objetivou-se estudar o efeito e a eficiência dos solventes de extração sobre os compostos antioxidantes da inflorescência de capim-gordura (*Melinis minutiflora*). A anatomia vegetal foi realizada através de visualização da inflorescência em lupas de aumento e em microscópio ótico. Avaliou-se três sistemas extratores (etanol:água 70%, metanol p.a e metanol: água 70%) para se determinar a caracterização colorimétrica, o teor de antocianinas, polifenóis e a atividade antioxidante (pelo cátion ABTS). A anatomia vegetal mostrou que a antocianina está presente nas células epidérmicas das glumas e do lema aristado, incluindo os pelos que revestem tais partes. O solvente de extração foi um fator decisivo para a extração de antocianinas e polifenóis, onde os solventes com concentração de 70% foram mais eficientes, e que quando bem escolhido é necessário apenas uma extração. O extrato de capim-gordura apresentou valores positivos de a^* e b^* , mostrando tendência à cor vermelha, sendo os extratos com solventes na concentração de 70% o que tiveram maior coloração vermelha, e por consequência maior valor do parâmetro a^* e maior teor de antocianinas. O extrato obtido com solvente puro apresentou-se com maior tendência a coloração amarela, apresentando valores mais altos do parâmetro b^* e menor teor de antocianinas. A atividade antioxidante não foi influenciada pelo solvente de extração, o que motiva estudos de investigação, para determinar como cada composto influencia nessa atividade.

Palavras- chaves: antocianinas, polifenóis, atividade antioxidante, ABTS, solvente, capim-gordura.

I. INTRODUÇÃO

A prática de colorir os alimentos é muito antiga e os pigmentos naturais encontrados em especiarias e condimentos foram os primeiros a ser estudados, dando lugar posteriormente aos corantes sintéticos os quais ainda hoje são contestados quanto a eventuais problemas de saúde que podem causar (OZELA *et al.*, 2007). Diante do exposto, existe um interesse crescente no desenvolvimento de corantes naturais como alternativas aos corantes sintéticos na indústria de alimentos, tanto por medidas legislativas, como de preocupação com o consumo (GIUSTI & WROLSTAD, 1996).

Estudos recentes têm investigado a utilização das antocianinas como corante natural em alimentos devido, entre vários fatores, à baixa toxicidade destes compostos. As antocianinas pertencem à classe dos compostos fenólicos e são responsáveis pela cor laranja, vermelho, rosa e azul da maioria das frutas, flores e legumes. Ao lado das propriedades de cor, o interesse nas antocianinas também tem aumentado devido aos seus possíveis benefícios à saúde (KONG *et al.*, 2003).

As antocianinas são moléculas polares, sendo que essa polaridade ocorre principalmente em função dos grupos substituintes polares presentes na sua estrutura (hidroxilas, carboxilas e metoxilas), assim como de glicosilas residuais ligadas aos seus anéis aromáticos. Em função desses fatores, elas são mais solúveis em água do que em solventes apolares, características que ajudam na extração e separação das antocianinas (HARBORNE, 1988).

Para a identificação e quantificação de antocianinas o primeiro passo é a adequada extração do pigmento. Segundo FRANCIS (1982), na maioria das frutas e demais vegetais, os pigmentos se encontram localizados em células próximas à superfície. Uma vez que o pigmento está dissolvido na seiva das células, a sua extração geralmente envolve o uso de solventes ácidos, os quais desnaturam a membrana das células do tecido e simultaneamente dissolvem os pigmentos (JACKMAN *et al.*, 1987).

O grau de extração depende de uma série de fatores, entre eles da relação volume da solução extratora/massa de matéria-prima, do tipo de solvente e do ácido empregado. Os métodos convencionais de extração de pigmentos usualmente empregam solução metanólica na presença de ácido clorídrico diluído. Entretanto, como o metanol apresenta problemas de toxicidade, os pesquisadores que trabalham com alimentos preferem outras soluções de

extração (LOPES *et al.*, 2000). Dentre os solventes mais adequados, encontra-se a mistura etanol:água, que é tão eficiente quanto o metanol. Em relação aos ácidos, para as extrações aquosas os melhores são o acético, cítrico, tartárico e o clorídrico. Em um trabalho de extração de antocianinas de uva, o metanol mostrou-se mais eficiente que o etanol e a água (METIVIER *et al.*, 1980). O ácido clorídrico foi o que levou a melhores resultados, sendo, no entanto, muitas vezes evitado devido a sua alta corrosividade.

Apesar de existirem aproximadamente 400 tipos de antocianinas (KONG *et al.*, 2003) presentes em diversos vegetais como uva, cereja, morango, jabuticaba, repolho roxo e outros (MALACRIDA & MOTTA, 2006), poucos se apresentam como fonte comercial desse pigmento, sendo que apenas a uva e o repolho roxo são empregados comercialmente (CONSTANT, 2003). Torna-se evidente, portanto, a necessidade de se avaliar novas fontes de antocianinas, buscando vegetais de menor custo e de maior disponibilidade para que com isso esse pigmento apresente maior aplicação como corante natural (STRINGHETA, 1991). O capim-gordura (*Melinis minutiflora*) é uma gramínea de origem africana, perene, que se reproduz tanto por semente como vegetativamente e que apresenta inflorescências de coloração roxa, podendo ser uma fonte viável de antocianinas.

Diante do exposto, nesse capítulo objetivou-se estudar o efeito de diversas soluções sobre a extração de antocianinas, polifenóis totais, atividade antioxidante e cor; bem como caracterizar a inflorescência de capim-gordura quanto às características morfoanatômica.

II. MATERIAIS E MÉTODOS

1. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

A caracterização de umidade e lipídeos das inflorescências foram realizadas em três repetições e os resultados expressos como média \pm desvio-padrão.

A avaliação da solução extratora foi realizado segundo o Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC) com 3 repetições, em três níveis: metanol P.A, metanol: água 70 % (v/v) e etanol:água 70 % (v/v). Os dados das análises de antocianinas totais, polifenóis, atividade antioxidante e cor foram submetidos à análise de variância (teste *F*) e as médias comparadas entre si pelo teste de Duncan ($p < 0,05$), sendo os resultados expressos pela média \pm desvio-padrão. Os testes de média foram realizados no programa estatístico SAS (Statistical Analyses System), versão 9.1 (SAS, 2006).

2. MATÉRIA-PRIMA

Foram utilizadas inflorescências de capim-gordura (*Melinis minutiflora*) provenientes de Viçosa – Minas Gerais, colhidos no período de junho e julho de 2010.

Logo Após a colheita, as flores presentes na inflorescência dos ramos de capim-gordura foram retiradas e armazenadas em embalagens escuras sob temperatura de -18 °C até o momento da análise.

3. CARACTERIZAÇÃO DA INFLORESCÊNCIA DE CAPIM-GORDURA

3.1 Teor de gordura e umidade

A umidade foi realizada em estufa a vácuo (TE 395-1, Tecnal) a 70 °C, até peso constante e o teor de lipídeos foi determinado à quente em aparelho de Soxhlet usando como solvente extrator o éter de petróleo por 8 h (AOAC, 1997).

3.2 Morfoanatomia Vegetal

A descrição morfoanatomica das inflorescências de capim-gordura foi realizada no laboratório de Anatomia Vegetal de Universidade Federal de Viçosa – MG.

As inflorescências de gramíneas são demasiadamente pequenas para serem observadas a olho nu, portanto é necessário o uso de lentes de aumento, onde é possível observar várias estruturas. As inflorescências foram fragmentadas e seccionadas à mão livre e a observação detalhada das estruturas e dos órgãos das inflorescências foi realizada com auxílio de uma lupa (escala em cm ou mm), sendo fotografadas para posterior indicação das estruturas.

Com o auxílio de uma lâmina cortante, à mão livre, foram realizadas diferentes cortes da inflorescência, sendo algumas estruturas montadas em lâminas de observação com glicerina 50 % (v/v) em água purificada. As lâminas preparadas foram observadas e fotografadas em microscópio ótico (AX 70TRF, Olympus optical) com sistema U-photo e câmara digital acoplada (Spt insight colour 3.2.0, diagnostits instruments).

3.3 Quantificação dos Compostos Antioxidantes

Obtenção dos extratos

Para a determinação do teor dos compostos antioxidantes foi realizada extração com diferentes soluções extratoras: etanol:água 70 % (v/v) (mais utilizado para alimentos, segundo Teixeira, *et al.* 2008), metanol P.A e metanol: água 70 % (v/v) (métodos convencionais, segundo Lopes *et al.*, 2000), todos acidificados com HCl 1,5 mol·L⁻¹ a pH 2,0, lidos em pHmetro digital (DM 20, Digimed).

O extrato foi obtido a partir de 5 g de inflorescência de capim-gordura, homogeneizados com volume suficiente de solvente para cobrir todo o material sólido (aproximadamente 70 mL). Essa suspensão foi deixada em repouso em ausência de luz e sob refrigeração (7 °C ± 1 °C) por 24 h. Após 24 h, as amostras foram filtradas em papel Whatman n° 1 a vácuo, em funil de Büchner, e o volume completado para 100 mL com a solução extratora. Do material sólido retido no papel de filtro, foram realizadas mais duas extrações subsequentes, nas mesmas condições anteriores, e o teor de antocianinas analisado a fim de se verificar a eficiência da extração. A Figura 1.1 representa esquematicamente os passos da obtenção dos extratos.

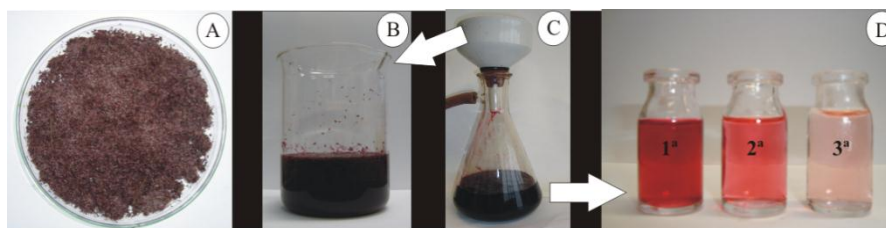


Figura 1.1 – Esquema das extrações sucessivas.

A – inflorescência de capim-gordura. B – Inflorescências de capim-gordura homogeneizadas com solução extratora. C – Filtração, sendo o material retido seguido para nova extração e o filtrado (extrato) reservado. D – Ilustração dos extratos sequenciados (1ª, 2ª e 3ª extração).

3.3.1 Antocianinas Totais

O teor de antocianinas totais dos extratos foi determinado por absorção molecular na região do visível de acordo com Lees & Francis (1972), brevemente detalhada a seguir.

Para a determinação da concentração de antocianinas uma alíquota do extrato foi diluída em etanol: HCl 1,5 N (85:15) v/v e absorvância lida no comprimento de onda de 535 nm em espectrofotômetro (UV-1601 PC, Shimadzu). A diluição foi adotada de tal modo

que se obtivesse um valor de absorvância entre 0,200 – 0,800, respeitando a Lei de Lambert-Beer. O espectrofotômetro foi calibrado com a solução etanol: HCl 1,5 N (85:15).

O teor de antocianinas foi obtido pela Equação 1.1 e o resultado final expresso em mg de cianidina-3-glucosídeo por 100 g de inflorescência.

$$A = \epsilon_{1\text{cm}} \cdot b \cdot C' \quad (\text{eq. 1.1});$$

em que:

A = Absorvância (Abs) em 535 nm

$\epsilon_{1\text{cm}}$ = Coeficiente de absorvância ($98,2 \text{ L} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$)

C' = Concentração ($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)

b = espessura da cubeta (1 cm)

3.3.2 Polifenóis totais

A análise de polifenóis totais dos extratos foi realizada segundo metodologia citada por SHAHIDI & NACZK (1995) descrita a seguir, utilizando o reagente de Folin-Denis.

Para essa determinação é necessário que se proceda a reação colorimétrica, que envolve os polifenóis da amostra e o reagente Folin-Denis. A leitura da absorvância da solução final (após estabilização da reação) foi realizada a 725 nm em espectrofotômetro (UV-1601 PC, Shimadzu). O equipamento foi calibrado com água destilada.

A quantidade de polifenóis totais foi calculada com base na curva padrão de ácido gálico P.A. variando entre 0 e 200 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$. O conteúdo fenólico total foi obtido por regressão linear dos padrões de ácido gálico, e o valor final expresso em mg AGE (ácido gálico equivalente) por 100 g de inflorescência (peso úmido).

Para se processar a reação, em tubos de ensaios foram adicionados: 1,0 mL da amostra (devidamente diluída, para cair na faixa da curva padrão), 7,5 mL de água destilada e 0,5 mL do reagente de Folin-Denis, sendo o tubo agitado vigorosamente. Os tubos foram deixados em repouso por 3 minutos, quando foram adicionados 1,0 mL de solução de bicarbonato de sódio saturada (catalizador da reação). Os tubos permaneceram em repouso por mais uma hora (1 h) ao abrigo da luz, à temperatura ambiente ($25 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$). A solução “branco” foi preparada nas mesmas condições que a amostra, sendo o volume da amostra substituído por 1,0 mL do solvente de extração. A curva padrão também seguiu o mesmo procedimento, sendo o volume

da amostra substituído por 1,0 mL de cada concentração de ácido gálico (previamente preparada em água destilada).

3.3.3 Atividade Antioxidante pelo ensaio TEAC (Capacidade antioxidante equivalente ao trolox)

O ensaio TEAC (Capacidade antioxidante equivalente ao trolox) foi realizado com o radical catiônico ABTS^{•+}, segundo metodologia descrita por Re *et al.*, (1999), detalhada por Rufino (2007), com modificações.

O cátion ABTS^{•+} (2,2'-azinobis-3-etil-benzotiazolína-6-sulfonado), foi formado a partir da reação de soluções aquosas de 7 mmol·L⁻¹ de ABTS e 2,45 mmol·L⁻¹ de persulfato de potássio (1:1), incubada à temperatura ambiente (25 ± 1 °C) e na ausência de luz, por 12 – 16 horas. Transcorrido esse tempo, a solução foi diluída em etanol:água 80 % (v/v) até obter uma solução com absorvância de 0,700 (± 0,05), a 734 nm (comprimento de onda de máxima absorção). Foi utilizado álcool etílico: água 80% (v/v) para calibrar o espectrofotômetro (UV-1601 PC, Shimadzu).

Foi realizada a construção de uma curva analítica com o antioxidante padrão trolox variando de 0 – 200 µM. A reação entre o antioxidante e o radical (ABTS^{•+}) foi realizada através da homogeneização de 0,5 mL de cada concentração do antioxidante e 3,5 mL da solução do radical (ABTS^{•+}) em tubos, os quais foram mantidos ao abrigo de luz até estabilização da reação, em torno de 6 minutos (Re *et al.*, 1999).

Foi construída uma curva de amostra, com pelo menos três diluições sequenciais (de modo a obter, após reação, absorvância na faixa da curva padrão). Uma alíquota de 0,5 mL de cada diluição foi misturada com 3,5 mL da solução do radical ABTS^{•+} e após estabilização da reação (6 min) a absorvância foi medida a 734 nm. A partir desse dado foi construído um gráfico de amostra: concentração (g de amostra·L⁻¹) vs absorvância.

Para determinação da TEAC, foi obtida a absorvância equivalente a 100 µmol·L⁻¹ (ABS_{100 µmol·L⁻¹}) da Equação da curva padrão do trolox. O valor de ABS_{100 µmol·L⁻¹} foi substituído na Equação da reta da curva da amostra, sendo encontrada a massa de amostra (g) equivalente a 100 µmol·L⁻¹. Esse dado foi corrigido em µmol·L⁻¹ equivalente de trolox por grama de amostra (TEAC).

3.4 Caracterização colorimétrica

Uma porção de cada extrato foi lida diretamente em colorímetro Color Quest II Spera (Hunter Lab, Reston), com leitura direta dos valores de L* (luminosidade), a* (vermelho vs verde) e b* (amarelo vs azul), sendo os parâmetros de tonalidade (h*) e saturação (c*) calculados a partir dos valores de a* e b*, conforme as Equações 1.2 e 1.3.

$$h^* = \arctan\left(\frac{b^*}{a^*}\right) \quad (\text{eq. 1.2})$$

$$c^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad (\text{eq. 1.3})$$

III. RESULTADOS

1 CARACTERIZAÇÃO DA INFLORESCÊNCIA DE CAPIM-GORDURA

1.1 Teor de gordura e umidade

As inflorescências de capim-gordura (*Melinis minutiflora*) apresentaram teor de gordura e umidade, em base úmida, de 1,33 % ± 0,55 e 7,64 % ± 0,27, respectivamente.

1.2 Morfoanatomia Vegetal

A Figura 1.2 mostra a morfoanatomia da inflorescência do capim-gordura. No quadrante A têm-se vários ramos recém-colhidos. Na Figura 1.2B observam-se os detalhes da panícula e a longa arista presente nos flósculos (flores). Pode-se notar também que os flósculos são hermafroditas, sendo os que estão na parte superior da panícula encontram-se na fase feminina, enquanto os na parte inferior encontram-se na fase masculina. Na Figura 1.2C notaram-se com detalhe as estruturas de uma espiguetta jovem contendo todas as estruturas internas, incluindo os estames (parte masculina) que cai precocemente. Na Figura 1.2D pôde ser observado a flor em uma fase mais madura, onde a parte masculina caiu e o flósculo se encontra em sua fase feminina. A Figura 1.2E mostra o lema em microscópico ótico com aumento de 20x2. No detalhe (Figura 1.2F), com aumento de 40x20, observou-se que o pigmento roxo-avermelhado (antocianina) está presente em quase todas as células epidérmicas.

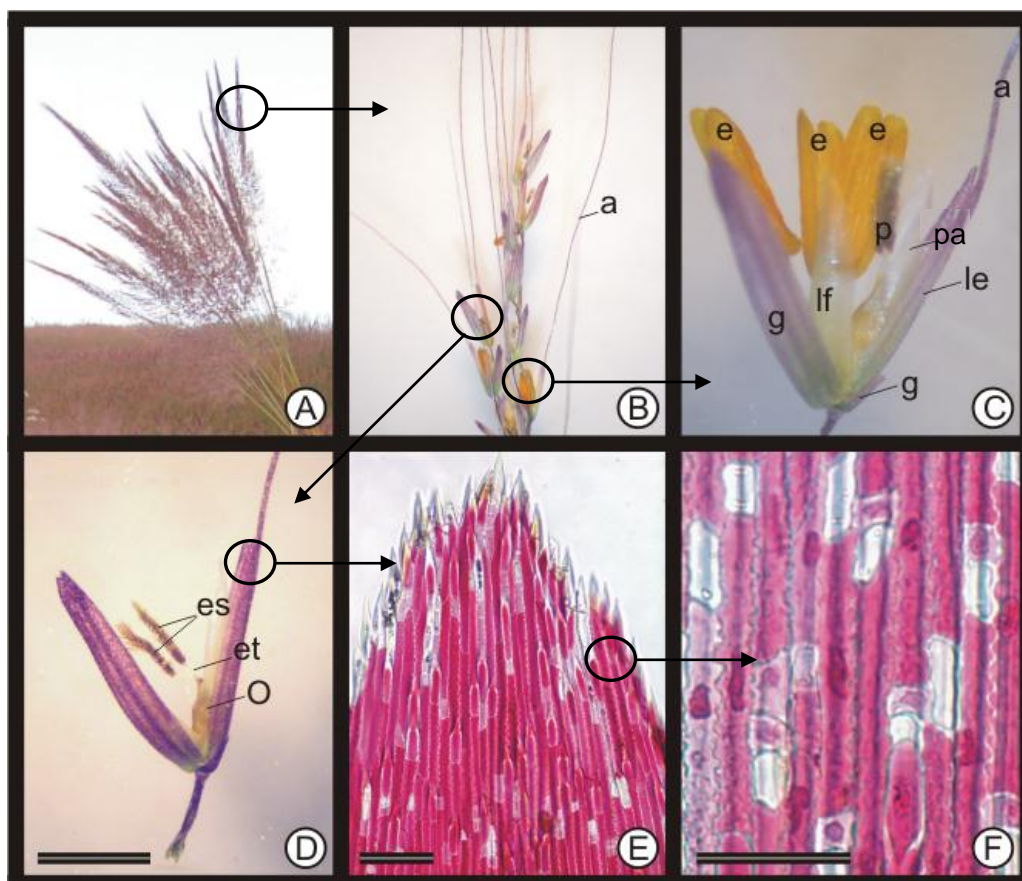


Figura 1.2 – Morfoanatomia de inflorescências de capim-gordura (*Melinis minutiflora*).

A: Aspecto geral das inflorescências (panículas). B: Detalhe de uma panícula. C: espiguetas com flósculos (flores) jovens ainda na fase masculina, com a presença de estames. D: flósculo mais velho já na fase feminina, onde os estames já caíram. E: Distribuição da antocianina nas células epidérmicas da gluma. F: Detalhe da Figura anterior. A, arista; e, estame; es, estigma; et, estilete; g, gluma; le, lema do flósculo estéril; lf, lema do flósculo fértil; o, ovário; p, pistilo; pa, pálea. Barra = 1 mm (D); 50 μ m (E-F).

Pela morfoanatomia, podemos verificar que a antocianina está localizada principalmente nas células epidérmicas das duas glumas e do lema aristado, das inflorescências do capim-gordura.

1.3 Quantificação dos Compostos Antioxidantes

O método de extração foi um fator decisivo para a extração dos compostos antioxidantes da inflorescência do capim-gordura, já que as características do sistema extrator, como polaridade da solução utilizada, determinaram a eficiência e o tipo de compostos presentes no extrato. Isto pode ser demonstrado pela variação nos resultados do conteúdo fenólico e antocianínico da inflorescência do capim-gordura em resposta aos diferentes sistemas extratores.

1.3.1 Antocianinas Totais

A Tabela 1.1 mostra os resultados da quantificação da antocianina do capim-gordura em sucessivas extrações, acompanhada da sua eficiência (em porcentagem).

Tabela 1.1 – Teor de antocianinas do capim-gordura (*Melinis minutiflora*) e sua respectiva eficiência de extração.

Solução extratora	Antocianinas* (mg de cianidina /100g de capim-gordura)			
	1ª Extração	2ª Extração	3ª Extração	Total
Etanol:água 70%	140,69 ± 8,25 ^a	19,17 ± 2,15 ^a	3,80 ± 0,08 ^a	163,65 ± 6,95 ^a
	85,64 %	11,75 %	2,32 %	
Metanol P.A	94,12 ± 3,25 ^b	32,48 ± 2,14 ^b	16,05 ± 0,91 ^b	142,65 ± 2,68 ^b
	65,97 %	22,78 %	11,24 %	
Metanol: água 70%	149,85 ± 5,15 ^a	19,43 ± 2,08 ^a	3,44 ± 0,40 ^a	172,72 ± 7,50 ^a
	91,34 %	11,84 %	2,10 %	

*Os valores representam a média de 3 repetições ± desvio padrão. Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Duncan a probabilidade de 5 %.

O valor de antocianinas totais foi estatisticamente igual ($p < 0,05$) para os solventes com concentração de 70%, que apresentaram maior eficiência de extração que o metanol P.A. Esse resultado difere de estudos encontrados na literatura, que mostram que o metanol foi o solvente de maior poder de extração. Segundo os dados apresentados na Tabela 1.1 o metanol puro foi menos eficiente; este na concentração de 70% apresentou-se com a mesma eficiência que o etanol:água 70 % (v/v). Esse resultado nos dá segurança de optar por trabalhar com o etanol:água 70%, por ele apresentar eficiência similar e ainda pelo fato de apresentar toxicidade muito inferior.

Os teores de antocianinas totais encontrados no capim-gordura foram maiores que o descrito por Teixeira, *et al.* (2008), que encontraram valores de 84,62 mg·100 g⁻¹. Estes valores também são superior ao de fontes como açaí (21,23 mg·100 g⁻¹), morango (21,69 mg·100 g⁻¹), repolho roxo (24,36 mg·100 g⁻¹) e berinjela (64,06 mg·100 g⁻¹), que são reconhecidos como alimentos ricos nesse pigmento (TEIXEIRA, *et al.* 2008). Esse resultado sugere o aproveitamento do capim-gordura como fonte de antocianina comercial, uma vez que o produto contém teor superior ao do repolho roxo, uma das fontes atualmente empregada na extração do pigmento pela a indústria de alimentos.

