



UNIVERSIDADE  
ESTADUAL DE LONDRINA

---

BRUNA RAQUEL BÖGER

**EXTRAÇÃO DE ÓLEO DE SEMENTES DE UVA POR  
ULTRASSOM E MICROENCAPSULAÇÃO POR *SPRAY*  
*DRYING***

---

Londrina  
2016

BRUNA RAQUEL BÖGER

**EXTRAÇÃO DE ÓLEO DE SEMENTES DE UVA POR  
ULTRASSOM E MICROENCAPSULAÇÃO POR *SPRAY*  
*DRYING***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, nível Mestrado, da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência de Alimentos.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Louise Emy  
Kurozawa

Co-orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Sandra Regina  
Georgetti

Londrina  
2016

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

Böger, Bruna Raquel.

Extração de óleo de sementes de uva e microencapsulação por spray drying / Bruna Raquel Böger. - Londrina, 2016.  
129 f. : il.

Orientador: Louise Emy Kurozawa.

Coorientador: Sandra Regina Georgetti.

Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, 2016.  
Inclui bibliografia.

1. Sonicação - Teses. 2. Antioxidantes - Teses. 3. Oxidação lípidica - Teses. 4. Atomização - Teses. I. Kurozawa, Louise Emy. II. Georgetti, Sandra Regina. III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos. IV. Título.

BRUNA RAQUEL BÖGER

**EXTRAÇÃO DE ÓLEO DE SEMENTES DE UVA POR ULTRASSOM E  
MICROENCAPSULAÇÃO POR *SPRAY DRYING***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, nível Mestrado, da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência de Alimentos

**BANCA EXAMINADORA**

---

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Louise Emy Kurozawa  
Universidade Estadual de Londrina - UEL

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Marcela Maria Baracat  
Universidade Estadual de Londrina - UEL

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Marly Sayuri Katsuda  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná –  
UTFPR

Londrina, 04 de Maio de 2016.

Dedico este trabalho aos meus amados pais Davi e Neiva, ao meu irmão Deividy e ao meu noivo Vagner, por todo amor e apoio.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço em primeiro lugar a Deus pela vida e por abençoar meu caminho até aqui, me permitindo alcançar essa conquista e me confortando em momentos difíceis.

Aos meus queridos pais Davi e Neiva, pelo exemplo, amor incondicional, dedicação, compreensão e incentivo, e que mesmo distantes se fazem presentes, a vocês devo tudo o que sou.

Ao meu irmão Deividy, por toda a amizade e companherismo.

Ao meu noivo Wagner por toda paciência, amor, compreensão e apoio.

A minha orientadora professora Dr<sup>a</sup>. Louise Emy Kurozawa pela orientação e por todo fornecimento de ensinamento, compreensão, paciência, atenção, esclarecimentos, sugestões e amizade.

A minha co-orientadora professora Dr<sup>a</sup>. Sandra Regina Georgetti por todo auxílio, colaboração, paciência, atenção e amizade.

Ao professor Dr. Fábio Yamashita, pelo ensinamento e colaboração na realização da análise estatística.

A Aroldo Salviato e Daniel Valezi pelo auxílio na análise de ressonância paramagnética.

A professora Ana Paula Bracarens pela liberação do uso do microscópio ótico e ao aluno Victor Marutani pelo auxílio durante a análise de diâmetro médio das emulsões.

A Osvaldo pelo auxílio na análise de microscopia eletrônica de varredura.

Ao departamento de Engenharia de Alimentos da Faculdade de Engenharia de Alimentos/Unicamp pelo auxílio na análise de diâmetro médio das microesferas.

A banca por aceitar avaliar este trabalho.

A Coaviti pela doação dos bagaços de uvas.

Ao departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, por todo auxílio.

A Capes, pelo auxílio financeiro e concessão da bolsa.

A todos os professores do departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos pelo conhecimento repassado.

Aos meus “irmãos científicos” Ariana, Dafne e Rodolfo pela amizade, companherismo, conselhos, auxílio nas análises e por todos os momentos compartilhados.

A todos que me ajudaram na separação das sementes de uvas do bagaço, sem vocês demoraria meses.

A todos os amigos que tive o prazer de conhecer durante o curso trocando conhecimento e compartilhando momentos inesquecíveis.

Aos meus amigos que mesmo distantes se fazem presentes, pelos momentos de amizade, compreensão e apoio.

A todos aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram para a execução e conclusão deste trabalho.

Muito Obrigada!

*“O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis” (José de Alencar).*

BÖGER, Bruna Raquel. **Extração de óleo de sementes de uva por ultrassom e microencapsulação por *spray drying***. 2016. 129f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2016.

## RESUMO

A extração de óleo das sementes de uva é uma alternativa para utilização de subprodutos, podendo ser utilizado na indústria alimentícia, farmacêutica e de cosméticos. O objetivo deste trabalho foi otimizar a extração de óleo de sementes de uva assistida por ultrassom (EAU), investigar a qualidade do óleo extraído e microencapsular o óleo por *spray drying* com goma arábica (GA) e maltodextrina (MD) e avaliar a qualidade dos pós. Foi utilizado um delineamento composto central rotacional (DCCR) para avaliar o efeito das variáveis temperatura (15 a 35°C) e amplitude da onda ultrassônica (24 a 96 µm) sobre o rendimento do processo (%) e conteúdo de radicais livres (radicais livres/g óleo) do óleo extraído e estocado por 1,7 e 30 dias. A condição ótima encontrada foi 15°C e 42 µm, obtendo 82,9% de rendimento e conteúdo de radicais livres de  $14,7 \times 10^{14}/g$  e  $3,4 \times 10^{15}/g$  no óleo com 7 e 30 dias, respectivamente. O óleo obtido na condição otimizada não apresentou diferença na composição de ácidos graxos e nos índices de acidez e no índice de iodo apresentou diferença apenas com 30 dias de incubação em relação ao óleo extraído sem aplicação do ultrassom; entretanto, apresentou maior conteúdo de radicais livres e índice de peróxido. O óleo obtido por EAU apresentou menor atividade antioxidante pelo método DPPH, porém maior quantidade de compostos fenólicos e maior atividade antioxidante pelo método FRAP. Estes resultados indicam que a EAU resultou em maior rendimento de extração do óleo, obtendo um óleo considerado de boa qualidade. Em relação às microesferas, o material de parede utilizado não influenciou o diâmetro médio, *span*, densidade aparente, óleo total, e retenção de óleo. O perfil dos ácidos graxos no óleo antes e após a microencapsulação não apresentou diferença, independente do material de parede utilizado. Embora a microesfera produzida com GA/MD tenha apresentado maior teor de óleo superficial, este resultado não afetou a eficiência de encapsulação, e apresentou ainda a maior atividade antioxidante pelo método FRAP e menor índice de peróxidos do que a microesfera com GA. Por outro lado, o conteúdo de compostos fenólicos e atividade antioxidante pelo método DPPH diminuíram ao ser comparado com o óleo puro, e a microesfera com GA apresentou o maior conteúdo de compostos fenólicos do que a microesfera com GA/MD. O índice de peróxido nos óleos encapsulados teve um aumento ao ser comparado com o óleo puro, indicando que a alta temperatura utilizada no processo de atomização pode ter aumentado e/ou favorecido o processo oxidativo do óleo e que mais estudos são necessários para otimizar a microencapsulação do óleo de sementes de uva.

**Palavras-chave:** *Vitis* spp. Sonicação. Secagem por atomização. Atividade antioxidante. Ácidos graxos. Compostos fenólicos. Oxidação lipídica. Eficiência de encapsulação.

BÖGER, Bruna Raquel. **Grape seed oil extraction by ultrasound and microencapsulation by spray drying**. 2016. 129p. Dissertation (Masters In Food Science) - State University Of Londrina, Londrina, 2016.

## ABSTRACT

The oil extraction from grape seeds is an alternative to use of byproducts that can be used in the food industry, pharmaceuticals and cosmetics. The objective of this study was to optimize the grape seeds oil extraction assisted by ultrasound (UAE), investigate the quality of the extracted oil, microencapsulate the oil by spray drying with gum arabic (GA) and maltodextrin (MD) and evaluate the quality of the powders. A central composite roatable design was used (DCCR) to evaluate the effect of variables temperature (15 to 35 ° C) and amplitude of the ultrasonic wave (24 to 96  $\mu\text{m}$ ) on the process yield (%) and the content of free radicals (free radicals /g oil) in the extracted oil and stored for 1, 7 and 30 days. The optimal condition was 15°C and 42  $\mu\text{m}$ , resulting in 82,9% of yield and free radical content of  $14,7 \times 10^{14}/\text{g}$  and  $3,4 \times 10^{15}/\text{g}$  in the oil stored for 7 and 30 days, respectively. The oil obtained under optimal condition showed no difference in fatty acid composition and levels of acidity and iodine index showed difference only 30 days of incubation in relation to the oil extracted without the application of ultrasound; however, showed a higher content of free radicals and peroxide value. The oil obtained by UAE had lower antioxidant activity by DPPH method, but greater amount of phenolic compounds and antioxidant activity by FRAP method. These results indicated that UAE resulted in greater extraction yield, obtaining an oil considered of good quality. Regarding the microspheres, the wall material used in the current work did not influence the average diameter, *span*, apparent density, total oil and oil retention. The profile of the fatty acids in the oil before and after microencapsulation showed no difference, independent of the wall material used. While the microsphere produced with GA/MD had a greater surface oil content, this result did not affect the encapsulation efficiency, and also had the highest antioxidant activity by FRAP method and lower peroxide value than the microsphere with GA. On the other hand, the content of phenolics and antioxidant activity by DPPH decreased when compared to the pure oil and the microsphere with GA showed the highest content of phenolic compounds than the microsphere with GA/MD. The peroxide content encapsulated oils was increased when compared to pure oil, indicating that the high temperature used in the atomization process can be increased and / or favored oxidation process and that further studies are needed to optimize microencapsulation of grape seed oil.

**Keywords:** *Vitis* spp. Sonication. Spray drying. Antioxidant activity. Fatty acids. Phenolic compounds. Lipid oxidation. Encapsulation efficiency.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Ondas ultrassônicas.....	26
Figura 2 – Esquema de extração em banho ultrassônico.....	28
Figura 3 – Esquema de extrator com sonda ultrassônica.....	28
Figura 4 – Estruturas de microesfera e microcápsula .....	31
Figura 5 – Modelos de microcápsulas. (A): matriz (microesfera); (B): microcápsula simples; (C): simples, irregular; (D): duas paredes; (E): vários núcleos; (F): agrupamento de microcápsulas. ....	32
Figura 6 – Modelo de spray <i>dryer</i> de bancada .....	35
Figura 7 – Estrutura química da goma arábica.....	37

### Artigo A

Figura 1 – Espectros de Radicais livres do óleo extraído com ultrassom a 25°C e 60 Mm .....	83
Figura 2 – Efeito da temperatura e amplitude do ultrassom sobre o conteúdo de radicais livres do óleo extraído e estocado por 7 dias.....	85
Figura 3 - Parâmetro de desejabilidade estimado na condição em que o rendimento de extração e o conteúdo de radicais livres no óleo são otimizados simultaneamente .....	86

### Artigo B

Figura 1 – Estabilidade das emulsões. (a) goma arábica; (b) goma arábica e maltodextrina.....	111
Figura 2 – Microscopia ótica das emulsões. (a) goma arábica; (b) goma arábica e maltodextrina. Aumento de 40 vezes.....	111
Figura 3 – Distribuição das partículas das emulsões .....	112
Figura 4 – Distribuição das partículas das microesferas .....	114
Figura 5 – Morfologia das micropartículas contendo óleo de sementes de uva: (a) GA (aumento de 2000x), (b) GA (5000 x), (c) GA/MD (2000x), (d) GA/MD ( 5000x).....	116

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Produção de uvas no Brasil, em toneladas .....	19
Tabela 2 –	Matriz do delineamento composto central rotacional (DCCR) com as variáveis codificadas.....	41
Tabela 3 –	Valores reais e níveis dos fatores estudados do delineamento composto central rotacional (DCCR).....	41

### Artigo A

Tabela 1–	Planejamento experimental com as variáveis independentes reais e codificadas e variáveis dependentes avaliadas.....	76
Tabela 2 –	Coeficientes das variáveis independentes sobre as funções-respostas rendimento e conteúdo de radicais livres .....	81
Tabela 3 –	Rendimento de extração e conteúdo de radicais livres em experimentos realizados na condição otimizada.....	86
Tabela 4 –	Conteúdo de ácidos graxos dos óleos de sementes de uva .....	88
Tabela 5 –	Índice de iodo, acidez e peróxido dos óleos de sementes de uva .....	90
Tabela 6 –	Compostos fenólicos e atividade antioxidante .....	92

### Artigo B

Tabela 1 –	Parâmetros avaliados no óleo microencapsulado de sementes de Uva.....	112
Tabela 2 –	Atividade antioxidante, compostos fenólicos e índice de peróxido .....	119
Tabela 3 –	Conteúdo de ácidos graxos em óleo de sementes de uva e Microcápsulas .....	122

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	14
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	16
2.1	OBJETIVO GERAL .....	16
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	16
<b>3</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	17
3.1	UVA.....	17
3.1.1	Caracterização Geral .....	17
3.1.2	Composição .....	17
3.1.3	Produção.....	18
3.1.4	Subprodutos .....	19
3.1.5	Óleo de Sementes de Uva .....	20
3.1.6	Radicais Livres e Antioxidantes .....	22
3.2	ULTRASSONIFICAÇÃO .....	26
3.2.1	Aspectos Gerais da Ultrassonificação .....	26
3.2.2	Aplicações de Ultrassom .....	28
3.3	MICROENCAPSULAÇÃO .....	30
3.3.1	Micropartículas .....	30
3.3.2	Aplicações da Microencapsulação .....	32
3.3.3	Métodos de Microencapsulação .....	33
3.3.3.1	Secagem por atomização ( <i>Spray Drying</i> ) .....	34
3.3.4	Materiais Encapsulantes .....	35
3.3.4.1	Goma arábica.....	36
3.3.4.2	Maltodextrinas.....	38
<b>4</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	40
4.1	MATERIAIS E PREPARO DA AMOSTRA .....	40
4.2	MÉTODOS .....	40
4.2.1	Análise Centesimal das Sementes de Uva .....	40
4.2.2	Planejamento Experimental .....	40

4.2.3	Extração Assistida por Ultrassom do Óleo de Sementes de Uva .....	42
4.2.4	Conteúdo de Radicais Livres .....	42
4.2.5	Caracterização do Óleo de Sementes de Uva Extraído na Condição Otimizada.....	43
4.2.5.1	Ácidos graxos .....	43
4.2.5.2	Compostos fenólicos .....	44
4.2.5.3	Atividade antioxidante .....	45
4.2.5.4	Índice de acidez, iodo e peróxido.....	46
4.2.6	Formação das Emulsões e Avaliação das Emulsões .....	46
4.2.6.1	Avaliação da estabilidade .....	47
4.2.6.2	Diâmetro médio das gotas .....	47
4.2.7	Microencapsulação por <i>Spray Drying</i> e Avaliação das Microesferas .....	47
4.2.7.1	Extração do óleo das microesferas .....	48
4.2.7.2	Teor de óleo, eficiência de encapsulação e retenção de óleo .....	48
4.2.7.3	Compostos fenólicos .....	49
4.2.7.4	Atividade antioxidante .....	50
4.2.7.5	Ácidos graxos .....	50
4.2.7.6	Índice de peróxido .....	51
4.2.7.7	Umidade e atividade de água das microesferas .....	51
4.2.7.8	Densidade aparente, distribuição de tamanho das partículas, área superficial e <i>span</i> .....	52
4.2.7.9	Morfologia .....	52
4.8	ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	53

<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>54</b>
--------------------------	-----------

<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>71</b>
---------------------------------------	-----------

5.1 ARTIGO CIENTÍFICO A - EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE ÓLEO DE SEMENTES DE UVA POR ULTRASSOM .....	72
--	----

5.2 ARTIGO CIENTÍFICO B - MICROENCAPSULAÇÃO POR SPRAY DRYING DE ÓLEO DE SEMENTES DE UVA EXTRAÍDO POR ULTRASSOM.....	99
<b>6 CONCLUSÃO .....</b>	<b>129</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A uva corresponde a uma das frutas mais cultivadas no mundo, sendo que aproximadamente 80% da produção mundial destinam-se à fabricação de vinhos e derivados, gerando diversos subprodutos, tais como o engaço, borra e bagaço (MELLO, 2012). Os subprodutos vinícolas destacam-se por serem fontes ricas de compostos fenólicos (RUBILAR et al., 2007) e pela significativa quantidade resultante do processamento, uma vez que a soma de bagaço (cascas e sementes), engaço e a borra do processo fermentativo representam, em média, 30% do volume de uvas utilizadas para a produção vinícola (MAKRIS; BOSKOU; ANDRIKOPOULOS, 2007), tornando-os uma fonte promissora de substâncias bioativas naturais (MELO et al., 2011).

A produção de alimentos está sendo redirecionada para uma produção limpa, com o intuito de minimizar a geração de subprodutos e maximizar o aproveitamento dos recursos empregados. Tais subprodutos precisam de destino adequado, pois geram potenciais problemas ambientais, e representam perdas de matérias-primas e energia, exigindo investimentos significativos em tratamentos para controlar a poluição. Desta forma, o aproveitamento de subprodutos da indústria de alimentos, através da implantação de novos processos integrados, permite unir a produtividade com a eficiência ambiental (ARVANITOYANNS; VARZAKAS, 2008).

Dentre as opções de aproveitamento de subprodutos gerados a partir da uva, está incluída a produção de óleo de sementes de uva, uma vez que as sementes geralmente são descartadas durante a produção de vinhos e sucos. Dessa forma, a sua obtenção pode ser uma linha rentável e uma utilização eficiente do subproduto (DA PORTO; DECORTI; NATOLINO, 2013).

O óleo de sementes de uva consiste de uma alternativa aos óleos vegetais comestíveis tradicionais, particularmente em dietas controladas. O mesmo apresenta benefícios à saúde devido à sua composição, uma vez que é rico em ácidos graxos insaturados (principalmente o ácido linoleico) (BAIL et al., 2008; CAO; ITO, 2003) e apresenta antioxidantes naturais, como os polifenóis e vitamina E que protegem contra danos de radicais livres (BAIL et al., 2008; MAIER et al., 2009). Dessa forma, sua relação com a saúde humana têm sido amplamente investigada durante os últimos anos (MAIER et al., 2009; PARDO et al., 2009; PUIGGRÒS et al., 2005). O mesmo pode ser utilizado para fritar alimentos ou para ser incluído em

molhos ou cosméticos (DA PORTO; PORRETTO; DECORTI, 2013).

Os métodos de extração de óleo convencionais, tais como o Soxhlet, consistem na utilização de solventes, porém apresentam algumas limitações em relação ao alto consumo de solvente, longo tempo de extração, e alteração na qualidade dos extratos. Assim, novas tecnologias vêm sendo utilizadas a fim de minimizar essas desvantagens, e dentre elas cita-se a extração assistida por ultrassom (EAU), a qual vem sendo muito utilizada na extração de compostos de plantas (VILKHU et al., 2008). A extração assistida por ultrassom tem sido reconhecida como uma potencial aplicação na indústria extrativa de alimentos e fitofarmacêutica (VILKHU et al., 2008). Ultrassonografias causam efeitos mecânicos como a agitação do solvente, aumento do contato da área de superfície entre o sólido e o solvente e maior infiltração do solvente no interior da matriz (ZHANG et al., 2008). Recentemente, comprovou-se que o óleo de sementes de uva obtido por EAU apresentou rendimento semelhante àquele alcançado por extração por Soxhlet (DA PORTO; PORRETTO; DECORTI, 2013).

Entre as alternativas para proteger, prolongar a funcionalidade e controlar a liberação de um ingrediente de alimentos utiliza-se a microencapsulação (SHAHID; HAN, 1993; RÉ, 2000). Esta técnica consiste em envolver materiais sólidos, líquidos ou gasosos em um material de parede, formando microcápsulas que podem liberar seu conteúdo sob condições específicas. O princípio da microencapsulação consiste na criação de uma barreira entre o componente na partícula e o ambiente, podendo proteger contra oxigênio, água, luz ou permitir a difusão controlada (ROSENBERG; KOPPELMAN; TALMON, 1990). O método de encapsulação por *spray drying* é o mais comumente usado na indústria de alimentos, uma vez que é um processo econômico, flexível, apresenta grande disponibilidade de equipamentos, resulta em boa retenção dos compostos voláteis e estabilidade do produto final e produz partículas de boa qualidade (DESAI; PARK, 2005; GHARSALLAOUI et al., 2007).

Considerando que as sementes de uva são uma fonte relativamente barata de compostos bioativos e a necessidade de melhorar o aproveitamento de subprodutos gerados na industrialização de uva, o presente estudo teve como objetivo otimizar o processo de extração assistida por ultrassom do óleo de sementes de uva e microencapsular por *spray drying*.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Otimizar o processo de extração assistida por ultrassom do óleo de sementes de uva e microencapsular por *spray drying*.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar a composição centesimal das sementes de uva;
- Otimizar o processo de extração assistida por ultrassom do óleo de sementes de uva, de modo a obter maior rendimento de extração e menor conteúdo de radicais livres;
- Comparar extração assistida por ultrassom (condição otimizada) e por agitação magnética quanto ao rendimento, teor de radicais livres, compostos fenólicos, capacidade antioxidante, composição de ácidos graxos e oxidação lipídica;
- Avaliar a estabilidade e o diâmetro médio das emulsões do óleo de sementes de uva com goma arábica e mistura goma arábica/maltodextrina (50/50);
- Caracterizar as microesferas de óleo obtidas por *spray drying* quanto à distribuição e diâmetro médio das partículas, umidade, atividade de água, densidade aparente, área superficial, eficiência de encapsulação, teor de óleo superficial, teor de óleo total, retenção de óleo, morfologia, teor de compostos fenólicos totais, capacidade antioxidante, ácidos graxos e oxidação lipídica.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 UVA

##### 3.1.1 Caracterização Geral

A uva engloba um dos alimentos mais antigos da humanidade. É originária da Ásia da região árida do Cáucaso e existe há cerca de 6000 anos a.C. No Brasil, o desenvolvimento da viticultura ocorreu no século XIX, após a chegada dos imigrantes portugueses e italianos (PEREIRA; GAMEIRO, 2008).

Classificada botanicamente como *Vitis* spp, as uvas são produzidas pelas videiras, e já são conhecidas mais de 10.000 variedades no mundo em todos os continentes, predominando em climas temperados (FERRARI, 2010) e sendo cultivadas em várias regiões (VEDANA, 2008).

A produção de uvas no Brasil é dividida em duas espécies: um grupo constituído pelas uvas comuns ou americanas (*Vitis labrusca* ou híbridas), as quais são utilizadas para produção de vinhos de mesa, sucos e derivados e para o consumo *in natura* (Bordô, Isabel, Concord, Niágara, Moscato, entre outras); e outro pelas uvas europeias ou finas (*Vitis vinifera*) que são destinadas para produção de vinhos finos (Cabernet Sauvignon, Cabernet Franc, entre outras) ou para mesa (Itália, Rubi, Brasil, etc.) (CAMARGO; NACHTIGAL, 2007; SAUTTER, 2003).

As cultivares que representam maior valor comercial entre tantas variedades de espécies são *Vitis vinifera*, *Vitis labrusca*, *Vitis bourquina* e *Vitis rotundifolia*, sendo *Vitis vinifera* a espécie mais cultivada no mundo e *Vitis labrusca* caracterizada por cultivares que apresentam alta produtividade e resistência às doenças fúngicas, e muito utilizadas para consumo *in natura* (KUHN, 2003).

##### 3.1.2 Composição

Um cacho de uva apresenta duas partes: uma parte herbácea, denominada de engaço e a outra parte carnosa, denominada de baga ou grão (AQUARONE et al., 2001). O engaço corresponde ao cacho que sustenta as bagas

de uvas. Sua composição consiste em grande quantidade de água, matéria lenhosa, resinas, minerais e taninos (AQUARONE et al., 2001; SACHS, 2001).

A baga ou grão apresenta 6 a 12% de casca ou película a qual consiste de um envoltório e em seu interior estão localizadas a polpa (85% a 92%) e as sementes (2 a 5%) (AQUARONE et al., 2001). A casca é composta de antocianinas, substâncias aromáticas, ácidos, taninos e microrganismos (SACHS, 2001). As sementes contêm óleo comestível, taninos, ácidos voláteis e uma substância resinosa. A polpa consiste da parte mais importante da uva, sendo rica em água, açúcares, ácidos, minerais, compostos fenólicos e substâncias pécticas (AQUARONE et al., 2001).

Durante a maturação, alguns destes constituintes evoluem, entre eles: açúcares, ácidos, compostos fenólicos, vitaminas e minerais e ocorre o crescimento da baga da uva, bem como acumulação de açúcares, formação de taninos, diminuição de ácidos e formação de aromas (PEIXOTO, 2000). Dessa forma, a composição química das bagas é influenciada pelo estágio de maturação, potencial genético, clima e manejo (MOTA et al., 2009).

As uvas possuem compostos fenólicos, aos quais estão sendo atribuídos vários benefícios à saúde. Estudos já demonstraram vários efeitos em relação a essas substâncias, como atividade antioxidante, anti-inflamatória, antimicrobiana e anticarcinogênica (BEER et al., 2003; CANTOS; ESPÍN; TOMÁS-BARBERÁN, 2002; DELMAS; JANNIN; LATRUFFE, 2005; GUSMAN; MALONNE; ATASSI, 2001).

### 3.1.3 Produção

De acordo com dados do IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística) em 2015 foram produzidas 1.499.353 toneladas de uvas no Brasil com um aumento de 4,41% em relação ao ano de 2014. Ocorreu um aumento de produção de uvas nos estados de Minas Gerais (9,15 %), Rio Grande do Sul (7,85 %), Santa Catarina (4,66 %) e Pernambuco (0,25 %). Por outro lado, houve redução de produção nos estados da Bahia (-0,13%), São Paulo (-3,22 %) e Paraná (-1,12 %) (tabela 1) (MELLO, 2016).

Tabela 1 - Produção de uvas no Brasil, em toneladas.

<b>Estado/Ano</b>	<b>2013</b>	<b>2014</b>	<b>2015</b>
Rio Grande do Sul	808.267	812.537	876.286
Pernambuco	228.727	236.767	237.367
São Paulo	172.868	146.790	142.063
Paraná	79.052	80.910	80.000
Bahia	52.808	77.504	77.401
Santa Catarina	53.153	66.106	69.189
Minas Gerais	12.734	11.557	12.615
Goiás	4.581	3.330	3.492
Ceará	664	573	940
<b>Brasil</b>	<b>1.412.854</b>	<b>1.436.074</b>	<b>1.499.353</b>

**Fonte:** MELLO (2016).

Em 2015, a produção brasileira de uvas destinadas ao processamento foi de 781.412 milhões de quilos, representando 52,12% da produção nacional. O restante da produção (47,88%) foi destinado ao consumo in natura (MELLO, 2016).

Quanto à produção mundial de uvas, em 2014 de acordo com dados fornecidos pela Organização Internacional da Vinha e do Vinho (OIV), a produção atingiu 73.700 milhões de quilos. A China foi o maior produtor mundial de uvas (11.100 milhões de quilos) seguida pelos Estados Unidos (7.700 milhões de quilos), França (6.940 milhões de quilos) e Itália (6.890 milhões de quilos) (PROTAS, 2015).