Com relação à eficiência das extrações, observou-se que não se faz necessário varias extrações consecutivas, pois dependendo do sistema extrator, a maior parcela do corante já é extraído na primeira porção (mais de 85 %). Portanto, apenas o extrato referente a primeira extração foi utilizado nas demais determinações.

1.3.2 Polifenóis Totais

A Tabela 1.2 mostra os resultados da quantificação de polifenóis totais do capim-gordura.

Tabela 1.2 – Teor de polifenóis totais do capim-gordura (*Melinis minutiflora*).

Solução extratora	Fenólicos Totais* (mg AGE·100 g ⁻¹)
Etanol:água 70%	519,79 ± 22,17 ^a
Metanol P.A	369,08 ± 22,54 ^b
Metanol: água 70%	578,21 ± 18,54 ^c

AGE = Ácido gálico equivalente. *Os valores representam a média de 3 repetições ± desvio padrão. Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Duncan a probabilidade de 5 %.

Em geral, solventes mais polares extraem maior quantidade de fenólicos. Entretanto, a utilização de solventes puros, que apresentam faixa de solubilidade limitada, não contribui efetivamente para extração de fenólicos (BERTOLDI, 2006). Isso pôde ser corroborado no presente estudo, onde a extração com metanol puro apresentou o menor teor de fenólicos. Misturas aquosas de solventes polares aumentaram o poder de extração de compostos fenólicos, pois ampliam sua faixa de solubilidade. Nesse trabalho, as misturas aquosas foram os sistemas de solventes mais eficientes, apresentando diferença estatística significativa ($p < 0,05$) na extração do conteúdo fenólico total de capim-gordura, sendo o metanol: água 70 % (v/v) a solução mais eficiente.

1.3.3 Atividade Antioxidante

A Tabela 1.3 mostra os resultados da determinação da atividade antioxidante equivalente ao trolox, para as amostras do capim-gordura.

Tabela 1.3 – Atividade antioxidante do capim-gordura (*Melinis minutiflora*).

Solução extratora	TEAC * (μM trolox·g ⁻¹)
Etanol:água 70%	35,32 ± 2,43 ^a
Metanol P.A	31,68 ± 1,69 ^a
Metanol: água 70%	31,05 ± 0,65 ^a

TEAC = Capacidade antioxidante equivalente ao trolox. *Os valores representam a média de 2 repetições ± desvio padrão. Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Duncan a probabilidade de 5%.

Apesar das soluções de extração terem influenciado significativamente ($p < 0,05$) nas determinações de antocianinas e polifenóis, a atividade antioxidante não foi influenciada ($p > 0,05$), tendo os solventes apresentado potencial antioxidante médio de 32,69 μM

equivalente de trolox por g de capim-gordura. Esse valor é bem superior aos encontrados por Sousa *et al.* (2007) ao trabalhar com frutas como abacaxi, ata, graviola e mamão, que apresentaram respectivamente 3,78; 6,21; 6,09 e 7,60 $\mu\text{M}\cdot\text{g}^{-1}$. A atividade antioxidante do capim-gordura também foi maior do que os relatados por Kuskoski *et al.* (2005), que trabalhou com diferentes polpas de frutas fontes de antocianinas, tais como açaí (9,4 $\mu\text{M}\cdot\text{g}^{-1}$), uva (9,2 $\mu\text{M}\cdot\text{g}^{-1}$), amora (7,1 $\mu\text{M}\cdot\text{g}^{-1}$), sendo inferior apenas para polpa de acerola (67,6 $\mu\text{M}\cdot\text{g}^{-1}$).

Em razão dos compostos antociânicos não serem maioria no capim-gordura (cerca de 25 % do total de compostos fenólicos), pode-se presumir que a atividade antioxidante desse vegetal seja influenciada em partes pelas antocianinas presentes, sendo provavelmente os outros compostos fenólicos os maiores responsáveis por esta atividade. Isso indica que é necessária a investigação dos demais compostos fenólicos presentes, a fim de se designar o percentual de importância dos mesmos para a atividade antioxidante.

1.4 Caracterização colorimétrica

A tabela 1.4 apresenta os dados da caracterização colorimétrica dos extratos de capim-gordura.

Tabela 1.4 –Efeito do tipo de extração nos parâmetros de cor do extrato de capim-gordura (*Melinis minutiflora*).

Parâmetros	Soluções de extração**		
	Etanol:água 70%	Metanol P.A	Metanol: água 70%
L* – luminosidade	30,24 ± 0,92 ^c	41,68 ± 0,11 ^b	32,91 ± 0,82 ^a
a* – vermelho vs verde	23,14 ± 0,10 ^b	5,57 ± 1,40 ^c	26,99 ± 0,37 ^a
b* – amarelo vs azul	8,19 ± 0,16 ^b	23,70 ± 0,18 ^a	10,57 ± 0,18 ^c
C* – saturação de cor (choma)	24,54 ± 0,05 ^b	24,37 ± 0,17 ^b	28,99 ± 0,41 ^a
h* – ângulo de tonalidade (radianos)	0,34 ± 0,01 ^b	1,34 ± 0,06 ^a	0,37 ± 0,01 ^b

**Os valores representam a média de 3 repetições ± desvio padrão. Médias seguidas pela mesma letra, na linha, não diferem entre si, pelo teste de Duncan a probabilidade de 5 %.

Como a luminosidade representa o brilho, numa escala que varia de 0 (preto) a 100 (branco), os valores mais baixos de L* apresentam baixa luminosidade, contribuindo para uma coloração mais intensa, o que pode ser observado ao se comparar os dados da Tabela 1.4 e da Figura 1.3. A amostra que apresentou cor mais intensa foi a extraída com etanol:água 70 % (v/v), sendo a menos intensa a que utilizou metanol P.A.

Com relação à análise colorimétrica (Tabela 1.4), mesmo apresentando variações significativas entre os solventes ($p < 0,05$), todos se localizaram dentro do primeiro quadrante, apresentando valores positivos de a^* e b^* , ou seja, cores vermelha e amarela, sendo que os extratos com solventes na concentração de 70 % os que tiveram coloração vermelha mais intensa (maiores valores do parâmetro a^*) e o extrato obtido com solvente puro apresentou-se com maior tendência à coloração amarela (maiores valores do parâmetro b^*). As diferenças de coloração entre os solventes de extração podem ser observadas na Figura 1.3.

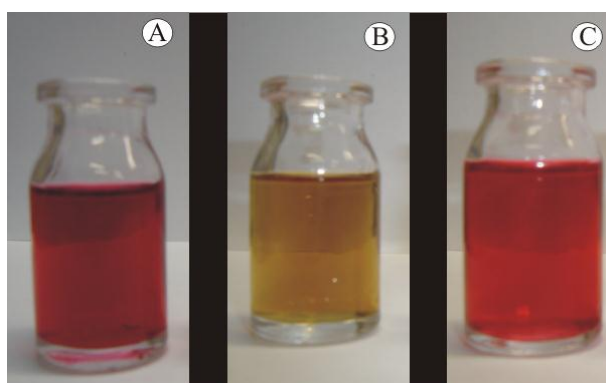


Figura 1.3 – Extratos oriundos da primeira extração.

A – Etanol:água 70 %. B – Metanol P.A. C – Metanol: água 70 %.

Um valor alto de c^* indica uma cor fortemente saturada, indicando a pureza da cor em relação ao branco. Os dados referentes ao parâmetro h^* (tonalidade) demonstraram que o aumento do teor de antocianinas indica uma cor vermelha mais intensa, pois quanto menor o ângulo h^* , mais próximo estará do eixo a^* e com isso, mais vermelha será a coloração (LIMA, *et al.* 2007). Logo, quanto maior o valor de a^* , maior o teor de antocianinas, podendo ser verificada alta correlação positiva entre os teores de antocianinas e os valores de a^* ($R^2 = 0,93$).

A coloração vermelha intensa é afetada pelo conteúdo total de antocianinas e sua distribuição, pela quantidade de cromoplastos que armazenam tais pigmentos pela formação de complexos antocianinas-metais e pelo pH (CHITARRA & CHITARRA, 2005).

IV. CONCLUSÃO

Através da microscopia ótica nota-se que as antocianinas está restrita às células epidérmicas das glumas e do lema aristado.

O solvente de extração foi um fator decisivo para a extração do conteúdo antioxidante da inflorescência do capim-gordura, onde as soluções com concentração de 70 % apresentaram coloração mais vermelha, maior teor de antocianinas e polifenóis. O sistema empregando etanol é preferido, por ser menos tóxico e por sua eficiência ser comparável ao metanol.

A atividade antioxidante não foi influenciada pelo solvente de extração, o que motiva estudos de investigação, para determinar como cada composto (antocianinas e demais fenólicos) influencia nessa atividade.

A atividade antioxidante e o teor de antocianinas foram superiores ao de fontes usualmente consumidas.

V. REFERÊNCIAS

AOAC – **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists:** edited Ig W. Horwitz 16^a ed. Washington, 2, 850, 1997.

BERTOLDI, M. C. **Atividade antioxidante in vitro da fração fenólica, das oleorresinas e do óleo essencial de Pimenta rosa (*Schinus terebinthifolius Raddi*).** 2006. 116f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, 2006.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio.** Lavras: UFLA, 2005. 785.

CONSTANT, P. B. L. **Extração, caracterização e aplicação de antocianinas de açaí (*Euterpe oleracea, M.*).** 2003. 186f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2003.

FRANCIS, F. J. Analysis of anthocyanins in foods. In: MARKAKIS, P., **Anthocyanins as Food Colors.** New York: Academic Press, 181-207, 1982.

GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R. E. Radish anthocyanin extract as a natural red colorant for maraschino cherries. **Journal of Food Science**, 61, 688–694, 1996.

HARBORNE, J. B. **The flavonoids: recent advances, in: Plant Pigments,** Academic Press, London, 298–343, 1988.

JACKMAN, R. L., YADA, R. Y.; TUNG, M. A. Review: separation and chemical properties of anthocyanins used for their qualitative and quantitative analysis. **Journal of Food Biochemistry**, 11, 279-308, 1987.

KONG, J.M.; CHIA, L.S.; GOH, N.K.; CHIA, T.-F.; BROUILLARD, R. Review. Analysis and biological activities of anthocyanins. **Phytochemistry**, 64, 923–933, 2003.

KUSKOSKI, E. M.; ASUERO, A. G.; TRONCOSO, A. M.; MANCINI-FILHO, J.; FETT, R. Aplicação de diversos métodos químicos para determinar atividade antioxidante em polpa de frutos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 25, 726-732, 2005.

LEES, D. H.; FRANCIS, F. G. Standardization of pigment analysis in cranberries. **Hortscience**, 7, 83-84, 1972.

LIMA, V. L. A. G.; MÉLO, E. A.; GUERRA, N. B. Correlação entre o Teor de Antocianinas e Caracterização Cromática de Polpas de Diferentes Genótipos de Aceroleira. **Brazilian Journal of Food Technology**, 10, 51-55, 2007.

LOPES, R. M.; OLIVEIRA, T. T.; NAGEM, T. J.; PINTO, A. S., **Flavonóides, Biotecnologia, Ciência & Desenvolvimento**, 3, 18-22, 2000.

MALLACRIDA, S. R.; MOTTA, S. Antocianinas em suco de uva: composição e estabilidade. **Boletim CEPPA**, 24: 59-82, 2006.

METIVIER, R. P.; FRANCIS, F. J.; CLYDESDALE, F. M. Solvent extraction of anthocyanins from wine pomace. **Journal of Food Science**, 4, 1099-1100, 1980.

OZELA, E. F.; STRINGHETA, P. C.; CANO-CHAUCA, M. Stability of anthocyanin in spinach vine (*Basella rubra*) fruits. **Ciencia e Investigacion Agraria**, 34, 115-120, 2007.

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 & Medicine**, 26, 1231–1237, 1999.

SAS, **Statistical Analysis System** (SAS®), SAS software versão 9.1, Cary, 2006. 176p.

SHAHIDI, F ; NACZK, M. Food phenolics: sources, chemistry, effects and applications. 1. ed. Lancaster: **Technomic Publishing** Co, Inc., 1995. 331p.

SOUSA, P. H. M. ; ALMEIDA, M. M. B. ; FERNANDES, A.G. ; MAIA, G. A. ; MAGALHÃES, A. C.; LEMOS, T. L. G. Correlação entre a atividade antioxidante e os conteúdos de vitamina C e fenólicos totais em frutas tropicais do nordeste brasileiro. In. XLVI Congresso Brasileiro de Química. **Associação Brasileira de Química – Seção Regional do Rio Grande do Norte (ABQ-RN)**, 2007. Disponível em <http://www.abq.org.br/cb/2007/trabalhos/10/10-515-647.htm>. Acesso em 02.10.10.

STRINGHETA, P. C. **Identificação da estrutura e estudo da estabilidade das antocianinas extraídas da inflorescência de capim-gordura (*Melinis minutiflora*, Pal de Beauv)**. 1991. 152f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos). Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1991.

TEIXEIRA, H. F., **Avaliação da Influência de Adjuvantes Farmacêuticos sobre as Características Físicas, Químicas, Tecnológicas e Farmacológicas de Extratos Secos Nebulizados de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. Compositae - Marcela**. 1996. 146f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1996.

CAPÍTULO II

Estudo de fatores que influenciam os extratos antociânico de inflorescência de capim-gordura (*Melinis minutiflora*) secos por atomização

RESUMO

As antocianinas são pigmentos bastante instáveis, presente em vegetais como uva, cereja, morango, jabuticaba, repolho roxo e outros. Apesar de existirem varias fontes, poucos se apresentam como fonte comercial, sendo assim, se busca novas fontes, que sejam mais estáveis e apresentem um baixo custo. O capim-gordura (*Melinis minutiflora*) é uma gramínea que por apresentar alto teor de antocianinas, muitas vezes superiores ao de fontes comerciais, apresenta-se como uma fonte viável. As formas mais importantes de conservação do pigmento são adição de antioxidantes e o encapsulamento, sendo empregado também a secagem por atomização (*Spray dryer*), por ser um método mais econômico, flexível e contínuo. A partir desse contexto avaliou-se o efeito da temperatura do ar de secagem e da concentração de maltodextrina sobre as características físicas e a composição antioxidante do pó antociânico gerado por atomização. O objetivo foi obter a melhor condição de atomização para produção de pó com boas características físicas, potencial corante e antioxidante. Foi aplicada a metodologia de superfície a resposta (MSR), usando o delineamento Composto Central (DCC), com duas variáveis: temperatura de entrada do ar de secagem (160 – 180 °C) e concentração de maltodextrina (2 – 9%). Os resultados indicam que a temperatura de secagem exerceu pouca influência significativa sobre as respostas estudadas, exercendo influência negativa sobre umidade, atividade de água, retenção de antocianinas e TEAC_{ABTS}. A concentração de maltodextrina apresentou negativo para a maioria das respostas, exceto para determinação de cor. Observou-se que a condição ótima seria a temperatura de 170 °C e a concentração de maltodextrina 5,5 %, onde se obtém a produção de partículas com ótimo poder corante, alto teor de antocianinas e atividade antioxidante e baixa higroscopicidade e umidade.

Palavras- chaves: Otimização, retenção de antocianinas, corante em pó antociânico, trolox, coadjuvante de secagem.

I. INTRODUÇÃO

As antocianinas são pigmentos instáveis ao processamento e armazenamento, sendo assim, a indústria alimentícia está constantemente em busca de novas fontes destes pigmentos, que sejam mais estáveis e apresentem baixo custo (DEL POZO-INSFRAN *et al.*, 2004). Apesar de existir diversas fontes de antocianinas, como uva, cereja, morango, jaboticaba, repolho roxo entre outros (MALACRIDA & MOTTA, 2006), poucas apresentam viabilidade comercial. O capim-gordura (*Melinis minutiflora*) sendo uma gramínea que se reproduz tanto por semente como vegetativamente e por apresentar alto teor de antocianinas (TEIXEIRA *et al.* 2008), muitas vezes superiores ao de fontes já comerciais, mostra-se como uma fonte comercialmente promissora.

A necessidade de conservação dos pigmentos tem incentivado o desenvolvimento de novas pesquisas neste setor. As formas mais importantes de conservação do pigmento são o encapsulamento e a adição de antioxidantes. Entre os diferentes métodos de encapsulamento, a secagem por atomização (*spray dryer*), é o método de secagem mais comum usado na indústria alimentícia por ser econômico, flexível e contínuo (DEL-VALLE, 2004).

Nos últimos anos são encontrados na literatura vários trabalhos que apresentam a maltodextrina e a goma arábica como agentes carreadores utilizados na secagem por atomização de produtos com componentes antioxidantes, como por exemplo, suco de camu-camu (DIB TAXI, 2001), manga (CANO-CHAUCA *et al.*, 2005), suco de figo da Índia (RODRÍGUEZ-HERNÁNDEZ *et al.*, 2005), suco de acerola em pó (RIGHETTO & NETTO, 2005), antocianinas de cenoura preta (ERSUS & YURDAGEL, 2007), antocianinas de mirtilo (ROCHA, 2009), suco de açaí (TONON, HUBINGER & BRABET, 2010), entre outros.

As propriedades físico-químicas dos produtos obtidos pela secagem por atomização dependem de algumas variáveis de processo, tais como as características do líquido de alimentação (viscosidade, teor de sólidos, tamanho das gotas, taxa de alimentação), do ar de secagem (temperatura, pressão), assim como do tipo e mecanismo de funcionamento do atomizador (TONON, 2009).

Neste capítulo avaliou-se o efeito da temperatura do ar de secagem e da concentração de maltodextrina sobre as características físicas (umidade, higroscopicidade, atividade de água e cor) e a composição antioxidante (antocianinas e atividade antioxidante) do pó gerado

por atomização. O objetivo foi obter a melhor condição de atomização para produção de pó com baixa higroscopicidade, alto potencial corante e atividade antioxidante.

II. MATERIAIS E MÉTODOS

1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Para descrever a natureza da superfície de resposta na região experimental, foi aplicada a metodologia de superfície a resposta (MSR), usando o delineamento Composto Central (DCC), com quatro repetições no ponto central (para estimativa do erro puro). O delineamento espacial pode ser observado na Figura 2.1.

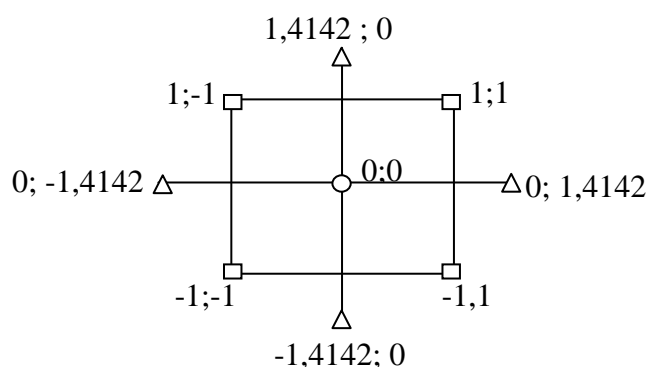


Figura 2.1 – Desenho espacial do delineamento composto central (DCC), para 2 fatores e $\alpha = 1,4142$. \square - Pontos do planejamento fatorial. Δ - Pontos axiais. \circ - Ponto central.

Para a construção do DCC duas variáveis foram definidas: temperatura do ar de secagem na atomização (160 – 180 °C) e concentração de maltodextrina (2 – 9 %). Definidos os níveis decodificados (valores experimentais) dos pontos fatoriais e central, os níveis axiais (α) necessitam ser codificados. Para isso foi utilizada a Equação 2.1:

$$X_i = \frac{Z_i - \bar{Z}_i}{\frac{\Delta Z}{2}}; \quad (\text{eq. 2.1})$$

em que:

X_i = Valor codificado do DCC.

Z_i = Valor experimental do nível

\bar{Z}_i = Valor médio entre os níveis decodificados (+) e (-)

ΔZ = Diferença entre os níveis decodificados (+) e (-)

As variáveis independentes, codificadas e decodificadas, estão descritas na Tabela 2.1. Os ensaios foram aleatorizados antes de serem executados.

Tabela 2.1 – Delineamento experimental.

Ensaio	Variáveis Codificadas		Variáveis Decodificadas	
	Maltodextrina	Temperatura	Maltodextrina (%)	Temperatura (°C)
1	-1	-1	2,4	160
2	+1	-1	8,7	160
3	-1	+1	2,4	180
4	+1	+1	8,7	180
5	$-\alpha$ (-1,414)	0	1,1	170
6	$+\alpha$ (+1,414)	0	10,0	170
7	0	$-\alpha$ (-1,414)	5,5	156
8	0	$+\alpha$ (+1,414)	5,5	184
9	0	0	5,5	170
10	0	0	5,5	170
11	0	0	5,5	170
12	0	0	5,5	170

OBS.: -1 = nível inferior; +1 = nível superior; 0 = ponto central; α = nível axial.

Os resultados foram apresentados pelos efeitos e coeficientes do modelo. O método de quadrados mínimos foi usado para ajustar o modelo linear ou quadrático. O modelo quadrático é dado por:

$$y = \beta_0 + \sum_{j=1}^K \beta_j x_j + \sum_{i<j} \sum \beta_{ij} x_i x_j + \sum_{j=1}^K \beta_{jj} x_j^2 + \varepsilon \quad (\text{eq. 2.7}),$$

onde:

x_i = representa os fatores;

β = coeficiente do modelo;

ε = erro experimental

A qualidade do modelo foi avaliada pelo uso de Análise de Variância (ANOVA), estimando a soma quadrática da regressão, soma de quadrado do resíduo, a falta de ajuste e coeficiente de correlação (R^2). Uma análise dos valores medidos (y_i) contra os preditos pelo modelo (\hat{y}_i), e avaliação da parcela residual ($y_i - \hat{y}_i$ vs y_i) foram também realizadas. O erro dos coeficientes ou dos efeitos foram estimados empregado o erro puro.

Para os modelos que apresentaram regressão significativa e falta de ajuste não significativa ao nível de significância pré-estabelecido, foi mostrado a referida superfície de resposta.

Cada teste foi realizado com seus respectivos graus de liberdade e a um nível de significância (α) variando de 0,01 a 0,1. Os cálculos e gráficos neste trabalho foram realizados utilizando planilhas eletrônicas do Microsoft Excel[®] (2003) de acordo com Teófilo & Ferreira (2006) e o programa computacional Statistica 7[®] (STATSOFT, 2004).

Para a otimização simultânea das respostas foi empregada a função *Desirability*, usando o programa computacional Statistica 7[®] (STATSOFT, 2004).

Após a otimização simultânea das respostas foi realizado um ensaio, com a condição ótima determinada. A partir do valor experimental (M_{exp}) e teórico (M_{teor}) foi calculado o erro relativo (E), para cada resposta, pela Equação 2.13.

$$E = \frac{|M_{\text{exp}} - M_{\text{teor}}|}{M_{\text{teor}}} \times 100 \quad (\text{eq. 2.13})$$

2 MATÉRIA-PRIMA

Foram utilizados extratos antociânicos obtidos de inflorescências de capim-gordura (*Melinis minutiflora*) provenientes de Viçosa – Minas Gerais, colhidas no período de junho e julho de 2010. Logo após a colheita, as flores presentes na inflorescência dos ramos de capim-gordura foram retiradas e armazenadas em embalagens escuras sob temperatura de -18 °C.

3 PREPARO DO EXTRATO

3.1 Obtenção do extrato

Para a obtenção do extrato foram realizadas extrações em bateladas, que ao final foram misturadas, resultando em apenas um extrato (Figura 2.2). A partir de estudos preliminares, o etanol:água 70 % (v/v) foi escolhido por ser potencialmente menos tóxico e por apresentar boa eficiência na extração dos compostos antociânicos.

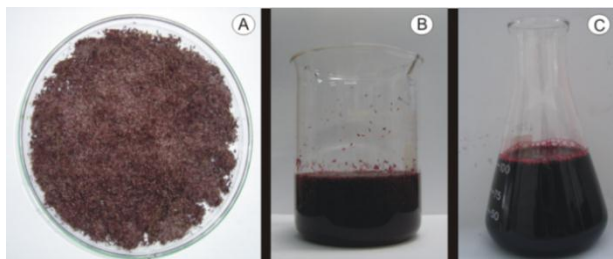


Figura 2.2 – Etapas de extração.

A – inflorescência de capim-gordura. B – Inflorescências de capim-gordura homogeneizadas com solução extratora. C – Extrato antociânico após filtração.

Para a extração foram pesados 20 g de inflorescência de capim-gordura e misturados com 200 mL de etanol:água 70 % (v/v), sendo a mistura acidificada com HCl ($1,5 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$) até pH 2,0. Essa suspensão foi deixada em repouso em ausência de luz por 24 h e sob refrigeração ($7^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$). Após 24 h, as amostras foram filtradas a vácuo em papel Whatman nº 1, com funil de Büchner. O extrato foi concentrado até eliminação total do solvente em evaporador rotativo (MA 120, Marconi) a 40°C e em seguida em impregnador de glóbulos (Figura 2.3), para uma maior concentração (até atingir 4°Brix).



Figura 2.3 – Impregnador de glóbulos.

3.2 Sólidos Solúveis Totais

O teor dos sólidos solúveis totais (SST) foi determinado por leitura direta em refratômetro digital (Digital Hand-Held Refractometer AR200, Leica) previamente calibrado com água destilada, e o resultado expresso em $^\circ\text{Brix}$.

3.3 Preparo das amostras

O agente carreador utilizado foi a maltodextrina 10 DE (Corns Products Brasil, Mor REX[®]), que é hidrossolúvel. A maltodextrina (MD) previamente hidratada foi adicionada ao extrato (descrito no item 3.1), na proporção 1:1, sendo a mistura mantida sob agitação até a completa dissolução. A hidratação da MD foi realizada de modo que após sua adição ao extrato, a solução final (extrato: MD) obtivesse a porcentagem de MD estimada pelo DCC (Tabela 2.1).

3.4 Caracterização dos extratos

3.4.1 Antocianinas Totais

O teor de antocianinas totais dos extratos foi determinado por absorção molecular na região do visível de acordo com Lees & Francis (1972), brevemente detalhada a seguir.

Para a determinação da concentração de antocianinas uma alíquota do extrato foi diluída em etanol: HCl 1,5 N (85:15) v/v. Antes da leitura no espectrofotômetro as amostras foram centrifugadas (5804 R, Eppendorf) a 4800 x g por 10 minutos, a fim de se eliminar a turvação proveniente da incompleta solubilização da maltodextrina na solução etanólica (solvente de leitura etanol: HCl 1,5 N). A absorbância da amostra foi lida no comprimento de onda de 535 nm em espectrofotômetro (UV-1601 PC, Shimadzu). A diluição foi adotada de tal modo que se obtivesse um valor de absorbância entre 0,200 – 0,800, respeitando a Lei de Lambert-Beer. O espectrofotômetro foi calibrado com a solução etanol: HCl 1,5 N (85:15).

O teor de antocianinas foi determinado pela Equação 2.2 e o resultado final expresso em mg de cianidina-3-glucosídeo por 100 g (mL) de extrato.

$$A = \varepsilon_{1\text{cm}} \cdot b \cdot C' \quad (\text{eq. 2.2}),$$

em que:

A = Absorbância (Abs) em 535 nm

$\varepsilon_{1\text{cm}}$ = Coeficiente de absorvidade ($98,2 \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$)

C' = Concentração ($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)

b = espessura da cubeta (1 cm)

3.4.2 Caracterização colorimétrica

Uma porção de cada formulação foi lida diretamente em colorímetro Color Quest II Spera (Hunter Lab, Reston), equipado com iluminante D65 e ângulo de observação 10°. Foram realizadas leituras diretas das coordenadas L^* (luminosidade), a^* (vermelho vs verde) e b^* (amarelo vs azul). Os parâmetros de tonalidade (h^*) e saturação (c^*) foram calculados a partir dos valores de a^* e b^* , conforme as Equações 2.3 e 2.4.

$$h^* = \arctan\left(\frac{b^*}{a^*}\right) \quad (\text{eq. 2.3})$$

$$c^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad (\text{eq. 2.4})$$

3.4.3 Umidade

A umidade foi determinada por gravimetria, em estufa a vácuo (TE 395-1, Tecnal) a 70 °C, até peso constante (AOAC, 1997).

4 SECAGEM DOS EXTRATOS POR ATOMIZAÇÃO



A secagem por atomização foi realizada em secador laboratorial com sistema de atomização em bicos – mini *spray dryer* – BÜCHI, modelo B-191 (Labortechnik, Suíça), com bico injetor com orifício de 1,5 mm de diâmetro, vazão de ar de 73 m³/h e pressão do ar de 600 mBar ($\approx 0,6$ atm). A alimentação do secador foi realizada através de uma bomba peristáltica, com velocidade de rotação ajustada a 20 % de bombeamento (3 mL·min⁻¹). As temperaturas do ar de entrada foram definidas de acordo com o DCC (Tabela 2.1) e a de saída monitorada no painel digital.

Figura 2.4 – Mini *spray dryer*

5 CARACTERIZAÇÃO DOS EXTRATOS EM PÓS

5.1 Caracterização dos compostos antioxidante

Uma porção de cada extrato em pó (de aproximadamente 0,2 g) foi diluída em 10 mL de água destilada. Após completa solubilização, a amostra solubilizada foi utilizada nas análises da caracterização antioxidante.

5.1.1 Quantificação das antocianinas totais

Partindo das amostras solubilizadas no item 5.1, uma alíquota foi diluída em etanol:HCl 1,5 N, para determinação de antocianinas conforme descrito no item 3.4.1.

5.1.2 Determinação da atividade antioxidante

A determinação da atividade antioxidante foi realizada por três diferentes métodos, que são brevemente detalhados a seguir.

A partir das amostras solubilizadas no item 5.1, foram obtidas diferentes diluições das amostras em etanol:água 80 %. Antes das diluições serem reagidas com o radical DPPH ou ABTS, estas foram centrifugadas a 4800 x g por 10 minutos, a fim de se eliminar a turvação proveniente da incompleta solubilização da maltodextrina em solução alcoólica (etanol 80%).

5.1.2.1 Porcentagem antioxidante

Foi analisada a porcentagem de moléculas do radical DPPH sequestrado após determinado tempo, de acordo com a metodologia da avaliação da capacidade sequestrante de radicais 2,2-difenil-1-picril hidrazina (DPPH^{*}), descrita por Espin *et al.* (2000) e Pukalskas *et al.* (2002) com modificações.

Foi previamente preparada uma solução de 0,1 mmol·L⁻¹ de DPPH em etanol:água 80% (v/v). Em um tubo de ensaio foi adicionado uma alíquota de 0,5 mL da fração das amostras (devidamente diluída, para que ocorra redução parcial do DPPH) e 3,5 mL da solução etanólica de DPPH, a temperatura ambiente (25 ± 1 °C).

Foram realizadas leituras de absorvância no comprimento de onda de 517 nm em espectrofotômetro UV-1601 PC Shimadzu, no tempo zero e no final da reação (estabilização

do valor da absorbância). Um estudo cinético foi previamente realizado para determinar o tempo de estabilização da reação (2 h). O resultado foi expresso em porcentagem de moléculas do radical DPPH sequestrado, a uma determinada diluição, pela Equação 2.5.

$$\% \text{ Atividade sequestrante} = \left[1 - \frac{(DPPH^{\bullet})^f}{(DPPH^{\bullet})^0} \right] \times 100 \quad (\text{eq.2.5}),$$

em que:

$(DPPH^{\bullet})^0$ – Absorbância no início da reação; $(DPPH^{\bullet})^f$ – Absorbância no final da reação

5.1.2.2 Ensaio TEAC (Capacidade antioxidante equivalente ao trolox)

O ensaio TEAC (capacidade antioxidante equivalente ao trolox) foi realizado com o radical catiônico ABTS (segundo Re, *et al.* 1999, detalhada por Rufino, *et al.* 2007) e DPPH (segundo Kim, *et al.* 2002 com modificações).

A leitura das reações com ABTS foi realizada a 734 nm e com o DPPH a 517 nm em espectrofotômetro (UV-1601 PC Shimadzu). Em ambas as determinações, foram utilizadas álcool etílico: água 80% (v/v) para calibrar o espectrofotômetro. Para o ABTS, o tempo de reação foi de 6 min, segundo Re *et al.*, 1999, e para o DPPH o tempo foi de 2 h, determinado a partir da cinética realizada no item 5.5.2.1 (porcentagem antioxidante).

Preparo dos radicais: O cátion $ABTS^+$ (2,2'-azinobis-3-etil-benzotiazolina-6-sulfonado), foi formado a partir da reação de soluções aquosas de $7 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ de ABTS e $2,45 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ de persulfato de potássio (1:1), incubada à temperatura ambiente ($25 \pm 1 \text{ }^{\circ}\text{C}$) e na ausência de luz, por 12 – 16 horas. Transcorrido esse tempo, a solução foi diluída em etanol:água 80% (v/v) até obter uma solução com absorbância de $0,700 (\pm 0,05)$, a 734 nm (comprimento de onda de máxima absorção). Para o ensaio TEAC com o DPPH (2,2-difenil-1-picril hidrazina), foi previamente preparada uma solução $0,1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ de DPPH dissolvido em etanol:água 80% (v/v).

Construção da curva padrão: Para as determinações de TEAC foi realizada a construção de uma curva analítica com o antioxidante padrão (antioxidante sintético: Trolox), nas concentrações de $0 - 200 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$. A reação entre o antioxidante e o radical foi realizada através da homogeneização de 0,5 mL de cada concentração do antioxidante e 3,5 mL da solução do radical em tubos, os quais foram mantidos ao abrigo de luz até estabilização da reação.

Construção da curva de amostra: Foi construída uma curva de amostra, com pelo menos três diluições sequenciais (de modo a obter, após reação, absorvância na faixa da curva padrão). Uma alíquota de 0,5 mL de cada diluição foi homogeneizada com 3,5 mL da solução do radical e após estabilização da reação a absorvância foi medida. A partir desse dado foi construído um gráfico de amostra: concentração (g de amostra L⁻¹) vs absorvância.

O procedimento utilizado na curva padrão e na curva de amostra para o radical ABTS foi empregado para o radical DPPH.

Para determinação da TEAC, foi obtida a absorvância equivalente a 100 μmol·L⁻¹ (ABS_{100 μmol·L⁻¹}) da equação da curva padrão do trolox. O valor de ABS_{100 μmol·L⁻¹} foi substituído na equação da reta da curva da amostra, sendo encontrada a massa de amostra (g) equivalente a 100 μmol·L⁻¹. Esse dado foi corrigido em μmol·L⁻¹ equivalente de trolox por grama de amostra, e o resultado expresso em TEAC_{ABTS} (quando usando o cátion ABTS) e em TEAC_{DPPH} (ao usar o radical DPPH).

5.2 Caracterização colorimétrica

Foi realizada leitura das amostras em pó e da amostra solubilizada (na proporção 0,2 g para 10 mL). As amostras foram lidas diretamente em colorímetro Color Quest II Spera (Hunter Lab, Reston, VA). Os parâmetros avaliados foram os descritos no item 3.4.2.

Para se calcular a diferença global de cor (ΔE^*), foi realizada a reconstituição do extrato: solubilizando-se certa massa de extrato em pó em água, a fim de se obter o mesmo teor de sólidos do extrato antes da atomização. A diferença de cor total entre o extrato antes da atomização e o pó reconstituído foi obtida pela Equação 2.6.

$$\Delta E^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad (\text{eq. 2.6})$$

5.3 Determinações físicas dos extratos em pó

5.3.1 Umidade

Conforme descrito no item 3.4.3.

5.3.2 Atividade de água

Foi realizada por leitura direta em aparelho medidor de atividade de água (Testo 650, marca: Testo), a temperatura de 21 ± 1 °C.

5.3.3 Higroscopicidade

Foi empregado o método gravimétrico estático, utilizando-se solução saturada de cloreto de sódio (NaCl), obtendo umidade relativa de 75,3 %, a temperatura ambiente (25 ± 1 °C) (TAYLOR, 1961). No dessecador, contendo a solução saturada, foram colocadas cápsulas com uma porção de aproximadamente 0,5 g de amostra seca, que permaneceu nesse ambiente até atingir o equilíbrio higroscópico (5 dias), ou seja, até peso constante. A higroscopicidade foi definida como a umidade de equilíbrio atingida pelo produto, quando exposto a 75,3 % de umidade relativa. O resultado foi expresso em g de água absorvida por 100 g de amostra ($\text{g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$).

III. RESULTADOS

As variáveis independentes e os resultados, na ordem que foram executadas, se encontra na Tabela 2.2.

Tabela 2.2 – Variáveis independentes, caracterização física, colorimétrica e composição antioxidante para os extratos em pó de capim-gordura.

Ensaio	Variáveis independentes			Caracterização física			Composição antioxidante				Caracterização colorimétrica										
	MD (%)	T (°C)	T saída (°C)	Umidade	a _w	Higroscopicidade (g/100g) *	Retenção de antocianinas (%)	Atividade Sequestrante (%)	TEAC (μM·g-1)		Amostras em pó					Amostras em pó solubilizadas					ΔE
									DPPH	ABTS	L	a	b	C	H	L	a	b	C	H	
10	5,5	170	67	3,81	0,37	20,00	101,72	71,77	91,04	185,91	58,00	27,85	-0,46	27,85	-0,02	33,49	28,07	9,61	29,67	0,33	1,67
7	5,5	156	62	4,31	0,39	19,55	99,45	71,71	89,78	182,77	57,96	27,41	-0,67	27,42	-0,02	33,89	29,28	10,30	31,04	0,34	0,28
4	8,7	180	78	2,75	0,31	18,22	103,04	68,92	80,99	131,57	61,98	28,71	0,43	28,71	0,01	35,95	34,17	13,09	36,59	0,37	0,97
5	1,1	170	62	3,32	0,32	31,13	106,55	76,30	519,96	477,51	36,27	4,46	0,26	4,47	0,06	29,21	12,63	2,75	12,93	0,21	1,20
2	8,7	160	70	3,74	0,38	18,16	101,15	61,52	77,67	151,26	58,92	28,63	0,49	28,63	0,02	35,62	33,44	12,73	35,78	0,36	2,49
9	5,5	170	74	3,43	0,35	19,64	101,53	70,46	84,72	181,51	57,48	28,55	0,83	28,56	0,03	33,52	28,25	9,75	29,89	0,33	0,49
1	2,4	160	57	5,59	0,38	26,53	107,98	89,36	92,79	319,48	40,89	20,52	1,59	20,58	0,08	30,55	18,10	4,81	18,73	0,26	0,90
3	2,4	180	65	6,40	0,44	26,00	104,36	88,06	252,94	303,98	36,64	7,14	0,95	7,20	0,13	30,29	17,02	4,40	17,58	0,25	2,17
11	5,5	170	63	3,92	0,36	19,87	100,45	83,07	171,13	173,81	56,79	28,20	-0,29	28,20	-0,01	33,38	27,90	9,52	29,48	0,33	0,87
12	5,5	170	70	3,97	0,37	19,65	104,30	81,55	203,78	186,13	26,89	27,38	-0,46	27,38	-0,02	33,73	28,82	10,01	30,51	0,33	0,78
6	10	170	72	2,85	0,31	16,99	96,06	66,16	149,52	123,38	61,35	28,36	0,58	28,37	0,02	37,06	36,05	13,97	38,66	0,37	0,28
8	5,5	184	80	2,21	0,28	19,66	88,95	77,68	178,64	178,44	57,70	29,61	0,83	29,62	0,03	33,66	28,56	9,93	30,24	0,33	1,08

MD – Maltodextrina / T – Temperatura / a_w – Atividade de água.

* (g/100g) = g de água absorvida por 100g de amostra seca.

TEAC = Capacidade antioxidante equivalente ao trolox. / DPPH – 2,2-difenil-1- picril hidrazina / ABTS – 2,2'-azinobis-3-etil-benzotiazolona-6-sulfonado

ΔE = Diferença Global de cor, entre o extrato antes de atomizar e o pó reconstituído

1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICA

1.1 Teor de umidade

De acordo com a Tabela 2.2, a umidade dos pós obtidos no processo variou entre 2,21 e 5,29%.

Os resultados da análise estatística, aplicados aos dados experimentais de umidade obtidos na secagem dos extratos de capim-gordura são apresentados na Tabela 2.3.

Tabela 2.3 Efeito estimado, erro puro, coeficiente t e valor de probabilidade estatística (p) para cada fator sobre a umidade do pó de antocianina extraída de capim-gordura.

Fatores	Efeito	Erro Padrão*	t (3)	p
Interseção	3,76*	0,12	30,56	$7,7 \times 10^{-5}$
MD	-0,77*	0,17	-8,82	0,003
MD ²	0,02	0,19	0,23	0,83
T _e	-0,40*	0,17	-4,53	0,02
T _e ²	0,11	0,20	1,15	0,33
T _e x MD	-0,44*	0,25	-3,59	0,04

T_e = Temperatura do ar de entrada (°C). MD = Concentração de maltodextrina (%). *significativo a $\alpha < 0,05$.
•Erro puro

A temperatura do ar e a concentração de maltodextrina, bem como a interação desses fatores, foram inversamente proporcionais a umidade final do produto, ou seja, maiores temperaturas e maiores concentrações de maltodextrina levaram à produção de pós com menor teor de umidade (Tabela 2.3). O uso de temperaturas mais altas implica em um maior gradiente de temperaturas entre o produto atomizado e o ar de secagem, acarretando uma maior transferência de calor, e conseqüentemente, uma maior evaporação de água do produto, resultando em umidades mais baixas (TONON, 2009). Tonon (2009), trabalhando com secagem de suco de açaí em pó, também observou uma diminuição da umidade das partículas, com o aumento da temperatura de secagem.

Como os efeitos quadráticos foram não significativos ($p > 0,05$), estes foram retirados do modelo, e a análise realizada usando o modelo linear.

O modelo adotado apresentou regressão não significativa ($p > 0,05$) e falta de ajuste significativa ($p < 0,05$), apresentando baixo coeficiente de determinação ($R^2 = 0,4443$), indicando que o modelo explicou apenas 44,43% da variação dos dados observados. Como o

modelo não apresentou ajuste significativo, sua superfície de resposta e seu modelo matemático não puderam ser utilizados para análise.

1.2 Higroscopicidade

De acordo com a Tabela 2.2, a higroscopicidade dos pós obtidos no processo variou entre 17,00 e 31,12 g de água absorvida por 100 g de amostra seca.

Os resultados da análise estatística, aplicados aos dados experimentais da higroscopicidade dos extratos de capim-gordura obtidos pela secagem por atomização estão apresentados na Tabela 2.4.

Tabela 2.4 Efeito estimado, erro puro, coeficiente t e valor de probabilidade estatística (p) para cada fator sobre a higroscopicidade do pó de antocianina extraída de capim-gordura.

Fatores	Efeito	Erro Padrão*	t (3)	p
Interseção	19,72*	0,09	224,10	<0,0001
MD	-4,52*	0,12	-72,62	$6,00 \times 10^{-6}$
MD ²	2,28*	0,14	32,79	$6,20 \times 10^{-5}$
T _e	-0,04	0,13	-0,66	0,56
T _e ²	0,02	0,14	0,23	0,83
T _e x MD	0,15	0,18	1,67	0,19

T_e = Temperatura do ar de entrada (°C). MD = Concentração de maltodextrina (%). *significativo a $\alpha < 0,05$.

*Erro puro

De acordo com estes resultados o único fator que apresentou influência significativa ($p < 0,05$) sobre a higroscopicidade foi a concentração de maltodextrina, tanto o efeito linear como quadrático. Após observado o efeito dos fatores, verificou-se a significância da regressão e a falta de ajuste ($p < 0,01$), através do teste F, na análise de variância (Tabela 2.5).

Tabela 2.5. Resumo da análise de variância (ANOVA) para higroscopicidade.

Fatores	SQ	GL	F	p
Regressão	196,46*	2	361,57	$2,53 \times 10^{-9}$
Resíduo	2,45	9		
Falta de ajuste	2,35	6	12,66	0,039
Erro puro	0,09	3		
Total	198,91	11		

SQ = soma quadrática, GL = grau de liberdade. *significativo a $\alpha < 0,01$.

O modelo proposto, após a retirada dos efeitos não significativos, apresentou regressão significativa ao nível de 99 % de confiança e falta de ajuste não significativa no mesmo nível de confiança. Sendo assim, o modelo ajustado para o teor de higroscopicidade no processo de secagem do extrato antociânico de capim-gordura por atomização foi considerado preditivo.

A Equação 2.14 e a Figura 2.5 representar a variação da higroscopicidade das partículas obtidas, considerando-se a concentração de maltodextrina e a temperatura do ar.

$$\text{higroscopicidade} = 19,73 - 4,52 \text{ MD} + 2,28 \text{ MD}^2 \quad (\text{eq.: 2.14})$$

O coeficiente de determinação (R^2) para o modelo ajustado foi de 0,9877, indicando que o modelo explicou 98,77 % da variação dos dados observados.

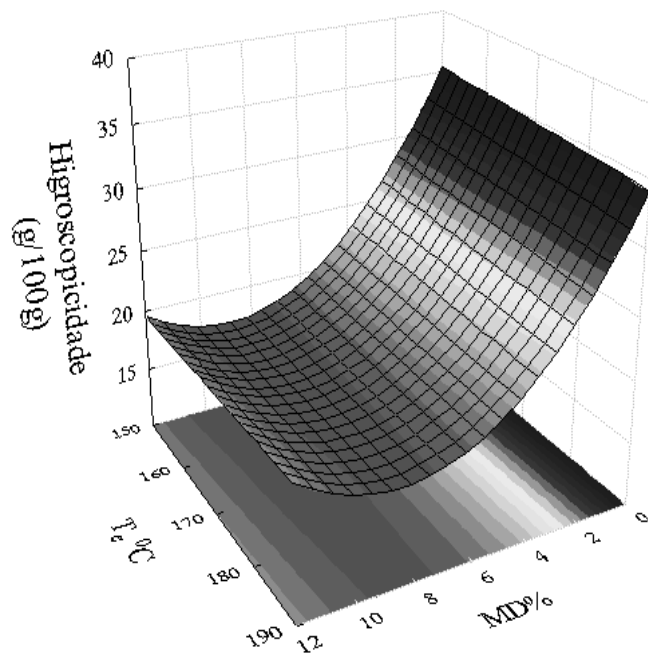


Figura 2.5 - Superfícies de resposta para higroscopicidade, relacionando: temperatura do ar de entrada (T_e °C) vs concentração de maltodextrina (MD %).

A concentração de maltodextrina foi a única variável que influenciou a higroscopicidade do produto final (Tabela 2.4 e Figura 2.5). Menores valores de higroscopicidade foram obtidos quando se utilizaram as maiores concentrações de maltodextrina. Resultado semelhante foi obtido por Tonon (2009) ao trabalhar com secagem de polpa de açaí, Cai & Corke (2000) e Rodríguez-Hernández *et al.* (2005), também observaram este efeito da maltodextrina em seus trabalhos com microencapsulação de betacianinas e suco de figo-da-Índia, respectivamente. Isso se deve ao fato de a maltodextrina ser um material com baixa higroscopicidade e confirmar a eficiência de seu uso como agente

carreador, no sentido de reduzir a higroscopicidade de produtos secos por atomização (TONON, 2009).

1.3 Atividade de água

A atividade de água (a_w) dos produtos variou de 0,282 a 0,442, a uma temperatura média de 21,3 °C (Tabela 2.2). A atividade de água foi positivamente correlacionada com a higroscopicidade ($R^2 = 0,91$), assegurando que são linearmente dependentes.

As amostras apresentaram atividade de água próximos de 0,3, o que é favorável a estabilidade do pó obtido, uma vez que não permite a multiplicação de microrganismos e retarda o escurecimento não enzimático, uma das principais reações de deterioração (FENNEMA, 1996). Valores de atividade de água semelhantes foram observados por Tonon (2009), ao trabalhar com de suco de açaí, e por Quek *et al.* (2007) para o suco de melancia, ambos secos por atomização utilizando maltodextrina como coadjuvantes de secagem.

Os resultados da análise estatística, aplicados aos dados experimentais da atividade de água dos extratos de capim-gordura obtidos pela secagem por atomização são apresentados na Tabela 2.6.

Tabela 2.6 Efeito estimado, erro puro, coeficiente t e grau de significância estatística (p) para cada fator sobre a determinação da atividade de água.