### 3.1.4 Subprodutos

Mundialmente são geradas milhões de toneladas de subprodutos provenientes de atividades agroindustriais (MAKRIS; BOSKOU; ANDRIKOPOULOS, 2007). Algumas destas são empregadas na ração animal ou dispostas no campo, porém a maior parte ainda é descartada sem tratamento, causando danos ao meio ambiente (MELO et al., 2011).

Entre os vários subprodutos gerados pela agroindústria, destaca-se o bagaço de uva industrial. Este é constituído pela semente, casca, engaço e restos da polpa da uva, sendo o resultado do esmagamento das bagas através de um processo de separação do suco ou mosto. Este resíduo apresenta compostos que não são totalmente extraídos durante o processo de fabricação do vinho, como antioxidantes, corantes e outros com atividades potencialmente funcionais, em

especial o resveratrol. O bagaço é o produto resultante da prensagem das massas vínicas (FERRARI, 2010; SILVA, 2003), sendo caracterizado como o principal produto da vinificação, pois apresenta riqueza alcoólica e tartárica (WENDLER, 2009).

O engaço, quando separado por máquinas apropriadas, representa aproximadamente 3,5 - 4,5% da massa total da vindima, sendo de pouca valorização e de matérias-primas mais pobres (SILVA, 2003). Como aproveitamento, é utilizado como matéria-prima para a indústria do papel e como combustível, podendo ser utilizado também para elaboração de proteína vegetal (WENDLER, 2009). Entretanto, alguns estudos já têm demonstrado sua rica composição fenólica, possibilitando uma melhor valorização e reutilização deste subproduto (SILVA, 2003).

A borra corresponde ao resíduo que fica aglomerado nos recipientes que contém vinho após a fermentação, ou ainda da armazenagem, ou então o resíduo obtido pela filtração e/ou centrifugação. A quantidade de borra obtida corresponde a cerca de 5% do volume do vinho (WENDLER, 2009).

As sementes representam 3% em relação ao peso da uva, e a partir delas pode-se extrair óleo (WENDLER, 2009). Segundo Matthäus (2008), as sementes de uva contêm de 7 a 20 % de óleo, 35% de fibra, 29% de componentes extraíveis incluindo compostos fenólicos, 11 % de proteínas, 3% de minerais e 7% de água. Podem ainda ser utilizadas nas indústrias de rações e adubos, extração de taninos para as indústrias enológica e farmacêutica, e combustível (SILVA, 2003).

Muitos dos subprodutos agroindustriais gerados contêm uma variedade de espécies biologicamente ativas que são desperdiçadas, entre eles os compostos fenólicos (CATANEO et al., 2008). Sendo assim, se faz necessário à realização de estudos a cerca desses subprodutos para a produção de ingredientes com alto valor agregado e com possível aplicação em diferentes setores industriais devido à sua composição polifenólica.

### 3.1.5 Óleo de Sementes de Uva

As sementes de uva constituem aproximadamente 15% dos subprodutos sólidos decorrentes da indústria vinícola (LUQUE-RODRÍGUEZ;

LUQUE DE CASTRO; PÉREZ-JUAN, 2005). Embora seja uma excelente fonte de óleo para consumo humano, em geral ainda é mais utilizada para a produção de ração para bovinos (GÓMEZ; LÓPEZ; DE LA OSSA, 1996; LUQUE-RODRÍGUEZ; LUQUE DE CASTRO; PÉREZ-JUAN, 2005).

A quantidade de óleo nas sementes de uva depende da variedade da uva e das condições ambientais de crescimento, podendo atingir valores de 10 a 16% (peso seco) (LUQUE-RODRÍGUEZ; LUQUE DE CASTRO; PÉREZ-JUAN, 2005).

Baydar, Ozkan e Çetin (2007) estudaram a composição de óleos de diferentes variedades de sementes de uva (*Vitis vinifera*), e concluíram que o ácido linoleico foi o ácido graxo com maior percentagem (63 - 69%), seguido do ácido oleico, ácido palmítico, ácido esteárico e ácido linolênico (BAYDAR; OZKAN; ÇETIN, 2007; LUQUE-GARCIA; LUQUE DE CASTRO, 2004). Os ácidos graxos insaturados (ácidos oleico, linoleico e linolênico) correspondem a 85% do total de ácidos graxos presentes no óleo de sementes de uva. Alguns ácidos graxos poli-insaturados, tais como o linoleico e linolênico, são essenciais para o corpo humano, já que não podem ser sintetizados (BAYDAR; OZKAN; ÇETIN, 2007), o que indica que a inclusão de óleo de sementes de uva na dieta humana pode trazer benefícios para a saúde (AFONSO, 2008).

Ao comparar este óleo com os de outras sementes, este contém uma percentagem alta de taninos e de lipídeos insaponificáveis, designadamente esteróis como o  $\beta$ -sitosterol, o campesterol e o estigmasterol. O nível de taninos pode ser em média, 1000 vezes superior ao de outros óleos de sementes (RAO, 1994) e os insaponificáveis atingem 0,8 – 1,5% do óleo (SINEIRO; DOMÍNGUEZ, NUÑEZ, 1995 apud LUQUE-RODRÍGUEZ; LUQUE DE CASTRO; PÉREZ-JUAN, 2005). A atividade antioxidante destes compostos transfere ao óleo uma maior resistência à peroxidação, resultando em um bom ingrediente na formulação de cosméticos para tratamentos de pele seca e antienvhecimento (LUQUE-RODRÍGUEZ; LUQUE DE CASTRO; PÉREZ-JUAN, 2005).

No óleo de sementes de uva, o conteúdo em ácido linoleico é mais elevado do que em outros óleos vegetais, sendo uma importante fonte para a produção de ácido linoleico conjugado (CLA) (CAO; ITO, 2003; LUQUE-RODRÍGUEZ; LUQUE DE CASTRO; PÉREZ-JUAN, 2005). O CLA é um grupo de isômeros de posição e geométricos do ácido linoleico com duplas ligações

conjugadas, ou seja, que são separadas por uma ligação simples carbono-carbono (MEDEIROS, 2002). Tais compostos podem ser produzidos no organismo dos animais ruminantes, pela isomerização e/ou biohidrogenação bacteriana dos ácidos graxos poli-insaturados no rumem e pela dessaturação do ácido graxo trans vacênico pela enzima delta-9-dessaturase presente no tecido adiposo e na glândula mamaria (MARIA, 2009). Ou ainda de forma sintética através da isomerização alcalina do ácido linoleico encontrada em óleos vegetais tais como o de girassol, rícino e cártamo (BANNI, 2002; MARIA, 2009). Estudos mostraram que o CLA produzido sinteticamente é eficaz na inibição de câncer como o da mama, do cólon, do estômago e da pele, e em termos nutricionais, o CLA mostrou ser também eficaz na redução da percentagem de gordura em animais (CAO; ITO, 2003).

### 3.1.6 Radicais Livres e Antioxidantes

Moléculas orgânicas, inorgânicas e átomos que contêm um ou mais elétrons não pareados, com existência independente, podem ser classificadas como radicais livres (GARCEZ et al., 2001; HALLIWELL, 1994). Entre os diversos radicais livres, podemos citar o radical hidroxila ( $\text{OH}^\bullet$ ), ânion superóxido ( $\text{O}_2^{\bullet-}$ ), óxido nítrico ( $\text{NO}^\bullet$ ), radical alcooxil ( $\text{RO}^\bullet$ ), dentre outros (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2000; HENRIQUES et al., 2001; PRIOR; CAO, 2000; THOMAS, 2000). Estas espécies reativas originam-se em nosso corpo durante processos metabólicos normais (VAN LANGENDONCKT; CASANAS-ROUX; DONNEZ, 2002) e podem ser gerados no citoplasma, nas mitocôndrias ou na membrana, sendo seu alvo celular (proteínas, lipídeos, carboidratos e DNA) relacionado com o seu sítio de formação (YU; ANDERSON, 1997). Os radicais livres também podem surgir durante a exposição a condições de estresse como mudanças na temperatura, exposição à radiação UV, ataques por patógenos, entre outros (RAHMAN; ADCOCK, 2006).

Espécies reativas e radicais livres podem causar oxidação quando ultrapassarem as defesas antioxidantes do organismo, causando um processo denominado estresse oxidativo (MATEOS; BRAVO, 2007; SIES, 1991; YEPEZ et al., 2002) e, assim, danos ao DNA, lipídeos e proteínas (BECKMAN; AMES, 1998; LICHTENTHÄLER; MARX; KIND, 2003; SALVADOR; HENRIQUES, 2004; SIES, 1991). O estresse oxidativo está associado ao envelhecimento da célula, dos tecidos

e de todo o organismo e ao desenvolvimento de doenças, tais como câncer, doenças cardiovasculares, diabetes, acidente vascular cerebral, doença de Alzheimer, doença de Parkinson, artrite, degeneração macular, catarata, aterosclerose, queda do sistema imunológico, dentre outras (ARUOMA, 1998; BAGGIO, 2006; DUFFY et al., 2007; MATEOS; BRAVO, 2007; SEIFRIED et al., 2007; SIKORA et al., 2008; WILLCOX; ASH; CATIGNANI, 2004).

Dessa forma, as células humanas dependem de antioxidantes para se protegerem contra os efeitos das espécies reativas do oxigênio. O termo antioxidante é utilizado para designar qualquer substância que, estando presente em quantidades inferiores se comparada ao substrato oxidável, retarde significativamente ou iniba a oxidação desse substrato (MAISUTHISAKUL; SUTTAJIT; PONGSAWATMANIT, 2007). Seus efeitos consistem na inativação dos radicais livres, na complexação de íons metálicos ou na redução dos hidroperóxidos para produtos incapazes de formar radicais livres e produtos de decomposição (SHAHIDI; NACZK, 1995).

Segundo a *US Food and Drug Administration* (FDA), antioxidantes são substâncias utilizadas para conservar alimentos através do retardamento da deterioração, rancidez ou descoloração causados pela oxidação (KAUR; KAPOOR, 2001). Quando adicionados a alimentos, minimizam a rancidez, retardam a formação de produtos de oxidação tóxicos, mantêm a qualidade nutricional, e aumentam a vida de prateleira (FUKUMOTO; MAZZA, 2000; HRAS et al., 2000). Do ponto de vista biológico, são compostos que protegem sistemas biológicos contra os efeitos potencialmente danosos de processos ou reações que promovem a oxidação de macromoléculas ou estruturas celulares (GÓMEZ, 2003).

A indústria de alimentos emprega antioxidantes sintéticos para evitar a formação de radicais livres, que podem iniciar a oxidação. Os compostos mais utilizados são os fenólicos sintéticos butil-hidroxi-anisol (BHA), butil-hidroxitolueno (BHT), terc-butil-hidroquinona (TBHQ) e propil galato (PG), devido a sua alta eficiência na conservação de alimentos e seu baixo custo (PINHO et al., 2000; RAMALHO; JORGE, 2006). Porém, os mesmos têm sido criticados pela baixa solubilidade juntamente com atividade antioxidante moderada e possível efeito carcinogênico (BOTTERWECK et al., 2000; ITO et al., 1983; ZHENG; WANG, 2001). Desta forma, o uso dos mesmos é limitado ou proibido em alguns países (ALMEIDA-DORIA; REGITANO D' ARCE, 2000; BOTTERWECK et al., 2000). O TBHQ, por

exemplo, é proibido na União Europeia e no Canadá. No Brasil, o BHA e TBHQ são limitados a 0,02% e BHT 0,01%, sobre o teor de gordura, como concentrações máximas permitidas (BRASIL, 2007).

Sendo assim, há uma crescente procura por antioxidantes oriundos de fontes naturais, tais como frutas, vegetais e ervas. Os antioxidantes presentes nas plantas podem agir como agentes redutores, sequestradores de radicais livres, inibidores de enzimas e como quelantes de metais (RICE-EVANS et al., 1995; WANG; LIN, 2000).

A procura por antioxidantes naturais para produtos alimentícios, cosméticos e farmacêuticos é um importante desafio para a pesquisa industrial (LAGUERRE; LECOMTE; VILLENEUVE, 2007). Nesses produtos, o estudo da oxidação lipídica é destacado devido à deterioração que pode causar (rancificação, perda de aromas e formação de *off-flavors*) e, conseqüentemente, há uma rejeição pelo consumidor.

Os antioxidantes naturais têm capacidade de melhorar a qualidade e a estabilidade dos alimentos, agir como nutracêuticos e proporcionar benefícios à saúde dos consumidores (ARUOMA, 1998). Estudos epidemiológicos mostraram que uma alimentação rica em produtos vegetais está associada com uma diminuição no risco de uma variedade de doenças como aterosclerose, câncer, doenças cardiovasculares, doenças de Parkinson e Alzheimer e problemas causados pelo envelhecimento das células (KAUR; KAPOOR, 2001; SILVA et al., 2010). Estes efeitos têm sido particularmente atribuídos à combinação de vitaminas, minerais, compostos fenólicos, antioxidantes e fibras (VASCO; RUALES; KAMAL-ELDIN, 2008).

Os principais antioxidantes encontrados nos vegetais são as vitaminas C e E, os carotenóides e os compostos fenólicos, especialmente os flavonoides. Tais antioxidantes sequestram radicais livres e inibem a cadeia de iniciação ou interrompem a cadeia de propagação das reações oxidativas promovidas pelos radicais (PODSEDEK, 2007) e restringem as lesões induzidas pelos mesmos (FOTSIS et al., 1997) sendo eficazes na resistência ao estresse oxidativo (LAGUERRE; LECOMTE; VILLENEUVE, 2007).

Os compostos fenólicos são originados do metabolismo secundário das plantas e essenciais para o desenvolvimento das mesmas (NACZK; SHAHIDI, 2004). Com relação aos compostos encontrados na uva e em produtos de uva, estes

podem ser divididos em dois grupos: ácidos fenólicos e compostos relacionados, e flavonoides. Os ácidos fenólicos mais comuns encontrados na uva são os ácidos cinâmicos, tais como o ácido cafeico e ferúlico, e os ácidos benzoicos, tais como o ácido vanílico e ácido gálico. No grupo de flavonoides, podem ser encontrados os flavono-3-ol (catequina, epicatequina entre outros) e flavanonas coloridas e antocianinas (SHI et al., 2003). Tratam-se de substâncias que possuem no mínimo um anel aromático com um ou mais substituintes hidroxílicos. Além da função hidroxila podem estar presentes outros grupos funcionais, como ésteres e glicosídios (ESCARPA; GONZALES, 2001). Agem como sequestradores de radicais e algumas vezes como quelantes de metais, atuando na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo, prevenindo a oxidação lipídica (BRAVO, 1998). Os compostos fenólicos exibem ainda grande quantidade de propriedades benéficas (como antialérgica, antiarteriogênica, anti-inflamatória, antimicrobiana e antitrombótica) (BENAVENTE et al., 1997; BRAVO, 1998; MANACH; MAZUR; SCALBERT, 2005).

As sementes de uva contêm ainda proantocianidinas, que previnem o estresse oxidativo celular, combatem os radicais livres, tem efeitos antitumoral e cardioprotetor, atividade antiviral e previnem a aterosclerose (YILMAZ; TOLEDO, 2004), e em alguns alimentos retardam a rancificação oxidativa (RABABAH; HETTIARACHCHY; HORAX, 2004).

A vitamina E encontrada no óleo de sementes de uva é um antioxidante lipossolúvel constituída de tocoferóis e tocotrienóis ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ) (ABIDI, 2000; AHMED; DAUN; PRZYBYLSKI, 2005; FRANKEL, 1996; USORO; MOUSA, 2010), sendo  $\alpha$ -tocoferol a forma mais abundante e ativa (MARTINS et al., 2004; SAREMI; ARORA, 2010). Consiste em um dos antioxidantes mais utilizados em estudos na prevenção de doenças crônicas (ARAIN; QADEER, 2010; BATISTA; COSTA; PINHEIRO-SANT'ANA, 2007; BLUM et al., 2010; KURIBAYASHI et al., 2010; SAREMI; ARORA, 2010) e o seu consumo na alimentação está associado à prevenção de doenças cardiovasculares (AHMED; DAUN; PRZYBYLSKI, 2005; CLARKE; BURNETT; CROFT, 2008;) câncer colorretal (ARAIN; QADEER, 2010), osteonecrose (KURIBAYASHI et al., 2010), cânceres de esôfago, estômago (CARMAN et al., 2009), artrite, catarata e o envelhecimento (BIANCHI; ANTUNES, 1999). O  $\alpha$ -tocoferol inibe a oxidação dos radicais livres e reage com o oxigênio,

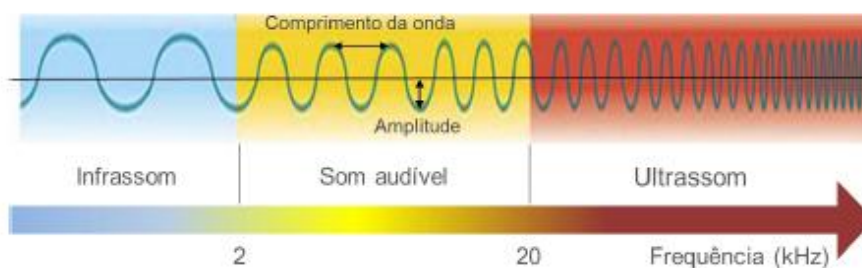
impedindo a transformação dos ácidos graxos insaturados em aldeídos (FRANKEL, 1996).

## 3.2 ULTRASSONIFICAÇÃO

### 3.2.1 Aspectos Gerais da Ultrassonificação

Onda significa uma perturbação ou distúrbio transmitido através do vácuo ou de um meio líquido, gasoso ou sólido (SILVA, 2002; TAKEDA; MORCELLI, 2012). As ondas de ultrassom são semelhantes às ondas sonoras, sendo as suas frequências consideradas elevadas e não perceptíveis ao ouvido humano, estando acima de 20 kHz (figura 1). Já para frequência menor que 2 kHz, as ondas recebem o nome de infrassons. Por se tratar de ondas mecânicas, necessitam de um meio físico para se propagar como sólidos, líquidos e gases (MULET et al., 2002).

Figura 1 - Ondas ultrassônicas.



Fonte: VARDANEGA (2013).

Os parâmetros que caracterizam as ondas são velocidade de propagação ( $v$ ), comprimento de onda ( $\lambda$ ), frequência ( $f$ ), amplitude ( $A$ ) e intensidade ( $I$ ) (BARONI, 2008). A frequência corresponde ao número de oscilações/ciclos por unidade de tempo (geralmente em segundos) e é expressa em Hertz (Hz) de acordo com o Sistema Internacional de Medidas (SI) (BARONI, 2008; HALLIDAY; RESNICK; WALKER, 2012; OLIVEIRA, 2007). A velocidade das ondas é referente à rapidez de propagação de um som num meio, e está relacionada com o comprimento de onda e com a frequência (equação 1). Esta velocidade depende das propriedades físicas do meio em que as ondas se propagam (HALLIDAY; RESNICK; WALKER, 2012; OLIVEIRA, 2007).

$$v \text{ (mm. } \mu\text{s}^{-1}\text{)} = f \text{ (MHz)} \times L_o \text{ (mm)} \quad (1)$$

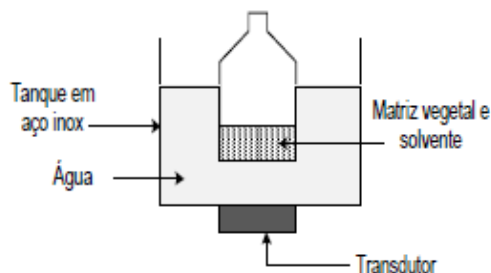
Onde:  $v$  é a velocidade da onda,  $f$  é a frequência e  $L_o$  é o comprimento de onda.

O comprimento de onda corresponde ao comprimento do espaço pelo qual um ciclo ocorre e é expresso em milímetros (mm) (HALLIDAY; RESNICK; WALKER, 2012; OLIVEIRA, 2007). Já a amplitude é a altura da onda e determina a força desta, mede o alcance do movimento vibratório medido a partir da posição central até uma das extremidades e está relacionada com a intensidade do ultrassom (OLIVEIRA, 2007; TAKEUCHI et al., 2009 apud VARDANEGA, 2013). A intensidade trata-se da medida do fluxo de energia acústica através de uma unidade de área do meio numa unidade de tempo. Este parâmetro é utilizado para classificar as aplicações em ultrassom de baixa intensidade (*LIU - Low-Intensity Ultrasound*) com menos de  $1 \text{ W.cm}^{-2}$  e ultrassom de alta intensidade (*HIU - High-Intensity Ultrasound*) com  $10\text{-}1000 \text{ W.cm}^{-2}$  (TAKEUCHI et al., 2009 apud VARDANEGA, 2013).

As ondas ultrassônicas são geradas por cristais piezoelétricos localizados no interior de transdutores ultrassônicos, que se contraem e expandem ao receber um estímulo elétrico, causando a formação de ondas ultrassônicas (BARONI, 2008). O transdutor é um dispositivo que transforma energia elétrica em energia mecânica e vice-versa. Com o acoplamento com o ar, a energia mecânica dá origem a vibrações no meio, as quais transformam-se em vibrações sônicas ou ultrassônicas (SANTOS, 2010; SILVA, 2002).

Entre os sistemas de ultrassom utilizados, o mais comum é o banho ultrassônico, que surgiu para fins de limpeza e é equipado com um transdutor submerso em um tanque convencional (figura 2). O mesmo corresponde a um método simples e de fácil utilização, apresentando como desvantagem o aquecimento do fluido que circunda o recipiente contendo a mistura sólido-líquido, falta de uniformidade na distribuição da energia ultrassônica e diminuição da potência com o tempo (TAKEUCHI et al., 2009 apud VARDANEGA, 2013).

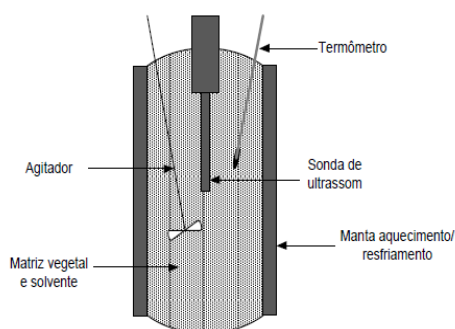
Figura 2 - Esquema de extração em banho ultrassônico.



Fonte: VARDANEGA (2013).

Outro sistema são as sondas, que realizam sonicação direta, por meio de um dispositivo que gera as ondas ultrassônicas diretamente em contato com a mistura (figura 3). Esses sistemas são utilizados em laboratórios, e agem diretamente na mistura sólido-líquido. Suas vantagens em relação aos banhos ultrassônicos são a energia localizada e uma melhor distribuição das ondas que promove uma ultrassonificação mais eficiente no líquido (TAKEUCHI et al., 2009 apud VARDANEGA, 2013; VINATORU, 2001).

Figura 3 - Esquema de extrator com sonda ultrassônica



Fonte: VARDANEGA (2013).

### 3.2. 2 Aplicações de Ultrassom

O ultrassom pode ser aplicado em processos de emulsificação, cristalização, homogeneização, corte, hidrólise, extração, inativação microbiana entre outros (PINGRET; FABIANO-TIXIER; CHEMAT, 2013).

Na extração assistida por ultrassom (EUA), aplica-se ondas de ultrassom de alta intensidade, causando ruptura física das paredes celulares e membranas celulares biológicas, reduzindo o tamanho das partículas. Estes efeitos

permitem melhor penetração do solvente em materiais celulares e melhoram as taxas de transporte de massa dentro do tecido, facilitando a transferência dos componentes da célula para o solvente e levando à melhoria da operação de extração (RUIZ-JIMÉNEZ; PRIEGO-CAPOTE; LUQUE DE CASTRO, 2004; WANG; WELLER, 2006).

As vantagens na utilização de ultrassom consistem na simplicidade do equipamento, economia de custo, possibilidade de utilização de diferentes solventes na extração, diminuição do tempo de extração, boa reprodutibilidade, condições mais brandas de temperatura e concentração de reagentes (CARDOSO, 2008; MELECCHI, 2005). A extração com ultrassom depende da intensidade de cavitação, tempo de extração e temperatura, sendo, portanto, necessário otimizar estes parâmetros (BARBOZA; SERRA, 1992; BENEDITO et al., 2002; THOE; ASPINWALL; WISE, 1998).

A melhor eficiência de extração de compostos orgânicos com o emprego de ultrassom é atribuída ao fenômeno de cavitação produzido no solvente pela passagem de ondas ultrassônicas (ROSTAGNO et al., 2009). Os efeitos causados pelas ondas ultrassônicas na matéria são os ciclos de compressão e expansão durante a propagação da onda. A expansão resulta na formação de bolhas de cavitação, e o aumento da temperatura e pressão causado pela compressão leva ao colapso da bolha, resultando em uma “onda de choque” que passa através do solvente provocando um efeito mecânico de agitação (ROSTAGNO et al., 2009; WANG; WELLER, 2006). Quando uma bolha colapsa próximo de uma superfície sólida, são formados jatos de solvente a alta velocidade, provocando danos à estrutura celular, aumentando a penetração do solvente de extração para dentro da célula e a área de superfície de contato entre a fase sólida e líquida. Este efeito associado à transferência de massa aumentada e ao rompimento das células amplia a liberação dos compostos intracelulares para o meio (ROSTAGNO et al., 2009). O ultrassom também pode facilitar o inchamento e absorção de solvente pelo aumento no tamanho dos poros da parede da célula, auxiliando o processo de difusão e aumentando a transferência de massa (VINATORU, 2001).

A extração assistida por ultrassom consiste de um método eficaz na extração de constituintes químicos a partir de matrizes vegetais (DOBIÁŠ et al., 2010; HROMÁDKOVÁ; EBRINGEROVÁ, 2003; PALMA; BARROSO, 2002). Ela pode

ser realizada em tempos mais curtos comparada a outras técnicas, indicando que este método pode ser potencialmente utilizado na extração de compostos termossensíveis utilizados em alimentos, cosméticos, e produtos farmacêuticos (DONG et al., 2010).

Entre as aplicações de ultrassom em alimentos, tem-se o uso na extração de óleos vegetais de diversas fontes, tais como linhaça (ZHANG et al., 2008), sementes de romã (GOULA, 2013; TIAN et al., 2013), sementes de uva (DA PORTO; DECORTI; NATOLI, 2013; DA PORTO; PORRETTO; DECORTI, 2013; FREITAS, 2007; MALICANIN et al., 2014), sementes de chá (SHALMASHI, 2009), arroz (BABAEI; JABBARI; YAMINI, 2006), grãos de soja (LI; PORDESIMO; WEISS, 2004) e outras sementes oleaginosas (LUQUE-GARCIA; LUQUE DE CASTRO, 2004).

Da Porto; Porretto e Decorti (2013), ao extrair óleo de sementes de uva e comparar a extração assistida por ultrassom com o método convencional soxhlet, observaram que a extração assistida por ultrassom (20Hz, 150W e 30 minutos) mostrou-se muito eficiente, obtendo o óleo em menor tempo, com menores quantidades de solvente e com rendimento e qualidade similar ao método convencional. Avaliando a extração de óleo de sementes de romã, Goula (2013) obteve maior rendimento através da extração assistida por ultrassom em comparação com método convencional de extração (agitação), além de reduzir a quantidade de solvente e o tempo de extração.