Fatores	Efeito	Erro Padrão [•]	$t(3)$	p
Interseção	0,36*	$4,3 \times 10^{-3}$	84,02	$4,00 \times 10^{-6}$
MD	-0,01*	$6,1 \times 10^{-3}$	-5,86	0,099
MD ²	-0,01	$6,8 \times 10^{-3}$	-2,81	0,063
T _e	-0,02*	$6,1 \times 10^{-3}$	-6,72	0,007
T _e ²	$5,7 \times 10^{-4}$	$6,9 \times 10^{-3}$	0,17	0,88
T _e x MD	-0,03*	$8,6 \times 10^{-3}$	-7,60	0,005

T_e = Temperatura do ar de entrada (°C). MD = Concentração de maltodextrina (%). *significativo a $p < 0,05$.

[•]Erro puro

De acordo com a Tabela 2.6 os efeitos quadráticos dos fatores não apresentou influência significativa ($p > 0,05$) sobre a atividade de água, sendo retirados do modelo. Todos os efeitos significativos foram negativos, indicado que quanto maior o teor de maltodextrina e da temperatura, menores são os valores de a_w . Isso se deve ao fato de altas temperaturas tornar o produto mais seco e da alta concentração de maltodextrina deixar a água menos disponível e facilitar a secagem (pó mais secos).

Após a retirada dos efeitos não significativos verificou-se a significância da regressão e a falta de ajuste a 90 % de confiança ($p < 0,10$), através do teste F, na análise de variância.

O modelo adotado apresentou falta de ajuste e regressão não significativa ($p > 0,05$), apresentando baixo coeficiente de determinação ($R^2 = 0,5131$), indicando que o modelo explicou apenas 51,31 % da variação dos dados observados. Como o modelo não foi ajustado a superfície de resposta não pode ser analisada.

2 COMPOSIÇÃO ANTIOXIDANTE

2.1 Retenção de antocianinas

A retenção do teor de antocianinas variou entre 88,95 a 107,98 % (Tabela 2.2). Os resultados da análise estatística, aplicados aos dados experimentais da retenção de antocianinas dos extratos de capim-gordura obtidos por secagem por atomização são apresentados na Tabela 2.7.

Tabela 2.7 Efeito estimado, erro puro, coeficiente t e grau de significância estatística (p) para cada fator sobre a determinação da retenção de antocianinas.

Fatores	Efeito	Erro Padrão*	$t(3)$	p
Interseção	101,92*	0,82	124,96	1×10^{-6}
MD	-2,86*	1,15	-4,96	0,016
MD ²	1,30	1,29	2,02	0,12
T _e	-2,06*	1,16	-3,56	0,04
T _e ²	-2,29*	1,31	-3,50	0,04
T _e x MD	1,40	1,63	1,72	0,18

T_e = Temperatura do ar de entrada (°C). MD = Concentração de maltodextrina (%). *significativo a $p < 0,05$.

*Erro puro

De acordo com a Tabela 2.7 os fatores que apresentaram influência significativa ($p < 0,05$) sobre a retenção de antocianinas foram a concentração de maltodextrina (efeito linear) e a temperatura do ar de entrada (efeitos quadrático e linear).

O aumento da temperatura levou às maiores perdas de antocianinas, e isso pode ser observado a partir do sinal do efeito da temperatura. Quando a temperatura aumenta, a retenção de antocianinas diminui. Isso pode ser explicado pela sensibilidade da antocianina a temperaturas elevadas.

Cai & Corke (2000) e Tonon (2009) trabalhando com secagem de betacianina e suco de açaí, respectivamente, também verificaram uma maior perda de antocianina com o

aumento da temperatura, onde Cai & Corke (2000) concluíram que temperaturas superiores a 180°C não são indicadas para secagem de betacianinas.

A análise de variância do modelo foi realizada após a retirada das variáveis não significativas ($p > 0,05$).

O modelo apresentou regressão não significativa ($p < 0,05$), falta de ajuste significativa ($p < 0,05$) e baixo coeficiente de determinação ($R^2 = 0,5072$), sendo o modelo não considerado preditivo. Assim a superfície resposta não pode ser usada para análise.

2.2 Atividade antioxidante

A atividade sequestrante das amostras em pó variou de 66,16 a 89,36 % (Tabela 2.2). A atividade equivalente ao trolox, pelo método do radical ABTS apresentou valores maiores e menor variação que os obtidos pelo método DPPH. A atividade equivalente ao trolox, nas amostras variou entre 123,38 – 477,51 $\mu\text{M trolox}\cdot\text{g}^{-1}$ e 80,99 – 519,96 $\mu\text{M trolox}\cdot\text{g}^{-1}$, pelo método ABTS e DPPH, respectivamente (Tabela 2.2).

A determinação da capacidade antioxidante equivalente ao trolox pelo método ABTS ($\text{TEAC}_{\text{ABTS}}$) foi positivamente correlacionada com a TEAC pelo método DPPH ($\text{TEAC}_{\text{DPPH}}$), apresentando coeficiente de correlação de 0,80; portanto, à medida que a $\text{TEAC}_{\text{ABTS}}$ aumenta, a $\text{TEAC}_{\text{DPPH}}$ também aumenta. Como se obteve uma boa correlação entre os métodos, evidencia-se que um método pode ser substituído pelo outro sem causar grandes perdas sobre as inferências dos resultados.

Os resultados da análise estatística, aplicados aos dados experimentais da atividade antioxidante dos extratos de capim-gordura obtidos por secagem por atomização estão apresentados na Tabela 2.8. Estes resultados indicam que a maltodextrina apresentou efeito linear significativo sobre todos os métodos realizados. De acordo com o sinal do efeito, quanto maior o teor de maltodextrina, menor será a atividade antioxidante. Isso é comprovado pelo fato de que a maltodextrina não possui atividade antioxidante e pelo fato de que, quanto maior o teor de maltodextrina, menor é a concentração do pigmento antocianico, que é o componente da amostra que possui potencial antioxidante.

Tabela 2.8 Efeito estimado, erro puro, coeficiente t e grau de significância estatística (p) para cada fator sobre a determinação da atividade antioxidante, pelos diferentes métodos.

Método	Fatores	Efeito	Erro Padrão [•]	$t(3)$	p
Atividade Sequestrante	Interseção	76,57*	3,26	23,50	$1,69 \times 10^{-4}$
	MD	-7,67*	4,60	-3,32	0,045
	MD ²	-1,66	5,15	-0,64	0,57
	T _e	1,84	4,63	0,80	0,48
	T _e ²	0,03	5,23	0,01	0,99
	T _e x MD	2,17	6,51	0,67	0,55
TEAC _{ABTS}	Interseção	180,23**	2,88	62,58	$9,00 \times 10^{-6}$
	MD	-105,25**	4,07	-51,67	$1,60 \times 10^{-5}$
	MD ²	56,96**	4,56	25,00	$1,40 \times 10^{-4}$
	T _e	-5,22**	4,09	-2,55	0,084
	T _e °C ² °C	-4,07	4,62	-1,76	0,18
	T _e x MD	-1,10	6,51	0,67	0,55
TEAC _{DPPH}	Interseção	136,82**	29,54	4,63	0,019
	MD	-89,10**	41,79	-4,26	0,024
	MD ²	72,40**	46,74	3,10	0,053
	T _e	36,04	41,98	1,72	0,18
	T _e ²	-29,82	47,40	-1,26	0,30
	T _e x MD	-39,13	59,06	-1,33	0,28

T_e = Temperatura do ar de entrada (°C). MD = Concentração de maltodextrina (%). TEAC = Capacidade antioxidante equivalente ao trolox. *significativo a $p < 0,05$. **significativo a $\alpha < 0,10$. [•]Erro puro

A maltodextrina apresentou efeito quadrático significativo em dois dos métodos, sendo estas mantidas em seus respectivos modelos. A temperatura do ar de secagem influenciou a TEAC_{ABTS}, mostrando que a medida que a temperatura aumenta, a atividade antioxidante diminui. De fato temperaturas mais elevadas pode-se acelerar a degradação do pigmento (antocianina) e, assim, diminuir o potencial antioxidante da amostra produzida a altas temperaturas.

Os efeitos não significativos para cada determinação foram retirados do modelo e o resumo da análise de variância (ANOVA) é apresentado na Tabela 2.9.

Tabela 2.9. Resumo da análise de variância (ANOVA) do modelo ajustado para a atividade antioxidante, pelos diferentes métodos.

Métodos	Fatores	SQ	GL	F	p
Atividade Sequestrante	Regressão	471,24*	1	13,17	0,0046
	Resíduo	357,74	10		
	Falta de ajuste	230,45	7	0,78	0,65
	Erro puro	127,29	3		
	Total	828,99	11		
TEAC _{ABTS}	Regressão	110133,56*	3	75,65	3,26 x 10 ⁻⁶
	Resíduo	3882,22	8		
	Falta de ajuste	3782,73	5	22,81	0,014
	Erro puro	99,49	3		
	Total	114015,78	11		
TEAC _{DPPH}	Regressão	103176,2**	2	6,64	0,017
	Resíduo	69979,83	9		
	Falta de ajuste	59511,35	6	2,84	0,21
	Erro puro	10468,48	3		
	Total	173156,1	11		

SQ = soma quadrática, GL = grau de liberdade. TEAC = Capacidade antioxidante equivalente ao trolox. *significativo a $p < 0,10$. **significativo a $p < 0,05$.

Todos os modelos apresentaram regressão significativa e falta de ajuste não significativa, sendo, pois, considerados preditivos. Os modelos, para cada método, da atividade antioxidante pode ser observado pelas Equações 2.15 a 2.17

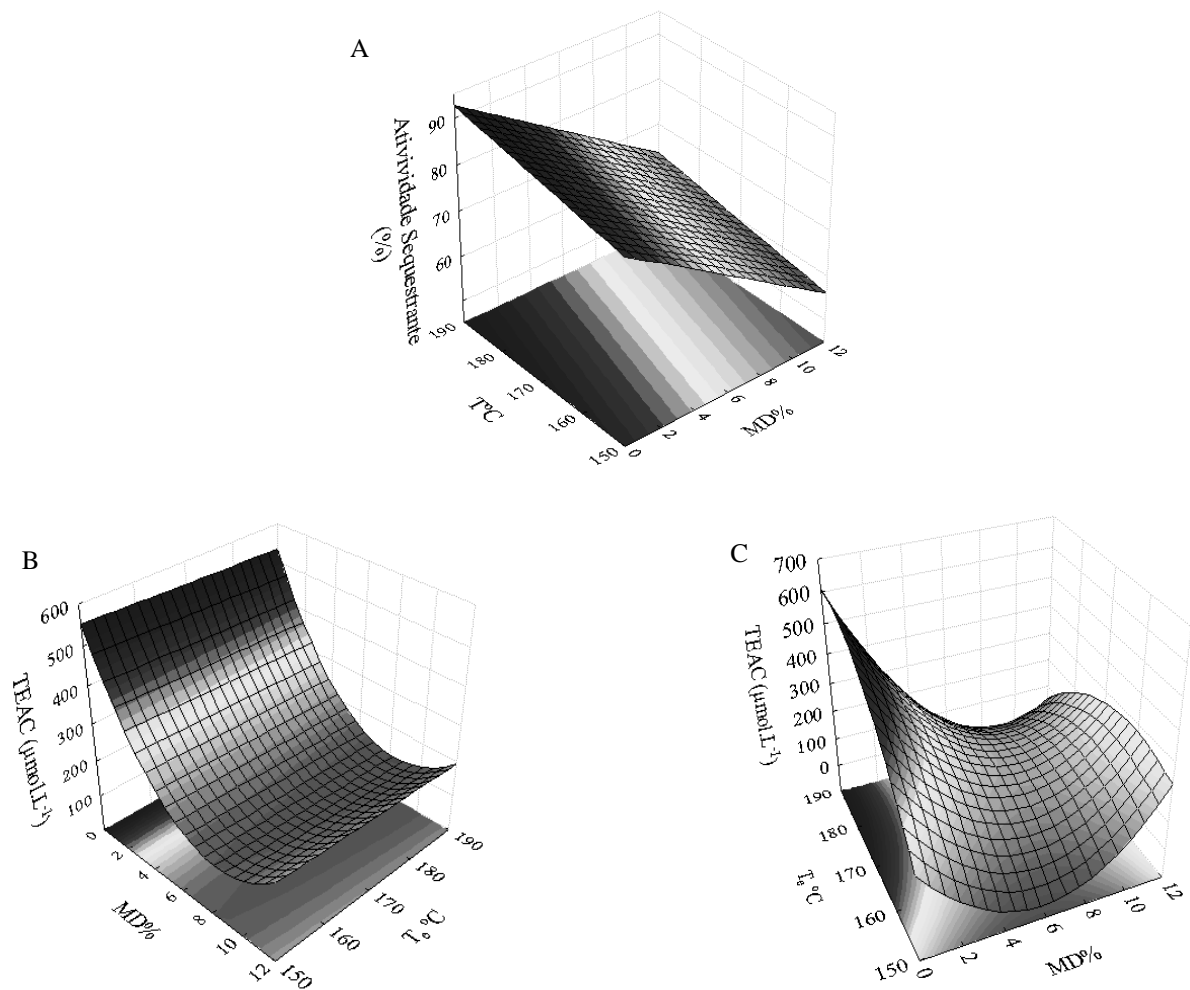
$$\text{Atividade Sequestrante (\%)} = 75,48 - 7,68 \text{ MD} \quad - \quad R^2 = 0,6031 \quad (2.15)$$

$$\text{TEAC}_{\text{ABTS}} = 177,02 - 105,26 \text{ MD} + 57,74 \text{ MD}^2 - 5,21 \text{ T}_e \quad - \quad R^2 = 0,9669 \quad (2.16)$$

$$\text{TEAC}_{\text{DPPH}} = 113,34 - 89,15 \text{ MD} + 78,12 \text{ MD}^2 \quad - \quad R^2 = 0,5959 \quad (2.17)$$

O modelo que melhor se ajustou a atividade antioxidante foi o método TEAC_{ABTS}, que foi considerado mais preditivo por apresentar um alto coeficiente de determinação ($R^2 = 0,9669$), indicando que o modelo explicou 96,69 % da variação dos dados observados. Os demais modelos apresentaram ajuste, porém a porcentagem de explicação foi baixa. Como o modelo melhor ajustado foi o TEAC_{ABTS}, podemos propor que ele seja utilizado em substituição ao DPPH, sendo empregado para as análises posteriores.

A Figura 2.6 mostra as superfícies de respostas geradas para atividade antioxidante dos diferentes métodos, considerando a concentração de maltodextrina e a temperatura do ar.



A – Atividade sequestrante. B – TEAC_{ABTS}. C – TEAC_{DPPH}

Figura 2.6 – Superfícies de resposta para atividade antioxidante relacionando: temperatura do ar de entrada (T_e °C) vs concentração de maltodextrina (MD %).

3 CARACTERIZAÇÃO COLORIMÉTRICA

Pela análise da Tabela 2.2 a Luminosidade das amostras em pó e das amostras solubilizadas variou entre 26,89-61,98 e 29,21-37,06, respectivamente. Já o parâmetro a^* das amostras em pó e das amostras solubilizadas variou entre 7,14-28,63 e 12,63-36,05, respectivamente. Valores positivos de a^* mostraram tendência a coloração vermelha. O parâmetro C^* das amostras em pó e das amostras solubilizadas variou entre 4,47-29,62 e 12,93-38,66, respectivamente. O parâmetro H^* das amostras em pó e das amostras solubilizadas variou entre 7,14-28,63 e 12,63-36,05, respectivamente (Tabela 2.2).

Os resultados da análise estatística, para as amostras em de pó solubilizadas, aplicados aos dados experimentais dos extratos de capim-gordura obtidos por secagem por atomização são apresentados na Tabela 2.10.

Tabela 2.10 Efeito estimado, erro puro, coeficiente t e grau de significância estatística (p) para cada fator sobre a coloração das amostras em pó solubilizadas.

	Fatores	Efeito	Erro Padrão [•]	$t(3)$	p
L*	Interseção	33,58*	0,07	458,96	$2,29 \times 10^{-8}$
	MD	2,72*	0,10	52,75	$1,5 \times 10^{-5}$
	MD ²	-0,31*	0,12	-5,43	0,012
	T _e	-0,03	0,10	-0,59	0,60
	T _e ²	0,03	0,12	0,46	0,68
	T _e x MD	0,15	0,15	2,03	0,14
a*	Interseção	28,39*	0,20	141,39	$7,80 \times 10^{-7}$
	MD	8,20*	0,14	58,01	$1,13 \times 10^{-5}$
	MD ²	-2,28*	0,16	-14,45	$7,19 \times 10^{-4}$
	T _e	-0,17	0,14	-1,18	0,32
	T _e ²	0,07	0,16	0,45	0,68
	T _e x MD	0,45	0,20	2,27	0,11
c*	Interseção	30,04*	0,22	134,29	$9,25 \times 10^{-7}$
	MD	9,06*	0,31	57,27	$1,18 \times 10^{-5}$
	MD ²	-2,40*	0,35	-13,59	$8,62 \times 10^{-4}$
	T _e	-0,18	0,32	-1,14	0,34
	T _e ²	0,09	0,36	0,51	0,64
	T _e x MD	0,49	0,45	2,20	0,12
h*	Interseção	0,33*	$1,23 \times 10^{-3}$	269,59	$1,13 \times 10^{-7}$
	MD	0,05*	$1,74 \times 10^{-3}$	62,61	$8,97 \times 10^{-6}$
	MD ²	-0,02*	$1,95 \times 10^{-3}$	-21,70	$2,33 \times 10^{-4}$
	T _e	$-1,15 \times 10^{-3}$	$1,75 \times 10^{-3}$	-1,39	0,25
	T _e ²	$1,54 \times 10^{-3}$	$1,98 \times 10^{-3}$	1,56	0,22
	T _e x MD	$2,15 \times 10^{-3}$	$2,46 \times 10^{-3}$	1,80	0,17

T_e = Temperatura do ar de entrada (°C). MD = Concentração de maltodextrina (%). *significativo a $p < 0,05$.
[•]Erro puro

De acordo com estes resultados, o único fator que apresentou influência significativa ($p < 0,05$) sobre as coordenadas de cor foi a concentração de maltodextrina (efeito linear e quadrático). Observando-se o sinal do efeito à medida que a concentração de maltodextrina aumenta, o valor de cada coordenada também aumenta.

Sabendo-se que a coordenada L*, varia de 0 a 100, e que quanto maior o valor de L*, mais clara é amostra, temos, como esperado, que a medida que se aumenta a concentração de maltodextrina, a amostra se torne mais clara, pois a maltodextrina por ser um produto branco, torna a cor da amostra menos intensa. Isso também foi observado por Tonon (2009) ao trabalhar com varias concentrações de maltodextrina e goma arábica na atomização do suco de açaí.

A coordenada a^* varia de vermelho a verde, onde valores maiores e positivos, representa coloração vermelha. A saturação (c^*) representa a pureza ou intensidade de uma cor particular, sendo definida pela quantidade de cinza que contém uma cor: quanto mais cinza ou mais neutra for, menos brilhante ou menos "saturada" é a cor. Um maior valor indica uma maior pureza ou intensidade da cor. Pela análise dos efeitos desses dois parâmetros, observou-se que a medida que se aumenta a concentração de maltodextrina, se tem um aumento do valor de a^* e de c^* . Isso é contraditório ao esperado, já que o aumento do coadjuvante de secagem (MD) deveria resultar em uma menor concentração do pigmento, o levaria a menores valores de a^* e c^* (coloração vermelho menos intensa).

O ângulo Hue (h^*) teve o efeito esperado, pois a medida que esse ângulo aumenta, ele se distancia do eixo da coordenada a^* , mostrando que a cor esta menos vermelha. Com o aumento de maltodextrina o efeito sobre h^* foi positivo, mostrando que a medida que se aumenta a concentração do agente carreador, maior é o ângulo Hue, e menos vermelha se torna a amostra.

Tabela 2.11. Resumo da análise de variância (ANOVA) do modelo ajustado para Luminosidade

	Fatores	SQ	GL	F	p
L^*	Regressão	60,12*	2	561,58	$3,56 \times 10^{-10}$
	Resíduo	0,48	9		
	Falta de ajuste	0,29	6	3,25	0,18
	Erro puro	0,06	3		
	Total	60,60	11		
a^*	Regressão	570,60*	2	285,30	$1,41 \times 10^{-10}$
	Resíduo	3,71	9		
	Falta de ajuste	3,24	6	3,37	0,17
	Erro puro	0,48	3		
	Total	574,31	11		
c^*	Regressão	696,26*	2	697,63	$1,35 \times 10^{-10}$
	Resíduo	4,47	9		
	Falta de ajuste	3,87	6	3,22	0,18
	Erro puro	0,60	3		
	Total	696,73	11		
h^*	Regressão	$2,67 \times 10^{-2}$ *	2	1213,28	$1,13 \times 10^{-11}$
	Resíduo	$9,9 \times 10^{-5}$	9		
	Falta de ajuste	$8,1 \times 10^{-5}$	6	2,22	0,27
	Erro puro	$1,8 \times 10^{-5}$	3		
	Total	$2,67 \times 10^{-2}$	11		

SQ = soma quadrática, GL = grau de liberdade. *significativo a $p < 0,05$.

Foram retirados os fatores não significativos do modelo para se verificar a significância da regressão e da falta de ajuste a 95 % de confiança ($p < 0,05$), através do teste F, na análise de variância (Tabela 2.11).

Todos os modelos apresentaram regressão significativa e falta de ajuste não significativa ao nível de 95 % de confiança, podendo cada modelo ser considerado preditivo. O modelo, para cada coordenada de cor, dentro dos limites de temperatura e concentração de maltodextrina estudados, pode ser descrito pelas Equações 2.18 a 2.21.

$$L^* = 33,60 + 2,73 MD - 0,32 MD^2 \quad - R^2 = 0,9963 \quad (2.18)$$

$$a^* = 28,45 + 8,20 MD - 2,30 MD^2 \quad - R^2 = 0,9935 \quad (2.19)$$

$$C^* = 30,11 + 9,06 MD - 2,42 MD^2 \quad - R^2 = 0,9936 \quad (2.20)$$

$$h^* = 0,33 + 0,05 MD - 0,02 MD^2 \quad - R^2 = 0,9963 \quad (2.21)$$

Todos os modelos apresentaram elevados coeficiente de determinação ($R^2 > 0,99$), indicando que os modelos explicaram mais de 99% da variação dos dados observados.

Como todas as superfícies tiveram o mesmo comportamento, apenas a superfície de resposta para a tonalidade (h^*) será apresentada (Figura 2.7).

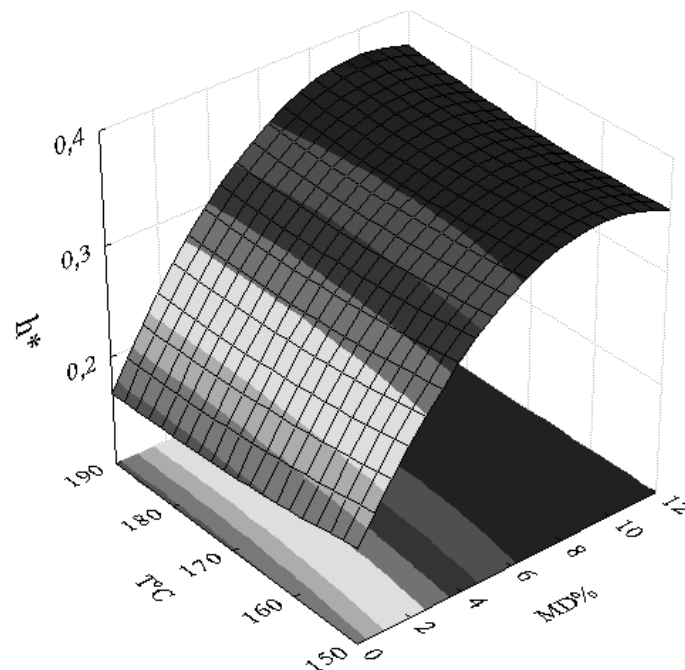


Figura 2.7 – Superfícies de resposta para h^* (tonalidade) das amostras em pó solubilizadas, relacionando: temperatura do ar de entrada (T_c °C) vs concentração de maltodextrina ($MD\%$).

A Tabela 2.12 mostra um resumo das respostas com seus respectivos efeitos.