### 3.3 MICROENCAPSULAÇÃO

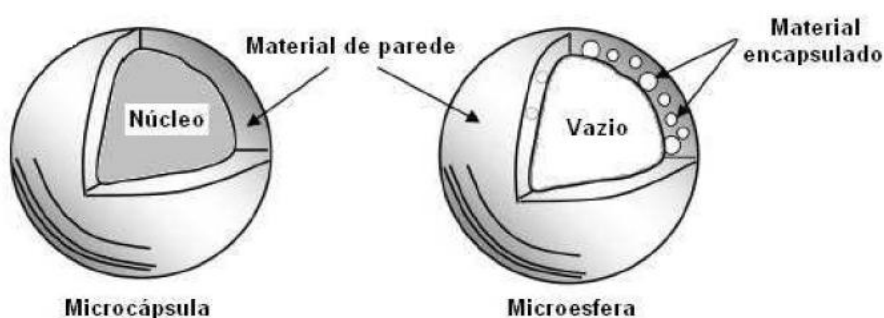
#### 3.3.1 Micropartículas

Uma cápsula pode ter seu tamanho variando de alguns micrômetros até 1 mm, sendo classificada em nano ( $< 0,2 \mu\text{m}$ ), micro (0,2 a  $500 \mu\text{m}$ ) ou macropartículas ( $> 500 \mu\text{m}$ ) (RÉ, 1998).

As micropartículas subdividem-se em microcápsulas, também chamadas de “verdadeiras microcápsulas”, e microesferas de acordo com a sua estrutura como mostrado na figura 4 (SILVA et al., 2003). As microcápsulas são micropartículas em que o núcleo está envolvido por uma camada ou filme polimérico

formando um sistema do tipo reservatório, sendo produzidas por coacervação simples ou complexa, secagem em leito fluidizado, co-extrusão, inclusão molecular entre outros (JAFARI; ASSADPOOR; BHANDARI, 2008). As microcápsulas podem ser classificadas em relação ao núcleo; se este estiver dividido no interior da partícula revestida receberá o nome de polinucleares, caso contrário, chama-se mononuclear (AFTABROUCHAD; DOELKER, 1992).

Figura 4 – Estruturas de microesfera e microcápsula.



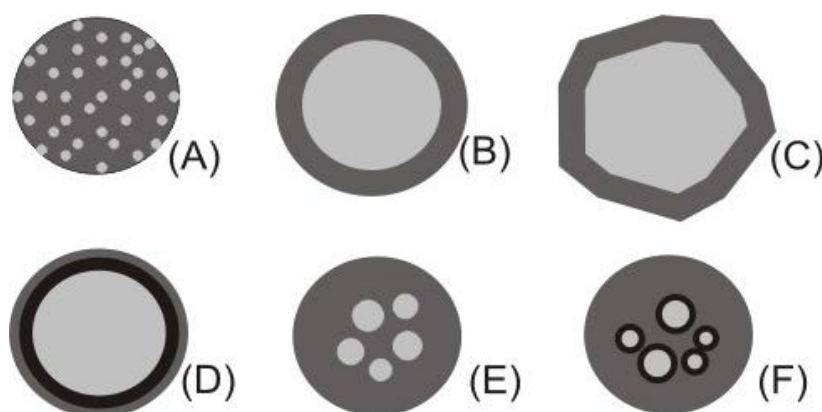
**Fonte:** Adaptado de JAFARI; ASSADPOOR; BHANDARI (2008).

As microesferas são produzidas principalmente por *spray drying*, e constituem de um sistema matricial, no qual o polímero forma uma rede tridimensional onde o material a ser microencapsulado pode estar adsorvido, incorporado ou ligado covalentemente à matriz polimérica, formando sistemas de dissolução, dispersão ou sistemas porosos. Nestes sistemas, a área central consiste em um vazio resultante da expansão das partículas durante os estágios finais da secagem (JAFARI; ASSADPOOR; BHANDARI, 2008). As microesferas podem ser divididas em homogêneas quando a substância ativa se encontra no estado molecular (dissolvido) ou heterogênea quando a substância ativa se encontra na forma de partículas (suspensão) (AFTABROUCHAD; DOELKER, 1992).

A principal diferença entre as microcápsulas e as microesferas é decorrente de uma pequena fração do material “encapsulado” que permanece exposto na superfície das microesferas, o que não ocorre na verdadeira encapsulação. Porém, o termo “encapsulação” é utilizado em seu sentido mais amplo, englobando tanto a formação de microcápsulas quanto de microesferas (AZEREDO, 2005).

As microcápsulas podem ter mais de um núcleo, ou várias paredes para um mesmo núcleo (CONSTANT; STRINGHETA, 2002). A figura 5 apresenta alguns dos principais modelos de microcápsulas.

Figura 5 - Modelos de microcápsulas. (A): matriz (microesfera); (B): microcápsula simples; (C): simples, irregular; (D): duas paredes; (E): vários núcleos; (F): agrupamento de microcápsulas.



**Fonte:** Adaptado de ARSHADY (1993); GIBBS et al. (2009).

O conceito de microcápsula surgiu com a idealização do modelo celular, onde a membrana que envolve e protege o citoplasma e demais componentes, controla a entrada e saída de material na célula. De forma similar, a microcápsula possui uma camada de um agente encapsulante o qual isola a substância ativa ou núcleo e evita a sua exposição inadequada, sendo que essa membrana se desfaz sob um determinado estímulo específico, liberando a substância no local ou momento ideal (RÉ, 2000).

### 3.3.2 Aplicações da Microencapsulação

A encapsulação consiste de um processo muito atrativo, podendo ser utilizada em ingredientes alimentícios, compostos químicos, remédios e cosméticos (FUCHS et al., 2006).

Na indústria alimentícia, os ingredientes ativos são encapsulados visando reduzir a volatilização dos aromas durante o armazenamento, a reatividade do material microencapsulado em relação aos fatores ambientais e as interações

indesejáveis com outros componentes dos alimentos; retardar as alterações de cor ou perda do valor nutricional e a separação de componentes reativos ou incompatíveis; evitar reações prematuras de um substrato; mascarar compostos de sabor indesejável; permitir a liberação controlada, e promover melhor solubilidade do núcleo e melhor incorporação em sistemas secos (DESAI; PARK, 2005; GIBBS et al., 1999; TRINDADE; PINHO; ROCHA, 2008).

A microencapsulação tem várias aplicações no setor alimentício e uma delas está na encapsulação de óleos essenciais com o intuito de prevenir a oxidação e a perda de substâncias voláteis e controlar a liberação do aroma (RÉ, 2000). Já foram realizados estudos de microencapsulação de diferentes óleos, tais como eugenol (PEREIRA, 2007), café (FRASCARELI et al., 2012), essencial de manjerição (GARCIA, 2013), essencial de laranja (ASCHERI; MARQUEZ; MARTUCCI, 2003), linhaça (CARNEIRO, 2011), essencial de capim limão (LEIMANN, 2008), essencial de orégano (ALMEIDA et al., 2013), oliva (CALVO et al., 2010), abacate (BAE; LEE, 2008), dentre outros.

### 3.3.3 Métodos de Microencapsulação

São vários os métodos de encapsulação e para escolha do mesmo, deve se levar em consideração a dependência do custo de operação, a sensibilidade do encapsulado, o tamanho desejado para a microesfera, as propriedades físicas e químicas do encapsulado e do material de parede, a aplicação do produto e o mecanismo de liberação (SHAHIDI; HAN, 1993). O método ideal de microencapsulação deve atender alguns requisitos, entre eles ser um método simples, reprodutível, rápido e fácil de transpor à escala industrial (GIUNCHEDI; CONTE, 1995).

A principal diferença entre os métodos é caracterizada pelo tipo de envolvimento ou aprisionamento do material ativo pelo agente encapsulante, e a combinação entre o material e o agente ativo que pode ser de natureza física, química ou físico-química (SUAVE et al., 2006).

Entre os métodos físicos, pode-se citar *spray drying*, *spray cooling*, pulverização em banho térmico, leiteo fluidizado, extrusão centrífuga com múltiplos orifícios, cocristalização e liofilização. Os métodos químicos consistem de inclusão

molecular e polimerização interfacial. E os métodos físico-químicos são coacervação ou separação de fases, emulsificação seguida de evaporação do solvente, pulverização em agente formador de reticulação, envolvimento lipossômico entre outros (RÉ, 1998; SANTOS; FERREIRA; GROSSO, 2000).

### 3.3.3.1 Secagem por atomização (*Spray Drying*)

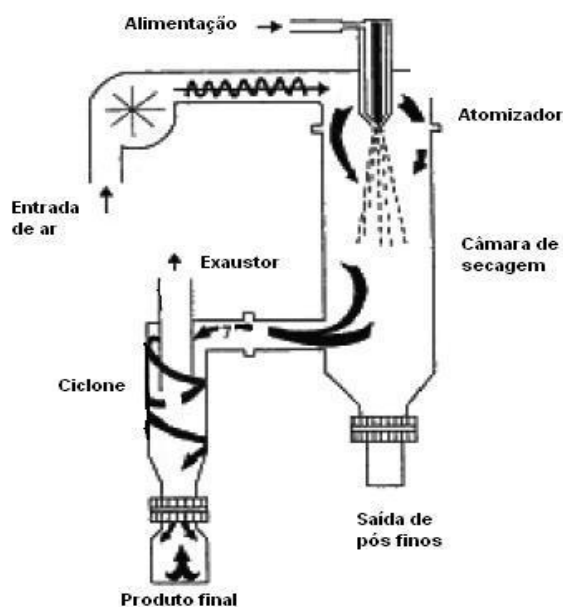
A secagem por atomização ou *spray drying* é uma técnica considerada barata, e a mais utilizada pela indústria de alimentos (JAFARI; ASSADPOOR; BHANDARI, 2008). Trata-se de um dos métodos mais antigos de encapsulação, o qual foi usado na década de 1930 para preparar os primeiros compostos de sabor encapsulados (GOUIN, 2004; SHAIDI; HAN, 1993).

*Spray drying* é um processo de pulverização e secagem de partículas líquidas (GOUIN, 2004). O material resultante pode estar apresentado de várias formas: em pó, em grânulos ou aglomerados, dependendo das propriedades físicas e químicas do material inicial, do projeto do secador e da operação em si (ANDRADE; FLORES, 2004). Essa técnica utiliza um secador denominado atomizador ou *spray dryer* (figura 6) (AZEREDO et al., 2012; SILVA, 2000).

A secagem ocorre em 3 etapas: a atomização, a desidratação e o recolhimento do pó. O líquido (solução, emulsão ou dispersão) é atomizado e pulverizado por um bico atomizador em um meio quente e seco e ao entrar em contato com o ar quente na câmara de secagem, a água das gotículas é evaporada e as pequenas partículas sólidas são formadas e recolhidas (AMERI; MAA, 2006).

O ar utilizado no *spray dryer* encontra-se sob temperaturas que variam de 160 a 230°C. No entanto, a construção da câmara de secagem e as condições de trabalho são planejadas de forma que o produto permaneça o menor tempo possível no secador, com o objetivo de evitar que o alimento sofra a influência de altas temperaturas (SILVA, 2000).

Figura 6 - Modelo de *spray dryer* de bancada.



**Fonte:** AMERI e MAA (2006); Adaptado por GARCIA (2013).

Esse método é muito utilizado na indústria alimentícia, para dar estabilidade a flavorizantes, controlar degradação/oxidação e para converter líquidos em pós (GOUIN, 2004). Também é considerado o processo mais empregado para produzir aromas secos (PEREIRA, 2007). Possui as seguintes vantagens sobre os outros métodos de microencapsulação: as propriedades e a qualidade do produto são mais eficientemente controladas; há possibilidade de grandes produções em operação contínua com equipamento simples; produção de partículas relativamente uniformes e esféricas, boa eficiência, e baixo custo do processo (JAFARI; ASSADPOOR; BHANDARI, 2008; SANTOS; FERREIRA; GROSSO, 2000).

### 3.3.4 Materiais Encapsulantes

Entre os fatores que afetam a escolha do material encapsulante, podem ser citados: as propriedades químicas e físicas do núcleo e da parede, a técnica de microencapsulação, o tipo de aplicação do produto, as propriedades desejadas, mecanismo de controle, fatores econômicos e aprovação do material pela *Food and Drug Administration* (FDA/EUA) ou pelo *European Food Safety Authority* (Europa) (AMRITA; DABUR; KAPOOR, 1999; RÉ, 2000).

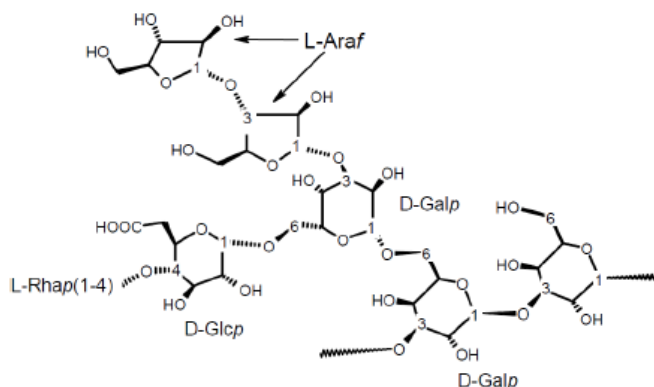
O encapsulante ideal deve ser de fácil manipulação durante o processo; apresentar baixa viscosidade em concentrações elevadas; possuir baixa higroscopicidade para auxiliar a manipulação evitando aglomeração; não ser reativo com o material a ser encapsulado; possuir as propriedades desejadas de liberação do material ativo; ter habilidade de selar e segurar o material ativo dentro da estrutura da cápsula; ser solúvel em solventes comuns; proporcionar máxima proteção ao material encapsulado contra condições adversas, como luz, pH, oxigênio e ingredientes reativos; ter habilidade para dispersar ou emulsificar e estabilizar o ingrediente encapsulado; apresentar fácil reconstituição; transformar líquidos em sólidos para uso em sistemas secos; ser econômico e não apresentar sabor desagradável se for utilizado para consumo oral (SANTOS; FERREIRA; GROSSO, 2000; SHAHIDI; HAN, 1993). Porém na prática, muitas vezes, um mesmo composto não engloba todas essas propriedades, então se utilizam misturas a fim de obter um material encapsulante com todas as características necessárias para realizar uma eficiente encapsulação (SHAHIDI; HAN, 1993).

Os encapsulantes mais utilizados na microencapsulação são gomas, carboidratos, lipídeos, proteínas, poliésteres naturais, polímeros sintéticos e algumas fontes alternativas como quitosana (SUAVE et al., 2006).

#### 3.3.4.1 Goma arábica

A goma arábica (figura 7) é um heteropolissacarídeo complexo que contém estrutura ramificada. Sua cadeia principal é formada por unidades de D-galactose, unidas por ligações glicosídicas em  $\beta$ -D-1,3, apresentando estruturas diferentes em suas cadeias laterais, como D-galactose, L-ramnose, L-arabinose e ácido D-glucurônico, as quais estão ligadas à cadeia principal por ligações  $\beta$ -1,6 (BEMILLER; WHISTLER, 1996; MCNAMEE; O'RIORDAN; O'SULLIVAN, 1998; RANDALL; PHILLIPS; WILLIAMS, 1988).

Figura 7 - Estrutura química da goma arábica.



Fonte: GUILHERME (2006).

A goma arábica é uma goma neutra ou levemente ácida extraída a partir do exudado de árvores de Acácia. Esta goma contém alta solubilidade em água e baixa viscosidade em solução, reduzindo na presença de um eletrólito e em pHs extremos, é inodora, quase insípida, e insolúvel em álcool etílico (ROCHA, 2009). Podem ser empregadas soluções com a concentração de até 50%, sendo que acima disto pode apresentar características de gel (BEMILLER; WHISTLER, 1996).

Trata-se de uma heteroglicana complexa constituída por duas frações: a primeira formada por polissacarídeos, com nenhum ou pouco material nitrogenado, correspondendo a 70% da molécula; e a segunda, apresenta maior peso molecular e uma proteína como parte integrante em sua estrutura. O total de proteína nesta fração é de cerca de 2%, podendo as frações específicas conter até 25% (BEMILLER; WHISTLER, 1996; RANDALL; PHILLIPS; WILLIAMS, 1988).

Devido à fração proteica, a goma arábica possui excelentes propriedades emulsificantes, sendo, por isso, amplamente utilizada (DICKINSON, 2003). Entretanto, tem alto custo e problemas de disponibilidade, uma vez que é produzida em regiões onde podem ocorrer variações climáticas e conflitos políticos, podendo comprometer sua oferta. Dessa forma, a busca por substitutos totais ou parciais para a goma arábica tem sido estudada (McNAMEE; O'RIORDAN; O'SULLIVAN, 1998).

É utilizada em alimentos como emulsificante e estabilizador de emulsões do tipo óleo em água; e apresenta compatibilidade com elevadas

concentrações de açúcar, sendo utilizada em confeitos que apresentam alto teor de açúcar e baixo teor de água (BEMILLER; WHISTLER, 1996).

A goma arábica é o encapsulante tradicional usado na microencapsulação por *spray drying* de óleos e flavors (CARNEIRO, 2011). Já foram realizados estudos de encapsulação de compostos lipossolúveis, tais como limoneno (KAUSHIK; ROOS, 2007), óleo de soja (MCNAMEE; O'RIORDAN; O'SULLIVAN, 1998), azeite de oliva (CALVO et al., 2010), pigmentos do grupo dos carotenoides (QV; ZENG; JIANG, 2011; RASCÓN et al., 2011; ROCHA, 2009) e *flavors* (KRISHNAN; KSHIRSAGAR; SINGHAL, 2005; YEO et al., 2005), devido à formação de uma emulsão estável e retenção dos compostos voláteis.

#### 3.3.4.2 Maltodextrinas

As maltodextrinas consistem de produtos parcialmente hidrolisados do amido formado de cadeias de D-glicose unidas por ligações  $\alpha$ -(1,4) (SHAHIDI; HAN, 1993). São produzidas por hidrólise ácida, enzimática ou ainda pela combinação de ambos os processos sobre o amido e estão disponíveis em diferentes dextroses equivalentes (DE), que indicam o nível de hidrólise do polímero de amido (GHARSALLAOUI et al., 2007).

As maltodextrinas são produtos com valores de DE menores que 20. São produtos menos higroscópicos, não apresentam doçura, e são excelentes para contribuir com a textura de sistemas alimentícios (BEMILLER; WHISTLER, 1996). Maltodextrinas de diferentes valores de DE apresentam diferentes propriedades físico-químicas como solubilidade, temperatura de congelamento e viscosidade (KLINKESORN et al., 2004).

Como vantagens, a maltodextrina apresenta boa relação custo/efetividade, capacidade de formar soluções concentradas com baixa viscosidade, boa solubilidade, é insípida e inodora. Porém, não possui propriedade emulsificante e, por isso, deve ser utilizada junto com outros materiais que possuam esta propriedade (MADENE et al., 2006) como goma arábica (BHANDARI et al., 1992; LIU et al., 2000), amidos modificados (SOOTTITANTAWAT et al., 2003) e com proteínas (HOGAN et al., 2001; HOGAN O'RIORDAN; O'SULLIVAN, 2003), com o

objetivo de aumentar a eficiência e reduzir custos da microencapsulação por *spray drying* (JAFARI; ASSADPOOR; BHANDARI, 2008).

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 MATERIAIS E PREPARO DA AMOSTRA

As sementes de uva juntamente com o bagaço das cultivares Isabel e Bordô (safra 2014/2015) foram fornecidas pela Coaviti (Cooperativa Agroindustrial dos Viticultores, Marialva, PR, Brasil), sendo oriundas de Rolândia, PR, Brasil. As sementes foram separadas manualmente do bagaço, lavadas com água corrente e secas em estufa com renovação de ar (modelo TE- 394/2, Tecnal, Piracicaba, Brasil) a 60 °C por 6 h. Após a limpeza e secagem, as sementes foram armazenadas em frascos herméticos cobertos por papel alumínio em freezer doméstico a -22°C. Previamente às análises, as sementes foram moídas em um moinho de sementes (modelo A11, Ika, Staufen, Alemanha) durante 20 s e peneiradas a fim de padronizar o tamanho das partículas para 0,841 mm (20 mesh). A goma arábica (Instantgum BB) foi fornecida pela empresa Nexira Brasil (São Paulo, Brasil), e a maltodextrina 10 DE (Mor-Rex 1910) pela empresa Ingredion Brasil (Rio de Janeiro, Brasil). Todos os reagentes utilizados eram de pureza analítica.

### 4.2 MÉTODOS

#### 4.2.1 Análise Centesimal das Sementes de Uva

A determinação de umidade, cinzas, lipídeos e proteínas foram realizadas segundo a metodologia descrita por AOAC (1997). O conteúdo de carboidratos foi determinado por diferença: foi calculado a média da porcentagem de água, proteínas, lipídeos e cinzas e o restante foi considerado carboidratos. Todas as determinações foram realizadas em triplicatas.

#### 4.2.2 Planejamento Experimental

Foi realizado um delineamento composto central rotacional (DCCR), com três repetições no ponto central (0) e quatro pontos axiais (-1,41, +1,41) para avaliar o rendimento do óleo de sementes de uva e o conteúdo de radicais livres.

Foram avaliados os efeitos das variáveis independentes: temperatura (°C) e amplitude da onda ultrassônica ( $\mu\text{m}$ ) sobre o rendimento de extração do óleo e conteúdo de radicais livres (variáveis dependentes).

Foram realizados 11 experimentos aleatorizados, os quais podem ser visualizados na tabela 2. Os valores reais e os níveis das variáveis estudadas estão descritos na tabela 3.

Tabela 2 – Matriz do delineamento composto central rotacional (DCCR) com as variáveis codificadas.

Experimentos	Variáveis Independentes	
	Temperatura	Amplitude
1	- 1	- 1
2	+ 1	- 1
3	- 1	+ 1
4	+ 1	+ 1
4	- 1,41	0
6	+ 1,41	0
7	0	- 1,41
8	0	+ 1,41
9	0	0
10	0	0
11	0	0

Tabela 3 – Valores reais e níveis dos fatores estudados do delineamento composto central rotacional (DCCR).

Variáveis	Níveis				
	- 1,41	- 1	0	+ 1	+ 1,41
A - Temperatura (°C)	15	18	25	32	35
B - Amplitude ( $\mu\text{m}$ )	24	34,8	60	85,2	96

Para elaboração dos modelos matemáticos, foi utilizado o software Statistica 10 (Stasoft, Tulsa, EUA), com a finalidade de assegurar a validade dos coeficientes dentro de um nível de confiança de 90%. Após a análise estatística dos coeficientes, foi realizada análise de variância (ANOVA), avaliando o coeficiente de

determinação ( $R^2$ ) e realizando o teste F, para verificar se cada modelo apresentava um ajuste adequado dos dados experimentais.

#### 4.2.3 Extração Assistida por Ultrassom do Óleo de Sementes de Uva

A extração assistida por ultrassom do óleo foi realizada em sonicador (modelo Q700, QSONICA, Newtown, EUA) conforme metodologia descrita por Da Porto, Porretto e Decorti (2013). 18,75 g de sementes de uva foram misturados com 150 mL de hexano (proporção líquido-sólido de 8:1, v/m) em um béquer encamisado. O controle da temperatura ( $\pm 2^\circ\text{C}$ ) foi realizado através de um banho termostaticado com bomba de circulação externa (modelo TE-2005, Tecnal, Piracicaba, Brasil) acoplado ao béquer encamisado. A sonda trabalhou em frequência constante de 20 kHz e tempo de 30 minutos. As variáveis estudadas foram amplitude e temperatura, as quais estão apresentadas na tabela 3. Depois de ser extraída, a mistura foi filtrada a vácuo através de filtros de papel e o solvente foi removido do óleo extraído com um evaporador rotativo (7 rpm) a vácuo (modelo MA 120, Marconi, Piracicaba, Brasil) a  $50^\circ\text{C}$  por 15 minutos (DA PORTO; PORRETO; DECORTI, 2013). A massa do óleo extraído foi pesada e o rendimento do processo calculado como sendo a razão entre as massas de óleo extraído por sonicação e a total determinada por Soxhlet de acordo com a AOAC, 1997.

#### 4.2.4 Conteúdo de Radicais Livres

O conteúdo de radicais livres foi determinado por ressonância paramagnética eletrônica (EPR) através do método indireto de captura utilizando a armadilha de spin (*spin trap*),  $\alpha$ -fenil-N-terc-butyl nitron (PBN) (pureza > 97%, Sigma-Aldrich, Saint Louis, EUA). 1 mg de PBN foi dissolvido em 1 g de óleo de sementes de uva em banho de ultrassom (modelo USC 1450 A, Unique, Indaiatuba, Brasil) durante 15 min. A solução foi armazenada no escuro à temperatura ambiente ( $25^\circ\text{C}$ ) durante 1, 7 e 30 dias. Passado o tempo de incubação, aproximadamente 80  $\mu\text{L}$  da solução foram adicionados a tubos de quartzo de 3 mm e submetido a leitura em temperatura ambiente. As medidas de EPR foram realizadas em espectrômetro (modelo JES-PE-3X, JEOL, Tóquio, Japão) operando em banda-X (9,3 GHz).

Utilizou-se como padrão o manganês ( $Mn^{2+}$ ).

#### 4.2.5 Caracterização do Óleo de Sementes de Uva Extraído na Condição Otimizada

O óleo obtido na condição ótima do planejamento experimental foi caracterizado em termos de ácidos graxos, conteúdo de compostos fenólicos, atividade antioxidante pelos métodos DPPH e FRAP e oxidação lipídica. Essas análises também foram realizadas em óleo extraído sem aplicação do ultrassom, somente com agitação magnética (OAM): 18,75 g de sementes de uva foram misturados com 150 mL de hexano (proporção 8:1, v/m) em um béquer com controle de temperatura ( $\pm 2^\circ C$ ) por banho termostatizado (modelo TE-2005, Tecnal, Piracicaba, Brasil). Utilizou-se 7 rpm na mesma temperatura otimizada do ultrassom ( $15^\circ C$ ) durante 30 minutos. Após extração, a mistura foi filtrada a vácuo com filtro de papel e o solvente foi removido do óleo extraído com um evaporador rotativo (7 rpm) a vácuo (modelo MA 120, Marconi, Piracicaba, Brasil) a  $50^\circ C$  por 15 min. A massa do óleo extraído foi pesada e o rendimento do processo foi calculado como sendo a razão entre as massas de óleo extraído com agitação e o total presente determinado inicialmente na semente de uva pelo método de Soxhlet de acordo com a AOAC, 1997.

##### 4.2.5.1 Ácidos graxos

A hidrólise e transesterificação dos ácidos graxos dos óleos foram realizadas segundo o método 5509 da ISO (1978). Em 150 mg de matéria graxa, foram adicionados 1,5 mL de n-heptano e agitado rigorosamente até completa solubilização dos lipídeos. Em seguida, foram adicionados 1,5 mL de solução de NaOH/Metanol 2M e novamente submetido à agitação. A solução permaneceu em repouso até completa separação das fases. A fase superior contendo n-heptano e ésteres metílicos de ácidos graxos foi extraída com auxílio de um pipetador automático e transferida para um vial âmbar e armazenada a  $-18^\circ C$  até o momento da análise. Ésteres metílicos de ácidos graxos foram analisados utilizando um cromatógrafo gasoso (modelo 17A, Shimadzu, Quioto, Japão), equipado com detector de ionização de chama e coluna capilar (100m x 0,25 mm) com 0,25  $\mu m$  de

cianopropilpolisiloxano CP SII 88. A rampa de temperatura de coluna foi programada para: 65°C por 15 minutos; 10°C.min<sup>-1</sup> até 165°C e mantido por 2 minutos; 4°C.min<sup>-1</sup> até 185°C e mantido por 8 minutos; 4°C.min<sup>-1</sup> até 235°C e mantido por 5 minutos. O detector e injetor foram mantidos a 260°C, utilizando Split de 1/100. O fluxo de gases foi de 1,2 mL.min<sup>-1</sup> para o gás de arraste (N<sub>2</sub>), 30 mL.min<sup>-1</sup> para o gás auxiliar (H<sub>2</sub>), 30 e 300 mL.min<sup>-1</sup> para os gases da chama, H<sub>2</sub> e ar sintético, respectivamente. A identificação dos ácidos graxos foi baseada em padrões de ésteres metílicos de ácidos graxos (Sigma). A área dos picos foi determinada por integrador acoplado ao cromatógrafo gasoso. Os resultados foram expressos como porcentagens relativas dos ácidos graxos identificados e os ensaios foram realizados em duplicata.

#### 4.2.5.2 Compostos fenólicos

A extração dos compostos fenólicos foi realizada de acordo com o método apresentado por Parry et al. (2005), com modificações descritas por Bail et al. (2008) usando 1,0 g de óleo. Para a extração de compostos fenólicos do óleo, 3 mL de solução 90:10 de metanol: água foram adicionados, seguido por agitação durante 4 minutos e centrifugação em centrífuga refrigerada (Eppendorf 5804 R, Hamburgo, Alemanha) a 4°C por 5 minutos a 3000 g. O procedimento de extração foi efetuado três vezes para cada óleo. Todos os extratos metanólicos foram combinados e concentrados até à secura. Antes da medição de fenóis totais, a matéria seca foi dissolvida em 1 mL de solução de 10:90 metanol:água. A solução foi armazenada no escuro a -22°C até a análise. O conteúdo de compostos fenólicos foi analisado de acordo com o método do reagente Folin-Ciocalteu (SINGLETON; ORTHOFER; LAMUELA- RAVENTOS, 1999; SINGLETON; ROSSI, 1965). 200 µL dos extratos foram colocados num tubo juntamente com 4 mL de água e 0,5 mL de Folin-Ciocalteu. Após, 5 minutos, 1,0 mL de solução de carbonato de sódio 10% foi adicionado, misturado e deixado em repouso durante 60 minutos. Posteriormente, a absorção foi medida a 765 nm em espectrofotômetro UV-visível (modelo Libra S22, Biochrom, Cambridge, Reino Unido). Os resultados foram correlacionados com uma curva padrão de ácido gálico utilizando concentrações de 10, 15, 20, 25 e 30 mg de ácido gálico. Os ensaios foram realizados em duplicata.

#### 4.2.5.3 Atividade antioxidante

A determinação da atividade antioxidante por DPPH foi realizada conforme descrito por Tuberoso et al. (2007) com algumas modificações. Foram misturados 20 µL de óleo de sementes de uva com 3 mL de solução de DPPH dissolvido em acetato de etila (0,07 mM). O branco constituía-se de acetato de etila. As leituras espectrofotométricas foram efetuadas após 1 hora de incubação, no escuro e à temperatura ambiente, a 517 nm em espectrofotômetro UV-visível (modelo Libra S22, Biochrom, Cambridge, Reino Unido). Foi preparada uma curva de calibração de Trolox feita com soluções variando a concentração de 0,1 – 3,00 mM. Os ensaios foram realizados em duplicata.

Para a atividade antioxidante pelo método FRAP foi realizada preparação de extrato conforme descrito por Tuberoso et al. (2007). 500 µL de óleo de sementes de uva foram misturados com 500 µL de metanol, agitado por 10 s, acondicionados em agitador rotativo por 30 minutos e, posteriormente agitados por 10 s. Após, foi realizada centrifugação em centrífuga refrigerada (Eppendorf 5804 R, Hamburgo, Alemanha) a 4°C a 700g por 10 minutos e separou-se a fase hidrofílica (FH) e a fase lipofílica (FL). O método espectrofotométrico FRAP foi realizado de acordo com Benzie e Strain (1996) com algumas modificações. O reagente FRAP foi composto por 2,5 mL de uma solução de 2,4,6 –Tris (2-piridil)-s-triazine (TPTZ) 10 mmol/L em ácido clorídrico (HCl) 40 mmol/L, 2,5 mL de cloreto de ferro hexahidratado ( $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) 20 mmol/L e 25 mL de tampão acetato 0,1 mol/L (pH 3,6). Em seguida, foi incubado a 37 °C durante 30 minutos em banho maria (modelo MA 127, Marconi, Piracicaba, Brasil). Para a reação, 30 µL de extrato metanólico do óleo (fase FH) e 70 µL de água destilada foram misturados com 900 µL de reagente FRAP. A reação ocorreu no escuro mantendo a temperatura em 37°C durante 30 minutos. As leituras de absorbância foram realizadas a 595 nm em espectrofotômetro UV-visível (modelo Libra S22, Biochrom, Cambridge, Reino Unido). Os resultados foram correlacionados com uma curva padrão de Trolox feita com soluções variando a concentração de 0,05 - 0,6 mM. Os ensaios foram realizados em duplicata.

#### 4.2.5.4 Índice de acidez, iodo e peróxido

A determinação de acidez foi realizada em duplicata através do método descrito por Instituto Adolfo Lutz (2008). Este procedimento consiste em misturar o óleo com solução de éter-alcool neutra e indicador fenolftaleína e posterior titulação com solução de hidróxido de sódio. A determinação de índice de peróxido foi realizada em duplicata de acordo com o método da AOCS (2004), conforme descrito por Instituto Adolfo Lutz (2008). O procedimento consiste em misturar a amostra primeiramente com solução de ácido acético-clorofórmio 3:2 e solução saturada de iodeto de potássio. Após 1 minuto ao abrigo da luz, acrescenta-se água e titula-se com solução de tiosulfato de sódio e solução de amido indicadora. A determinação de índice de iodo pelo método de Wijs foi realizada em duplicata de acordo com o método da AOCS (2004), conforme descrito por Instituto Adolfo Lutz (2008). O procedimento consiste em misturar a amostra com tetracloreto de carbono e solução de Wijs. Após homogeneização e armazenamento ao abrigo da luz por 30 minutos foi realizada a adição de solução de iodeto de potássio e água destilada. Posteriormente titulou-se com solução de tiosulfato de sódio e solução indicadora de amido 1%. As análises foram determinadas em óleo de sementes de uva estocados a temperatura ambiente e na ausência da luz durante 1, 7 e 30 dias.

#### 4.2.6 Formação das Emulsões e Avaliação das Emulsões

Para a formação das emulsões de óleo com material de parede, a concentração de sólidos totais (material de parede + óleo) nas emulsões foi fixada em 30% (BARANAUSKIENÉ et al., 2007; PARAMITA et al., 2010) e o teor de óleo/sólidos foi 10% (ASCHERI; MARQUEZ; MARTUCCI, 2003). O material de parede foi adicionado em água destilada a 40°C e a mistura foi mantida sob agitação, até sua completa dissolução. Após as soluções atingirem a temperatura ambiente, o óleo foi adicionado e as emulsões foram preparadas utilizando um homogeneizador Ultra-Turrax (modelo MA 102, Marconi, Piracicaba, Brasil) operando a 16.000 rpm, durante 5 minutos. Os materiais de parede utilizados foram (a) goma arábica e (b) maltodextrina + goma arábica (50:50).

#### 4.2.6.1 Avaliação da estabilidade

Após o preparo das emulsões, alíquotas de 10 mL de cada amostra foram transferidas para provetas graduadas de 25 mL, as quais foram cobertas com filme de PVC e deixadas sobre a bancada à temperatura ambiente por 24 horas. A avaliação da estabilidade foi realizada observando-se a ocorrência ou não da separação de fase das emulsões, 4 horas e 24 horas após o processo de emulsificação (FRASCARELI et al., 2012).

#### 4.2.6.2 Diâmetro médio das gotas

A determinação do diâmetro médio das gotas das emulsões foi avaliada através de microscopia ótica. Após a formação das emulsões, alíquotas das amostras foram colocadas em lâminas, cobertas com lamínulas e observadas em microscópio ótico Leica DMLS (Wetzlar, Alemanha). A captação de imagens foi realizada por câmera digital Motican 2500 UBS 2.0 utilizando uma objetiva de 40x. Após sequestro das imagens, o diâmetro de 500 gotas de cada amostra foi medido utilizando-se o *software* Motic Images Plus 2.0. Considerando as gotas da emulsão perfeitamente esféricas, o diâmetro médio superficial das gotas (diâmetro médio de Sauter -  $D_{32}$ ) foi calculado utilizando-se a equação 2.

$$D_{32} = \frac{\sum_{i=1}^n z_i d_i^3}{\sum_{i=1}^n z_i d_i^2} \quad (2)$$

Onde  $z_i$  é o número de gotas com diâmetro  $d_i$ .

#### 4.2.7 Microencapsulação por *Spray Drying* e Avaliação das Microesferas

Após o preparo das emulsões com diferentes materiais de parede e proporções, foi realizada a secagem e microencapsulação do óleo de sementes de uva por *spray dryer* laboratorial (modelo SD-05, LabPlant, Chelmsford, Inglaterra). As condições do processo foram diâmetro do bico de 0,7 mm; temperatura do ar de entrada de 180°C ( $\pm 3^\circ\text{C}$ ); temperatura do ar de saída de 105°C ( $\pm 8^\circ\text{C}$ ); vazão de

alimentação de 350 mL/h; fluxo de ar de 73 m<sup>3</sup>/h ( $\pm 3$  m<sup>3</sup>/h) e pressão do ar comprimido de 1,8 bar.

As microesferas obtidas foram avaliadas quanto ao teor de óleo superficial, óleo total, eficiência de encapsulação, retenção de óleo, compostos fenólicos, atividade antioxidante, índice de peróxido, ácidos graxos, umidade, atividade de água, densidade aparente, tamanho de partículas, área superficial, *span* e morfologia.

#### 4.2.7.1 Extração do óleo das microesferas

Previamente às análises de teor de óleo total, conteúdo de compostos fenólicos, atividade antioxidante e ácidos graxos, foi realizada a extração do óleo das microesferas. Para isso, amostras de pó (0,5 ou 2,5 g) foram dissolvidas em 4 mL de água destilada a 50°C, e agitadas por 10 min a 500 rpm em agitador magnético. Em seguida, foram adicionados 20 ou 50 mL de hexano:isopropanol (3:1) e agitados por 10 min a 500 rpm em agitador magnético. A solução foi centrifugada a 5000 rpm a 4°C por 10 minutos (Eppendorf 5804 R, Hamburgo, Alemanha), coletou-se a fase de sobrenadante e evaporou-se os solventes a 30°C em evaporador rotativo (7 rpm) a vácuo (modelo MA 120, Marconi, Piracicaba, Brasil) até peso constante.

#### 4.2.7.2 Teor de óleo, eficiência de encapsulação e retenção de óleo

Após a extração do óleo das microesferas conforme item 4.2.7.1, o conteúdo de óleo total nas microesferas (TO, %) foi determinado como sendo a razão entre a massa do óleo extraído e a massa do pó. O teor de óleo superficial (SO, %) foi determinado de acordo com o método descrito por Tan, Chan e Heng (2005) com modificações de Bae e Lee (2008). 15 mL de hexano foram adicionados a 1,5 g de pó e agitado manualmente para a extração de óleo livre, durante 2 min, à temperatura ambiente. A mistura de solvente foi filtrada e o retido no filtro foi lavado três vezes com 20 mL de hexano. Em seguida, o solvente foi evaporado à temperatura ambiente e depois a 60 °C em evaporador rotativo (7 rpm) a vácuo (modelo MA 120, Marconi, Piracicaba, Brasil) até peso constante. O óleo não-

encapsulado (óleo superficial) foi determinado como sendo a relação entre a massa do óleo superficial e o pó (JAFARI; ASSADPOOR; BHANDARI, 2008).

A eficiência de encapsulação (EE) foi calculada a partir da equação 3.

$$EE = \left( \frac{TO - SO}{TO} \right) \times 100 \quad (3)$$

A retenção de óleo (RO) foi calculada usando a equação (4) (HUYNH et al., 2008).

$$RO = \frac{(\text{Óleo total})}{\text{Óleo inicial}} \times 100 \quad (4)$$

Sendo Óleo Total, a quantidade de óleo total obtido analiticamente nas microesferas, e Óleo Inicial, a quantidade inicial de óleo adicionada à emulsão antes da secagem.

#### 4.2.7.3 Compostos fenólicos

Para a análise das microesferas, o óleo foi extraído conforme item 4.2.7.1, e dissolvido em 1 mL de solução de metanol:água (10:90 v/v). O conteúdo de compostos fenólicos foi analisado de acordo com o método do reagente Folin-Ciocalteu (SINGLETON; ORTHOFER; LAMUELA-RAVENTOS, 1999; SINGLETON; ROSSI, 1965). 200 µL dos extratos foram colocados num tubo juntamente com 2 mL de água e 0,5 mL de Folin-Ciocalteu. Após 5 minutos, 1,0 mL de solução de carbonato de sódio 10% foi adicionado, misturado e deixado em repouso durante 60 minutos. Posteriormente, a absorção foi medida a 765 nm em espectrofotômetro UV-visível (modelo Libra S22, Biochrom, Cambridge Reino Unido). Os resultados foram correlacionados com uma curva padrão de ácido gálico utilizando concentrações de 6, 9, 11, 15 e 17 mg de ácido gálico. Os ensaios foram realizados em duplicata.

#### 4.2.7.4 Atividade antioxidante

A determinação da atividade antioxidante por DPPH foi realizada conforme descrito por Tuberoso et al. (2007) com algumas modificações. Para a análise das microesferas, foi feita previamente a extração do óleo conforme item 4.2.7.1. O óleo extraído das microesferas foi dissolvido em 3 mL de solução de DPPH (Sigma-Aldrich, Saint Louis, EUA) em acetato de etila (0,07 mM). As leituras espectrofotométricas foram efetuadas após 1 hora de incubação, no escuro e à temperatura ambiente, a 517 nm em espectrofotômetro UV-visível (modelo Libra S22, Biochrom, Cambridge, Reino Unido). Foi preparada uma curva de calibração de Trolox feita com soluções variando a concentração de 0,1 – 3,0 mM. Os ensaios foram realizados em duplicata.

Para a atividade antioxidante pelo método FRAP extraiu-se o óleo da microesfera conforme item 4.2.7.1 e em seguida, adicionou-se 500 µL de metanol ao óleo. O método espectrofotométrico FRAP foi realizado de acordo com Benzie e Strain (1996) com algumas modificações. O reagente FRAP foi composto por 2,5 mL de uma solução de 2,4,6 –Tris (2-piridil)-s-triazine (TPTZ) 10 mmol/L em ácido clorídrico (HCl) 40 mmol/L, 2,5 mL de cloreto de ferro hexahidratado ( $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) 20 mmol/L e 25 mL de tampão acetato 0,1 mol/L (pH 3,6). Em seguida, foi incubado a 37 °C durante 30 minutos em banho maria (modelo MA 127, Marconi, Piracicaba, Brasil). Para a reação, 30 µL de extrato metanólico do óleo e 70 µL de água destilada foram misturados com 900 µL de reagente FRAP. A reação ocorreu no escuro mantendo a temperatura em 37°C durante 30 minutos. As leituras de absorvância foram realizadas a 595 nm em espectrofotômetro UV-visível (modelo Libra S22, Biochrom, Cambridge, Reino Unido). Os resultados foram correlacionados com uma curva padrão de Trolox feita com soluções variando a concentração de 0,1 - 0,6 mM. Os ensaios foram realizados em duplicata.

#### 4.2.7.5 Ácidos graxos

Primeiramente foi realizada extração do óleo da microesfera conforme item 4.2.7.1. A hidrólise e transesterificação dos ácidos graxos foram

realizadas segundo o método 5509 da ISO (1978) e a análise foi realizada conforme descrita no item 4.2.5.1.

#### 4.2.7.6 Índice de peróxido

A extração do óleo para determinação do índice de peróxido foi realizada segundo metodologia proposta por Partanen et al. (2008), com algumas modificações. 0,5 g de pó foi misturado com 5 mL de água destilada (40°C) e agitado durante 5 minutos. Uma porção de 400 µL foi retirada e agitada durante 10 segundos com 1,5 mL de iso-octano/ isopropanol (2:1) para extração do óleo. Em seguida, as fases foram separadas por centrifugação a 2400 rpm por 5 minutos (Eppendorf 5804 R, Hamburgo, Alemanha).

A determinação do índice de peróxidos foi realizada espectrofotometricamente de acordo com o método padrão IDF 74A:1991. Para determinar o índice de peróxidos no óleo sem microencapsular uma porção de 0,05g do óleo foi pesada e do óleo extraído da microesfera uma alíquota de 400 µL do meio de extração foi adicionada a 9,6 mL de uma solução de clorofórmio/metanol (7:3). Para a formação de cor, foram adicionados 50 µL de soluções de cloreto de ferro (II) e 50 µL de tiocianato de amônia. A amostra foi agitada, mantida em repouso, no escuro, por 5 minutos e então foi medida a absorbância a 500 nm em um espectrofotômetro UV-visível (modelo Libra S22, Biochrom, Cambridge, Reino Unido). Os resultados foram correlacionados com uma curva padrão de 1 a 20 µg de Fe<sup>+3</sup> (SHANTHA; DECKER, 1994).

#### 4.2.7.7 Umidade e atividade de água das microesferas

A umidade das microesferas foi determinada gravimetricamente, por secagem em estufa a 105° C por 6h. A análise foi feita em duplicata usando 1 g de amostra (AOAC, 1997). A atividade de água foi realizada em triplicata e medida em um higrômetro digital Aqualab 4 TEV (Decagon, Pullman, EUA) a 25°C.

#### 4.2.7.8 Densidade aparente, distribuição de tamanho das partículas, área superficial e *span*

A densidade aparente das partículas foi determinada através da medida do volume ocupado por 2 g da amostra em pó em uma proveta graduada de 25 mL em duplicata (GOULA; ADAMOPOULOS, 2004).

A distribuição de tamanho das partículas, a área superficial e o *span* das microesferas foram determinados em um analisador de tamanho de partículas por difração a laser (Laser Scattering Spectrometer Mastersizer, modelo 2000, Malvern, Reino Unido). O diâmetro médio foi determinado baseando-se no diâmetro médio de uma esfera de mesmo volume (diâmetro de De Brouckere  $D_{43}$  - equação 5). Para esta análise, uma pequena quantidade da amostra foi dispersa em álcool etílico (99,5 %) e submetida a 2 leituras em triplicata.

$$D_{43} = \frac{\sum_{i=1}^n z_i d_i^4}{\sum_{i=1}^n z_i d_i^3} \quad (5)$$

Onde  $z_i$  é o número de partículas de diâmetro  $d_i$ .

#### 4.2.7.9 Morfologia

O estudo da morfologia das partículas foi realizado através da microscopia eletrônica de varredura (MEV). As amostras foram fixadas em porta espécimens metálicos (stubs), com uma fita de carbono dupla face. Em seguida, foram metalizadas com uma liga de ouro com grau de pureza de 99,6%, em um metalizador (Sputter Coater SCD 050 BAL-TEC) a uma taxa de recobrimento de 0,51 Å/s, por 98 segundos, em voltagem de 40 mA, e  $5 \times 10^{-1}$  mbar. As amostras foram observadas em um microscópio eletrônico de varredura (FEI Quanta 200). A aquisição das imagens foi realizada pelo software XTM 2001 Fei company.

#### 4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para avaliar os resultados foi utilizado o software Statistica 10 (Stasoft, Tulsa, EUA). Os dados das variáveis foram submetidos à análise estatística de variância e ao teste de Tukey a 5 % de significância.

## REFERÊNCIAS

- ABIDI, S. L. Chromatographic analysis of tocol-derived lipid antioxidants. **Journal of Chromatography A**, v.881, p.197-216, 2000.
- AFONSO, J.P.V. **Valorização de extractos de graminha de uva: óleo e procianidinas**. 2008. 79f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Departamento de Química. Universidade de Aveiro. Aveiro, 2008.
- AFTABROUCHAD, C.; DOELKER, E. Preparation methods for biodegradable microparticles loaded with water-soluble drugs. **STP Pharma Science**, v. 2, p. 365-380, 1992.
- AHMED, M. L.; DAUN, J. K.; PRZYBYLSKI, R. FT-IR based methodology for quantitation of total tocopherols, tocotrienols and plastochromanol-8 in vegetable oils. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.18, p.359-364, 2005.
- ALMEIDA, A. P.; RODRÍGUEZ-ROJO, S.; SERRA, A. T.; VILA-REAL, H.; SIMPLICIO, A. L.; DELGADILHO, I.; DA COSTA, S. B.; DA COSTA, L. B.; NOGUEIRA, I. D.; DUARTE, C. M. M. Microencapsulation of oregano essential oil in starch-based materials using supercritical fluid technology. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v.20, p.140–145, 2013.
- ALMEIDA-DORIA, R.F.; REGITANO D'ARCE, M.A.B. Antioxidant activity of rosemary and oregano ethanol extracts in soybean oil under thermal oxidation. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.20, n.2, p.197-203, 2000.
- AMERICAN OIL CHEMISTS SOCIETY – AOCS - **Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists Society**. Washington, 2004.
- AMERI, M.; MAA, Y. Spray-drying of biopharmaceuticals: stability and process considerations. **Drying Technology**, v. 24, n.6, p. 763-768, 2006.
- AMRITA, K.; DABUR, R.S.; KAPOOR, C.M. Application of microencapsulation technology in dairy industry. **Indian Food Industry**, v. 18, p. 57-64, 1999.
- ANDRADE, I.; FLORES, H. Optimization of spray drying of roselle extract (*Hibiscus sabdariffa* L.). In: **Drying 2004** – Proceedings of the 14<sup>th</sup> International Drying Symposium (IDS 2004). São Paulo, 2004. v.A, p. 597-604.
- AOAC INTERNATIONAL. **Official methods of analysis**. 16<sup>a</sup> ed., 3<sup>a</sup> rev. Gaithersburg: Published by AOAC International, v.2, cap. 32, p.1-43, 1997.
- AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHMIDELL, W.; LIMA, U. de A. **Biotecnologia industrial**. São Paulo: Blucher, v. 4, 2001.
- ARAIN, M. A.; QADEER, A. A. Systematic Review on “Vitamin E and Prevention of Colorectal Cancer”. **Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.23, n.2, p. 125-130, 2010.

- ARUOMA, O. I. Free radicals, oxidative stress and antioxidants in human health and disease. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v.75, n.2, p.199-212, 1998.
- ASCHERI, D. P.R.; MARQUEZ, M. O.M.; MARTUCCI, E. T. Microencapsulação de óleo essencial de laranja: Seleção de material de parede. **Ciência e tecnologia de Alimentos**, v.23, p.1-6, 2003.
- ARSHADY, R. Microcapsules for food. **Journal of Microencapsulation**, v.10, p.413-435, 1993.
- ARVANITTOYANNIS, I. S.; VARZAKAS., T.H. Fruit/Fruit juice waste management: treatment methods and potential uses of treated waste. In: ARVANITTOYANNIS, I. S. **Waste Management for the food industries**. Amsterdam: Academic Press, p. 579-628, 2008.
- AZEREDO, H.M.C. Encapsulação: aplicação a tecnologia de alimentos. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 16, n. 1, p. 89-97, 2005.
- AZEREDO, H. M. C.; BRITO, E. S.; BRUNO, L. M.; PINTO, G. A. S. Princípios dos Métodos de conservação de alimentos. In: AZEREDO, H. M. C. (2ªEd). **Fundamentos de Estabilidade de Alimentos**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2012, p.153-155.
- BABAEI, R.; JABBARI, A.; YAMINI, Y. Solid–liquid extraction of fatty acids of some variety of Iranian rice in closed vessel in the absence and presence of ultrasonic waves. **Asian Journal of Chemistry**, v. 18, p. 57–64, 2006.
- BAE, E. K.; LEE, S. J. Microencapsulation of avocado oil by spray drying using whey protein and maltodextrin. **Journal of Microencapsulation**, v. 25, n.8, p.549–560, 2008.
- BAGGIO, J. **Avaliação dos resíduos (casca e pó orgânico) de café (coffe arabica I.) como provável fonte de substâncias bioativas**. 2006. 77 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Programa de Pós-graduação em Ciência dos Alimentos. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2006.
- BAIL, S.; STUEBIGER, G.; KRIST, S.; UNTERWEGER, H.; BUCHBAUER, G. Characterisation of various grape seed oils by volatile compounds, triacylglycerol composition, total phenols and antioxidant capacity. **Food Chemistry**, v.108, p.1122–1132, 2008.
- BANNI, S. Conjugated linoleic acid metabolism. **Current Opinion in Lipidology**, v. 13, p. 261-266, 2002.
- BARANAUSKIENÉ, R.; BYLAITE, E.; ZUKAUSKAITE, J.; VENSKUTONIS, R. Flavour retention of peppermint (*Mentha piperita* L.) essential oil spray-dried in modified starches during encapsulation and storage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 3027 – 3036, 2007.
- BARBOZA, J.C.S.; SERRA, A. A. Ultrassom: influência do ultrassom na química. **Química Nova**, v. 15, nº 4, p. 302-316, 1992.

- BARONI, D. B. **Desenvolvimento de técnica ultra sônica para medida de porosidade em pastilhas de UO<sub>2</sub>**. 2008. 110f. Dissertação (Mestrado em Ciências e Engenharia Nuclear). Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia Nucleares. Instituto de Engenharia Nuclear da Comissão Nacional de Energia Nuclear, CNEN/IEN. Rio de Janeiro, 2008.
- BATISTA, E. C.S.; COSTA, A. G. V.; PINHEIRO-SANT'ANA, H. M. Adding vitamin E to foods: implications for the foods and for human health. **Revista de Nutrição**, v.20, n.5, p.525-535, set-out 2007.
- BAYDAR, N.; OZKAN, O.; ÇETIN, E. Characterization of grape seed and pomace oil extracts. **Grasas Y Aceites**, v.58, p. 29-33, 2007.
- BECKMAN, K. B.; AMES, B. N. The free teory of aging matures. **Physiological Reviews**, v. 78, n.2, p.547-58, 1998.
- BEER, D.; JOUBERT, E.; GELDERBLOM, C.A.; MANLEY, M. Antioxidant activity of South African red and white cultivar wines: Free radical scavenging. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 902-909, 2003.
- BEMILLER, J. N.; WHISTLER, R. L. Carbohydrates. In: FENNEMA, O.R. **Food Chemistry**, 3 ed. Cap.4, p.157-224. 1996.
- BENAVENTE, G. O.; CASTILLO, J.; MARIN, F. R.; ORTUNO, A.; DEL RIO, J. Uses and properties of citrus flavonoids. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.45, n.12, p.4505–4515, 1997.
- BENEDITO, J.; MULET, A.; VELASCO, J.; DOBARGANES, M. C. Ultrasonic Assessment of Oil Quality during Frying. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, p.4531-4536, 2002.
- BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, p.70–76, 1996.
- BHANDARI, B. R.; DUMOULIN, E. D.; RICHARD, H. M. J.; NOLEAU, I.; LEBERT, A. M. Flavor Encapsulation by spray drying – application to citral and linalyl acetate. **Journal of Food Science**, v.57, n.1, p.217-221. 1992.
- BIANCHI, M. L. P.; ANTUNES, L. M. G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista de Nutrição**, v. 12, n.2, p. 123-130, 1999.
- BLUM, S.; VARDI, M.; BROWN, J. B.; RUSSELL, A.; MILMAN, U.; SHAPIRA, C.; LEVY, N. S.; MILLER-LOTAN, R.; ASLEH, R.; LEVY, AP. Vitamin E Reduces Cardiovascular Disease in Individuals with Diabetes Mellitus and the Haptoglobin 2-2 Genotype. **Pharmacogenomics**, v.11, n.5, p.675-684, 2010.
- BOTTERWECK, A.A.M.; VERHAGEN, H.; GOLDBOHM, R.A.; KLEINJANS J.; VAN DEN BRANDT, P.A. Intake of butilated hydroxyanisole and butilated hydroxytoluene and stomach cancer risk: results from analyses in the Netherlands cohort study. **Food Chemistry Toxicology**, v.38, p.599-605, 2000.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 3, de 15 de janeiro de 2007. Regulamento Técnico sobre Aditivos Aromatizantes. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, de 17 de janeiro de 2007. Disponível em:

<<http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/9435250045a949279bd79fa9166895f7/Resolu%C3%A7%C3%A3o+RDC+n%C2%BA+3,+de+15+de+janeiro+de+2007.pdf?MOD=AJPERES>> Acesso em: 22 jan. 2016.