Tabela 2.12. Resumo dos efeitos sobre as variáveis respostas

Respostas	MD	MD ²	T _e	T _e ²	MDxT _e	Regr.	F _{aj}
Umidade	-0,77*	0,02	-0,40*	0,11	-0,44*	••	*
Higroscopicidade	-4,52*	2,28*	-0,04	0,02	0,15	***	•
Atividade de água	-0,01*	-0,01*	-0,02*	5,7 x 10 ⁻⁴	-0,03*	••	••
Retenção de antocianinas	-2,86*	-1,30	-2,06*	-2,29*	1,40	••	*
Atividade sequestrante	-7,67*	-1,66	1,84	0,03	2,17	**	•••
TEAC _{ABTS}	-105,25**	56,96**	-5,22**	-4,07	-1,10	**	•
TEAC _{DPPH}	-89,10**	72,40**	36,04	-29,82	-39,13	*	••
L*	2,72*	-0,31*	-0,03	0,03	0,15	*	••
a*	8,20*	-2,28*	-0,17	0,07	0,45	*	••
C*	9,06*	-2,40*	-0,18	0,09	0,49	*	••
H*	0,05*	-0,02*	-1,15 x 10 ⁻³	1,54 x 10 ⁻³	2,15 x 10 ⁻³	*	••

MD – Maltodextrina / T_e – Temperatura de entrada / F_{aj} – Falta de ajuste

TEAC = Capacidade antioxidante equivalente ao trolox.

DPPH – 2,2-difenil-1-picril hidrazina / ABTS – 2,2'-azinobis-3-etil-benzotiazolina-6-sulfonado

*significativo a $\alpha < 0,05$ / **significativo a $\alpha < 0,10$

• não significativo a $\alpha < 0,01$ / •• não significativo a $\alpha < 0,05$ / ••• não significativo a $\alpha < 0,10$

A partir do resumo dos efeitos observou-se que a maltodextrina apresentou efeito significativo para todas as repostas avaliadas e que a temperatura apresentou efeito apenas sobre a umidade, atividade de água, retenção de antocianinas e atividade antioxidante pelo método ABTS. A maioria dos modelos foram ajustados, apresentaram falta de ajuste não significativa e regressão significativa, onde apenas a umidade, a retenção de antocianinas e atividade de água não apresentou modelo com bons ajustes.

4 OTIMIZAÇÃO SIMULTÂNEAS DAS RESPOSTAS

Com o objetivo de se obter a melhor condição de atomização, uma otimização simultânea das respostas foi realizada utilizando as respostas consideradas mais importantes na secagem dos extratos por atomização. As respostas utilizadas para esta análise, bem como o efeito desejado sobre estas respostas, se encontram na Tabela 2.13.

Tabela 2.13 – Respostas utilizadas para otimização simultânea

Respostas	Desejabilidade
Retenção de Antocianinas	Maximizar
Atividade Antioxidante : Atividade sequestrante, TEAC _{ABTS} e TEAC _{DPPH}	Maximizar
Atividade de água	Minimizar
Higroscopicidade	Minimizar
Umidade	Minimizar
Coordenada de cor: a*	Maximizar

A partir da análise de desejabilidade podemos observar pela Figura 2.8, que a otimização simultânea das principais respostas deste experimento ocorreu quando se combinou os níveis intermediários, ou seja, a temperatura variou 165 – 180 °C e a concentração de maltodextrina 3,5 – 8 %.

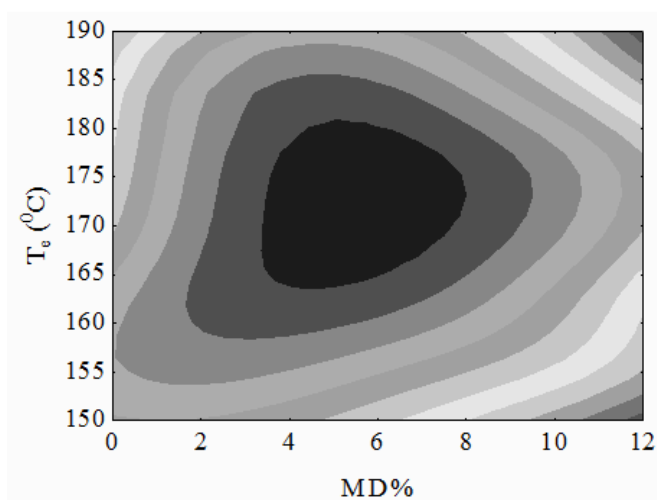


Figura 2.8 – Curvas de níveis para a otimização simultânea das respostas, relacionando: temperatura do ar de entrada × concentração de maltodextrina.

Para validar os modelos obtidos no planejamento experimental, foram realizados dois ensaios utilizando a combinação central ótima: 5,5 % de maltodextrina e 170 °C de temperatura de atomização. Os resultados experimentais obtido nesse ensaio, para as principais respostas de interesse, bem como os valores preditos pelos modelos e a diferença entre eles se encontra na Tabela 2.14.

Tabela 2.14. Respostas obtidas após a otimização simultânea, usando temperatura de entrada de 170 °C e 5,5 % de maltodextrina.

Respostas	Valor obtido	Valor estimado	Erro relativo
Retenção de antocianinas (%)	100,58 ± 1,61	103,00	2,35
TEAC _{ABTS} (μmol·g ⁻¹)	180,45 ± 0,54	178,70	0,98
Atividade de água	0,43 ± 0,09	0,36	19,44
Higroscopicidade (g·100g ⁻¹)	16,90 ± 0,17	19,80	14,34
Umidade (%)	5,06 ± 1,45	3,86	31,09
Coordenada de cor: a*	19,45 ± 9,60	28,32	31,32

O modelo conseguiu prever com relativa precisão a retenção de antocianinas e a TEAC_{ABTS} (erro < 10 %). Para a análise de higroscopicidade o erro obtido foi pouco superior a 10 %, o que pode indicar baixa capacidade de predição do modelo. Para as demais determinações o erro foi muito superior a 10 %, mostrando que esses modelos não são adequados como ferramenta preditiva.

IV. CONCLUSÃO

A temperatura de secagem exerceu influência significativa apenas sobre algumas respostas estudadas, onde a medida que se aumenta a temperatura a umidade, atividade de água, retenção de antocianinas e TEAC_{ABTS} foram reduzidas. Já a concentração de maltodextrina apresentou influência significativa sobre todas as respostas estudadas: o aumento da concentração de maltodextrina resultou em maiores valores dos parâmetros de cor e menores valores das demais respostas (higroscopicidade, atividade de água, retenção de antocianinas e todos os métodos da atividade antioxidantes).

A otimização simultaneamente das respostas forneceu a combinação de 5,5 % de maltodextrina e 170 °C de temperatura do ar de secagem, em que se obteve a produção de partículas com ótimo poder corante, alto teor de antocianinas e atividade antioxidante e baixa higroscopicidade e umidade.

V. REFERÊNCIAS

AOAC – **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists:** edited Ig W. Horwitz 16^a ed. Washington, 2, 850, 1997.

CAI, Y. Z.; CORKE, H. Production and properties of spray-dried *Amaranthus* betacyanin pigments, **Journal of Food Science**, 65, 1248–1252, 2000.

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

DEL POZO-INSFRAN, D.; BRENES, C. H.; TALCOTT, S. T. Phytochemical composition and pigment stability of açai (*Euterpe oleraceae* Mart.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 52, 1539-1545, 2004.

DEL-VALLE, E. M. M. Cyclodextrins and their uses: a review. **Process Biochemistry**, 39, 1033- 1046, 2004.

DIB TAXI, C. M. A. **Suco de camu-camu (*Myrciaria dubia*) microencapsulado obtido através de secagem por atomização.** 2001. 166p. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2001.

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

ESPIN, J. C.; SOLER-RIVAS, C.; WICHERS, H. J.; GARCIA-VIGUERA, C. Anthocyanin-based natural colorants: a new source of antiradical activity for foodstuff. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**,48, 1588-1592, 2000.

FENNEMA, O. R. Water and ice. In: FENNEMA, O.R. (Ed.). **Food Chemistry**. New York, Marcel Dekker, 1996.

KIM, D.; WON LEE, K.; JOO LEE, H. & YONG LEE, C. Vitamin C Equivalent Antioxidant Capacity (VCEAC) of Phenolic Phytochemicals. **Journal Agriculture Food Chemistry**, 50, 13, 2002.

LEES, D. H.; FRANCIS, F. G. Standardization of pigment analysis in cranberries. **Hortscience**, 7, 83-84, 1972.

MALACRIDA, S. R. & MOTTA, S. Antocianinas em suco de uva: composição e estabilidade. **Boletim CEPPA**, 24, 59-82, 2006.

PUKALSKAS, A.; BEEK, T. A. V.; VENSKUTONIS, R. P.; LINSSEN, J. P. H.; VELDHUIZEN, A. V.; De GROOT, A. Identification of radical scavengers in sweet grass (*Hierochioeodorata*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 50, 2914 – 2919, 2002.

QUEK, S. Y.; CHOK, N. K.; SWEDLUND, P. The physicochemical properties of spray dried watermelon powder. **Chemical Engineering and Processing**, 46, 386-392, 2007.

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 & Medicine**, 26, 1231-1237, 1999.

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**, 8, 337-346, 2005.

ROCHA, F. I. G. **Caracterização e avaliação de métodos de secagem da polpa e extrato de mirtilo (*Vaccinium myrtillus*)**. 2009. 118p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de alimentos). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2009.

RODRÍGUEZ-HERNÁNDEZ, G. R.; GONZÁLEZ-GARCÍA, R.; GRAJALES-LAGUNES, A.; RUIZ-CABRERA, M. A. Spray-drying of cactus pear juice (*Opuntia streptacantha*): Effect on the physicochemical properties of powder and reconstituted product. **Drying Technology**, 23, 955-973, 2005.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S. DE; MORAIS, SELENE M.; SAMPAIO, C. G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre ABTS^{•+}. **Comunicado Técnico online**. ISSN 1679-6535, 2007.

STATSOFT. **Statistica**: Data Analysis Software System. Version 7.0. 2004.

TAYLOR, A. A. Determination of moisture equilibrium in dehydrated foods. **Food Technology**. 15, 536 – 540, 1961.

TEIXEIRA, L. N.; STRINGHETA, P. C.; OLIVEIRA, F. A. Comparação de métodos para quantificação de antocianinas. **Revista Ceres**, 55, 297-304, 2008.

TEÓFILO, R. F.; FERREIRA, M. M. C. Quimiometria II: Planilhas eletrônicas para cálculos de planejamentos experimentais, Um Tutorial. **Química Nova**, 29, 338-350, 2006.

TONON, R. V. **Secagem por atomização do suco de açaí: Influência das variáveis de processo, qualidade e estabilidade do produto.** 2009. 242p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2009.

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

CAPÍTULO III

Caracterização e estabilidade dos extratos de antocianina em pó

RESUMO

A busca de fontes alternativas de pigmentos naturais que sejam mais estáveis e apresentem um baixo custo e formas de estabilizá-los tem estimulado o desenvolvimento de pesquisas. O capim-gordura (*Melinis minutiflora*) é uma gramínea que por apresentar alto teor de antocianinas, muitas vezes superiores ao de fontes comerciais, apresenta-se uma fonte viável, sendo essa gramínea uma potencial fonte do referido pigmento. Porém, as antocianinas por serem pigmentos bastante instáveis necessita de métodos de conservação, e atualmente o que mais se utiliza são adição de antioxidantes e o encapsulamento, sendo empregado também a secagem por atomização (*spray dryer*), por ser mais econômico, flexível e contínuo. Assim, o objetivo desse trabalho foi caracterizar e avaliar a estabilidade de pigmentos antocianínicos associados a três concentrações de maltodextrina, como coadjuvante de secagem, submetidos ao processo de atomização e expostos a luz a uma temperatura de $30 \pm 2^\circ\text{C}$, comparando-se com amostras não expostas a luz, armazenadas a mesma temperatura. As amostras foram caracterizadas quanto a higroscopicidade, umidade, isoterma de sorção e micrografia, sendo a estabilidade avaliada através de análises de antocianinas totais, atividade antioxidante e avaliação colorimétrica, durante 42 dias. A Concentração de maltodextrina não afetou a umidade nem tão pouco a atividade de água das amostras, porém afetou a higroscopicidade. A umidade de estocagem ideal (3,57-4,96%) foi determinada pela Equação de BET, que foi a que melhor explicou a comportamento da isoterma de sorção das amostras. As apresentaram formato esférico, sendo as amostras com 3 e 5,5 % de maltodextrina apresentando superfície mais rugosa e as amostras com 8% apresentou superfície mais lisa. A concentração de maltodextrina apresentou bom efeito protetor do pigmento, pois não se observou perda significativa no teor de antocianina (média de 15,19%) e cor ($\Delta E^* < 10$) ao final da estocagem. A concentração de maltodextrina acima de 5,5% foi considerada ideal para proteger o pigmento antocianínico da incidência de luz.

Palavras-chaves: luz fluorescente, TEAC, micrografia, capim-gordura, antocianinas.

I. INTRODUÇÃO

Em estudos recentes, têm-se investigado a utilização das antocianinas como corantes naturais em alimentos devido, entre vários fatores, à sua maior segurança quando comparada aos sintéticos. Esses compostos pertencem à classe dos compostos fenólicos e são responsáveis pela cor laranja, vermelho, rosa e azul da maioria das frutas, flores e legumes (KONG *et al.*, 2003).

As antocianinas são pigmentos instáveis ao processamento e armazenamento. Sendo assim, a indústria alimentícia está constantemente em busca de novas fontes destes pigmentos, que sejam mais estáveis e apresentem um baixo custo (DEL POZO-INSFRAN *et al.*, 2004). O capim-gordura (*Melinis minutiflora*), uma gramínea que se reproduz tanto por semente como vegetativamente, apresentar alto teor de antocianinas (TEIXEIRA *et al.*, 2008), muitas vezes superiores ao de fontes já comerciais, apresenta-se uma fonte viável, apresentando-se como uma fonte promissora destes pigmentos para a indústria de alimentos.

O microencapsulamento é uma técnica relativamente recente, que tem a função de proteger o material encapsulado de fatores que possam vir a causar a sua deterioração, tais como oxigênio, luz ou umidade. Ela favorece o aumento da vida útil, da manutenção do sabor e da cor, além de reduzir a volatilidade, a higroscopicidade e a reatividade, aumentando a estabilidade do produto em condições adversas (RÉ, 1998). A técnica de microencapsulamento mais utilizada na indústria de alimentos é a de secagem por atomização (*spray dryer*), por ser considerada um processo econômico e flexível, e que resulta em partículas de boa qualidade (GHARSALLAOUI *et al.*, 2007).

O objetivo desse trabalho foi caracterizar e avaliar a estabilidade de pigmentos antociânicos associados a três concentrações de maltodextrina (3; 5,5 e 8 %), como coadjuvante de secagem, submetidos ao processo de secagem por atomização e expostos a luz a uma temperatura de 30 ± 2 °C, comparando-se com amostras não expostas a luz, armazenadas a mesma temperatura.

II. MATERIAIS E MÉTODOS

1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

A caracterização dos extratos em pó seguiu o delineamento inteiramente casualizado (DIC), com um fator (concentração de maltodextrina) em três níveis (3, 5,5 e 8 %). O experimento da estabilidade foi realizado em planejamento fatorial, sendo avaliados três fatores: condição de estocagem (em dois níveis: luz e escuro), tempo (em sete níveis: 0, 7, 14, 21, 28, 35, 42 dias) e concentração de maltodextrina (em três níveis: 3, 5,5 e 8%). Todos os experimentos foram realizados em duas repetições.

Os dados da caracterização física foram submetidos à análise de variância (teste F) e as médias comparadas entre si pelo teste de Duncan ($p < 0,05$), sendo os resultados expressos pela média \pm desvio-padrão. Os resultados da estabilidade foram submetidos a análise de variância fatorial, verificando a significância de cada fator e a interação entre os fatores, e quando conveniente, foi realizado teste de Duncan para comparação de médias, ao nível de 5 % de probabilidade. Os testes de média foram realizados no programa estatístico SAS (Statistical Analyses System), versão 9.1 (SAS, 2006) e as análises de regressão e interação utilizando o programa Statistica 7[®] (STATSOFT, 2004).

2 MATÉRIA-PRIMA

Foram utilizados extratos antociânicos obtidos de inflorescências de capim-gordura (*Melinis minutiflora*) provenientes de Viçosa – Minas Gerais, colhidos no período de junho e julho de 2010. Logo após a colheita as flores presentes na inflorescência dos ramos de capim-gordura foram retiradas e armazenadas em embalagens escuras sob temperatura de -18 °C.

3 PREPARO DO EXTRATO PARA ATOMIZAÇÃO

3.1 Obtenção do extrato

Para a obtenção do extrato foram realizadas extrações em bateladas, que ao final foram misturadas. A partir de estudos preliminares, o etanol:água 70 % (v/v) foi escolhido por

apresentar menor toxicidade e apresentar boa eficiência na extração dos compostos antociânicos.

Para isto, 20 g de inflorescência de capim-gordura foram pesados e misturados com 200 mL de etanol 70 % (v/v), sendo a mistura acidificada com HCl ($1,5 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$) até pH 2,0. Essa suspensão foi deixada em repouso em ausência de luz por 24 h e sob refrigeração ($7 \text{ }^\circ\text{C} \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$). Após 24 h, as amostras foram filtradas a vácuo com papel Whatman n° 1, em funil de Büchner. O extrato foi concentrado até eliminação total do solvente em evaporador rotativo (MA 120, Marconi) a $40 \text{ }^\circ\text{C}$ e em seguida no impregnador de glóbulos, até uma concentração maior ($4 \text{ }^\circ\text{Brix}$).

3.1.1 Sólidos Solúveis Totais

O teor dos sólidos solúveis totais (SST) foi determinado por leitura direta do extrato em um refratômetro digital (Digital Hand-Held Refractometer AR200, Leica) previamente calibrado com água destilada, e o resultado expresso em $^\circ\text{Brix}$.

3.2 Preparo das amostras para atomização

O agente carreador utilizado foi a maltodextrina 10 DE (Corns Products Brasil, Mor REX[®]), que é hidrossolúvel. A maltodextrina (MD) previamente hidratada foi adicionada ao extrato descrito no item 3.1., na proporção 1:1, sendo a mistura mantida sob agitação até a completa dissolução. A hidratação da MD foi realizada de modo que após sua adição ao extrato, a solução final (extrato: MD) obtivesse a concentração de MD final de 3%, 5,5% e 8% (m/v).

4 SECAGEM DOS EXTRATOS POR ATOMIZAÇÃO

A secagem por atomização foi realizada em secador laboratorial com sistema de atomização em bicos – mini *spray dryer* – BÜCHI, modelo B-191 (Labortechnik, Suíça), com bico injetor com orifício de 1,5 mm de diâmetro, vazão de ar de $73 \text{ m}^3\cdot\text{h}^{-1}$ e pressão do ar de 600 mBar ($\approx 0,6 \text{ atm}$). A alimentação do secador foi realizada através de uma bomba

peristáltica, com velocidade de rotação ajustada a 20 % de bombeamento ($3 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$). A temperatura do ar de entrada foi de $170 \text{ }^\circ\text{C}$ e a de saída monitorada no painel digital.

5 CARACTERIZAÇÃO FÍSICA DOS EXTRATOS EM PÓ

5.1 Umidade

A umidade foi determinada por gravimétrica, em estufa a vácuo (TE 395-1, Tecnal) a $70 \text{ }^\circ\text{C}$, até peso constante (AOAC, 1997).

5.2 Atividade de água

Foi realizada por meio de leitura direta em aparelho medidor de atividade de água (Testo 650, Testo), a temperatura de $21 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$.

5.3 Higroscopicidade

Foi empregado o método gravimétrico estático, utilizando-se solução saturada de cloreto de sódio (NaCl), obtendo umidade relativa de 75,3 %, a temperatura ambiente ($25 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$) (TAYLOR, 1961). No dessecador, contendo a solução saturada, foram colocadas cápsulas com uma porção de aproximadamente 0,5 g de amostra seca, que permaneceu nesse ambiente até atingir o equilíbrio higroscópico, ou seja, até peso constante (que ocorreu em 5 dias). A higroscopicidade foi definida como a umidade de equilíbrio atingida pelo produto, quando exposto a 75,3 % de umidade relativa. O resultado foi expresso em g de água absorvida por 100 g de amostra ($\text{g}\cdot 100 \text{ g}^{-1}$)

5.4 Isoterma de sorção

Para a obtenção da isoterma de adsorção de umidade foi empregado o método gravimétrico estático, utilizando-se soluções saturadas de sais (TAYLOR, 1961), a temperatura ambiente ($25 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$).

Na obtenção dos dados de adsorção, amostras de 0,5 g foram inicialmente submetidas à secagem a 70 °C, em estufa a vácuo (TE 395-1, Tecnal), e para retirada do calor, foram colocadas em dessecador contendo sílica gel, à temperatura ambiente. As amostras secas e à temperatura ambiente foram acondicionadas em dessecadores de vidro hermeticamente fechados, contendo soluções salinas na água na base.

As soluções salinas foram colocadas em dessecadores de vidro hermeticamente fechados, simulando diferentes níveis de umidade relativa. A hermeticidade dos recipientes impediu a interferência da umidade relativa (UR) do ambiente sobre as amostras. As soluções salinas que foram utilizadas e suas referidas umidade relativa de equilíbrio encontram-se na Tabela 3.1 A umidade relativa de equilíbrio dentro dos recipientes é igual a atividade de água da solução vezes 100.

Tabela 3.1 – Atividade de água (a_w) e umidade relativa de equilíbrio (U_e) das soluções saturadas de sais a 25 °C.

Sais		a_w	U_e %
Fórmula	Nome		
MgCl ₂ .6H ₂ O	Cloreto de Magnésio hexahidratado	0,328	32,8
Mg(NO ₃) ₂ .6H ₂ O	Nitrato de magnésio hexahidratado	0,529	52,9
NaCl	Cloreto de sódio	0,753	75,3
KCl	Cloreto de potássio	0,843	84,3
K ₂ SO ₄	Sulfato de potássio	0,973	97,3

FONTE: ROSSI & ROA, 1980.

Em cada dessecador foi colocado cápsulas com uma porção de amostra anteriormente seca, que permaneceu nesses ambientes até atingir equilíbrio higroscópico. A avaliação do ganho de umidade, mediante pesagem das cápsulas, foi realizada diariamente até que as amostras atingissem o equilíbrio higroscópico, ou seja, até peso constante, que ocorreu em aproximadamente 5 dias.

Os teores de umidade de equilíbrio foram determinados com base na diferença de massa das amostras em balança analítica (Mark 210A, Bel engineering). O gráfico da isoterma foi construído com peso de água absorvido vs umidade relativa a que foi submetida a amostra (TEIXEIRA, 1983).

5.4.1 Modelagem matemática

Foram testados dois modelos matemáticos (Tabela 3.2) na predição dos dados das isotermas de adsorção. Nos ajustes utilizou-se uma otimização baseada no método Gauss-Newton e critério de convergência de 10^{-6} , resolvidas pelo processador matemático STATISTICA 7[®] (STATSOFT, 2004).

Tabela 3.2 - Modelos utilizados para ajuste das isotermas de adsorção de umidade da amostras em pó.

Modelo	Equação
BET*	$X_e = X_m \left[\frac{Ca_w}{1-a_w} \right] \left[\frac{1-(n+1)a_w^n + n(a_w)^{n+1}}{1-(1-C)a_w - C(a_w)^{n+1}} \right] \quad (\text{eq.: 3.1})$
OSWIN**	$X_e = a \left(\frac{a_w}{1-a_w} \right)^b \quad (\text{eq.: 3.2})$

Legenda: X_e = conteúdo de umidade de equilíbrio (g de água/g de sólidos secos); X_m = conteúdo de umidade na monocamada (g de água/g de sólidos secos); a_w = atividade de água (adimensional); a, b, n, K e C = constantes das Equações (adimensional). * BRUNAUER, *et al.* 1938; ** OSWIN, 1946

Os critérios utilizados para avaliar os ajustes foram: coeficiente de determinação (R^2), erro (ε) entre os valores de umidade, experimental e predito (Equação 3.3) e a média dos erros (ε_m) (Equação 3.4). Valores da média dos erros menores que 10 % foram considerados por Peng *et al.* (2007) como indicadores de bons ajustes para isotermas de sorção, para propósitos práticos, e foram tomados como referência na análise dos ajustes.

$$\varepsilon_i = \frac{M_{\text{exp}i} - M_{\text{teor}i}}{M_{\text{exp}i}} \times 100 \quad (\text{eq.: 3.3}) \quad \varepsilon_m = \frac{\sum_{i=1}^N \varepsilon_i}{N} \quad (\text{eq.: 3.4})$$

em que:

$M_{\text{exp}i}$ = valores obtidos experimentalmente para cada amostra

$M_{\text{teor}i}$ = valores preditos pelo modelo para cada amostra

ε_i = Erro relativo para cada amostra

N = número de amostra

5.5 Caracterização microscópica

A estrutura e o tamanho das micropartículas das formulações foram observados por microscopia eletrônica de varredura, segundo metodologia descrita por BARROS & STRINGHETA (2006). A análise foi realizada no Núcleo de Microscopia Eletrônica da UFV.