BRAVO, L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. **Nutrition Reviews**, v.56, n.11, p.317–333, 1998.

CALVO, P.; HERNÁNDEZ, T.; LOZANO, M.; GONZÁLEZ-GÓMEZ, D. Microencapsulation of extra-virgin olive oil by spray-drying: Influence of wall material and olive quality. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v.112, p.852–858, 2010.

CAMARGO, U. A.; NACHTIGAL, J. C. Recomendações para produção de videiras em sistemas de base ecológica. **Embrapa Uva e Vinho**, 2007. Disponível em: <<http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/documentos/doc065.pdf>>. Acesso em: 09 nov. 2015.

CANTOS, E.; ESPÍN, J. C.; TOMÁS-BARBERÁN, F. A. Varietal differences among the polyphenol profiles of seven table grape cultivars studied by LC-DAD-MS-MS. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 5691-5696, 2002.

CAO, X.; ITO, Y. Supercritical fluid extraction of grape seed oil and subsequent separation of free fatty acids by high-speed counter-current chromatography. **Journal of Chromatography A**, v.1021, p.117-124, 2003.

CARDOSO, M. B. **Contribuição ao estudo da reação de desacetilação de quitina: Estudos da desacetilação assistida por ultrassom de alta potência**. 2008. 48 f. Tese (Doutorado em Ciências). Instituto de Química de São Carlos. Universidade de São Carlos. São Carlos, 2008.

CARMAN, S.; KAMANGAR, F.; FREEDMAN, N. D.; WRIGHT, M. E.; DAWSEY, S. M.; L. DIXON, B.; SUBAR, A.; SCHATZKIN, A.; ABNET, C. C. Vitamin E intake and risk of esophageal and gastric cancers in the NIH-AARP Diet and Health Study. **International Journal of Cancer**, v.125, n.1, p.165-170, 2009.

CARNEIRO, H. C. F. **Microencapsulação de óleo de linhaça por *spray drying*: influência da utilização de diferentes combinações de materiais de parede**. 2011. 113f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2011.

CATANEO, C. B.; CALIARI, V. GONZAGA, L. V.; KUSKOSKI, E. M.; FETT, R. Atividade antioxidante e conteúdo fenólico do resíduo agroindustrial da produção de vinho. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 29, n.1, p. 93-102, 2008.

CONSTANT, P.B.L.; STRINGHETA, P.C. Microencapsulação de ingredientes alimentícios. **Bol. SBCTA**, v.36, n.1, p.12-18, 2002.

CLARKE, M. W.; BURNETT, J. T.; CROFT, K. D. Vitamin E in human health and disease. **Critical Reviews in Clinical Laboratory**, v.45, n.5, p.417-450, set 2008.

DA PORTO, C.; DECORTI, D.; NATOLINO, A. Effect of commercial enzymatic preparation with pectolytic activities on conventional extraction and ultrasound-assisted extraction of oil from grape seed (*Vitis vinifera* L.). **International Journal of Food Science and Technology**, v. 48, p.2127–2132, 2013.

DA PORTO, C.; PORRETTO, E.; DECORTI, D. Comparison of ultrasound-assisted extraction with conventional extraction methods of oil and polyphenols from grape (*Vitis vinifera* L.) seeds. **Ultrasonics Sonochemistry**, v.20, p.1076–1080, 2013.

DELMAS, D.; JANNIN, B.; LATRUFFE, N. Resveratrol: Preventing properties against vascular alterations and ageing. **Molecular Nutrition and Food Research**, v. 49, p. 377-395, 2005.

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

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

DOBIÁŠ, P.; PAVLÍKOVÁ, P.; ADAM, M.; EISNER, A.; BEŇOVÁ, K.B. Comparison of pressurized fluid and ultrasonic extraction methods for analysis of plant antioxidants and their antioxidant capacity. **Central European Journal of Chemistry**, v.8, n.1, p. 87-95, 2010.

DONG, J.; LIU, Y.; LIANG, Z.; WANG, W. Investigation on ultrasound-assisted extraction of salvianolic acid B from *Salvia miltiorrhiza* root. **Ultrasonics Sonochemistry**, v.17, p. 61-65, 2010.

DUFFY, K. B.; SPANGLER, E. L.; DEVAN, B. D.; GUO, Z.; BOWKER, J. L.; JANAS, A. M.; HAGEPANOS, A.; MINOR, R. K.; DECABO, R.; MOUTON, P. R.; SHUKITT-HALE, B.; JOSEPH, J. A.; INGRAM, D. K.; A blueberry-enriched diet provides cellular protection against oxidative stress and reduces a kainate-induced learning impairment in rats. **Neurobiology of Aging**, v. 29, p. 1680-1689, 2007.

ESCARPA, A.; GONZALES, M.C. An overview of analytical chemistry of phenolic compounds in foods. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, v.31, p.57-139, 2001.

FERRARI, V. **A sustentabilidade da vitivinicultura através de seus próprios resíduos**. 2010, 26 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Ciências Econômicas). Universidade de Caxias do Sul. Caxias do Sul, 2010.

FOTSIS, T.; PEPPER, M. S.; AKTAS, E.; BREIT, S.; RASKU, S.; ADLERCREUTZ, H.; WÄHÄLÄ, K.; MONTESANO, R.; SCHWEIGERER, L. Flavonoids, dietary-derived inhibitors of cell proliferation and *in vitro* angiogenesis. **Cancer Research**, v. 57, n. 14, p. 2916-2921, 1997.

FRANKEL, E. N.; Antioxidants in lipid foods and their impact on food quality. **Food Chemistry**, v.57, n.1, 51-55, 1996.

FRASCARELI, E.C.; SILVA, V.M.; TONON, R.V.; HUBINGER, M.D. Effect of process conditions on the microencapsulation of coffee oil by spray-drying. **Food and Bioproducts Processing**, v.90, n. 3, p. 413-424, 2012.

FREITAS, L. S. **Desenvolvimento de procedimentos de extração de óleo de semente de uvas caracterização química dos compostos extraídos**. 2007. 227f. Tese (Doutorado em Química). Programa de Pós Graduação em Química. Instituto de Química. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007.

FUCHS, M.; TURCHIULI, C.; BOHIN, M.; CUVELIER, M. E.; ORDONNAUD, C.; PEYRAT-MAILLARD, M. N.; DUMOULIN, E. Encapsulation of oil in powder using spray drying and fluidized bed agglomeration. **Journal of Food Engineering**, v. 75, p. 27–35, 2006.

FUKUMOTO, L. R.; MAZZA, G. Assessing antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n. 8, p. 3597-3604, 2000.

GARCEZ, M.; BORDIN, D.; PERES, W.; SALVADOR, M. Radicais livres e espécies reativas. In: Salvador, M; HENRIQUES, J. A. (Ed) **Radicaís Livres e a Resposta Celular ao Estresse Oxidativo**. Canoas, ULBRA, 2001, p.35-49.

GARCIA, L. C. **Microencapsulação por *spray-drying* de Óleo essencial de manjeriço**. 2013. 217f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos). Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos. Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2013.

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

GIBBS, B.F.; KERMASHA, S.; ALLI, I.; MULLIGAN, C. N. Encapsulation in the food industry: a review. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v.50, p.213-224, 1999.

GIUNCHEDI, P.; CONTE, U. Spray-drying as a preparation method of microparticulate drug delivery systems: overview. **STP Pharma Science**, v. 5, p. 276-290, 1995.

GÓMEZ, M. E. D. B. **Modulação da composição de ácidos graxos poliinsaturados ômega 3 de ovos e tecidos de galinhas poedeiras, através da dieta. I. Estabilidade oxidativa**. 2003. 149 p. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos). Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos - Área de Bromatologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

GÓMEZ, A.M.; LÓPEZ, C. P.; DE LA OSSA, E.M. Recovery of grape seed oil by liquid and supercritical carbon dioxide extraction: A comparison with conventional solvent extraction. **The Chemical Engineering Journal and the Biochemical Engineering Journal**, v.61, p.227-231, 1996.

GOUIN, S., Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends. **Trends in Food Science and Technology**, v.15, 330-347, 2004.

GOULA, A. M. Ultrasound-assisted extraction of pomegranate seed oil – Kinetic modeling. **Journal of Food Engineering**, v.117, p. 492–498, 2013.

GOULA, A. M.; ANADAMOPOULOS, K. G. Spray drying of tomato pulp: effect of feed concentration. **Drying Technology**, v. 22, n.10, p. 2309–2330, 2004.

GUILHERME, M. R. **Desenvolvimento de hidrogéis superabsorventes para uso eficiente de água**. 2006. 125f. Tese (Doutorado em Ciências). Departamento de Química. Centro de Ciências Exatas. Universidade Estadual de Maringá. Maringá, 2006.

GUSMAN, J.; MALONNE, H.; ATASSI, G. A reappraisal of the potential chemopreventive and chemotherapeutic properties of resveratrol. **Carcinogenesis**, v. 22, n. 8, p. 1111-1117, 2001.

HALLIWELL, B. Free radicals and antioxidants: a personal view. **Nutrition Reviews**, v. 52, n. 8, p. 253-265, 1994.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free Radicals in Biology and Medicine**. 3 ed. Clarendon, Oxford, 2000.

HALLIDAY, D.; RESNICK, R.; WALKER, J. **Fundamentos de Física: gravitação, ondas e termodinâmica**. 9ª Edição, Rio de Janeiro: LTC, 2012, v.2.

HENRIQUES, J. A.P.; DAFRÉ, A. L.; PICADA, J. N.; MARIS, A. F.; SALVADOR, M. Espécies reativas de oxigênio e avaliação de antioxidantes em sistemas biológicos. In: Serafini, L. A.; Barros, N. M.; AZEVEDO, J. L. (Ed) **Biotecnologia na Agricultura e na Agroindústria**. Guaíba, Agropecuária, p. 227-252, 2001.

HOGAN, S. A.; Mc NAMEE, B. F.; O'RIORDAN, E. D.; O'SULLIVAN, M. Emulsification and Microencapsulation properties of sodium caseinate/carbohydrate blends. **International Dairy Journal**, v.11, n.3, p. 137-144, 2001.

HOGAN, S. A.; O'RIORDAN, E. D.; O'SULLIVAN, M. Microencapsulation and oxidative stability of spray-dried fish oil emulsions. **Journal of Microencapsulation**, v.20, n.5, p.675-688, 2003.

HRAS, A. R.; HADOLIN, M.; KNEZ, Z.; BAUMAN, D. Comparison of antioxidative and synergistic effects of rosemary extract with  $\alpha$ -tocopherol, ascorbyl palmitate and citric acid in sunflower oil. **Food Chemistry**, v. 71, n. 2, p. 229-233, 2000.

HROMÁDKOVÁ, Z.; EBRINGEROVÁ, A. Ultrasonic extraction of plant materials- Investigation of hemicellulose release from *buckwheat hulls*. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 10, p. 127-133, 2003.

HUYNH, T. V.; CAFINN, N.; DYKES, G.A.; BHANDARI, B. Otimização de the microencapsulation of lemon myrtle oil using response surface methodology. **Drying technology**, v. 26, p. 357-368, 2008.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. Métodos físicos- químicos para análise de alimentos**. 4ª edição, 1ª edição digital. I.A.L. São Paulo, 2008. 1020 p.

ITO, N.; FUKUSHIMA, S.; HAGIWARA, A.; SHIBATA, M.; OGISO, T. Carcinogenicity of butylated hydroxyanisole in F344 rats. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 70, n.2, p. 343–347, 1983.

JAFARI, S. M.; ASSADPOOR, E.; HE, Y.; BHANDARI, B. Encapsulation efficiency of food flavours and oils during spray drying. **Drying Technology**, v.26, n.7, p.816-835, 2008.

KAUR, C.; KAPOOR, H. C. Antioxidants in fruits and vegetables - the millennium's health. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 36, n. 7, p. 703-725, 2001.

KAUSHIK, V.; ROOS, Y. H. Limonene encapsulation in freeze-drying of gum arabic–sucrose–gelatin systems. **LWT**, v. 40, p. 1381-1391, 2007.

KLINKESORN, U.; SOPHANODORA, P.; CHINACHOTI, P.; MCCLEMENTS, D. J. Stability and rheology of corn oil-in-water emulsions containing maltodextrin. **Food Research International**, v. 37, p. 851-859, 2004.

KRISHNAN, S.; KSHIRSAGAR, A. C.; SINGHAL, R. S. The use of gum arabic and modified starch in the microencapsulation of a food flavoring agent. **Carbohydrate Polymers**, v.62, p.309–315, 2005.

KUHN, G. Uva para processamento: produção. Coleção Frutas do Brasil. **Embrapa Uva e Vinho**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2003. 134p.

KURIBAYASHI, M. ; FUJIOKA, M.; TAKAHASHI, K. A.; ARAI, Y.; ISHIDA, M.; GOTO, T.; KUBO, T. Vitamin E prevents steroid-induced osteonecrosis in rabbits. **Acta Orthopaedica**, v.81, n.2, p.206-212, 2010.

LAGUERRE, M.; LECOMTE, J., VILLENEUVE, P. Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: Existing methods, new trends and challenges. **Progress in Lipid Research**, v. 46, p. 244-282, 2007.

LEIMANN, F. V. **Microencapsulação de óleo essencial de capim limão utilizando o processo de coacervação simples**. 2008. 115f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2008.

LICHTENTHÄLER, R.; MARX, F.; KIND, O.M. Determination of antioxidative capacities using an enhanced total oxidant scavenging capacity (TOSC) assay. **European Food Research and Technology**, v.216, p.166- 173, 2003.

LI, H.; PORDESIMO, L.; WEISS, J. High intensity ultrasound assisted extraction of oil from soybeans. **Food Research International**, v.37, p.731–738, 2004.

LIU, X. D.; FURUTA, T.; YOSHII, H.; LINKO, P. Retention of emulsified flavor in a single droplet during drying. **Food Science and Technology Research**, v.6, n.4, p.335-339, 2000.

LUQUE-GARCIA, J.L.; LUQUE DE CASTRO, M.D. Ultrasound assisted Soxhlet extraction, an expeditive approach for solid sample treatment, application to the extraction of total fat from oleaginous seeds. **Journal of Chromatography A**, v.1034, p. 237–242, 2004.

LUQUE-RODRÍGUEZ, J.M.; LUQUE DE CASTRO, M.D.; PÉREZ-JUAN, P. Extraction of fatty acids from grape seed by superheated hexane. **Talanta**, v.68, p.126-130, 2005.

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

MAIER, T.; SCHIEBER, A.; KAMMERER, D. R.; CARLE, R. Residues of grape (*Vitis vinifera* L.) seed oil production as a valuable source of phenolic antioxidants. **Food Chemistry**, v.112, p. 551–559, 2009.

MAISUTHISAKUL, P.; SUTTAJIT, M.; PONGSAWATMANIT, R. Assessment of phenolic content and free radical-scavenging capacity of some Thai indigenous plants. **Food Chemistry**, v. 100, p. 1409-1418, 2007.

MAKRIS, D.P; BOSKOU, G.; ANDRIKOPOULOS, N. K. Polyphenolic content and in vitro antioxidant characteristics of wine industry and other agri-food solid waste extracts. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.20, p.125-132, 2007.

MALICANIN, M.; RAC, V.; ANTIC V.; ANTIC, M.; PALADE, L. M.; KEFALAS, P.; RAKIC, V. Content of Antioxidants, Antioxidant Capacity and Oxidative Stability of Grape Seed Oil Obtained by Ultra Sound Assisted Extraction. **Journal of the American Oil Chemist's Society**, v.91, n.6, p.989-999, 2014.

MANACH, C.; MAZUR, A.; SCALBERT, A. Polyphenols and prevention of cardiovascular diseases. **Current Opinions in Lipidology**, v.16, n.1, p.77–84, 2005.

MARIA, R. M. **Análise do ácido linoleico conjugado em carne bovina por RMN**. 2009. 88f. Dissertação (Mestrado em Ciências- Química Analítica). Instituto de Química. Universidade de São Paulo. São Paulo, 2009.

MARTINS, C. M.; OLIVEIRA, D. M.; TEIXEIRA, T.F.; PELUZIO, M.C. O paradoxo do papel da vitamina E na iniciação e progressão da aterosclerose e sua correlação com os radicais livres. **Revista Médica de Minas Gerais**, v.14, n.2, p.113-116, 2004.

MATEOS, R.; BRAVO, L. Chromatographic and electrophoretic methods for the analysis of biomarkers of oxidative damage to macromolecules (DNA, lipids, and proteins). **Journal of the Serbian Chemical Society**, v. 30, p. 175-191, 2007.

MATTHÄUS, B. Virgin grape seed oil: Is it really a nutritional highlight? **European Journal of Lipid Science Technology**, v. 110, p. 645-650, 2008.

McNAMEE, B. F.; O'RIORDAN, E. D.; O'SULLIVAN, M. Emulsification and microencapsulation properties of gum Arabic. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.46, p.4551-4555, 1998.

MEDEIROS, S. R. **Acido linoleico conjugado: Teores nos alimentos e seu uso no aumento da produção de leite com maior teor de proteína e perfil de ácidos graxos modificado**. 2002. 114 f. Tese (Doutorado em Agronomia). Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz". Universidade de São Paulo. São Paulo, 2002.

MELECCHI, M. I. S. **Caracterização química de extratos de *Hibiscus tiliaceus* L: Estudo comparativo de métodos de extração**. 2005. 218 f. Tese (Doutorado em Química). Instituto de Química. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2005.

MELLO, L. M. R. Artigo: Desempenho da vitivinicultura brasileira em 2015. **Embrapa uva e vinho**. Fevereiro, 2016. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/web/portal/busca-de-noticias/-/noticia/9952204/artigo-desempenho-da-vitivinicultura-brasileira-em-2015>>. Acesso em 15 de abril 2016.

MELLO, L. M. R. **Vitivinicultura mundial: Principais países e posição do Brasil**. Comunicado técnico 121. Embrapa uva e vinho. Agosto, 2012. Disponível em: <<http://www.cnpqv.embrapa.br/publica/comunicado/cot121.pdf>>. Acesso em 15 de abril 2016.

MELO, P. S.; BERGAMASCHI, K. B.; TIVERON, A. P.; MASSARIOLI, A. P.; OLDONI, C. T. L.; ZANUS, M. C.; PEREIRA, G. E.; ALENCAR, S. M. Composição fenólica e atividade antioxidante de resíduos agroindustriais. **Ciência Rural**, v.41, n.6, p.1088-1093, 2011.

MOTA, R. V. da; SOUZA, C. R. de; FAVERO, A. C.; SILVA, C. P. C; CARMO, E. L. do; FONSECA, A. R.; REGINA, M. de A. Produtividade e composição físico-química de bagas de cultivares de uva em distintos porta-enxertos. **Pesquisa Agropecuária brasileira**, v. 44, n.6, p.576-582, 2009.

MULET, A.; CÁRCEL, J. A.; BENETIDO, J.; SANJUAN, N. Application of Low-Intensity Ultrasonics in Dairy Industry. In: (Ed.). **Engineering and Food for the 21st century**. Boca Raton, FL: CRC Press, 2002. cap. 46, p.e-book.

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

OLIVEIRA, J. R. **Uma proposta de utilização de redes neurais para reconhecimento de indivíduos através da fala**. 2007. 64 f. Monografia (Bacharel em Ciência da Computação). Departamento de Ciência da Computação. Universidade Federal de Lavras. Minas Gerais, 2007.

PALMA, M.; BARROSO, C.G. Ultrasound-assisted extraction and determination of tartaric and malic acids from grapes and winemaking by-products. **Analytica Chimica Acta**, v. 458, p. 119-130, 2002.

PARAMITA, V.; IIDA, K.; YOSHII, H.; FURUTA, T. Effect of feed liquid temperature on the structural morphologies of d-limonene microencapsulated powder and its preservation. **Journal Engineering and Physical Properties**, v. 75, n. 1, p. 39-45, 2010.

PARRY, J.; SU, L.; LUTHER, M.; ZHOU, K.; YURAWECZ, M. P.; WHITTAKER, P.; YU, L. Fatty acid composition and antioxidant properties of cold-pressed marionberry boysenberry red raspberry and blueberry seed oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n.3, p.566–573, 2005.

PARDO, J. E.; FERNÁNDEZ, E.; RUBIO, M.; ALVARRUIZ, A.; ALONSO, G. L. Characterization of grape seed oil from different grape varieties (*Vitis vinifera*). **European Journal of Lipid Science and Technology**, v.111, p.188–193, 2009.

PARTANEN, R.; RAULA, J.; SEPPÄNEN, R.; BUCHERT, J.; KAUPPINEN, E.; FORSSELL, P. Effect of relative humidity on oxidation of flaxseed oil in spray dried whey protein emulsions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.56, n.14, p.5717-5722. 2008.

PEIXOTO, C. **Enologia e outras bebidas**. 2000. Disponível em: <<http://opac.iefp.pt:8080/images/winlibimg.exe?key=&doc=69677&img=705>>. Acesso em: 09 nov. 2015.

PEREIRA, T. **Microencapsulação do óleo eugenol pelo método de spray drying**. 2007. 47f. Trabalho de Conclusão do Curso (Bacharel em Química). Universidade Federal De Santa Catarina. Florianópolis, 2007.

PEREIRA, E. P.; GAMEIRO, A. H. Sistema agroindustrial da uva no Brasil: arranjos governanças e transações. **Sober**, XLVI Congresso da Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural. São Paulo. 2008. Disponível em: <<http://www.sober.org.br/palestra/9/590.pdf>>. Acesso em: 10 nov. 2015.

PINGRET, D.; FABIANO-TIXIER, A-S.; CHEMAT, F. Degradation during application of ultrasound in food processing: A review. **Food Control**, v.31, p.593-606, 2013.

PINHO, O.; FERREIRA, I.M.P.L.V.O.; OLIVEIRA, M.B.P.P.; FERREIRA, M.A. Quantification of synthetic phenolic antioxidants in liver patês. **Food Chemistry**, v.68, p.353-357, 2000.

PODSEDEK, A. Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. **LWT-Food Science and Technology**, v. 40, p. 1-11, 2007.

PRIOR, R.L.; CAO, G. Antioxidant phytochemicals in fruits and vegetables: diet and health implications. **Horticulture Science**, v.35, n.4, p.588-592, 2000.

PROTAS, J. F. D. Nota técnica – um balanço da vitivinicultura mundial em 2014. Setembro, 2015. **Embrapa Uva e Vinho**. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/4007952/nota-tecnica----um-balanco-da-vitivinicultura-mundial-em-2014>>. Acesso em 15 de abril 2016.

PUIGGRÒS, F.; LLÓPIZ, N.; ARDEVOL, A.; BLADÉ, C.; AROLA, L.; SALVADÓ, M. J. Grape seed procyanidins prevent oxidative injury by modulating the expression of antioxidant enzyme systems. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, p.6080–6086, 2005.

QV, X.-Y.; ZENG, Z.-P.; JIANG, J.-G. Preparation of lutein microencapsulation by complex coacervation method and its physicochemical properties and stability. **Food Hydrocolloids**, v.25, p.1596-1603, 2011.

RABABAH, T. M.; HETTIARACHCHY, N. S.; HORAX, R. Total Phenolics and Antioxidant Activities of Fenugreek, Green Tea, Black Tea, Grape Seed, Ginger, Rosemary, Gotu Kola, and Ginkgo Extracts, Vitamin E, and tert-Butylhydroquinone. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.52, n.16, p.5183-5186, ago 2004.

RAHMAN, I.; ADCOCK, I. M. Oxidative stress and redox regulation of lung inflammation in COPD. **European Respiratory Journal**, v. 28, n. 1, p. 219-242, 2006.

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

RANDALL, R.C.; PHILLIPS, G.O.; WILLIAMS, P.A. The role of the proteinaceous component on the emulsifying properties of gum arabic. **Food Hydrocolloids**, v.2, n.2, p.131-140, 1988.

RAO, P. U. Nutrient composition of some less-familiar oil seeds. **Food Chemistry**, v.50, p.379-382, 1994.

RASCÓN, M. P.; BERISTAIN, C. I.; GARCÍA, H. S.; SALGADO, M. A. Carotenoid retention and storage stability of spray-dried encapsulated paprika oleoresin using gum Arabic and Soy protein isolate as wall materials. **LWT - Food Science and Technology**, v.44, p.549-557, 2011.

RÉ, M.I. Microencapsulation by spray drying. **Drying Technology**, v.16, n.6, p.1195-1236, 1998.

RÉ, M.I. Microencapsulação: em busca de produtos inteligentes. **Ciência Hoje**, v.27, n.162, p. 24-29, 2000.

RICE-EVANS, C.A., MILLER, N.J., BOLWELL, P.G., BRAMLEY, P.M., PRIDHAM, J.B. The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. **Free Radical Research**, v.22, n.4, p.375- 383, 1995.

ROCHA, G. A. **Produção, caracterização, estabilidade e aplicação de microesferas de Licopeno**. 2009. 80 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2009.

ROSENBERG, M.; KOPPELMAN, I. J.; TALMON, Y. Factors affecting retention in spray-drying microencapsulation of volatile materials. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 38, n. 5, p. 1288-1294, 1990.

ROSTAGNO, M. A.; VILLARES, A.; GUILLAMÓN, E.; GARCÍA-LAFUENTE, A.; MARTÍNEZ, J. A. Sample preparation for the analysis of isoflavones from soybeans and soy foods. **Journal of Chromatography A**, v. 1216, p. 2-29, 2009.

RUBILAR, M.; PINELO, M.; SHENE, C.; SINEIRO, J.; NUÑEZ, M. J. Separation and HPLC-MS identification of phenolic antioxidants from agricultural residues: almond hulls and grape pomace. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.55, p.10101-10109, 2007.

RUIZ-JIMÉNEZ, J.; PRIEGO-CAPOTE, F.; LUQUE DE CASTRO, M. D. Identification and quantification of *trans* fatty acids in bakery products by gas chromatography –mass spectrometry after dynamic ultrasound assisted extraction. **Journal of Chromatograph A**, v.1045, p.203-210, 2004.

SACHS, L. G. **Enologia**. 2001. Disponível em:  
<<http://www.dbt.ffalm.br/sachs/TPA/enologia.pdf>>. Acesso em: 10 nov. 2015.

SALVADOR, M.; HENRIQUES, J. A. P. **Radicais livres e a resposta celular ao estresse oxidativo**. Canoas: Ed. ULBRA, 2004, 204p.

SANTOS, A. B.; FERREIRA, V. P.; GROSSO, C. R. F. Microcápsulas: Uma alternativa viável. Microencapsulação de produtos sensíveis à oxidação óleo-resina de páprica. **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, v.3, n.16, p. 26-30, 2000.

SANTOS, A. X. **Estudo de uma nova técnica de medida do tempo de percurso da onda ultra-sônica usando o espectro de frequência**. 2010. 116 f. Dissertação (Mestrado em Ciências em Engenharia Nuclear). Instituto de Energia Nuclear. Rio de Janeiro, 2010.

SAREMI, A.; ARORA, R. Vitamin E and cardiovascular disease. **American Journal of Therapeutics**, v.17, n.3, p. 56-65, 2010.

SAUTTER, C. K. **Avaliação da presença de resveratrol em suco de uva**. Santa Maria, 2003. 135 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos). Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos. Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria, 2003.

SEIFRIED, H.E.; ANDERSON, D.E.; FISHER, E.I.; MILNER, J.A. A review of the interaction among dietary antioxidants and reactive oxygen species. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v.18, p.567-579, 2007.

SHAHIDI, F.; HAN, X.Q. Encapsulation of Food Ingredients. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.33, n.6, p.501-547, 1993.

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

SHALMASHI, A. Ultrasound-assisted extraction of oil from tea seed. **Journal of Food Lipids**, v.16, p.465–474, 2009.

SHANTHA, N.C.; DECKER, E.A. Rapid, sensitive, iron-based spectrophotometric methods for determination of peroxide value of food lipid. **Journal of AOAC International**, v.77, n. 2, p.421-424. 1994.

SHI, J.; YU, J.; POHORLY, J. E.; KAKUDA, Y. Polyphenolics in grape seeds- biochemistry and functionality. **Journal of Medicinal Food**, v.6, n.4, p.291-299, 2003.

SIES, H. Oxidative stress: from basic research to clinical application. **American Journal of Medicine**, v.91, p.31-39, 1991.

SIKORA, E.; CIESLIK, E.; LESZCZYNSKA, T.; FILIPIAK-FLORKIWUACZ, A.; PISULEWSKI, P. M. The antioxidant activity of selected cruciferous vegetables subjected to aquathermal processing. **Food Chemistry**, v. 107, p. 50-55, 2008.

SILVA, C.; RIBEIRO, A.; FERREIRA, D.; VEIGA, F. Administração oral de peptídeos e proteínas: II. Aplicação de métodos de microencapsulação. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 39, n. 1, 2003.

SILVA, J. A. **Tópicos da tecnologia de alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 2000, 227p.

SILVA, L. M. L. R. da. Caracterização dos subprodutos da vinificação. Spectrum-Milenium - **Revista do ISPV** – n. 28, 2003. Disponível em: <<http://www.ipv.pt/millenium/millenium28/10.pdf>>. Acesso em: 11 nov. 2015.

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

SILVA, R. P. **Utilização de vibrações ultra-sônicas para o refino de celulose kraft de eucalipto**. 2002. 88f. Tese (Magister Science). Programa de Pós Graduação em Ciência Florestal. Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, 2002.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTOS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin Ciocalteu reagent. **Methods in Enzymology**, v. 299, p. 152–178 (Oxidants and antioxidants, Part A) 1999.

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

SOOTTITANTAWAT, A.; YOSHII, H.; FURUTA, T.; OHKAWARA, M.; LINKO, P. Microencapsulation by Spray Drying: Influence of emulsion size on the retention of volatile compounds. **Journal of Food Science**, v.68, n.7, p.2256-2262. 2003.

SUAVE, J.; DALL'AGNOL, E. C.; PEZZIN, A. P. T.; SILVA, D. A. K.; MEIER, M. M.; SOLDI, V. Microencapsulação: Inovação em diferentes áreas. Revista Saúde e Ambiente / **Health and Environment Journal**, v. 7, n. 2, 2006.

TAKEDA, M. N.; MORCELLI, A. E. **Física Geral e Experimental I**. Unisa, 2012.

TAN, L. H.; CHAN, L.W.; HENG, P. W. Effect of oil loading on microspheres produced by spray drying. **Journal of Microencapsulation**, v.22, p. 253–259, 2005.

THOE, T. B.; ASPINWALL, D. K.; WISE, M. L. H. Review on Ultrasonic Machining. **International Journal of Machine Tools and Manufacture**, v.38, n. 4, p. 239–255, 1998.

THOMAS, M. J. The role of free radicals and antioxidants. **Nutrition**, v.16, n.7/8, p.716-718, 2000.

TIAN, Y.; XU, Z.; ZHENG, B.; MARTIN LO. Y. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of pomegranate (*Punica granatum* L.) seed oil. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 20, p. 202–208, 2013.

TRINDADE, C. S. F.; PINHO, S. C.; ROCHA, G. A. Revisão: Microencapsulação de ingredientes alimentícios. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 11, n. 2, p. 103-112, 2008.

TUBEROSO, C. I.G.; ADAM KOWALCZYK, A.; SARRITZU, E.; CABRAS, P. Determination of antioxidant compounds and antioxidant activity in commercial oilseeds for food use. **Food Chemistry**, v.103, p.1494–1501, 2007.

USORO, O. B.; MOUSA, S. A. Vitamin E forms in Alzheimer's disease: a review of controversial and clinical experiences. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 50, n.5, p.414-419, 2010.

VAN LANGENDONCKT, A.; CASANAS-ROUX, F.; DONNEZ, J. Oxidative stress and peritoneal endometriosis. **Fertility and Sterility**, v. 77, n.5, p.861-870, 2002.

VARDANEGA, R. **Obtenção de Saponinas de Raízes de Ginseng Brasileiro (*Pfaffia Glomerata*) por Extração Dinâmica a Baixa Pressão Assistida por Ultrassom**. 2013. 124f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos). Programa de Pós Graduação. Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2013.

VASCO, C.; RUALES, J.; KAMAL-ELDIN, A. Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. **Food Chemistry**, v. 111, p. 816-823, 2008.

VEDANA, M. I. S. **Efeito do processamento na atividade antioxidante da uva**. 2008, 88 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia em Alimentos). Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2008.

VILKHU, K.; MAWSON, R.; SIMONS, L.; BATES, D. Applications and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry — A review. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v.9, p.161–169, 2008.

VINATORU, M. An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 8, n. 3, p. 303-313, 2001.

WANG, L.; WELLER, C. L. Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. **Trends in Food Science & Technology**, v. 17, n. 6, p. 300-312, 2006.

WANG, S. Y.; LIN, H., S. Antioxidant activity in fruits and leaves of blackberry, raspberry, and strawberry varies with cultivar and developmental stage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n. 2, p. 140-146, 2000.

WENDLER, D. F. **Sistema de Gestão Ambiental Aplicado a uma Vínicola: Um estudo de caso**. 2009. 176 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Produção). Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria, 2009.

WILLCOX, J. K.; ASH, S. L.; CATIGNANI, G. L. Antioxidants and Prevention os Chronic. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.44, n.4, p.275-295, 2004.

YEO, Y.; BELLAS, E.; FIRESTONE, W.; LANGER, R.; KOHANE, D. S. Complex coacervates for thermally sensitive controlled release of flavor compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, n.19, p.7518-7525, 2005.

YEPEZ, B.; ESPINOSA, M.; LÓPEZ, S.; BOLAÑOS, G. Producing antioxidant fractions from herbaceous matrices by supercritical fluid extraction. **Fluid Phase Equilibria**, v. 194-197, n.[s/n], p. 879-884, 2002.

YILMAZ, Y.; TOLEDO, R.T. Health aspects of functional grape seed constituents. **Trends in Food Science e Technology**, v.15, p. 422-433, 2004.

YU, T-W.; ANDERSON, D. Reactive oxygen species-induced DNA damage and its modification: a chemical investigation. **Mutation Research**, v. 379, n. 2, p. 201-210, 1997.

ZHANG, Z-S.; WANG, L-J.; LI, D.; JIAO, SH-SH.; CHEN, X. D.; MAO, Z-H.  
Ultrasound-assisted extraction of oil from flaxseed. **Separation and Purification Technology**, v.62, p.192–198, 2008.

ZHENG, W.; WANG, S. Y. Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 11, p. 5165-5170, 2001.

## **5 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Os resultados obtidos estão redigidos na forma de dois artigos científicos, conforme segue:

### **Artigo A**

Extração e caracterização de óleo de sementes de uva por ultrassom.

### **Artigo B**

Microencapsulação por spray drying de óleo de sementes de uva extraído por ultrassom.

## 5.1 ARTIGO CIENTÍFICO A

**EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE ÓLEO DE SEMENTES DE UVA POR  
ULTRASSOM****BÖGER, B. R.<sup>1</sup>, SALVIATO, A.<sup>2</sup>, VALEZI, F. D.<sup>2</sup>, DI MAURO, E.<sup>2</sup>, GEORGETTI,  
S.R.<sup>3</sup>, KUROSZAWA, L.E.<sup>1\*</sup>**

<sup>1</sup> Universidade Estadual de Londrina. Programa de Pós Graduação em Ciência de Alimentos, 86.057-970, Londrina, PR, Brasil.

<sup>2</sup> Universidade Estadual de Londrina. Programa de Pós Graduação em Física, 86.057-970, Londrina, PR, Brasil.

<sup>3</sup> Universidade Estadual de Londrina. Departamento de Ciências Farmacêuticas, 86.057-970, Londrina, PR, Brasil.

**RESUMO**

O objetivo deste trabalho foi otimizar a extração de óleo de sementes de uva assistida por ultrassom (EAU) e investigar a qualidade do óleo extraído. Foi utilizado um delineamento composto central rotacional (DCCR) para avaliar o efeito das variáveis temperatura (15 a 35°C) e amplitude da onda ultrassônica (24 a 96 µm) sobre o rendimento do processo (%) e conteúdo de radicais livres (radicais livres/g óleo) do óleo extraído e estocado por 1, 7 e 30 dias. A condição ótima encontrada foi 15°C e 42 µm, obtendo 82,9% de rendimento e conteúdo de radicais livres de  $14,7 \times 10^{14}/g$  e  $3,4 \times 10^{15}/g$  no óleo com 7 e 30 dias, respectivamente. O óleo obtido na condição otimizada não apresentou diferença na composição de ácidos graxos e nos índices de acidez e no índice de iodo apresentou diferenças apenas com 30 dias de incubação em relação ao óleo extraído sem aplicação do ultrassom; entretanto, apresentou maior conteúdo de radicais livres e índice de peróxido. O óleo obtido por EAU apresentou menor atividade antioxidante pelo método DPPH, porém maior quantidade de compostos fenólicos e maior atividade antioxidante pelo método FRAP. Estes resultados indicam que a EAU resultou em maior rendimento de extração do óleo, obtendo um óleo considerado de boa qualidade.

**Palavras-chave:** Sementes de uva. Sonicação. Espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica. Otimização. Ácidos Graxos. Capacidade Antioxidante.

---

**\* Autor correspondente:**

Universidade Estadual de Londrina. Programa de pós-graduação em Ciência de Alimentos. Rod. Celso Garcia Cid, PR 445, km 380, Caixa Postal 6001, 86051-980, Londrina, PR, Brasil. Telefone: +55 (43) 3371-4987. E-mail: louise@uel.br.

## 1 INTRODUÇÃO

As sementes de uva constituem aproximadamente 15% dos subprodutos sólidos decorrentes da indústria vinícola (LUQUE-RODRÍGUEZ; LUQUE DE CASTRO; PÉREZ-JUAN, 2005). Devido a sua composição química (MATTHÄUS, 2008), as sementes de uva (7 a 20 % de óleo, 35% de fibra, 29% de componentes extraíveis incluindo compostos fenólicos, 11 % de proteínas, 3% de minerais e 7% de água) podem ser utilizadas pelas indústrias enológica, farmacêutica, alimentícia e combustível (SILVA, 2003). Embora seja uma excelente fonte de óleo para consumo humano, em geral é subutilizada na ração para bovinos e como adubos (LUQUE-RODRÍGUEZ; LUQUE DE CASTRO; PÉREZ-JUAN, 2005).

O óleo de sementes de uva pode ser uma alternativa aos óleos vegetais comestíveis tradicionais, particularmente em dietas controladas, por apresentar benefícios à saúde, uma vez que é rico em ácidos graxos insaturados, principalmente o ácido linoleico. Também, contém antioxidantes naturais, como os polifenóis e vitamina E, que protegem contra danos de radicais livres (BAIL et al., 2008).

Os métodos de extração de óleo convencionais consistem na utilização de solventes e apresentam algumas limitações, tais como o alto consumo de solvente, longo tempo de extração, e alteração na qualidade dos extratos. Assim, novas tecnologias vêm sendo aplicadas a fim de minimizar essas desvantagens, e dentre elas cita-se a extração assistida por ultrassom (EAU). Esta vem sendo utilizada na extração de compostos de plantas e tem sido reconhecida como uma potencial aplicação na indústria extrativa de alimentos e fito-farmacêutica (VILKHU et al., 2008).

Na EAU, aplica-se ondas de ultrassom de alta intensidade, causando ruptura física das paredes e membranas celulares biológicas, reduzindo o tamanho das partículas. Estes efeitos permitem melhor penetração do solvente em materiais celulares e melhoram as taxas de transporte de massa dentro do tecido, facilitando a transferência dos componentes da célula para o solvente e levando à melhoria da operação de extração. As vantagens na utilização de ultrassom consistem na simplicidade do equipamento, economia de custo, possibilidade de utilização de diferentes solventes na extração, diminuição do tempo de extração, boa

reprodutibilidade, condições mais brandas de temperatura, pressão e concentração de reagentes (WANG; WELLER, 2006).

Entretanto, radicais hidroxila podem ser produzidos por ultrassons em solução aquosa (KUBO et al., 2012), e alguns outros radicais livres como o ânion superóxido são gerados em líquidos orgânicos (CASTELLANOS et al., 2001). Algumas espécies de radicais livres podem reagir com substâncias dissolvidas, conduzindo assim à produção de radicais secundários (MAKINO; MOSSOBA; RIESZ, 1983). Por consequência, uma cadeia de reações químicas pode ser induzida pelos radicais livres gerados por ondas ultrassônicas, tais como a oxidação lipídica, a qual consiste na deterioração de ácidos graxos através de um processo autocatalítico mediado por radicais livres (WANASUNDARA; SHAHIDI, 2005) e inicia-se pelo ataque do oxigênio molecular às duplas ligações dos ácidos graxos insaturados (GORDON, 2001).

Normalmente, a concentração de radicais livres produzidos durante o processo de oxidação é muito pequena e os radicais são muito reativos com tempos de vida muito curto para serem diretamente detectado em ensaios padrão. Com a ressonância paramagnética eletrônica (EPR), é possível a detecção de radicais livres usando a técnica de aprisionamento de spin (*spin trap*). Esse método consiste na adição de moléculas diamagnéticas adequadas nas amostras que são capazes de capturar os radicais (VALGIMIGLI; PEDULLI; PAOLINI, 2001). Os agentes de aprisionamento de spin reagem com os radicais livres para formar radicais mais estáveis (aductos de spin) (VELASCO; ANDERSEN; SKIBSTED, 2004) ou seja, radicais "de vida mais longa" que podem ser facilmente detectado por EPR (VALGIMIGLI; PEDULLI; PAOLINI, 2001).

Considerando que as sementes de uva são uma fonte relativamente barata de compostos bioativos e a necessidade de melhorar o aproveitamento de subprodutos gerados na industrialização de uva, o presente trabalho teve como objetivo otimizar a extração de óleo de sementes de uva assistida por ultrassom, de maneira a obter maior rendimento de processo e menor conteúdo de radicais livres no óleo.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 MATERIAL E PREPARO DA AMOSTRA

As sementes de uva juntamente com o bagaço das cultivares Isabel e Bordô (safra 2014/2015) foram fornecidas pela Coaviti (Cooperativa Agroindustrial dos Viticultores, Marialva, PR, Brasil), sendo oriundas de Rolândia, PR, Brasil. As sementes foram separadas manualmente do bagaço, lavadas com água corrente e secas em estufa com renovação de ar (modelo TE-394/2, Tecnal, Piracicaba, Brasil) a 60°C por 6 h. Após a limpeza e secagem, as sementes foram armazenadas em frascos herméticos cobertos por papel alumínio em freezer doméstico a -22°C. Previamente às análises, as sementes foram moídas em um moinho de sementes (modelo A11, Ika, Staufen, Alemanha) durante 20 s e peneiradas a fim de padronizar o tamanho das partículas para 0,841 mm (20 mesh). A composição centesimal das sementes de uva das variedades Isabel e Bordô, obtida segundo a metodologia da AOAC (1997) foi: 11,15 ± 0,38% (base úmida) de umidade, 16,30 ± 0,56% (base seca, bs) de lipídeos, 12,36 ± 0,17% (bs) de proteínas, 2,31 ± 0,04 % (bs) de cinzas e 69,04 ± 0,69% (bs) de carboidratos totais (calculado por diferença). Todos os reagentes utilizados eram de pureza analítica.

### 2.2 EXTRAÇÃO DO ÓLEO DE SEMENTES DE UVA ASSISTIDA POR ULTRASSOM

Para a otimização da EAU do óleo de sementes de uva, foi utilizado um delineamento composto central rotacional 2<sup>2</sup> com três repetições no ponto central (0), totalizando 11 experimentos (tabela 1), os quais foram aleatorizados. Foram avaliados os efeitos das variáveis independentes temperatura (15 a 35°C) e amplitude da onda ultrassônica (24 a 96 μm) sobre as variáveis dependentes, rendimento de extração do óleo (R, %) e conteúdo de radicais livres no óleo extraído e estocado por 1, 7 e 30 dias (RL<sub>1d</sub>, RL<sub>7d</sub> e RL<sub>30d</sub>, radicais livres/g óleo).

Tabela 1- Planejamento experimental com as variáveis independentes reais e codificadas e variáveis dependentes avaliadas.

E	Variáveis Independentes			Variáveis Dependentes		
	T (°C)	A (µm)	R (%)	RL <sub>1d</sub>	RL <sub>7d</sub> (10 <sup>14</sup> /g)	RL <sub>30d</sub> (10 <sup>15</sup> /g)
1	18 (- 1)	34,8 (- 1)	90,7	nd	9,4	4,6
2	32 (+ 1)	34,8 (- 1)	85,1	nd	29,0	5,6
3	18 (- 1)	85,2 (+ 1)	89,6	nd	6,8	3,8
4	32 (+ 1)	85,2 (+ 1)	88,6	nd	15,7	3,8
5	15 (- 1,41)	60 (0)	96,9	nd	22,7	9,6
6	35 (+ 1,41)	60 (0)	91,1	nd	11,4	4,9
7	25 (0)	24 (- 1,41)	86,2	nd	10,6	8,2
8	25 (0)	96 (+ 1,41)	94,0	nd	9,2	5,1
9	25 (0)	60 (0)	91,2	nd	39,7	11,3
10	25 (0)	60 (0)	94,4	nd	38,0	9,2
11	25 (0)	60 (0)	94,8	nd	45,4	9,5

E = experimento; T = temperatura; A = amplitude da onda ultrassônica; nd = não detectado; R = rendimento de extração do óleo; RL<sub>1d</sub>, RL<sub>7d</sub> e RL<sub>30d</sub> = Conteúdo de radicais livres no óleo extraído e estocado por 1, 7 e 30 dias.

A EAU foi realizada em sonicador (modelo Q700, QSONICA, Newtown, EUA) conforme metodologia descrita por Da Porto, Porretto e Decorti (2013). 18,75 g de sementes de uva foram misturados com 150 mL de hexano (proporção 8:1, v/m) em um béquer com controle de temperatura ( $\pm 2^{\circ}\text{C}$ ) por banho termostatizado (modelo TE-2005, Tecnal, Piracicaba, Brasil). Foi aplicada uma sonda a 20 kHz durante 30 min. Após extração, a mistura foi filtrada a vácuo com filtro de papel e o solvente foi removido do óleo extraído com um evaporador rotativo (7 rpm) a vácuo (modelo MA 120, Marconi, Piracicaba, Brasil) a 50°C por 15 min (DA PORTO; PORRETO; DECORTI, 2013). A massa do óleo extraído foi pesada e o rendimento do processo foi calculado como sendo a razão entre as massas de óleo extraído por sonicação e o total presente determinado inicialmente na semente de uva pelo método de Soxhlet de acordo com a AOAC, 1997.

### 2.3 CONTEÚDO DE RADICAIS LIVRES

O conteúdo de radicais livres foi determinado por ressonância paramagnética eletrônica (EPR) através do método indireto de captura utilizando a

armadilha de spin (*spin trap*),  $\alpha$ -fenil-N-terc-butylnitron (PBN) (pureza > 97%, Sigma-Aldrich, Saint Louis, EUA). 1 mg de PBN foi dissolvido em 1 g de óleo de sementes de uva em banho de ultrassom (modelo USC 1450 A, Unique, Indaiatuba, Brasil) durante 15 min. A solução foi armazenada no escuro à temperatura ambiente (25°C) durante 1, 7 e 30 dias. Passado o tempo de incubação, aproximadamente 80  $\mu$ L da solução foram adicionados a tubos de quartzo de 3 mm e submetido as medidas de EPR a temperatura ambiente em espectrômetro (modelo JES-PE-3X, JEOL, Tóquio, Japão) operando em banda-X (9,3 GHz). Utilizou-se como padrão o manganês ( $Mn^{2+}$ ).

#### 2.4 CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO DE SEMENTES DE UVA EXTRAÍDO NA CONDIÇÃO OTIMIZADA

O óleo obtido na condição ótima do planejamento experimental foi caracterizado em termos de ácidos graxos, conteúdo de compostos fenólicos, atividade antioxidante pelos métodos DPPH e FRAP e oxidação lipídica. Essas análises também foram realizadas em óleo extraído sem aplicação do ultrassom, somente com agitação magnética (OAM): 18,75 g de sementes de uva foram misturados com 150 mL de hexano (proporção 8:1, v/m) em um béquer com controle de temperatura ( $\pm 2^\circ C$ ) por banho termostatizado (modelo TE-2005, Tecnal, Piracicaba, Brasil). Utilizou-se 7 rpm na mesma temperatura otimizada do ultrassom (15°C) durante 30 minutos. Após extração, a mistura foi filtrada a vácuo com filtro de papel e o solvente foi removido do óleo extraído com um evaporador rotativo (7 rpm) a vácuo (modelo MA 120, Marconi, Piracicaba, Brasil) a 50°C por 15 min. A massa do óleo extraído foi pesada e o rendimento do processo foi calculado como sendo a razão entre as massas de óleo extraído com agitação e o total presente determinado inicialmente na semente de uva pelo método de Soxhlet de acordo com a AOAC, 1997.

##### 2.4.1 Ácidos Graxos

A hidrólise e transesterificação dos ácidos graxos do óleo foram realizadas segundo o método 5509 da ISO (1978) com n-heptano e solução de NaOH/Metanol 2M. Após separação das fases, a fase superior contendo n-heptano

e ésteres metílicos de ácidos graxos foi transferida para um vial âmbar e armazenada a  $-18^{\circ}\text{C}$  até o momento da análise. Ésteres metílicos de ácidos graxos foram analisados utilizando cromatógrafo gasoso (modelo 17A, Shimadzu, Quioto, Japão) equipado com detector de ionização de chama e coluna capilar (100m x 0,25 mm) com  $0,25\ \mu\text{m}$  de cianopropilpolisiloxano CP SII 88. A rampa de temperatura de coluna foi programada para:  $65^{\circ}\text{C}$  por 15 min;  $10^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$  até  $165^{\circ}\text{C}$  e mantido por 2 min;  $4^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$  até  $185^{\circ}\text{C}$  e mantido por 8 min;  $4^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$  até  $235^{\circ}\text{C}$  e mantido por 5 min. O detector e injetor foram mantidos a  $260^{\circ}\text{C}$ , utilizando Split de 1/100. O fluxo de gases foi de  $1,2\ \text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$  para o gás de arraste ( $\text{N}_2$ ),  $30\ \text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$  para o gás auxiliar ( $\text{H}_2$ ), 30 e  $300\ \text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$  para os gases da chama,  $\text{H}_2$  e ar sintético, respectivamente. A identificação dos ácidos graxos foi baseada em padrões de ésteres metílicos de ácidos graxos (Sigma-Aldrich, Saint Louis, EUA). A análise foi realizada em duplicata.

#### 2.4.2 Compostos Fenólicos

Previamente à análise, os compostos fenólicos foram extraídos com solução metanol:água (90:10 v/v), conforme Parry et al. (2005), com modificações descritas por Bail et al. (2008). O procedimento foi efetuado três vezes para cada óleo. Todos os extratos metanólicos foram combinados, concentrados até à secura e dissolvidos em solução de metanol:água (10:90 v/v). O conteúdo de compostos fenólicos foi analisado de acordo com o método do reagente Folin-Ciocalteau (SINGLETON; ROSSI, 1965). Os extratos foram misturados com água, reagente de Folin-Ciocalteau e solução de carbonato de sódio 10%. Após 60 min, a absorção foi medida a 765 nm em espectrofotômetro UV-visível (modelo Libra S22, Biochrom, Cambridge, Reino Unido). Os resultados foram correlacionados com uma curva padrão de ácido gálico (Dinâmica, Diadema, Brasil). Os ensaios foram realizados em duplicata.

### 2.4.3 Atividade Antioxidante

A determinação da atividade antioxidante por doação de átomos de hidrogênio ao radical DPPH foi realizada conforme descrito por Tuberoso et al. (2007) com algumas modificações. Foram misturados 20 µL de óleo de sementes de uva com 3 mL de solução de DPPH (Sigma-Aldrich, Saint Louis, EUA) dissolvido em acetato de etila (0,07 mM). As leituras espectrofotométricas foram efetuadas após 1 h de incubação, no escuro e à temperatura ambiente, a 517 nm em espectrofotômetro UV-visível (modelo Libra S22, Biochrom, Cambridge, Reino Unido). Os resultados foram correlacionados com uma curva padrão de Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico) (Sigma-Aldrich, Saint Louis, EUA). Os ensaios foram realizados em duplicata.

A atividade antioxidante por redução do íon ferro (FRAP), foi realizada conforme descrito por Tuberoso et al. (2007) utilizando metanol como solvente. O método espectrofotométrico FRAP foi realizado de acordo com Benzie e Strain (1996) com algumas modificações. O reagente FRAP foi composto por 2,5 mL de solução de TPTZ (2,4,6-Tris(2-piridil)-s-triazine) (Sigma-Aldrich, Saint Louis, EUA) 10 mmol/L em ácido clorídrico (HCl) 40 mmol/L, 2,5 mL de cloreto de ferro hexahidratado ( $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) 20 mmol/L e 25 mL de tampão acetato 0,1 mol/L (pH 3,6). Em seguida, foi incubado a 37°C durante 30 min em banho maria (modelo MA 127, Marconi, Piracicaba, Brasil). Para a reação, 30 µL de extrato metanólico do óleo e 70 µL de água destilada foram misturados com 900 µL de reagente FRAP. A reação ocorreu no escuro mantendo a temperatura em 37°C durante 30 min. As leituras de absorvância foram realizadas a 595 nm em espectrofotômetro UV-visível (modelo Libra S22, Biochrom, Cambridge, Reino Unido). Os resultados foram correlacionados com uma curva padrão de Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico) (Sigma-Aldrich, Saint Louis, EUA). Os ensaios foram realizados em duplicata.