As amostras permaneceram em dessecadores durante três dias, para retirada da umidade excedente. As amostras foram fixadas em “stubs” com fita dupla fase e submetidas a metalização (SBU 010, Balzers[®]) por 120 segundos, formando uma camada de 15 – 20 nm de ouro. Após o banho de ouro, os “stubs” contendo as amostras, foram fixados no aparelho de microscopia eletrônica de varredura – MEV (LEO 1430VP, Zeiss[®]). As amostras foram observadas e fotomicrografadas em vários aumentos (1000 – 10.000 vezes).

6 ESTUDO DA ESTABILIDADE

No teste de estabilidade à luz, as amostras foram acondicionadas em embalagens de polietileno hermeticamente fechadas. Uma parte das amostras foi colocada em uma câmara de luz (TrueVue[®] 2, Data color), sob incidência de duas lâmpadas fluorescentes (correspondente à luz do dia), com temperatura monitorada de $(30 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C})$. A parte restante permaneceu na mesma temperatura, em ausência de luz (BARROS & STRINGHETA, 2006).

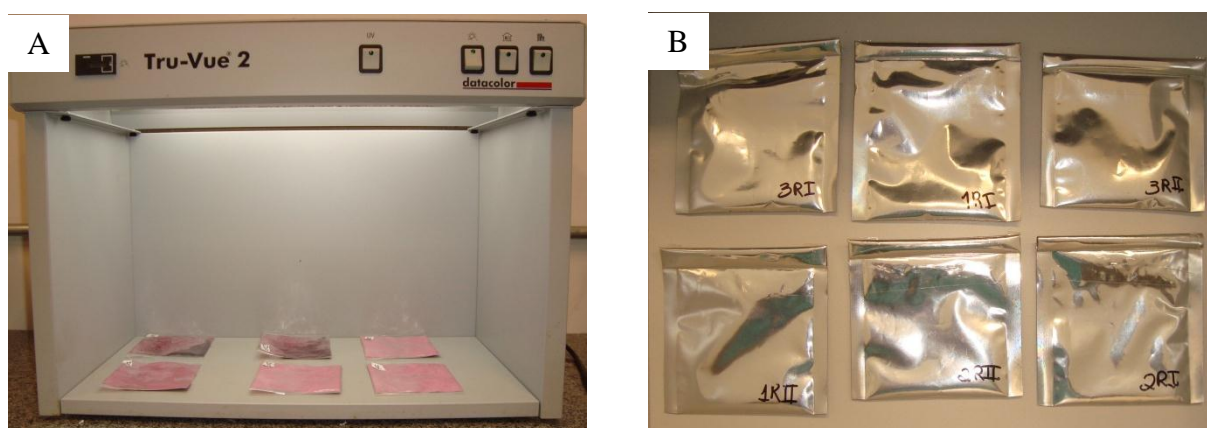


Figura 3.1 – Disposição das amostras na câmara de luz fluorescente de 40 W (A) e no escuro (B).

Para o estudo de estabilidade foram realizados determinações de cor e da composição antioxidante (antocianinas e atividade antioxidante), durante 42 dias, com análises a cada 7 dias.

6.1 Caracterização colorimétrica

Foram realizadas leitura das amostras em pó solubilizada em água destilada (0,2 g em 10 mL). As amostras foram lidas diretamente em colorímetro Color Quest II Spera (Hunter Lab, Reston, VA), com leitura direta dos parâmetros L^* (luminosidade), a^* (vermelho vs verde) e b^* (amarelo vs azul). A tonalidade (h^*) e a saturação (c^*) foram calculadas a partir dos valores de a^* e b^* , conforme as Equações 3.4 e 3.5.

$$h^* = \arctan\left(\frac{b^*}{a^*}\right) \quad (\text{eq. 3.4}) \quad c^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad (\text{eq. 3.5})$$

A diferença de cor total (ΔE^*) entre os extratos em pó durante a armazenagem foi obtida pela Equação 3.6.

$$\Delta E^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad (\text{eq. 3.6})$$

6.2 Caracterização dos compostos antioxidantes

Uma porção de cada extrato em pó (aproximadamente 0,2 g) foi diluída em 10 mL de água destilada. Após completa solubilização, essa amostra solubilizada foi utilizada nas análises da caracterização dos compostos antioxidantes.

6.2.1 Antocianinas totais

O teor de antocianinas totais dos extratos foi determinado por absorção molecular na região do visível de acordo com Lees & Francis (1972), brevemente detalhada a seguir.

Para a determinação da concentração de antocianinas uma alíquota do extrato foi diluída em etanol: HCl 1,5 N (85:15) v/v. Antes da leitura no espectrofotômetro as amostras foram centrifugadas (5804 R, Eppendorf) a 4800 x g por 10 minutos, a fim de se eliminar a turvação proveniente da incompleta solubilização da maltodextrina na solução etanólica (solvente de leitura etanol: HCl 1,5 N). A absorbância da amostra foi lida no comprimento de onda de 535 nm em espectrofotômetro (UV-1601 PC Shimadzu). A diluição foi adotada de tal

modo que se obtivesse um valor de absorvância entre 0,200 – 0,800, respeitando a Lei de Lambert-Beer. O espectrofotômetro foi calibrado com a solução etanol: HCl 1,5 N (85:15).

O teor de antocianinas foi determinado pela Equação 2.2 e o resultado final expresso em mg de cianidina-3-glucosídeo por 100 g (mL) de extrato.

$$A = \varepsilon_{1\text{cm}} \cdot b \cdot C' \quad (\text{Eq. 3.7})$$

em que:

A = Absorvância (Abs) em 535 nm

$\varepsilon_{1\text{cm}}$ = Coeficiente de absorvância ($98,2 \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$)

C' = Concentração ($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)

b = espessura da cubeta (1 cm)

6.2.1.1 Tempo de meia vida e constante de degradação.

As medidas de absorvância dos sistemas foram usadas para construir gráficos do logaritmo neperiano da razão absorvância/absorvância inicial ($\ln A/A_0$) vs tempo de estocagem. Considerado que a degradação de antocianina seguiu um comportamento linear, o valor da constante de velocidade de degradação (k_d) e o tempo de meia-vida ($t_{1/2}$), foram obtido pela Equação 3.8 e 3.9, sendo esses usados como parâmetros para estimar a estabilidade do pigmento ante a incidência da luz.

$$-\ln \frac{ABS_f}{ABS_0} = k_d t \quad (\text{eq. 3.8})$$

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{K_d} \quad (\text{eq. 3.9})$$

em que:

K_d = constante de degradação

ABS_f = Absorvância no tempo final

ABS_0 = Absorvância no tempo zero

t = tempo de estocagem

$t_{1/2}$ = tempo de meia-vida

6.2.2 Determinação da atividade antioxidante

A determinação da atividade antioxidante foi realizada pelo ensaio da capacidade antioxidante equivalente ao trolox (TEAC), pelo método do cátion ABTS, segundo Re, *et. al* (1999), detalhada por Rufino, *et al.* (2007).

A partir das amostras solubilizadas no item 6.2, foram obtidas diferentes diluições das amostras em etanol 80% e antes das diluições serem reagidas com o ABTS, foram centrifugadas (5804 R, Eppendorf) a 4800 x g por 10 minutos, a fim de se eliminar a turvação proveniente da incompleta solubilização da maltodextrina em solução alcoólica (etanol 80%).

A leitura das reações com ABTS foi realizada a 734 nm e o tempo de reação foi de 6 min, segundo Re *et al.*, 1999.

O cátion $ABTS^+$ (2,2'-azinobis-3-etil-benzotiazolina-6-sulfonado), foi formado a partir da reação de soluções aquosas de $7 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ de ABTS e $2,45 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ de persulfato de potássio (1:1), incubada à temperatura ambiente ($25 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$) e na ausência de luz, por 12 – 16 horas. Transcorrido esse tempo, a solução foi diluída em etanol:água 80% (v/v) até obter uma solução com absorvância de $0,700 (\pm 0,05)$, a 734 nm (comprimento de onda de máxima absorção).

Foi realizada a construção de uma curva analítica com o antioxidante padrão (antioxidante sintético: Trolox), nas concentrações de 0 – 200 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$. A reação entre o antioxidante e o radical foi realizada através da homogeneização de 0,5 mL de cada concentração do antioxidante e 3,5 mL da solução do radical em tubos, os quais foram mantidos ao abrigo de luz até estabilização da reação.

Foi construída uma curva de amostra, com pelo menos três diluições sequenciais (de modo a obter, após reação, absorvância na faixa da curva padrão). Uma alíquota de 0,5 mL de cada diluição foi homogeneizada com 3,5 mL da solução do radical e após estabilização da reação a absorvância foi medida. A partir desse dado foi construído um gráfico de amostra: concentração (g de amostra L^{-1}) vs absorvância.

Para determinação da TEAC, foi obtida a absorvância equivalente a $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ($ABS_{100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}}$) da equação da curva padrão do trolox. O valor de $ABS_{100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}}$ foi substituído na equação da reta da curva da amostra, sendo encontrada a massa de amostra (g) equivalente a $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$. Esse dado foi corrigido em $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ equivalente de trolox por grama de amostra (TEAC).

III. RESULTADOS

1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICA

1.1 Umidade, Atividade de água e Higroscopicidade

A Tabela 3.3 resume as características físicas do pó obtido com diferentes concentrações de maltodextrina obtidos por secagem por atomização, a 170 °C.

Tabela 3.3 – Determinação física das amostras em pó, obtidas por secagem por atomização, com diferentes concentrações de Maltodextrina, como coadjuvante de secagem.

Amostra	Umidade (%)	Atividade de água	Higroscopicidade (g/100g)
3% MD	3,84 ± 0,29 a	0,33 ± 0,02 a	24,24 ± 0,81 a
5,5% MD	5,06 ± 1,44 a	0,43 ± 0,09 a	20,34 ± 0,24 b
8% MD	4,06 ± 0,33 a	0,42 ± 0,04 a	16,75 ± 1,27 c

Os valores representam a média de 2 repetições ±desvio padrão. Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Duncan ($\alpha < 0,05$). MD= maltodextrina.

A concentração de maltodextrina não afetou a umidade e a atividade de água das amostras. Porém, à medida que se aumenta o teor de maltodextrina, a higroscopicidade diminui. Isso se deve ao fato de a maltodextrina ser um material com baixa higroscopicidade, confirmando a eficiência de seu uso como agente carreador, no sentido de reduzir a higroscopicidade de produtos secos por atomização (TONON, 2009). Cai & Corke (2000); Rodríguez-Hernández *et al.*(2005) e Tonon (2009) também observaram este efeito sob a higroscopicidade em seus trabalhos com microencapsulação de betacianinas, suco de figo-da-Índia, e suco de açaí, respectivamente.

1.2 Isoterma de adsorção

Tem-se na Tabela 3.4 os resultados dos valores experimentais da umidade de equilíbrio das amostras em pó e suas respectivas atividades de água. Verifica-se que para uma mesma amostra as umidades de equilíbrio (U_e) aumentam com o aumento da atividade de água (a_w) e que, para uma atividade de água constante, entre as diferentes amostras, as umidades de equilíbrio diminuem com o aumento da concentração de maltodextrina, indicando que a amostra em pó torna-se menos higroscópica.

Tabela 3.4 – Valores experimentais da umidade de equilíbrio (U_e) das amostras em pó em função da atividade de água (a_w) submetida.

a_w	Umidade de equilíbrio para cada amostra (U_e)		
	3% MD	5,5% MD	8% MD
0,33	5,92 ± 1,49 a	4,47 ± 2,51 a	4,11 ± 2,59 a
0,53	9,61 ± 0,65 a	7,85 ± 0,06 b	6,55 ± 0,18 c
0,75	19,51 ± 0,52 a	16,90 ± 0,17 b	14,34 ± 0,93 c
0,84	26,93 ± 0,37 a	23,17 ± 0,34 b	21,01 ± 0,11 c
0,97	46,24 ± 1,71 a	41,09 ± 0,68 b	38,84 ± 1,91 b

Os valores representam a média de 2 repetições ±desvio padrão. Médias seguidas pela mesma letra, na linha, não diferem entre si, pelo teste de Duncan ($\alpha < 0,05$). MD = maltodextrina.

Os valores dos parâmetros para os modelos testados ajustados às isotermas de adsorção de umidade das amostras em pó, os coeficientes de determinação (R^2) e os desvios percentuais médios (ϵ_m), estão na Tabela 3.5.

Tabela 3.5 - Parâmetros de ajuste dos modelos das isotermas de adsorção das amostras de antocianinas em pó, coeficientes de determinação (R^2) e desvios percentuais médios (ϵ_m).

Modelo	Amostra	Parâmetros e constantes				
		X_m	C	n	R^2	$ \epsilon_m $
BET	3 % MD	4,96	9,08	19,47	0,9995	0,09
	5,5 % MD	4,34	5,14	19,94	0,9990	0,33
	8 % MD	3,57	5,14	19,94	0,9998	0,04
OSWIN	3 % MD	a	b	R^2	$ \epsilon_m $	
	3 % MD	11,19	0,40	0,9649	12,27	
	5,5 % MD	9,93	0,40	0,9650	15,51	
	8 % MD	8,55	0,43	0,9711	14,41	

Observa-se que o modelo de BET apresenta valores de $R^2 > 0,99$ e os menores valores ϵ_m , sendo esse modelo considerado melhor para prever o comportamento das amostras.

O parâmetro X_m , calculado pela Equação de BET, representa a quantidade de água que está fortemente adsorvida aos sítios específicos na superfície do alimento e é considerado como o valor mais adequado para assegurar sua estabilidade (FENNEMA, 1996). Os valores de X_m obtidos para as amostras em pó variavam entre 3,57 a 4,96%, sendo esse o teor de umidade considerado seguro para conservar a estabilidade do produto desidratado ao armazenamento. Pérez-Alonso *et al.* (2006) e Tonon (2009) determinando a isoterma de maltodextrina 10 DE e suco de açaí com maltodextrina, encontraram X_m de 6,96 – 7,36% e 4,67 – 6,08%, respectivamente, semelhantes ao encontrado no presente trabalho.

Para o modelo de BET, os valores da constante de sorção (C) e o número de camadas moleculares (n) foram de 5,14 – 9,08 e 19,47 – 19,94, respectivamente. Tonon (2009), ao

analisar polpa de açaí em pó, encontrou valores semelhantes para os parâmetros C (3,45) e n (21,47). Já Gomes *et al.* (2002), trabalhando com polpa de acerola em pó, encontraram valores semelhantes para o parâmetro C (3,54), porém valores diferentes para o parâmetro n (8,00).

Na Tabela 3.6, encontram-se os resultados experimentais e teóricos das umidades de equilíbrio das amostras nas diferentes concentrações de maltodextrina, bem como os erros relativos percentuais respectivos para cada modelo e cada a_w .

Tabela 3.6 - Valores experimentais e teóricos da umidade de equilíbrio (%) e erros relativos para as diferentes amostras e modelos.

	a_w	$U_{e_{exp}}$	BET		OSWIN	
			$U_{e_{teo}}$	ε (%)	$U_{e_{teo}}$	ε (%)
3% MD	0,33	5,92	6,02	-1,66	8,99	-51,74
	0,53	9,61	9,59	0,19	12,41	-29,13
	0,75	19,51	19,00	2,59	18,25	6,44
	0,84	26,93	27,40	-1,75	22,72	15,65
	0,97	46,24	46,16	0,18	47,43	-2,57
5,5% MD	0,33	4,47	4,62	-3,27	7,43	-66,21
	0,53	7,85	7,85	-0,01	10,40	-32,46
	0,75	16,90	16,23	4,00	15,56	7,96
	0,84	23,17	23,78	-2,61	19,55	15,65
	0,97	41,09	40,99	0,24	42,12	-2,50
8% MD	0,33	4,10	3,99	2,73	6,28	-53,11
	0,53	6,55	6,78	-3,58	8,98	-37,19
	0,75	14,34	14,10	1,65	13,77	3,94
	0,84	21,01	21,14	-0,64	17,55	16,46
	0,97	38,84	38,82	0,04	39,67	-2,14

Observa-se na Tabela 3.6 que os erros relativos entre os valores observados e preditos pelas Equações de BET e OSWIN variaram de -3,58 % a 4,00 % e -66,21 % a 16,46 % respectivamente, mostrando uma desuniformidade nos erros. Ressalta-se que o modelo de BET apresentou menor variação que o modelo de OSWIN.

Considerando que o modelo de BET, apresentou os melhores ajustes, com coeficientes de determinação (R^2) acima de 0,99 e os desvios médios relativos (ε_m) menores que 10%. Assim, este modelo foi utilizado para a elaboração das curvas de ajuste aos pontos experimentais, que está apresentada na Figura 3.2.

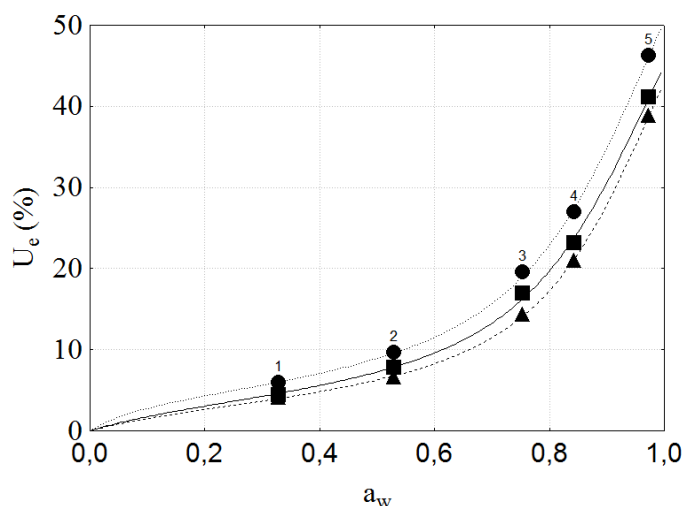


Figura 3.2 – Isoterma de adsorção das amostras em pó, ajustada pelo modelo de BET. 3 % (●●●), 5,5 % (■—) e 8 % (▲—)

As isotermas de adsorção apresentaram uma forma sigmoideal, como a maioria dos alimentos em pó, e verificou-se que não existe grande influência da concentração de maltodextrina no comportamento das umidades de equilíbrio das amostras, mostrando apenas que quanto maior a concentração menor é adsorção de água, ou seja, menos higroscópica é a amostra.

As curvas apresentaram formato tipo III, de acordo com a classificação de Brunauer (BRUNAUER, *et al.* 1938), onde em baixas a_w a amostra absorve água mais lentamente, enquanto que em a_w mais elevadas a adsorção de água cresce exponencialmente. O tipo III é a mais comum e por isso é grande interesse na área de alimentos. Este mesmo comportamento foi observado por Tonon (2009), ao trabalhar com polpa de açaí; Dib Taxi (2001), em suco de camu-camu microencapsulado com maltodextrina e goma arábica; e Barbosa (2010), trabalhando com sucos de frutas e maltodextrina 10 e 20 DE.

1.3 Caracterização morfológica

As Figuras de 3.3 a 3.5 representam as fotografias de algumas amostras de microesferas obtidas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) das partículas de antocianinas microencapsuladas.

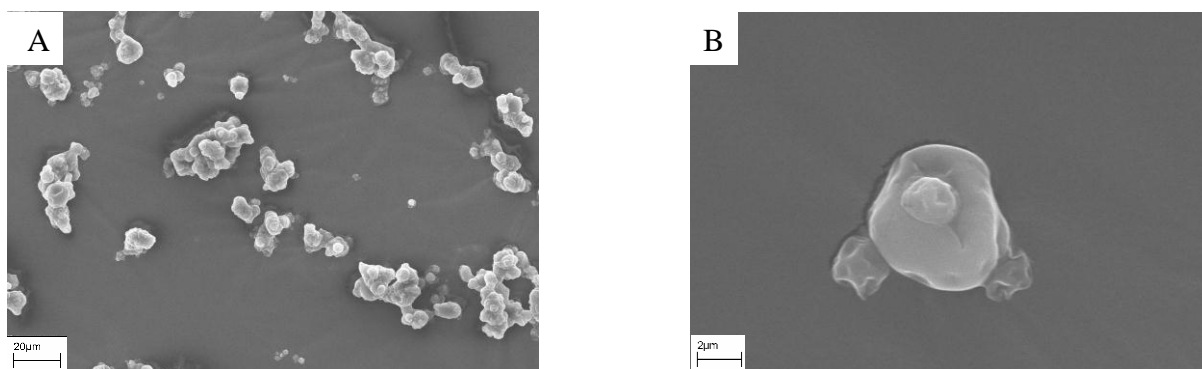


Figura 3.3 – Micrografia eletrônica de varredura (MEV) dos extratos em pó de antocianinas com 3% de maltodextrina, com aumento de 1000 (A) e 10.000(B) vezes.

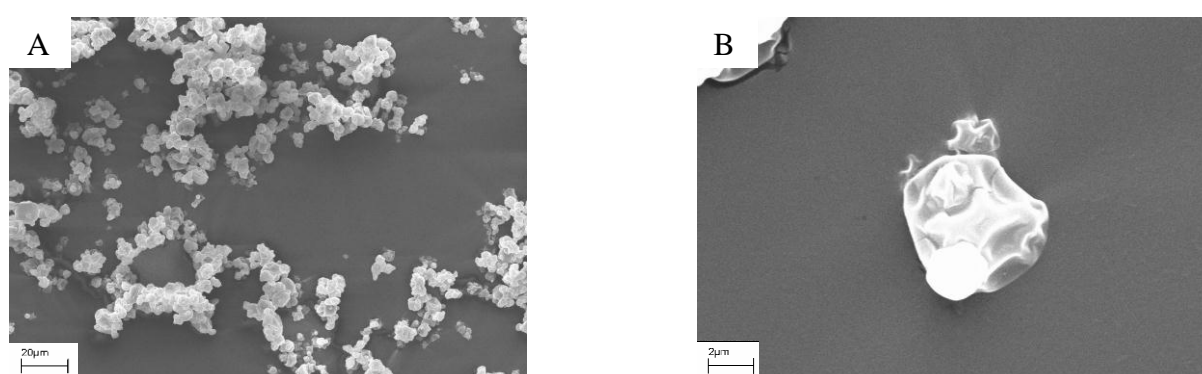


Figura 3.4 – Micrografia eletrônica de varredura (MEV) dos extratos em pó de antocianinas com 5,5% de maltodextrina, com aumento de 1000 (A) e 10.000(B) vezes.

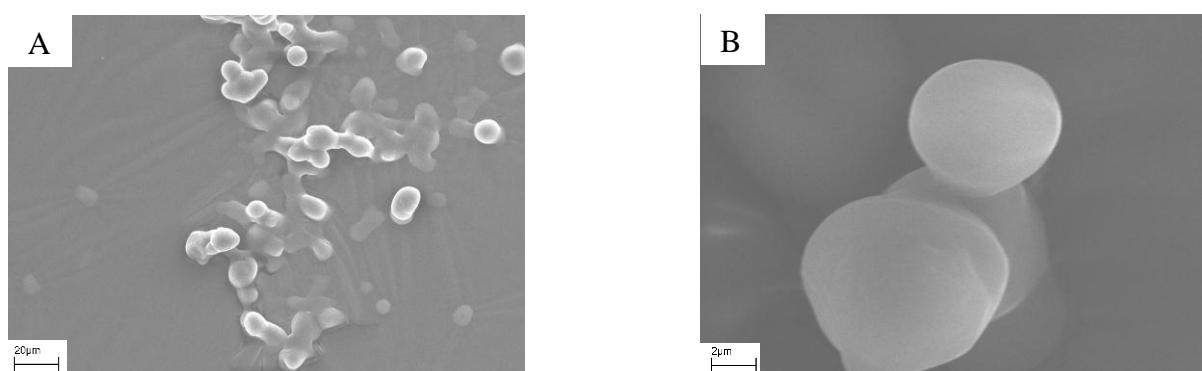


Figura 3.5 – Micrografia eletrônica de varredura (MEV) dos extratos em pó de antocianinas com 8% de maltodextrina, com aumento de 1000 (A) e 10.000 (B) vezes.