### 2.4.4 Índice de Acidez, Peróxido e Iodo

A determinação de índice de acidez foi realizada através do método descrito por Instituto Adolfo Lutz (2008). Os índices de peróxido e iodo foram

determinados conforme método da AOCS (2004). Os ensaios foram realizados em duplicata. As análises foram determinadas em óleo de sementes de uva estocados a temperatura ambiente e na ausência da luz durante 1, 7 e 30 dias.

## 2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para elaboração dos modelos matemáticos, foi utilizado o software Statistica 10 (Stasoft, Tulsa, EUA), com a finalidade de assegurar a validade dos coeficientes dentro de um nível de confiança de 90%. Após a análise estatística dos coeficientes, foi realizada análise de variância (ANOVA), avaliando o coeficiente de determinação ( $R^2$ ) e realizando o teste F, para verificar se cada modelo apresentava um ajuste adequado dos dados experimentais. Para verificar a diferença entre o óleo extraído com ultrassom (OUS) e somente com agitação magnética (OAM), utilizou-se a análise estatística de variância e o teste de Tukey a 5 % de significância.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 3.1 EXTRAÇÃO DE ÓLEO DE SEMENTES DE UVA

Utilizou-se um delineamento composto central rotacional para avaliar o efeito da temperatura e amplitude da onda ultrassônica sobre o rendimento de extração do óleo (R) e conteúdo de radicais livres no óleo após 1, 7 e 30 dias depois da extração ( $RL_{1d}$ ,  $RL_{7d}$  e  $RL_{30d}$ ) (tabela 1).

Ao avaliar os coeficientes (tabela 2), os parâmetros que afetaram significativamente o rendimento ( $p < 0,1$ ) foram temperatura linear e amplitude linear e quadrática. Após a exclusão dos parâmetros não significativos, foi realizada a análise de variância (ANOVA) (tabela 2) utilizando o teste F. Para o rendimento do processo, não foi possível obter um modelo matemático preditivo, uma vez que o  $R^2$  foi de 0,69, explicando apenas 69% da variação dos dados observados. Analisando a tabela 1, os resultados apresentaram variações pequenas entre eles, dificultando a obtenção de um modelo matemático que descreva com precisão tal variação.

Tabela 2 – Coeficientes das variáveis independentes sobre as funções-respostas rendimento e conteúdo de radicais livres.

Fatores	R	RL <sub>7d</sub>	RL <sub>30d</sub>
Média	93,06	41,20	9,76
Temperatura (L)	-1,86	n.s.	n.s.
Temperatura (Q)	n.s.	-11,64	-1,87
Amplitude (L)	1,68	n.s.	n.s.
Amplitude (Q)	-2,51	- 15,23	-2,18
Temperatura x Amplitude	n.s.	n.s.	n.s.
R <sup>2</sup>	0,69	0,80	0,62
F tabelado	3,18	2,92	3,07
F calculado	3,26	8,80	3,76

R= rendimento de extração do óleo; RL<sub>7d</sub> e RL<sub>30d</sub> = radicais livres do óleo estocado por 7 e 30 dias; L= linear; Q= quadrático; n.s.= não significativo a p<0,1.

Apesar da temperatura favorecer a solubilidade e difusividade de compostos em solventes (EIKANI; GOLMOHAMMAD; HOMAMI, 2012), no presente estudo constatou-se que houve um efeito negativo deste parâmetro (tabela 2), ou seja, o aumento da temperatura causa uma redução no rendimento. Este comportamento pode ser atribuído ao fato de que a pressão de vapor ( $P_v$ ) do solvente é reduzida em baixas temperaturas. Nesta condição, menos bolhas cavitacionais são formadas e entram em colapso com maior intensidade, devido a uma maior diferença de pressão entre o interior e o exterior das bolhas (SUSLISK; PRICE, 1999; ZHANG et al., 2008). Tal fato facilita a ruptura dos tecidos celulares, aumentando o rendimento da extração do óleo. Também, baixas temperaturas aumentam a tensão superficial, favorecendo a formação e o colapso das bolhas; assim há uma redução na intensidade da cavitação e conseqüentemente na ruptura celular em altas temperaturas (ZHANG et al., 2008).

Em relação ao efeito da amplitude da onda ultrassônica sobre o rendimento, ocorreu um efeito negativo quadrático, indicando um possível aumento do rendimento com a amplitude até atingir um valor máximo, seguido por sua diminuição. Porém, comparando os resultados dos experimentos 7 a 11 a 25°C (tabela 1), observa-se que ao aumentar a amplitude de 60 para 96  $\mu\text{m}$ , o rendimento permaneceu praticamente constante. Assim, supõe-se que o rendimento alcançou um valor máximo devido a maior intensidade de cavitação e permaneceu constante, mesmo com o aumento da amplitude.

De acordo com Hemwimol, Pavasant e Shotipruk (2006), quanto maior for a amplitude da onda ultrassônica, mais violentamente será o colapso das bolhas, causando uma ruptura mais intensa dos tecidos celulares e, conseqüentemente melhorando a eficiência da extração. Além disso, maiores amplitudes acarretam em uma melhor cavitação e efeito mecânico do ultrassom, o que aumenta a área de contato entre as superfícies dos sólidos e líquidos, com maior penetração do solvente no interior da matriz das sementes (SUSLICK; PRICE, 1999). Diversos autores reportaram que altas potências e intensidades, que são diretamente proporcionais à amplitude da onda ultrassônica, aumentam a eficiência de extração de óleos de linhaça (ZHANG et al., 2008), sementes de uva (DA PORTO; PORRETTO; DECORTI, 2013), e soja (LI; PORDESIMO; WEISS, 2004).

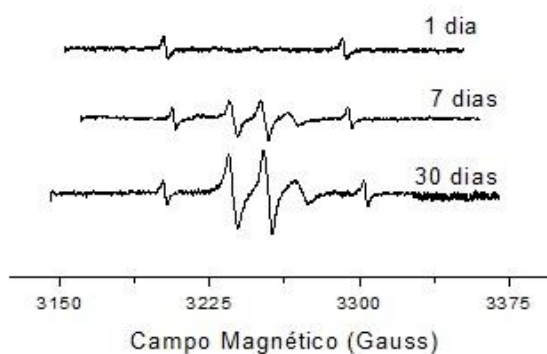
Os altos rendimentos da EAU do óleo demonstraram que essa técnica é promissora, uma vez que as condições experimentais utilizadas tais como temperatura, relação de solvente/sólido e tempo de extração são mais favoráveis ambientalmente em relação à extração por soxhlet. Entretanto, apesar do elevado rendimento de extração (96,9% a 15°C e 60 µm), a degradação do óleo extraído deve ser mínima. Uma vez que o óleo de sementes de uva é rico em ácidos graxos insaturados, principalmente ácido linoleico (BAIL et al., 2008), ele é vulnerável à oxidação (CHOE; MIN, 2006). Assim, o estudo da geração de radicais livres devido à oxidação do óleo foi considerado na otimização da EAU.

Os radicais livres são moléculas orgânicas, inorgânicas ou átomos que apresentam elétrons não pareados com existência independente (HALLIWELL, 1994). Quando presentes no óleo, os radicais podem ocasionar oxidação lipídica, resultando em alterações dos parâmetros de qualidade como cor, produção de compostos voláteis responsáveis pela formação de sabores e odores estranhos, além de afetar o valor nutritivo, inativando vitaminas (A, D, E, K e C), modificar a estrutura de ácidos graxos essenciais, clorofila, carotenos, aminoácidos, proteínas e enzimas (NOGALA-KALUCKA et al., 2005; O'BRIEN; FARR; WAN, 2000) e formar compostos poliméricos potencialmente tóxicos (MALCOLMSON, 2005).

Para avaliação do conteúdo de radicais livres (RL), os óleos de sementes de uva foram incubados com *spin trap* a temperatura ambiente por 1, 7 e 30 dias. Com 1 dia de incubação, os óleos analisados não apresentaram picos de radicais livres, como pode ser visualizado na figura 1 para a EAU a 25°C e 60 µm

correspondendo ao ensaio que apresentou o maior conteúdo de radicais livres, indicando que o RL estava abaixo do limite de detecção.

Figura 1 – Espectros de Radicais Livres do óleo extraído com ultrassom a 25°C e 60  $\mu\text{m}$ .



Analisando a tabela 1, observa-se que o RL nos óleos incubados com *spin trap* aumentou com o tempo em todas as amostras e que as condições da EAU influenciaram a formação de radicais livres durante o período de estocagem. Uma vez que a etapa inicial de oxidação lipídica necessita de uma elevada energia de ativação pra ocorrer, o ultrassom pode ter favorecido o desencadeamento da formação de radicais livres durante a estocagem do óleo. Segundo Chemat et al. (2004), o ultrassom pode provocar a oxidação lipídica através de três mecanismos, que podem agir isoladamente ou combinados. O primeiro é o térmico, devido às altas temperaturas alcançadas durante a cavitação. O segundo é devido aos radicais livres gerados por efeitos químicos (sonoquímicos) do ultrassom em soluções aquosas, e o terceiro é devido às forças mecânicas (forças de cisalhamento) criadas por micro transmissão e ondas de choque.

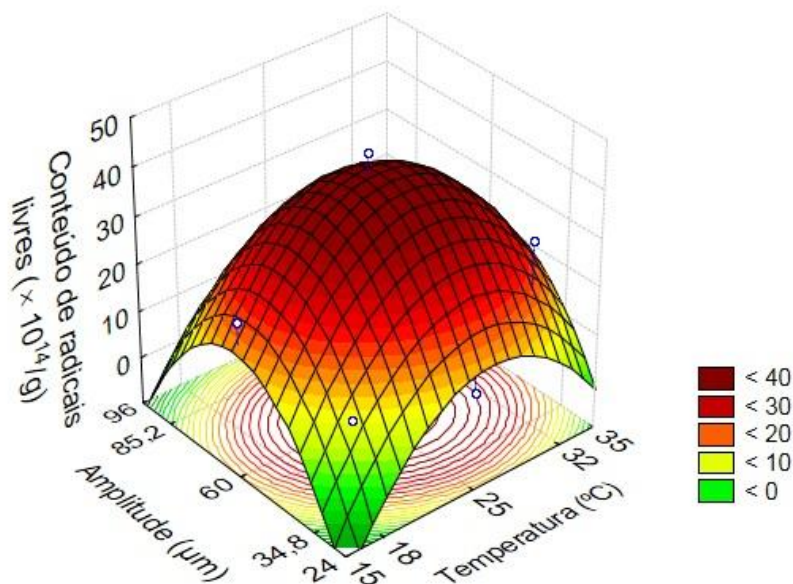
O deslocamento de partículas causado pela aplicação de ultrassons em meio líquido induz à formação e colapso de bolhas de cavitação que provocam condições extremas de pressão e temperatura (SUSLICK et al., 2011). Tais condições podem induzir à dissociação da água em radicais hidroxila e átomos de hidrogênio (RIESZ; BERDAHL; CHRISTMAN, 1985), desencadeando a formação de produtos de degradação, além de reações de radicais em cadeia afetando a qualidade final do produto (CZECHOWSKA-BISKUP et al., 2005). A formação de

radicais livres devido ao ultrassom em meios aquosos e não aquosos já foi evidenciada por EPR (RIESZ; BERDAHL; CHRISTMAN, 1985). Esta técnica, por detectar os estágios iniciais de oxidação lipídica e geração de radicais livres, tem sido amplamente utilizada para avaliar diversos produtos, tais como óleos vegetais (VELASCO; ANDERSEN; SKIBSTED, 2004), oliva extra virgem (PAPADIMITRIOU et al., 2006) e girassol (PINGRET et al., 2012).

Ao avaliar os coeficientes do modelo para predição do  $RL_{7d}$ , observou-se que os parâmetros temperatura (linear), amplitude (linear), e interação temperatura x amplitude não foram significativos. Após a exclusão destes parâmetros, foi realizada a ANOVA (tabela 2) utilizando o teste F. Através desta, o modelo matemático obtido foi considerado preditivo, uma vez que o F calculado (8,80) foi maior que o F tabelado (2,92) e o  $R^2$  foi 0,80, indicando que o modelo explicou 80% da variação dos dados observados.

A partir deste modelo, foi gerada a superfície de resposta (figura 2). Observa-se que, ao aumentar a temperatura de 25 a 35°C, ocorreu uma diminuição no  $RL_{7d}$ . De acordo com Dökkanci e Gündüz (2006), tal fato pode estar relacionado com a redução na intensidade de cavitação. Altas temperaturas de processo diminuem a tensão superficial e viscosidade da solução, afetando negativamente a formação e o colapso das bolhas, bem como a intensidade de cavitação (GENG; THAGARD, 2013). Baixas intensidades resultam em menores efeitos sonoquímicos, que são aqueles que causam a quebra de ligações químicas (DÜKKANCI; GÜNDÜZ, 2006). Assim há uma diminuição na quantidade de radicais livres formados pela oxidação dos lipídeos. A temperatura inferior a 25°C, o  $RL_{7d}$  também foi menor, indicando que seriam temperaturas muito baixas para desencadear reações oxidativas. Com relação ao efeito da amplitude da onda ultrassônica, o  $RL_{7d}$  atingiu um valor máximo em 60  $\mu\text{m}$ , mas diminuiu com o aumento da amplitude para 96 $\mu\text{m}$ . Assim, pressupõe-se que ocorre maior intensidade da cavitação a 60  $\mu\text{m}$ , devido ao maior  $RL_{7d}$ .

Figura 2 – Efeito da temperatura e amplitude do ultrassom sobre o conteúdo de Radicais Livres do óleo extraído e estocado por 7 dias.

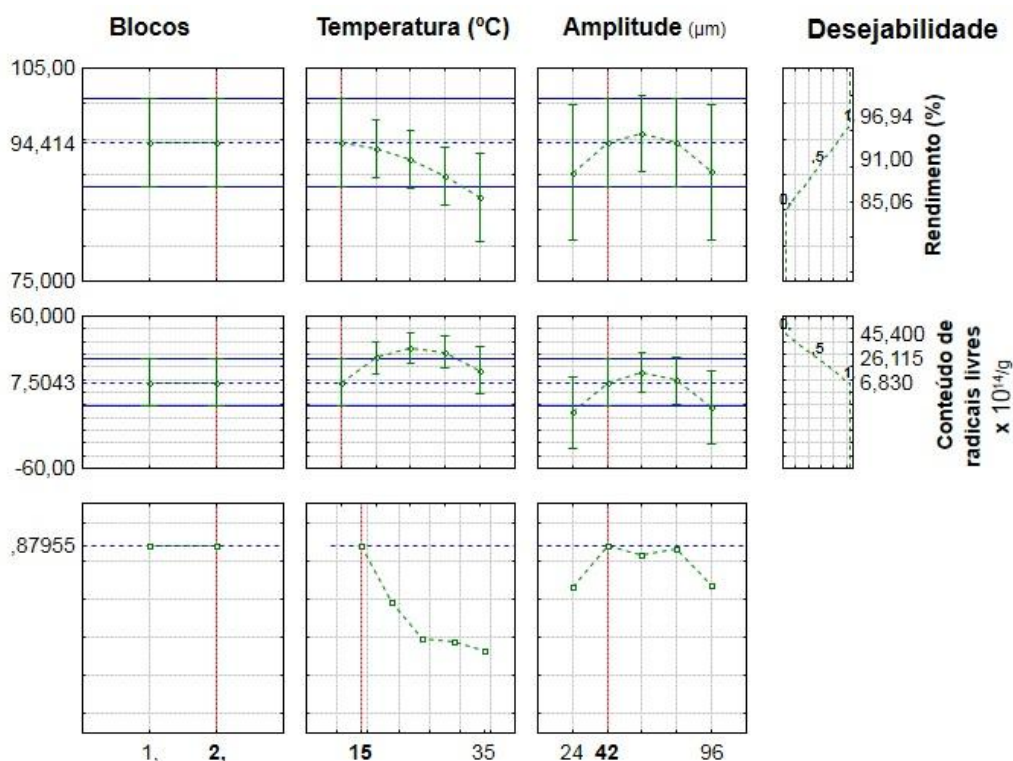


O  $\text{RL}_{30\text{d}}$  apresentou comportamento similar ao encontrado no óleo incubado por 7 dias, entretanto não foi possível obter um modelo preditivo uma vez que foi encontrado um  $R^2$  de 0,62 (tabela 2).

### 3.2 OTIMIZAÇÃO DA EXTRAÇÃO DO ÓLEO DE SEMENTES DE UVA

Foi utilizada a função desejabilidade para otimizar o processo de modo a obter o máximo de  $R$  e o mínimo de  $\text{RL}_{7\text{d}}$  (figura 3). Assim, a condição ótima encontrada foi  $15^{\circ}\text{C}$  e amplitude de  $42 \mu\text{m}$ .

Figura 3 - Parâmetro de desejabilidade estimado na condição em que o rendimento de extração e o conteúdo de radicais livres no óleo são otimizados simultaneamente.



Para validação do modelo preditivo, dois experimentos foram realizados na condição otimizada, um com o uso do ultrassom (15°C e 42 µm) e um controle realizado com agitação magnética a 15°C (tabela 3).

Tabela 3 - Rendimento de extração e conteúdo de radicais livres em experimentos realizados na condição otimizada.

Amostras	R (%)	RL <sub>1d</sub>	RL <sub>7d</sub> (10 <sup>14</sup> /g)	RL <sub>30d</sub> (10 <sup>15</sup> /g)
OUS	82,8 ± 2,1 a	nd	14,7 ± 2,2 a B	3,4 ± 1,6 b A
OAM	74,2 ± 2,7 b	nd	8,4 ± 0,1 b B	4,1 ± 0,8 a A*

\*Médias seguidas do desvio padrão. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. A letra minúscula refere-se a diferença estatística entre as amostras, e a letra maiúscula refere-se a diferença estatística dentro da própria amostra em função do tempo de estocagem do óleo. OUS= óleo extraído com ultrassom; OAM= óleo extraído com agitação magnética; R= rendimento de extração do óleo; RL<sub>1d</sub>, RL<sub>7d</sub> e RL<sub>30d</sub> = Conteúdo de radicais livres por grama de óleo estocado por 1, 7 e 30 dias; nd= não detectado.

Uma vez que o erro relativo entre o valor experimental do

rendimento (tabela 3) e o predito pela desejabilidade (figura 3) foi relativamente alto (14%), o modelo matemático não pode ser considerado preditivo, o que era esperado devido ao baixo valor do  $R^2$  encontrado. Como o OAM apresentou menor valor de rendimento ( $p < 0,05$ ) em relação ao OUS, o ultrassom foi mais eficiente na extração do óleo de sementes de uva, representando um incremento de 12% em relação ao processo controle.

Em relação ao  $RL_{1d}$ , os óleos analisados não apresentaram picos de radicais livres. Após 7 dias de incubação, o OUS apresentou maior  $RL_{7d}$  do que OAM, provavelmente devido aos efeitos gerados pelo ultrassom já explicados anteriormente. De acordo com o modelo matemático (tabela 2), os valores preditivo e experimental do  $RL_{7d}$  foram  $10,5 \times 10^{14}$  e  $14,7 \times 10^{14}$  radicais livres/g óleo, respectivamente. Apesar do erro relativo entre esses corresponder a 29%, o valor observado encontra-se dentro do intervalo de confiança do modelo que varia de 2,1 a  $18,9 \times 10^{14}$  radicais livres/g óleo. O erro relativo não é considerado elevado, devido à variabilidade entre os experimentos conduzidos no ponto central (tabela 1) que variam de  $38,0$  a  $45,4 \times 10^{14}$  radicais livres/g óleo. Assim, pode-se considerar que o modelo foi preditivo.

Após 30 dias de incubação, o  $RL_{30d}$  aumentou, sendo que as amostras diferiram ( $p < 0,05$ ), porém de forma inversa ao ocorrido no  $RL_{7d}$ , indicando que com o tempo, OAM se tornou mais suscetível à oxidação. Dessa forma, presume-se que o ultrassom favoreceu provavelmente a etapa inicial de oxidação lipídica, resultando em um óleo com maior  $RL_{7d}$ ; entretanto após um período maior de incubação, não foi um fator que afetou o  $RL_{30d}$ .

### 3.4 CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO DE SEMENTES DE UVA EXTRAÍDO NA CONDIÇÃO OTIMIZADA DE SONICAÇÃO

#### 3.4.1 Ácidos Graxos

Analisando a tabela 4, foi verificado que o método de extração não afetou significativamente a composição de ácidos graxos nos óleos, que está em conformidade com os valores recomendados pela FAO/WHO.

Tabela 4 – Conteúdo de ácidos graxos dos óleos de sementes de uva.

<b>Ácido Graxo</b>	<b>OUS (% ácido graxo)</b>	<b>OAM (% ácido graxo)</b>	<b>FAO/WHO (2003) (% ácido graxo)</b>
C 6:0	nd	nd	nd
C 8:0	nd	nd	nd
C 10:0	nd	nd	nd
C 12:0	nd	nd	nd
C 14:0	0,09 ± 0,01 a	0,09 ± 0,02 a	nd-0,3
C 16:0	8,75 ± 0,11 a	8,61 ± 0,30 a	5,5 - 11,0
C 16:1n-7	nd	nd	nd-1,2
C 17:0	nd	nd	nd-0,2
C 17:1 n-9	nd	nd	nd-0,1
C 18:0	3,20 ± 0,05 a	3,13 ± 0,06 a	3,0-6,5
C 18:1 n-9	20,78 ± 0,15 a	20,75 ± 0,14 a	12,0 - 28,0
C 18:2 n-6	65,88 ± 0,16 a	66,15 ± 0,14 a	58,0 - 78,0
C 18:3 n-3	0,68 ± 0,08 a	0,63 ± 0,01 a	nd-1,0
C 20:0	0,06 ± 0,01 a	0,06 ± 0,01 a	nd-1,0
C 20:1	nd	nd	nd-0,3
C 20:2	nd	nd	nd
C 22:0	nd	nd	nd-0,5
C 22:1 n-9	nd	nd	nd-0,3
C 22:2	nd	nd	nd
C 24:0	nd	nd	nd-0,4
C 24:1	nd	nd	nd
AGS	12,13 ± 0,06 a	11,99 ± 0,25 a	
AGMI	20,85 ± 0,15 a	20,82 ± 0,13 a	
AGPI	66,59 ± 0,08 a	66,79 ± 0,14 a*	

\*Médias seguidas do desvio padrão. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. OUS= óleo extraído com ultrassom; OAM= óleo extraído com agitação magnética; nd- não detectável, definida como  $\leq 0,05\%$ ; AGS= ácidos graxos saturados; AGMI= ácidos graxos monoinsaturados; AGPI= ácidos graxos poli-insaturados.

Os óleos apresentaram um alto conteúdo de ácido linoleico (65,8 e 66,15%) e oleico (20,78 e 20,75%). Perfil semelhante foi reportado por Freitas et al. (2013) em óleo de sementes de uva de mistura das variedades Herbemont e Isabel. Rockenbach et al. (2010) ao avaliar óleo de sementes de uva das variedades Isabel e Bordô encontraram menores teores de ácido oleico e linoleico e maior teor de ácido linolênico.

Ao considerar a classificação geral dos ácidos graxos (tabela 4), verificou-se que os óleos de sementes de uva apresentaram maior concentração de ácidos graxos poli-insaturados (AGPI) do que os monoinsaturados (AGMI), seguido pelos saturados (AGS), indicando que a inclusão de óleo de sementes de uva na dieta humana pode trazer benefícios para a saúde. Alguns AGPI, tais como o

linoleico e linolênico, são essenciais para o corpo humano, já que não podem ser sintetizados (BAYDAR; OZKAN; ÇETIN, 2007). O elevado teor de ácido linoleico nos óleos de sementes de uva é interessante por ser o principal ácido graxo alimentar que regula a lipoproteína de baixa densidade (LDL) (WIJENDRAN; HAYES, 2004). O conteúdo e a composição do óleo de semente de uva podem ser diferentes, dependendo de fatores ambientais e de crescimento, tais como a variedade da uva, localização de crescimento, maturidade e composição do solo (LUQUE-RODRÍGUEZ; LUQUE DE CASTRO; PÉREZ-JUAN, 2005).

#### 3.4.2 Índice de Iodo, Acidez e Peróxido

Foi avaliada a estabilidade oxidativa dos óleos de sementes de uva a temperatura ambiente e na ausência de luz durante 30 dias através das análises de índices de iodo, acidez e peróxido (tabela 5).

O índice de iodo é utilizado para mensurar o grau de insaturação de óleos e gorduras pela absorção de halogênios nas cadeias dos ácidos graxos (SHAHIDI; WANASUNDARA, 2002b). Valores elevados de índice de iodo podem indicar maior probabilidade à ocorrência de processos oxidativos na molécula do ácido graxo insaturado. De acordo com a legislação da FAO/WHO (2003), o índice de iodo em óleo de sementes de uva deve variar de 128 a 150 (Wijs). Dessa forma, somente OUS e OAM após 7 e 30 dias de incubação, respectivamente, estão em conformidade com a FAO/WHO (2003). Para ambos os óleos, não houve diferença estatística no índice de iodo com o tempo.

Entre as amostras, não houve diferença ( $p > 0,05$ ) com 1 e 7 dias de incubação, o que está condizente com o perfil dos ácidos graxos encontrados, uma vez que não ocorreu diferença ( $p > 0,05$ ) entre os óleos analisados (tabela 4). Somente houve diferença ( $p < 0,05$ ) entre as amostras estocadas por 30 dias, sendo que o OAM apresentou maior valor. Tais resultados sugerem que o mesmo pode ser mais susceptível à oxidação com o tempo, e estão condizentes com o teor de radicais livres encontrado no óleo após 30 dias de incubação (tabela 3).

Tabela 5 – Índice de iodo, acidez e peróxido dos óleos de sementes de uva.

	OUS	OAM
<b>Tempo de estocagem</b>	<b>Índice de Iodo (Wijs)</b>	
1 dia	126,4 ± 1,13 a A	125,18 ± 1,8 a A
7 dias	131,9 ± 3,37 a A	125,35 ± 0,98 a A
30 dias	124,9 ± 0,14 b A	129,50 ± 0,36 a A
	<b>Índice de Acidez (mg de KOH/g)</b>	
1 dia	3,5 ± 0,55 a A	3,6 ± 0,57 a A
7 dias	4,0 ± 0,00 a A	3,9 ± 0,00 a A
30 dias	2,7 ± 0,56 a A	2,8 ± 0,57 a A
	<b>Índice de Peróxido (meq/kg)</b>	
1 dia	nd	nd
7 dias	10,5 ± 1,25 a B	8,8 ± 0,69 a B
30 dias	20,4 ± 0,14 a A	18,9 ± 0,00 b A*

\*Médias seguidas do desvio padrão. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. A letra minúscula refere-se a diferença estatística entre as amostras, e a letra maiúscula refere-se a diferença estatística dentro da própria amostra em função do tempo de estocagem do óleo. OUS= óleo extraído com ultrassom; OAM= óleo extraído com agitação magnética; nd= não detectado.