De acordo com as Figuras 3.3 a 3.5, as partículas apresentaram formato aproximadamente esférico, característico de materiais produzidos por secagem por atomização. As amostras com menor concentração de maltodextrina (3 e 5,5 %) apresentaram partículas com superfícies predominantemente rugosa, enquanto aquelas com 8 % de maltodextrina apresentam superfície mais lisa. Resultados semelhantes foram obtidos por

Tonon (2009), trabalhando com suco de açaí em pó, empregado maltodextrina e goma arábica, e Righetto (2003), para suco de acerola microencapsulado com maltodextrina 20 DE e goma arábica.

Segundo Thies (2001), as depressões que aparecem nas superfícies são formadas devido à contração das partículas durante a secagem e o resfriamento. Outro fator importante que explica o formato e a característica da estrutura, bem como a extensão das depressões é a natureza do coadjuvante de secagem empregado. Pelos dados apresentado pôde-se observar que a concentração do coadjuvante de secagem influenciou a morfologia das partículas, onde maiores concentrações apresentam superfície menos rugosa.

Segundo Rosenberg, *et al.* (1985), a superfície rugosa das partículas pode representar um efeito indesejável para as propriedades de escoamento dos produtos em pó, de modo que quanto menor o número de depressões, mais fácil é o escoamento. Além disso, as partículas com superfície rugosa apresentam maior superfície de contato do que aquelas com superfície lisa, o que pode torná-las mais susceptíveis a reações de degradação como a oxidação, por exemplo (TONON, 2009). Porém, ao observar o efeito degradativo das antocianinas, a estrutura da partícula parece não ter influenciado, já que as amostras com 5,5 % e 8 % apresentaram efeito protetor no estudo de estabilidade a luz.

2 ESTUDO DA ESTABILIDADE

2.1 Cor

Em um processo degradativo as antocianinas podem sofrer duas mudanças básicas quanto a sua coloração: a cor pode tornar-se gradativamente menos intensa, pela perda de saturação, e/ou mudar de tonalidade, pela formação de compostos de degradação, resultando em cores diferentes da original (CONSTANT, 2003). Assim, é importante considerar tanto as variações de c^* (saturação) quanto de h^* (tonalidade).

As Tabelas 3.7 e 3.8 mostram o resumo da análise de variância (ANOVA) para as coordenadas c^* e h^* , respectivamente.

Tabela 3.7 – Resumo da análise de variância (ANOVA) para determinação da coordenada c^* (saturação).

Fatores	SQ	GL	F	<i>p</i>
Interseção	51220,02**	1	5437,61	< 0.0001
MD	4152,87**	2	220,44	< 0.0001
T	28,76	6	0,509	0,80
C	0,15	1	0,016	0,90
MD x T	8,05	12	0,071	0,99
MD x C	0,80	2	0,042	0,96
T x C	3,58	6	0,063	0,99
MD x T x C	5,69	12	0,050	0,99
Erro Padrão	395,62	42		

MD = concentração de maltodextrina (%), T = Tempo de armazenagem (dias); C = condição de armazenagem (escuro vs luz). SQ = soma quadrática, GL = grau de liberdade. **significativo a $\alpha < 0,05$.

Tabela 3.8 – Resumo da análise de variância (ANOVA) para determinação da coordenada h^* (Tonalidade).

Fatores	SQ	GL	F	<i>p</i>
Interseção	7,900084**	1	5437,61	< 0.0001
MD	0,130230**	2	220,44	$1,95 \times 10^{-4}$
T	0,064653	6	0,51	0,13
C	0,003329	1	0,016	0,47
MD x T	0,097067	12	0,071	0,25
MD x C	0,008050	2	0,042	0,53
T x C	0,022087	6	0,063	0,73
MD x T x C	0,044479	12	0,050	0,83
Erro Padrão	0,259525	42		

MD = concentração de maltodextrina (%), T = Tempo de armazenagem (dias); C = condição de armazenagem (escuro vs luz). SQ = soma quadrática, GL = grau de liberdade. **significativo a $\alpha < 0,05$.

Pela ANOVA observa-se que a concentração de maltodextrina influenciou ($p < 0,05$) a saturação (c^*) e tonalidade (h^*) e que a condição de armazenagem (luz e escuro) e o tempo não apresentaram efeito significativo ($p > 0,05$) sob a saturação e tonalidade das amostras. Como a concentração de maltodextrina foi a única variável que influenciou esses parâmetros, foram construído gráficos que mostram a variação da tonalidade e da saturação sob essa variável (Figura 3.6).

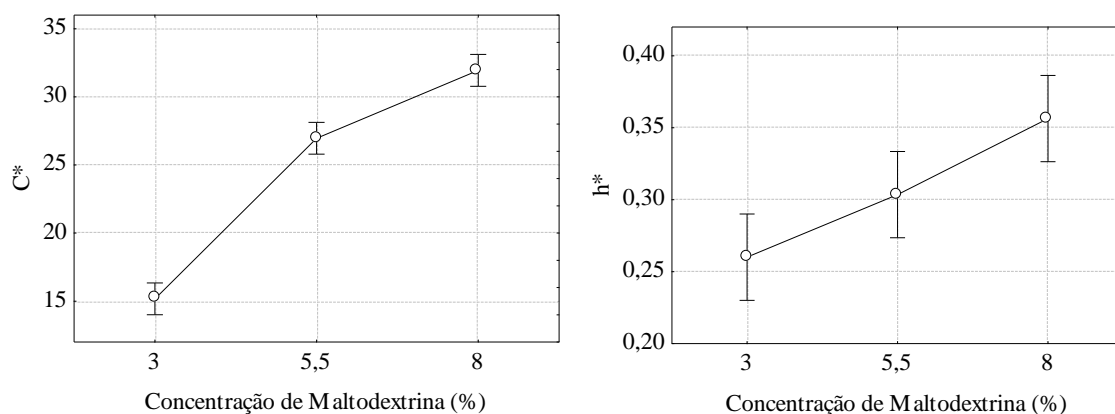


Figura 3.6 – Comportamento de c^* (saturação) e h^* (tonalidade) das amostras em pó, obtidas por secagem por atomização com diferentes concentrações de maltodextrina.

A saturação (c^*) representa a pureza ou intensidade de uma cor particular, a vivacidade ou palidez da mesma, sendo definida pela quantidade de cinza que contém uma cor: quanto mais cinza ou mais neutra for, menos brilhante ou menos "saturada" é a cor. Um maior valor de c^* indica uma maior pureza ou intensidade da cor. Diferente do que se esperava e do que se observou ao comparar esses dados com a Figura 3.6a, onde a amostra com menor teor de maltodextrina apresentou menor saturação, que indicou uma menor intensidade da cor, diferente do que se obteve pela análise visual da Figura 3.7.

A tonalidade (ângulo h^*) traduz a cor propriamente dita, e como os valores dessa coordenada estão próximos ao eixo (0°), pôde-se afirmar que a coloração das amostras apresentou coloração vermelha, e como o tempo foi não significativo as amostras apresentaram coloração vermelha ao longo de toda estocagem. Quanto menor o ângulo h^* , mais próxima do eixo a^+ se encontra a amostra, e pode-se observar pela análise das Figuras 3.6b e 3.7 que a amostras com menor concentração de maltodextrina apresentou cor vermelha mais intensa e menores valores de h^* .

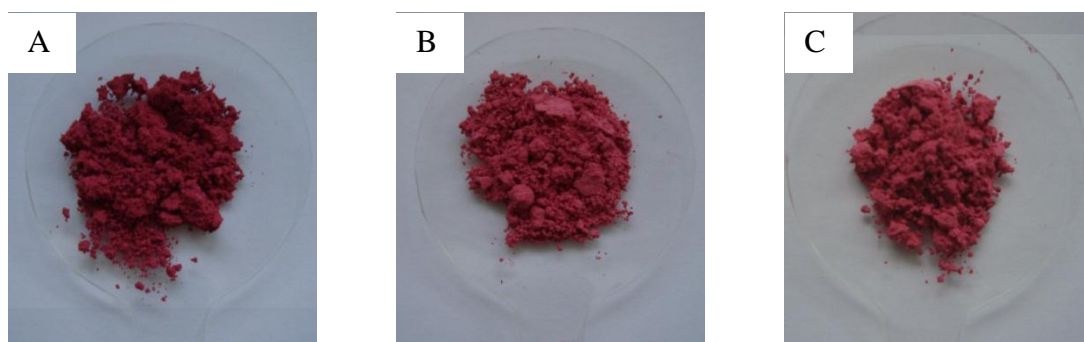


Figura 3.7 – Amostras com 3% (A), 5,5% (B) e 8% (C) de maltodextrina.

Outro parâmetro importante é a diferença global de cor, e o resultado da ANOVA para essa variável se encontra na Tabela 3.9.

Tabela 3.9 – Resumo da análise de variância (ANOVA) para determinação da diferença global de cor (ΔE^*).

Fatores	SQ	GL	F	P
Interseção	259,13**	1	132,53	$1,42 \times 10^{-14}$
MD	69,15**	2	17,68	$2,68 \times 10^{-6}$
T	70,29**	6	5,99	$1,37 \times 10^{-4}$
C	54,67**	1	27,96	$4,16 \times 10^{-6}$
MD x T	28,91	12	1,23	0,29
MD x C	67,17**	2	17,18	$3,54 \times 10^{-6}$
T x C	30,38**	6	2,59	0,032
MD x T x C	37,18	12	1,59	0,13
Erro Padrão	82,12	42		

MD = concentração de maltodextrina (%), T = Tempo de armazenagem (dias); C = condição de armazenagem (escuro vs luz). SQ = soma quadrática, GL = grau de liberdade. **significativo a $p < 0,05$.

Observa-se que a diferença global de cor foi afetada significativamente ($p < 0,05$) por todas as variáveis estudadas, sendo também influenciada pela interação entre a condição de armazenagem com o tempo e com a concentração de maltodextrina. Como obtivemos interações significativas, foi mantido uma das variáveis constante (condição de armazenagem) e um gráfico comparando as demais variáveis foi construído. A Figura 3.8 apresenta a diferença global de cor (ΔE^*) nas diferentes concentrações de maltodextrina ao longo do tempo de armazenagem, para cada condição de armazenagem (luz vs escuro).

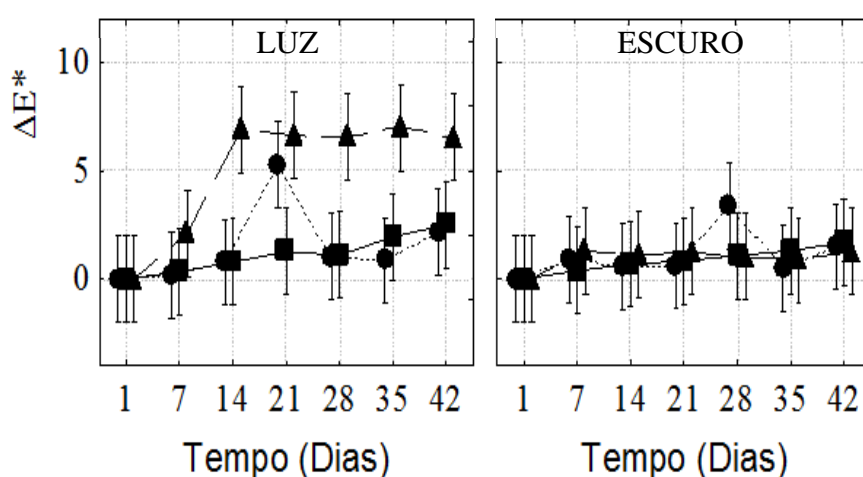


Figura 3.8 – Comportamento de ΔE^* (Diferença global de cor) das amostras em pó, obtidas por secagem por atomização com diferentes concentrações de maltodextrina, ao longo do tempo de armazenagem. 3% (●...), 5,5% (■—) e 8% (▲--)

Valores de ΔE^* acima de 20 indicam que a degradação das antocianinas tem influência na percepção visual da cor (GONNET, 1998). Pela Figura 3.8 observa-se que o ΔE^* de todas as amostras estão abaixo de 10, sendo assim não houve mudança de cor perceptível ao longo da estocagem. Nota-se que a amostras que apresentou maior variação ao longo da armazenagem foi a que possuía 8 % de maltodextrina sob incidência da luz.

2.2 Antocianinas

A Tabela 3.10 mostra a constante de degradação (k_d), a meia-vida ($t_{1/2}$) e porcentagem de antocianinas perdida durante 42 dias de estocagem com e sem incidência de luz.

Tabela 3.10 – Valores de constante de degradação (K_d), tempo de meia-vida ($t_{1/2}$) e antocianina perdida (%) ao longo de 1080 h de armazenagem das amostras em pó, obtidas por secagem por atomização, com diferentes concentrações de maltodextrina, como coadjuvante de secagem.

Amostra	Condição de armazenagem	K_d	Meia-vida	% perdida
3 % MD	ESC	$1,1 \times 10^{-4} \pm 1,1 \times 10^{-6}$ b	$6033,59 \pm 83,06$ a	$11,78 \pm 1,52$ a
5,5 % MD	ESC	$1,7 \times 10^{-4} \pm 9,1 \times 10^{-6}$ a,b	$3995,01 \pm 210,03$ b	$12,91 \pm 3,13$ a
8 % MD	ESC	$1,8 \times 10^{-4} \pm 2,0 \times 10^{-5}$ a,b	$3968,36 \pm 440,30$ b	$15,76 \pm 1,10$ a
3 % MD	LUZ	$1,9 \times 10^{-4} \pm 3,1 \times 10^{-5}$ a	$3708,22 \pm 606,05$ b	$18,17 \pm 0,37$ a
5,5 % MD	LUZ	$1,8 \times 10^{-4} \pm 2,9 \times 10^{-5}$ a,b	$3904,62 \pm 634,70$ b	$13,93 \pm 3,66$ a
8 % MD	LUZ	$2,2 \times 10^{-4} \pm 4,9 \times 10^{-5}$ a	$3164,30 \pm 696,81$ b	$18,61 \pm 4,17$ a

MD = maltodextrina; ESC= escuro; *Os valores representam a média de 2 repetições \pm desvio padrão. Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Duncan ($\alpha < 0,05$).

Nas amostras em pó de antocianinas submetidas a luz e escuro não se observou perda significativa do pigmento ao longo dos 42 dias (1080 h) de análises, apresentando perda média de 15,19%. A velocidade de degradação, entre as condições luz e escuro, foi significativamente diferentes ($p < 0,05$) apenas para as amostras com 3 % de maltodextrina. Este resultado mostra que essa concentração não foi suficiente para proteger o pigmento da incidência de luz, evidenciando uma menor meia-vida desse material ao ser estocado na luz. As demais concentrações de maltodextrina mostraram-se eficiente na proteção do pigmento, sendo a meia-vida do pigmento (entre luz e escuro) não significativamente diferente ($p < 0,05$). A diferença da meia-vida da amostra com 3 % de maltodextrina, no escuro, ter sido superior as demais pode está relacionada ao efeito protetor das antocianinas, quando estas se encontram em concentrações mais elevadas.

2.3 Atividade Antioxidante

A Tabela 3.11 mostra o resumo da análise de variância para atividade antioxidante no experimento de estabilidade.

Tabela 3.11 – Resumo da análise de variância (ANOVA) para determinação da atividade antioxidante.

Fatores	SQ	GL	F	<i>p</i>
Interseção	1013589*	1	6083,14	< 0.0001
MD	22799*	2	68,41	< 0.0001
T	115677*	6	115,71	< 0.0001
C	672	1	4,03	0,05
MD x T	34606*	12	17,31	< 0.0001
MD x C	1527	2	4,58	0,016
T x C	1241	6	1,24	0,31
MD x T x C	1978	12	0,99	0,47
Erro Padrão	6998	42		

MD = concentração de maltodextrina (%), T = Tempo de armazenagem (dias); C = condição de armazenagem (escuro vs luz). SQ = soma quadrática, GL = grau de liberdade. *significativo a $p < 0,01$.

Pela ANOVA observa-se que os fatores tempo e concentração de maltodextrina, bem como a interação entre esses fatores, foram significativos a probabilidade de 1%. A condição de armazenagem, ou seja, a incidência ou não de luz, não apresentou efeito significativo ($p < 0,01$) sob a atividade antioxidante das amostras. Como a condição de armazenagem foi não significativa ($p < 0,01$), será mostrado o gráfico da atividade antioxidante ao longo do tempo, independente da armazenagem.

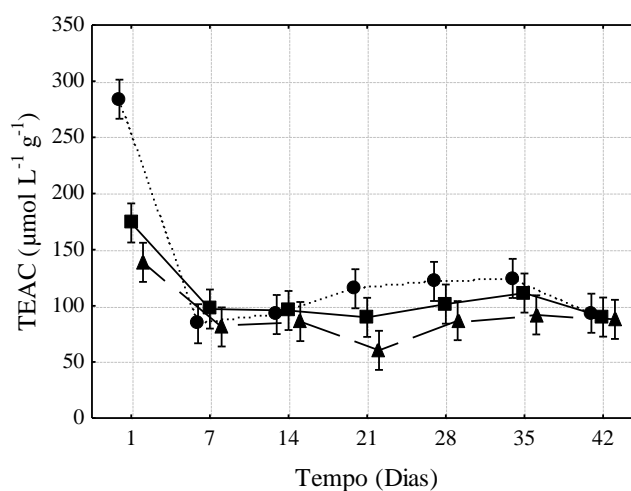


Figura 3.9 – Comportamento da capacidade antioxidante equivalente ao trolox (TEAC) ao longo do tempo. 3% (●●●), 5,5% (■—) e 8% (▲—)

Pelo comportamento do gráfico (Figura 3.9), pode-se comprovar que a atividade antioxidante inicial foi influenciada pela concentração de maltodextrina, mostrando que a menor concentração de maltodextrina resultou em maiores valores de atividade antioxidante, isso se deve ao fato de que na amostra com maior concentração de agente carreador se tem um efeito “diluído” do pigmento de antocianina.

Apesar das amostras apresentarem ao final o mesmo teor de atividade antioxidante, uma queda inicial mais drástica é observada quanto se emprega menor concentração de maltodextrina. As amostras com 3, 5,5 e 8% de maltodextrina apresentaram respectivamente, ao final da estocagem, uma redução de 67,12 %, 48,24 % e 36,63 % da atividade antioxidante inicial.

Silva *et al.* (2010), ao trabalhar com antocianina de jabuticaba encapsulada com 30% de maltodextrina, encontraram efeito significativo da armazenagem durante 21 dias, encontrando uma redução de atividade antioxidante superior a 80% para as amostras sob incidência de luz e 17% de redução para as amostras no escuro, diferente do encontrado nesse trabalho.

Os resultados com incidência de luz, no presente trabalho se comportou melhor que os relatados por Silva *et al.* (2010), pois obtiveram uma menor redução ao longo de uma maior armazenagem sob incidência de luz, mesmo tendo um menor teor de maltodextrina. Esse resultado mostra que uma quantidade menor de maltodextrina promove um mesmo efeito sob a luz. Porém ao escuro, a redução observada no presente trabalho foi maior que o relatado por Silva *et al.* (2010), mostrando que o teor de maltodextrina e/ou outros fatores não controlado no experimento (como oxigênio, umidade relativa, etc.) possam ter influenciado a estabilidade do pigmento.

IV. CONCLUSÃO

Todas as amostras apresentaram teores de umidade e atividade de água próximos entre si. A higroscopicidade foi afetada pela concentração de maltodextrina, onde amostras com maior teor de maltodextrina apresentou menor higroscopicidade. As partículas apresentaram formato esférico, onde menores concentrações de maltodextrina apresentaram superfícies predominantemente rugosas e as amostras com 8 % de maltodextrina apresentaram superfície mais lisa. Apesar da diferença global de cor ter sido influenciada por vários fatores, ela

apresentou $\Delta E^* < 10$, indicando que a diferença encontrada não é perceptível visualmente. A concentração de maltodextrina e o tempo apresentaram efeito significativo sobre a atividade antioxidante, e a luz não apresentou influência na redução da atividade antioxidante.

Com esses resultados pôde-se concluir que a concentração de maltodextrina acima de 5,5 % é considerada ideal para proteger o pigmento antocianico da incidência de luz, mantendo-se o teor de antocianinas, o potencial antioxidante e a cor.

V. REFERÊNCIAS

AOAC – **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists:** edited Ig W. Horwitz 16^a ed. Washington, 2, 850, 1997.

BABORSA, S. J. **Qualidade de suco em pó de mistura de frutas obtido por *Spray Drying*.** 2010. 107f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal), Universidade Estadual de Montes Claros, Janaúba, 2010.

BARROS, F. A. R.; STRINGHETA, P. C. Microencapsulamento de antocianinas: Uma alternativa para o aumento de sua aplicabilidade como ingrediente alimentício. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, 36, 18-24, 2006.

BRUNAUER, S.; EMMETT, P. H.; TELLER, E. Adsorption of gases in multimolecular layer. **Journal of the American Chemists' Society**, 60, 309-319, 1938.

CAI, Y. Z.; CORKE, H. Production and properties of spray-dried *Amaranthus* betacyanin pigments, **Journal of Food Science**, 65, 1248–1252, 2000.

CONSTANT, P. B. L. **Extração, caracterização e aplicação de antocianinas de açaí (*Euterpe oleracea*, M.).** 2003. 186 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2003.

DEL POZO-INSFRAN, D.; BRENES, C. H.; TALCOTT, S. T. Phytochemical composition and pigment stability of açaí (*Euterpe oleraceae* Mart.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 52, 1539-1545, 2004.

DIB TAXI, C. M. A. **Suco de camu-camu (*Myrciariadubia*) microencapsulado obtido através de secagem por atomização.** 2001. 166p. Tese (Doutorado em Tecnologia de

Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2001.

FENNEMA, O. R. Water and ice. In: FENNEMA, O.R. (Ed.). **Food Chemistry**. New York, Marcel Dekker, 1996.

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

GOMES, P. M. A.; FIGUEIRÊDO, R. M. F. de; QUEIROZ, A. J. de M.. Caracterização e Isotermas de Adsorção de Umidade da Polpa de Acerola em pó. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, 4, 157-165, 2002.

GONNET, J. F. Color effects of co-pigmentation of anthocyanins revisited. 1: a colorimetric definition using the CIELAB scale. **Food Chemistry**, 63, 409-415, 1998.

KONG, J. M.; CHIA, L. S.; GOH, N. K.; CHIA, T. F.; BROUILLARD, R. Review. Analysis and biological activities of anthocyanins. **Phytochemistry**, 64, 923-933, 2003.

LEES, D. H.; FRANCIS, F. G. Standardization of pigment analysis in cranberries. **Hortscience**, 7, 83-84, 1972.

OSWIN, C. R. The kinetics of package life: III isotherm. **Journal of the Society Chemical Industry**, 65, 419-421, 1946.

PENG, G.; CHEN, X.; WU, W.; JIANG, X. Modeling of water sorption isotherm for corn starch. **Journal of Food Engineering**, 80, 562-567, 2007.

PÉREZ-ALONSO, C.; BERISTAIN, C.I.; LOBATO-CALLEROS, C.; RODRIGUEZHUEZO, M.E.; VERNON-CARTER, E.J. Thermodynamic analysis of the sorption isotherms of pure and blended carbohydrate polymers. **Journal of Food Engineering**, 77, 753-760, 2006.

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

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 & Medicine**, 26, 1231-1237, 1999.

RIGHETTO, A.M. **Caracterização físico-química e estabilidade de suco de acerola verde microencapsulado por atomização e liofilização**. 2003. 178p. Tese (Doutorado em Ciência e Nutrição) Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2003

RODRÍGUEZ-HERNÁNDEZ, G.R.; GONZÁLEZ-GARCÍA, R.; GRAJALES-LAGUNES, A.; RUIZ-CABRERA, M.A. Spray-drying of cactus pear juice (*Opuntia streptacantha*): Effect on the physicochemical properties of powder and reconstituted product. **Drying Technology**, 23, 955-973, 2005.

ROSENBERG, M.; KOPELMAN, I.; TALMON, Y. A scanning electron microscopy study of microencapsulation. **Journal of Food Science**, 50, 139-144, 1985.

ROSSI, J. S.; ROA, G. **Secagem e armazenamento de produtos agropecuários com uso de energia solar e ar natural**. Academia de ciências do Estado de São Paulo: n. 22. 296p. 1980

RUFINO, M. do S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S. DE; MORAIS, SELENE M. de; SAMPAIO, C. de G.; Pérez-Jiménez, J.; Saura-Calixto, F. D.. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre ABTS^{•+}. **Comunicado Técnico online**. ISSN 1679-6535, 2007.

SAS, **Statistical Analysis System** (SAS[®]), SAS software versão 9.1, Cary, 2006. 176p.

SILVA, G. J. F.; CONSTANT, P. B. L.; FIGUEIREDO, R. W.; MOURA, S. M. Formulação e estabilidade de corantes de antocianinas extraídas das cascas de jabuticaba (*Myrciaria spp.*). **Alimentos e nutrição**, 21, 429-436, 2010.

STATSOFT. **Statistica**: Data Analysis Software System. Version 7.0. 2004.

TAYLOR, A. A. Determination of moisture equilibrium in dehydrated foods. **Food Technology**. 15, 536 – 540, 1961.

TEIXEIRA, L. N.; STRINGHETA, P. C.; OLIVEIRA, F. A. de. Comparação de métodos para quantificação de antocianinas. **Revista Ceres**, 55, 297-304, 2008.

TEIXEIRA, M. C. B. **Determinação das curvas de equilíbrio higroscópico, da entalpia de adsorção e do teor de umidade da monocamada de leite em pó desnatado**. 1983. 62 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1983.

THIES, C. Microencapsulation: what it is and purpose. In: VILSTRUP, P. **Microencapsulation of food ingredients**. Surrey: Leatherhead Publishing, 2001, p.1-30.

TONON, R. V. **Secagem por atomização do suco de açaí: Influência das variáveis de processo, qualidade e estabilidade do produto**. 2009. 242 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos). Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2009.

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

CONCLUSÃO GERAL

As avaliações realizadas nas inflorescências de capim-gordura indicaram que os teores de antocianinas são superiores ao de fontes comerciais e que o pigmento se encontra presente nas células epidérmicas das glumas e do lema aristado.

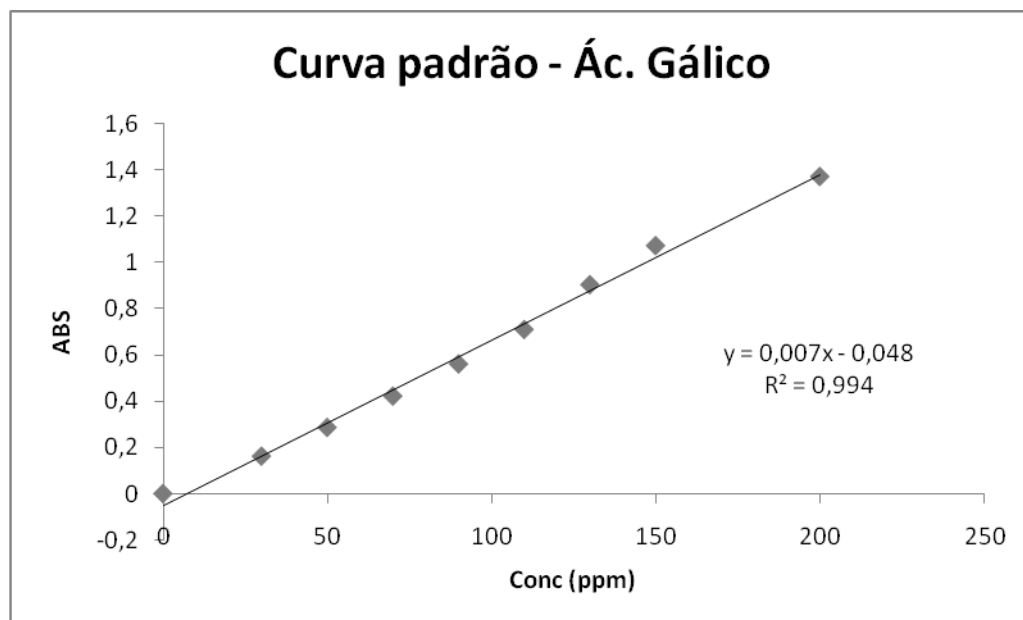
O sistema de extração foi um fator decisivo para a extração dos compostos antioxidantes da inflorescência do capim-gordura. O etanol 70% foi o solvente preferido por ser potencialmente menos tóxico e ter apresentado boa eficiência de extração. A atividade antioxidante não foi influenciada pelo sistema de extração.

Na etapa de secagem por atomização, a temperatura exerceu influência significativa apenas sobre algumas respostas estudadas e a concentração de maltodextrina apresentou influência significativa sobre todas as respostas: o aumento da concentração de maltodextrina resultou em maiores valores dos parâmetros de cor e menores valores das demais respostas (higroscopicidade, atividade de água, retenção de antocianinas e todos os métodos da atividade antioxidantes). A melhor condição de secagem foi obtida pela combinação de 5,5 % de maltodextrina e 170 °C de temperatura do ar de secagem.

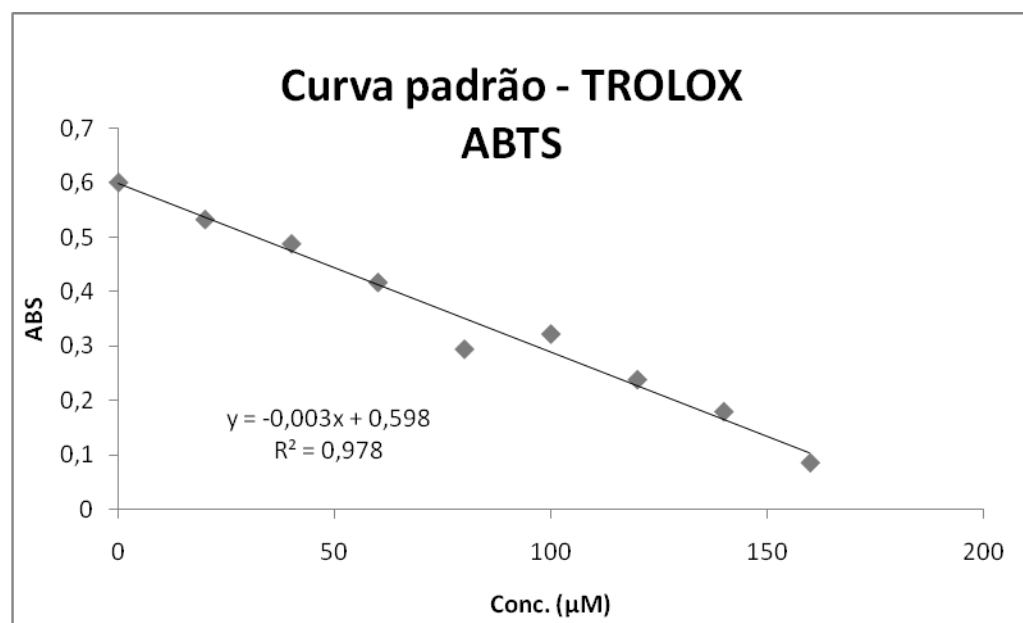
O estudo de estabilidade mostrou que uma concentração de maltodextrina acima de 5,5% é considerada ideal para proteger o pigmento antociânico da incidência de luz, mantendo-se o teor de antocianinas, o potencial antioxidante e a cor.

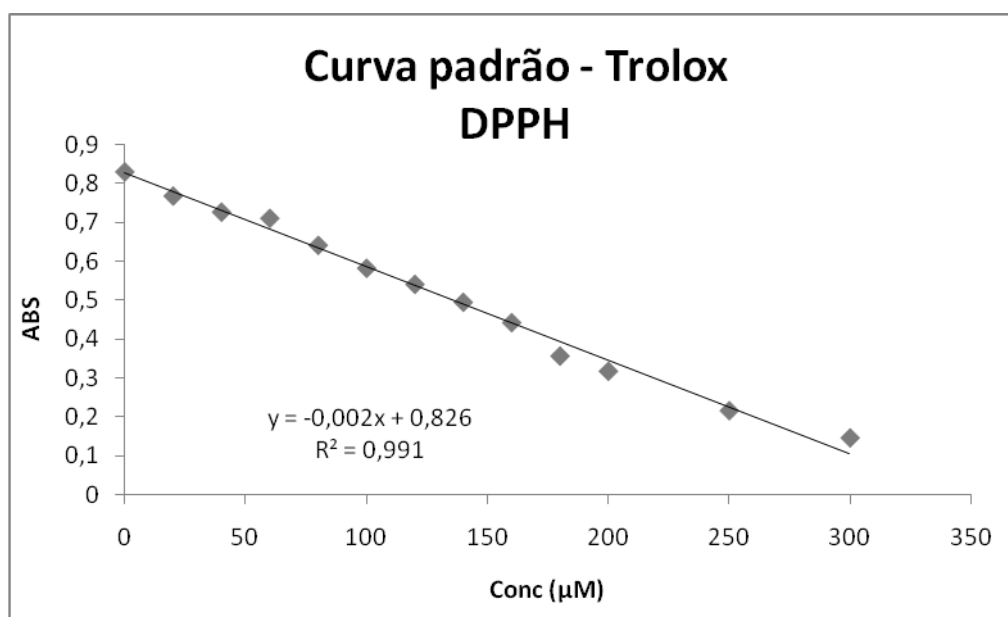
APÊNDICE

APÊNDICE A – CURVA PADRÃO DE ÁCIDO GÁLICO

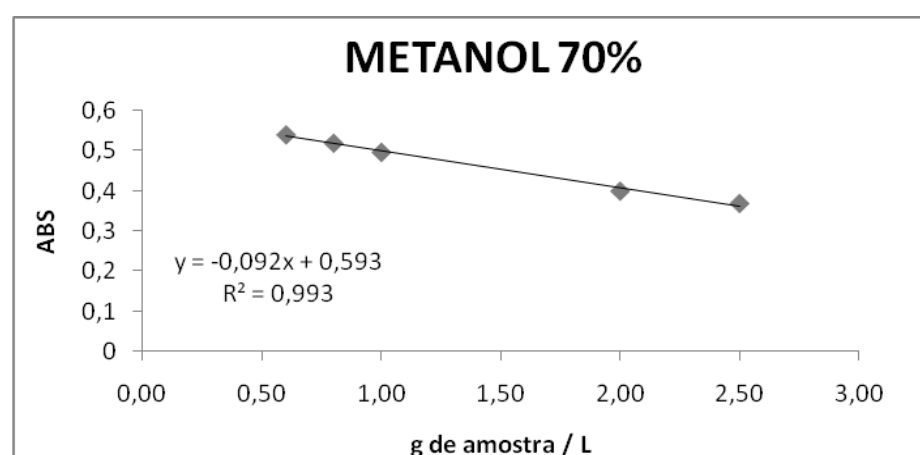
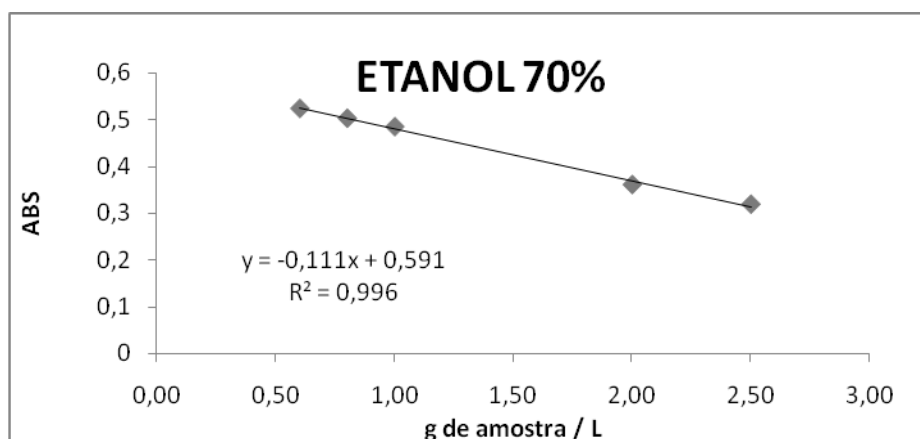
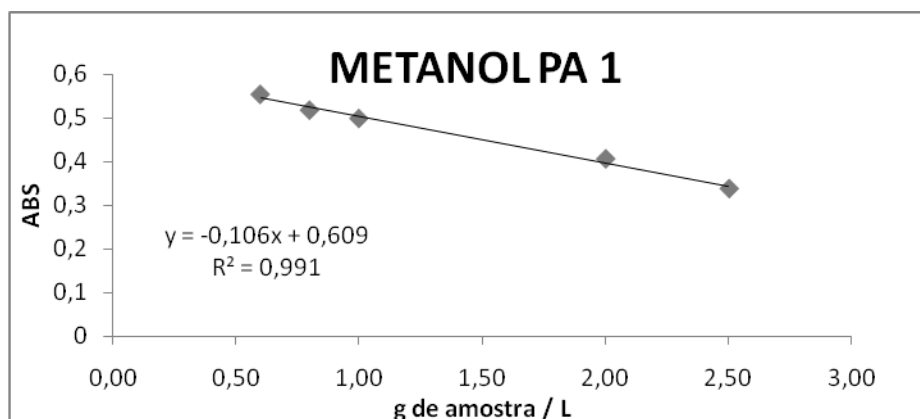


APÊNDICE B – Curva padrão do trolox para o radical ABTS

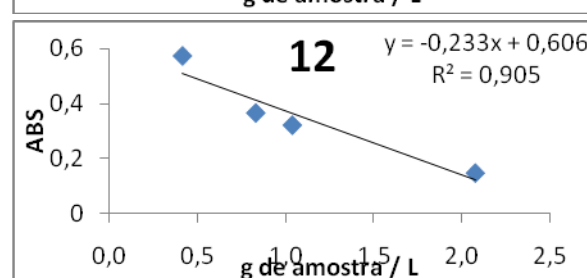
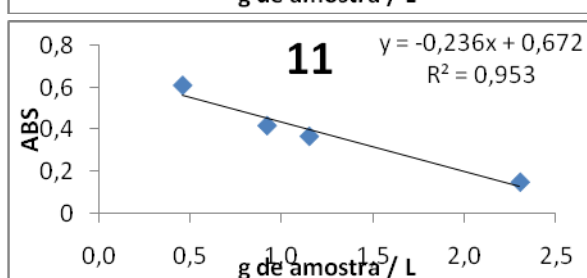
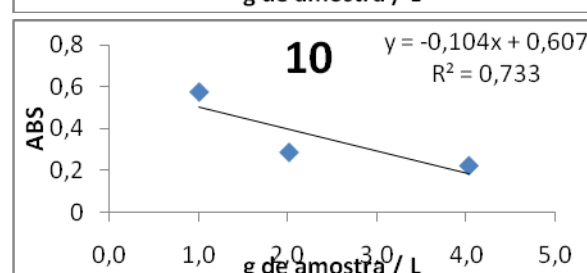
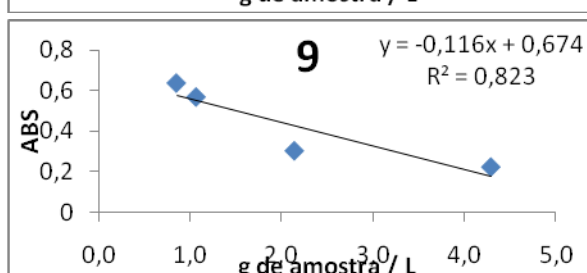
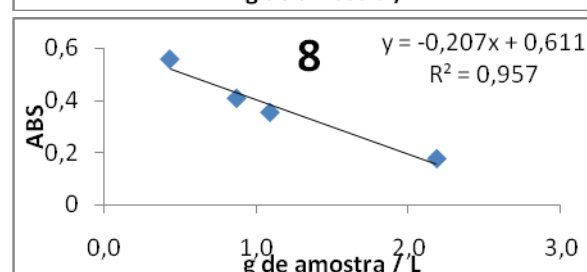
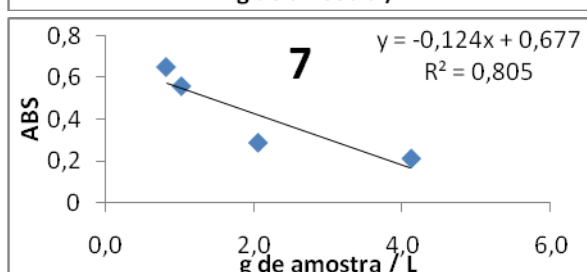
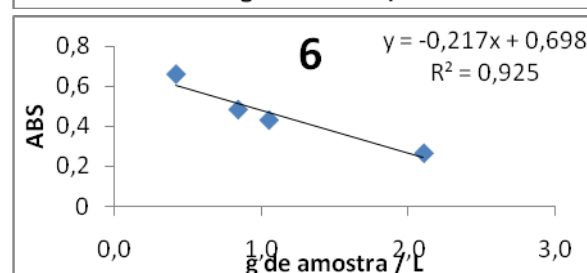
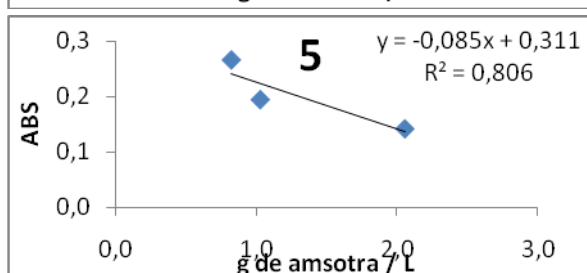
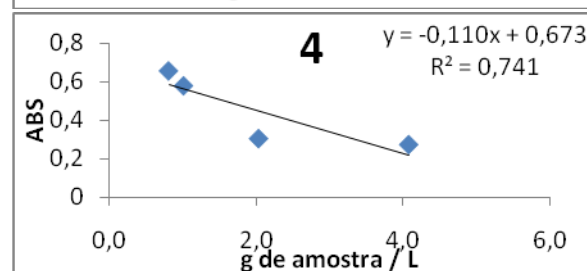
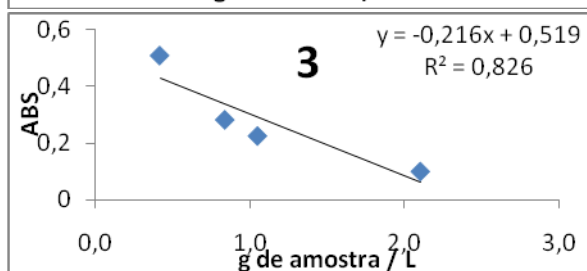
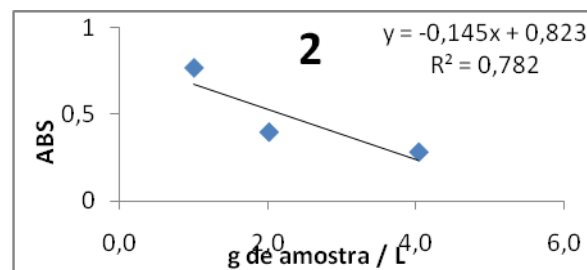
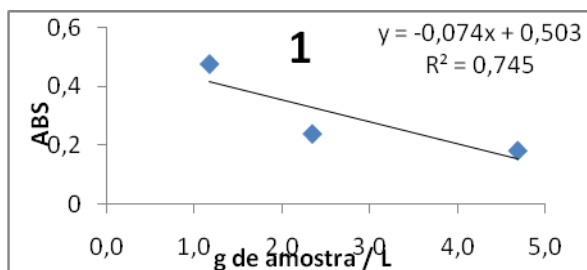


APÊNDICE C – Curva padrão do trolox para o radical DPPH

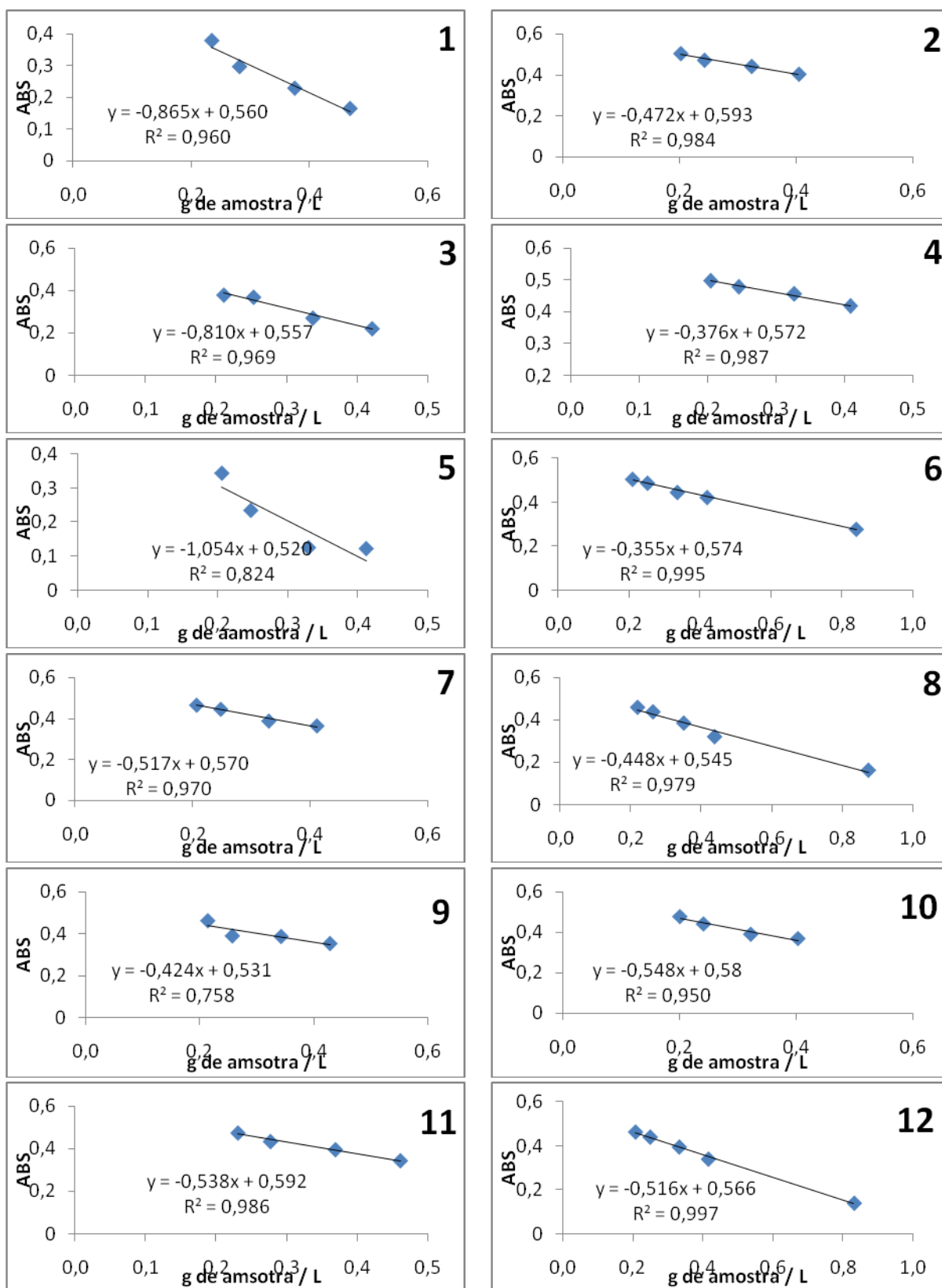
APÊNDICE D – Curva padrão dos extratos para determinação da atividade antioxidante com o radical ABTS


















APÊNDICE E – Curva padrão das amostras em pó para determinação da atividade antioxidante com o radical DPPH



APÊNDICE F – Curva padrão das amostras em pó para determinação da atividade antioxidante com o radical ABTS



APENDICE G – Amostras em pó com diferentes concentrações de maltodextrina armazenadas em diferentes umidades relativas, a 25 °C.

a_w	3% de MD	5,5% de MD	8% de MD
0,33			
0,53			
0,75			
0,84			
0,97			

a_w – atividade de água; MD – Maltodextrina