Uma vez que o índice de acidez determina o estado de conservação de óleos e gorduras, foi feita a determinação nas amostras obtidas com e sem EAU. De acordo com Moretto e Fett (1998), durante a rancidez oxidativa ocorre a decomposição dos lipídeos acelerada por aquecimento e luz, com a formação de ácidos graxos livres. Entretanto, tal característica pode variar conforme as condições de extração e de armazenamento do óleo.

As amostras analisadas não apresentaram diferença na acidez, nem em função do tempo (tabela 5), estando conforme a legislação da FAO/WHO (2003) que determina que a acidez deve ser no máximo 4,0 mg KOH/g óleo. Dessa forma, pode-se considerar que durante 30 dias de estocagem, não ocorreram processos de lipólise ou oxidação significativos que pudessem vir a aumentar o número de ácidos graxos livres e conseqüentemente o índice de acidez. Os resultados encontrados no presente estudo foram inferiores aos reportados por Malicanin et al. (2014). Os autores encontraram valores de índice de acidez de 6,1 a 7,1 mg KOH/g óleo para óleos extraídos em banho ultrassônico e por soxhlet. Assim, pode-se afirmar que o uso da sonicação na condição otimizada no presente estudo resultou em amostra menos degradada e em conformidade com a legislação da FAO/WHO (2003) para até 30 dias de estocagem a temperatura ambiente.

O índice de peróxido é um método clássico e sensível na determinação de hidroperóxidos, que são os produtos primários da oxidação. Estes

podem se quebrar em outros produtos indesejáveis não voláteis e voláteis secundários (AOCS, 2004). Entretanto, uma baixa concentração de hidroperóxidos não representa necessariamente uma boa estabilidade oxidativa, uma vez, que pode indicar alterações significativas devido a formação de produtos intermediários da oxidação a partir dos peróxidos (SHAHIDI; WANASUNDARA, 2002a).

A detecção dos hidroperóxidos nos óleos foi verificada a partir de 7 dias de estocagem (tabela 5), o que está condizente com a análise de EPR (tabela 3), onde não foi detectada a presença de radicais livres com 1 dia de incubação. As amostras apresentaram diferença significativa entre si apenas após 30 dias de estocagem, sendo que o OUS apresentou um maior índice de peróxidos, devido aos efeitos gerados pelo ultrassom já explicados anteriormente. Foi possível observar diferença significativa dentro da própria amostra em função do tempo, onde o índice de peróxidos aumentou de 7 para 30 dias de estocagem, indicando que a formação de peróxidos aumenta com o tempo na temperatura ambiente.

De acordo com a legislação da FAO/WHO (2003), o índice de peróxido em óleo de sementes de uva máximo deve ser 15 meq/kg; dessa forma os óleos armazenados durante 7 dias apresentaram-se conforme a legislação. Entretanto, após 30 dias de armazenamento, as amostras apresentaram índice de peróxido acima do definido pela legislação, o que determina que estes óleos deveriam ser armazenados a temperatura de refrigeração para evitar a perda da sua qualidade.

#### 3.4.3 Compostos Fenólicos e Atividade Antioxidante

O OUS apresentou maior teor de compostos fenólicos e atividade antioxidante pelo método FRAP do que a amostra controle apresentando diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ). Entretanto, o comportamento foi inverso para a atividade antioxidante por DPPH (tabela 6).

Tabela 6 – Compostos fenólicos e atividade antioxidante.

<b>Amostras</b>	<b>Compostos fenólicos (mg ácido gálico/g óleo)</b>	<b>DPPH (mM Trolox/g óleo)</b>	<b>FRAP (mM Trolox/g óleo)</b>
OUS	68,82 ± 0,20 a	44,06 ± 1,73 b	16,93 ± 0,28 a
OAM	61,50 ± 0,89 b	68,48 ± 2,29 a	14,65 ± 0,14 b*

\*Médias seguidas do seu desvio padrão. As médias seguidas pela mesma letra na vertical não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5 % de probabilidade. OUS= óleo extraído com ultrassom; OAM= óleo extraído com agitação magnética.

Em relação aos compostos fenólicos, é possível observar que o uso do ultrassom facilitou a sua extração, e isso se deve as ondas ultrassônicas que causam a ruptura física das membranas celulares biológicas, reduzindo o tamanho das partículas, e melhorando a penetração do solvente levando à melhoria da operação de extração (WANG; WELLER, 2006). Tal comportamento foi verificado por Malicalin et al. (2014) e Ghafoor et al. (2009) ao reportar um aumento na eficiência da extração de compostos fenólicos de sementes de uva com o tempo de aplicação do ultrassom.

Dependendo da variedade, as sementes de uva podem conter de 5 a 8% de compostos fenólicos, sendo os principais, ácido gálico, flavan-3-ol catequina, epicatequina, galocatequina, epigalocatequina, epicatequina 3-O-galato, e proacianidinas dímeros, trímeros, e mais altamente polimerizada procianidinas (SHI et al., 2003). Estes agem como antioxidantes, sequestrando radicais e algumas vezes quelando metais, atuando nas etapas de iniciação e propagação do processo oxidativo (BRAVO, 1998). Dessa forma, seu conteúdo é relacionado à atividade antioxidante, e neste estudo observou-se uma correlação entre os compostos fenólicos e a atividade antioxidante pelo método FRAP, uma vez que quanto maior a concentração de compostos fenólicos encontrada, maior é a atividade redutora de ferro.

Entretanto, uma menor capacidade de sequestrar o radical DPPH foi observada para o OUS. Esse resultado pode indicar que os compostos extraídos no OUS possuem menor capacidade de doar átomo de hidrogênio, ou ainda, que durante a EAU alguns compostos foram degradados justificando a maior capacidade de sequestrar o radical DPPH no OAM. Em outros estudos, foi comprovada a degradação de compostos como ácido ascórbico (RAWSON et al., 2011; TIWARI et al., 2008), diminuição da capacidade antioxidante de cianidina-3-glicosido (ASHOKKUMAR et al., 2008) e degradação de antocianinas (TIWARI et al., 2008).

Os autores sugeriram que essa diminuição/degradação dos compostos avaliados pode ser oriunda de reações de pirólise e oxidação gerada por radicais OH formados na cavitação, e hidroxilação da molécula durante sonicação, o que pode estar condizente com este estudo, uma vez, que o OUS apresentou o maior conteúdo de radicais livres após 7 dias de incubação e peróxidos. Contudo, ainda são necessários mais estudos para elucidar o mecanismo dos resultados obtidos.

#### **4 CONCLUSÃO**

No presente estudo, a condição otimizada na extração do óleo de sementes de uva extraído com ultrassom foi 15°C e amplitude da onda ultrassônica de 42 µm, obtendo 82,9% de rendimento de extração do óleo e um conteúdo de radicais livres de  $14,7 \times 10^{14}/g$  e  $3,4 \times 10^{15}/g$  no óleo estocado durante 7 e 30 dias. O processo de ultrassom não alterou a composição dos ácidos graxos e índice de acidez, e o índice de iodo apresentou diferenças apenas com 30 dias de incubação. O óleo de sementes de uva extraído por ultrassom apresentou maior quantidade de compostos fenólicos e atividade antioxidante pelo método FRAP, porém maior conteúdo de radicais livres e índice de peróxido e menor atividade antioxidante pelo método DPPH, em comparação com o óleo extraído sem ultrassom. Contudo, a qualidade do óleo obtido por EAU não foi alterada drasticamente. Estes resultados indicam que a EAU é vantajosa por aumentar o rendimento de extração do óleo em menor tempo de processo, utilizando menor quantidade de solventes, menor temperatura e mantendo a qualidade do óleo extraído.

#### **AGRADECIMENTOS**

Os autores agradecem pelo apoio financeiro à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal do Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa e auxílio financeiro.

## REFERÊNCIAS

AMERICAN OIL CHEMISTS SOCIETY – AOCS - **Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists Society**. Washington, 2004.

AOAC INTERNATIONAL. **Official methods of analysis**. 16<sup>a</sup> ed., 3<sup>a</sup> rev. Gaithersburg: Published by AOAC International, 1997. v.2, cap. 32, p.1-43.

ASHOKKUMAR, M.; SUNARTIO, D.; KENTISH, S.; MAWSON, R.; SIMONS, L.; VILKHU, K.; VERSTEEG, C. K. Modification of food ingredients by ultrasound to improve functionality: a preliminary study on a model system. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v.9, n.2 155-160, 2008.

BAIL, S.; STUEBIGER, G.; KRIST, S.; UNTERWEGER, H.; BUCHBAUER, G. Characterisation of various grape seed oils by volatile compounds, triacylglycerol composition, total phenols and antioxidant capacity. **Food Chemistry**, v.108, p.1122–1132, 2008.

BAYDAR, N.; OZKAN, O.; ÇETIN, E. Characterization of grape seed and pomace oil extracts. **Grasas Y Aceites**, v.58, p. 29-33, 2007.

BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, p.70–76, 1996.

BRAVO, L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. **Nutrition Reviews**, v.56, n.11, p.317–333, 1998.

CASTELLANOS, M. M.; REYMAN, D.; SIEIRO, C.; CALLE, P. ESR-spin trapping study on the sonochemistry of liquids in the presence of oxygen. Evidence for the superoxide radical anion formation. **Ultrasonics Sonochemistry**, v.8, p.17-22, 2001.

CHEMAT, F.; GRONDIN, I.; COSTES, P.; MOUTOUSSAMY, L.; SHUM CHEONG SING, A.; SMADJA, J. High power ultrasound effects on lipid oxidation of refined sunflower oil. **Ultrasonics Sonochemistry**, v.11, p. 281–285, 2004.

CHOE, E.; MIN, D. B. Mechanisms and Factors for Edible Oil Oxidation. **Comprehensive reviews in food science and food safety**, v. 5, p.169-186, 2006.

**CODEX ALIMENTARIUS (FAO/WHO)**. Codex Standard for Named Vegetable Oils, *STAN 210-1999*. 16 f (Alterado em 2003). Codex Alimentarius, Roma, Itália, 2003.

CZECHOWSKA-BISKUP, R.; ROKITA, B.; LOTFY, S.; ULANSKI, P.; ROSIAK, J. M. Degradation of chitosan and starch by 360-kHz ultrasound. **Carbohydrate Polymers**, v. 60, p. 175–184, 2005.

DA PORTO, C.; PORRETTO, E.; DECORTI, D. Comparison of ultrasound-assisted extraction with conventional extraction methods of oil and polyphenols from grape (*Vitis vinifera* L.) seeds. **Ultrasonics Sonochemistry**, v.20, p.1076–1080, 2013.

DÜKKANCI, M.; GÜNDÜZ, G. Ultrasonic degradation of oxalic acid in aqueous solutions. **Ultrasonics Sonochemistry**, v.13, p.517–522, 2006.

EIKANI, M. H.; GOLMOHAMMAD, F.; HOMAMI, S. S. Extraction of pomegranate (*Punica granatum* L.) seed oil using superheated hexane. **Food and bioproducts processing**, v. 90, p.32–36, 2012.

FREITAS, L. DOS S.; DARIVA, C.; JACQUES, R. A.; CARAMÃO, E. B. Effect of experimental parameters in the pressurized liquid extraction of brazilian grape seed oil. **Separation and Purification Technology**, v. 116, p. 313–318, 2013.

GENG, M.; THAGARD, S. M. The effects of externally applied pressure on the ultrasonic degradation of Rhodamine B. **Ultrasonics Sonochemistry**, v.20, p.618–625, 2013.

GHAFOOR, K.; CHOI, Y. H.; JEON, J. Y.; JO, I, H. Optimization of Ultrasound-Assisted Extraction of Phenolic Compounds, Antioxidants, and Anthocyanins from Grape (*Vitis vinifera*) Seeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.57, p. 4988- 4994, 2009.

GORDON, M.H. Measuring antioxidant activity. In: POKORNY, J.; YANISHLIEVA, N.; GORDON, M.H. **Antioxidants in food: Pratical applications**. Published by Woodhead Publishing Limited, Abington Hall, Abington Cambridge CB1 6AH, England, CRC Press, 2001.

HALLIWELL, B. Free radicals and antioxidants: a personal view. **Nutrition Reviews**, New York, v. 52, n. 8, p. 253-265, 1994.

HEMWIMOL, S.; PAVASANT, P.; SHOTIPRUK, A. Ultrasound-assisted extraction of anthraquinones from roots of *Morinda citrifolia*. **Ultrasonics Sonochemistry**, v.13, p. 543–548, 2006.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. Métodos físicos- químicos para análise de alimentos**. 4ª edição, 1ª edição digital. I.A.L. São Paulo, 2008. 1020 p.

KUBO, M.; SEKIGUCHI, K.; SHIBASAKI-KITAKAWA, N.; YONEMOTO, T. Kinetic model for formation of DMPO-OH in water under ultrasonic irradiation using EPR spin trapping method. **Research on Chemical Intermediates**, v.38, p.2191–2204, 2012.

LI, H.; PORDESIMO, L.; WEISS, J. High intensity ultrasound assisted extraction of oil from soybeans. **Food Research International**, v.37, p.731–738, 2004.

LUQUE-RODRÍGUEZ, J.M.; LUQUE DE CASTRO, M.D.; PÉREZ-JUAN, P. Extraction of fatty acids from grape seed by superheated hexane. **Talanta**, v.68, p.126-130, 2005.

MAKINO, K.; MOSSOBA, M. M.; RIESZ, P. Chemical Effects of Ultrasound on Aqueous Solutions. Formation of Hydroxyl Radicals and Hydrogen Atoms. **Journal of Physical Chemistry**, v.87, p.1369-1377, 1983.

MALCOLMSON, L.J. Flavor and Sensory Aspects. In: SHAHIDI, F. **Bailey's Industrial Oil and Fat Products: Chemistry, Properties and Health Effects**. 6.ed., v.1, EUA, Wiley – interscience, 2005.

MALICANIN, M.; RAC, V.; ANTIC V.; ANTIC, M.; PALADE, L. M.; KEFALAS, P.; RAKIC, V. Content of Antioxidants, Antioxidant Capacity and Oxidative Stability of Grape Seed Oil Obtained by Ultra Sound Assisted Extraction. **Journal of the American Oil Chemist's Society**, v.91, n.6, p.989-999, 2014.

MATTHÄUS, B. Virgin grape seed oil: Is it really a nutritional highlight? **European Journal of Lipid Science Technology**, v. 110, p. 645-650, 2008.

MATEOS, R.; BRAVO, L. Chromatographic and electrophoretic methods for the analysis of biomarkers of oxidative damage to macromolecules (DNA, lipids, and proteins). **Journal of the Serbian Chemical Society**, v. 30, p. 175-191, 2007.

MORETTO, E.; FETT, R.; **Tecnologia de óleos e gorduras vegetais**. Rio de Janeiro, Varela, 1998. 150p.

NOGALA-KALUCKA, M.; KORCZAK, J.; DRATWIA, M.; LAMPSRT-SZCZAPA, E.; SIGER, A.; BUCHOWSKI, M. Changes in antioxidant activity and free radical scavenging potential of rosemary extract and tocopherols in isolated rapeseed oil triacylglycerols during accelerated tests. **Food Chemistry**, v. 93, p.227-235, 2005.

O'BRIEN, R.D.; FARR, W.C.; WAN, P.J. **Introduction to fats and oils technology**. 2.ed.Champaign: AOCS Press, 2000.

PAPADIMITRIOU, V.; SOTIROUDIS, T.G.; XENAKIS, A.; SOFIKITI, N.; STAVYIANNOUDAKI, V.; CHANIOTAKIS, N. A. Oxidative stability and radical scavenging activity of extra virgin olive oils: An electron paramagnetic resonance spectroscopy study. **Analytica Chimica Acta**, v.573–574, p. 453–458, 2006.

PARRY, J.; SU, L.; LUTHER, M.; ZHOU, K.; YURAWECZ, M. P.; WHITTAKER, P.; YU, L. Fatty acid composition and antioxidant properties of cold-pressed marionberry boysenberry red raspberry and blueberry seed oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n.3, p.566–573, 2005.

PINGRET, D.; DURAND, G.; FABIANO-TIXIER, A-S.; ROCKENBAUER, A.; GINIES, C.; CHEMAT, F. Degradation of Edible Oil during Food Processing by Ultrasound: Electron Paramagnetic Resonance, Physicochemical, and Sensory Appreciation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.60, p.7761–7768, 2012.

RAWSON, A.; TIWARI, B. K.; PATRAS, A.; BRUNTON, N.; BRENNAN, C.; CULLEN, P. J.; O'DONNELL, C. Effect of of thermosonication on bioactive compounds in watermelon juice. **Food Research International**, v.44, n.5, p.1168- 1173, 2011.

RIESZ, P.; BERDAHI, D.; CHRISTMAN, C. L. Free Radical Generation by Ultrasound in Aqueous and Nonaqueous Solutions. **Environmental Health Perspectives**, v.64, p. 233-252, 1985.

ROCKENBACH, I. I.; RODRIGUES, E.; GONZAGA, L. V.; FETT, R. Composição de ácidos graxos de óleo de semente de uva (*Vitis vinifera* L. e *Vitis labrusca* L.). **Brazilian Journal of Food Technology**, III SSA, novembro 2010.

SHAHIDI, F.; WANASUNDARA, U. N. Methods for measuring oxidative rancidity in fats and oils. In: AKOH, C. C.; MIN, D. B., eds. **Food Lipids: chemistry, nutrition, and biotechnology**. 2. Ed. New York: Marcel Dekker, 2002a, cap 14, p.465-487.

SHAHIDI, F.; WANASUNDARA, P. K. J. P. D. Extraction and analysis of lipids. In: AKOH, C. C.; MIN, D. B., eds. **Food Lipids: chemistry, nutrition, and biotechnology**. 2. Ed. New York: Marcel Dekker, 2002b, cap 5, p.151-186.

SHI, J.; YU, J.; POHORLY, J. E.; KAKUDA, Y. Polyphenolics in Grape Seeds— Biochemistry and Functionality. **Journal of Medicinal Food**, v. 6, n.4, p. 291–299, 2003.

SILVA, L. M. L. R. da. Caracterização dos subprodutos da vinificação. Spectrum-Milenium - **Revista do ISPV** – n. 28, 2003. Disponível em: <<http://www.ipv.pt/millenium/millenium28/10.pdf>>. Acesso em: 07 Mar. 2016.

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

SUSLICK, K. S.; PRICE, G.J. Applications of ultrasound to materials chemistry. **Annual Review of Materials Science**, v.29, p.295–326, 1999.

SUSLICK, K. S.; EDDINGSAAS, N. C.; FLANNIGAN, D. J.; HOPKINS, S. D.; XU, H. Extreme conditions during multibubble cavitation: Sonoluminescence as a spectroscopic probe. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 18, p.842 – 846, 2011.

TIWARI, B. K.; O'DONNELL, C. P.; PATRAS, A.; CULLEN, P. J. Anthocyanin and ascorbic acid degradation in sonicated strawberry juice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.56, n.21, p.10071-10077, 2008.

TUBEROSO, C. I.G.; ADAM KOWALCZYK, A.; SARRITZU, E.; CABRAS, P. Determination of antioxidant compounds and antioxidant activity in commercial oilseeds for food use. **Food Chemistry**, v.103, p.1494–1501, 2007.

VALGIMIGLI, L.; PEDULLI, G. F.; PAOLINI, M. Measurement of oxidative stress by EPR radical-probe technique. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 31, n. 6, p. 708–716, 2001.

VELASCO, J.; ANDERSEN, M. L.; SKIBSTED, L. H. Evaluation of oxidative stability of vegetable oils by monitoring the tendency to radical formation. A comparison of electron spin resonance spectroscopy with the Rancimat method and differential scanning calorimetry. **Food Chemistry**, v 85, p. 623–632, 2004.

VILKHU, K.; MAWSON, R.; SIMONS, L.; BATES, D. Applications and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry — A review. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v.9, p.161–169, 2008.

WANASUNDARA, P.K.P.D.; SHAHIDI, F. Antioxidants: Science, Technology, and Applications. In: SHAHIDI, F. **Bailey's Industrial Oil and Fat Products: Chemistry, Properties and Health Effects**. 6.ed., v.1, cap.11, EUA, Wiley – interscience, 2005.

WANG, L.; WELLER, C. L. Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. **Trends in Food Science & Technology**, v. 17, n. 6, p. 300-312, 2006.

WIJENDRAN, V.; HAYES, K. C. Dietary n-6 and n-3 fatty acid balance and cardiovascular health. **Annual Review of Nutrition**, v.24, p. 597–615, 2004.

ZHANG, Z-S.; WANG, L-J.; LI, D.; JIAO, SH-SH.; CHEN, X. D.; MAO, Z-H. Ultrasound-assisted extraction of oil from flaxseed. **Separation and Purification Technology**, v.62, p.192–198, 2008.

## 5.2 ARTIGO CIENTÍFICO B

**MICROENCAPSULAÇÃO POR SPRAY DRYING DE ÓLEO DE SEMENTES DE UVA EXTRAÍDO POR ULTRASSOM.****BÖGER, B. R.<sup>1</sup>, GEORGETTI, S.R.<sup>2</sup>, KUROSZAWA, L.E.<sup>1\*</sup>**

<sup>1</sup> Universidade Estadual de Londrina. Programa de Pós Graduação em Ciência de Alimentos, 86.057-970, Londrina, PR, Brasil.

<sup>2</sup> Universidade Estadual de Londrina. Departamento de Ciências Farmacêuticas, 86.057-970, Londrina, PR, Brasil.

**RESUMO**

O objetivo deste trabalho foi microencapsular óleo de sementes de uva por *spray drying*, utilizando como material encapsulante goma arábica (GA) e mistura de goma arábica e maltodextrina (GA/MD, 50:50) e avaliar a qualidade dos pós. O material de parede utilizado não influenciou o diâmetro médio, *span*, densidade aparente, óleo total, e retenção de óleo nas microesferas. O perfil dos ácidos graxos no óleo antes e após a microencapsulação não apresentou diferença, independente do material de parede utilizado. Embora a microesfera produzida com GA/MD tenha apresentado maior teor de óleo superficial, este resultado não afetou a eficiência de encapsulação, e apresentou ainda a maior atividade antioxidante pelo método FRAP e menor índice de peróxidos do que a microesfera com GA. Por outro lado, o conteúdo de compostos fenólicos e atividade antioxidante pelo método DPPH diminuíram ao ser comparado com o óleo puro, e a microesfera com GA apresentou o maior conteúdo de compostos fenólicos do que a microesfera com GA/MD. O índice de peróxido nos óleos encapsulados teve um aumento ao ser comparado com o óleo puro, indicando que a alta temperatura utilizada no processo de secagem por atomização pode ter favorecido o processo oxidativo do óleo.

**Palavras-chave:** Secagem por atomização. Ácidos Graxos. Atividade antioxidante. Compostos fenólicos. Eficiência de encapsulação. Índice de peróxido.

---

\* **Autor correspondente:**

Universidade Estadual de Londrina. Programa de pós-graduação em Ciência de Alimentos. Rod. Celso Garcia Cid, PR 445, km 380, Caixa Postal 6001, 86051-980, Londrina, PR, Brasil. Telefone: +55 (43) 3371-4987. E-mail: louise@uel.br.

## 1INTRODUÇÃO

Os consumidores vêm cada vez mais substituindo a gordura animal por óleos vegetais em sua dieta, devido a seus benefícios à saúde. Deste modo, o interesse em óleo de sementes de uva tem aumentado por ser rico em ácidos graxos insaturados, principalmente o ácido linoleico (58-78%), ácido oléico (12- 28%) e linolênico (até 1,0 %) (FAO/WHO, 2003), além de apresentar antioxidantes naturais, como os polifenóis e vitamina E, que protegem contra danos causados por radicais livres (BAIL et al., 2008).

Alguns ácidos graxos poli-insaturados, tais como o linoleico e linolênico, são essenciais para o corpo humano, já que não podem ser sintetizados (BAYDAR; OZKAN; ÇETIN, 2007). Assim, a inclusão do óleo de sementes de uva na alimentação é uma ótima alternativa por trazer benefícios para a saúde, principalmente na prevenção de doenças cardiovasculares e câncer, uma vez que possui alto teor de ácidos graxos monoinsaturados e ácidos graxos poli-insaturados (NYAM et al., 2009).

Entretanto, devido à presença de ácidos graxos poli-insaturados, o óleo de sementes de uva é quimicamente instável e susceptível à deterioração oxidativa quando exposto à luz, oxigênio e temperaturas mais elevadas, e sua degradação resultaria em perda de valor nutricional, segurança, e qualidade do óleo, portanto, afetando a estabilidade e propriedades sensoriais do produto (VELASCO; DOBARGANES; MÁRQUEZ-RUIZ, 2003).

Uma alternativa para eliminar ou retardar a oxidação de lípideos e aumentar a gama de aplicações de óleos e gorduras é o processo de microencapsulação. Esta técnica consiste em envolver materiais sólidos, líquidos ou gasosos em um material de parede, formando microcápsulas que podem liberar seu conteúdo sob condições específicas. O princípio da microencapsulação consiste na criação de uma barreira entre o componente na partícula e o ambiente, podendo proteger contra oxigênio, água, luz ou permitir a difusão controlada (ROSENBERG; KOPPELMAN; TALMON, 1990).

Entre os métodos de microencapsulação, o *spray drying* ou secagem por pulverização é o mais comumente usado na indústria de alimentos, uma vez que é um processo econômico, flexível, apresenta grande disponibilidade de

equipamentos, resulta em boa retenção dos compostos voláteis e estabilidade do produto final e produz partículas de boa qualidade (DESAI; PARK, 2005). Além disso, a secagem por pulverização transforma líquidos em sólidos, o que permite fácil manuseamento, armazenamento e transporte e mistura uniforme e dispersão em formulações de alimentos quando pequenas quantidades precisam ser incorporadas (SHAHIDI; HAN 1993, TAN; CHAN; HENG, 2005).

Os encapsulantes mais utilizados na microencapsulação são gomas, carboidratos, lipídeos, proteínas, poliésteres naturais, polímeros sintéticos e algumas fontes alternativas como quitosana (SUAVE et al., 2006). A goma arábica possui excelentes propriedades emulsificantes (DICKINSON, 2003) e é o carreador tradicional usado na microencapsulação por *spray drying* de óleos e flavors (CARNEIRO, 2011); entretanto, tem alto custo e problemas de disponibilidade. Dessa forma, a busca por substitutos totais ou parciais de goma arábica tem sido estudada (McNAMEE; O'RIORDAN; O'SULLIVAN, 1998). A maltodextrina apresenta boa relação custo/efetividade, capacidade de formar soluções concentradas com baixa viscosidade, boa solubilidade, é insípida e inodora. Porém, não possui propriedade emulsificante e, por isso, deve ser utilizada junto com outros materiais que possuam esta propriedade (MADENE et al., 2006) como a goma arábica (BHANDARI et al., 1992).

A microencapsulação de vários tipos de óleos tem sido reportada; no entanto, nenhum estudo de encapsulamento de óleo de sementes de uva tem sido relatado. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi microencapsular óleo de sementes de uva por *spray drying*, utilizando como material encapsulante goma arábica e mistura de goma arábica e maltodextrina (50:50) e avaliar a qualidade dos pós.

## **2 MATERIAIS E MÉTODOS**

### **2.1 MATERIAIS E PREPARO DA AMOSTRA**

As sementes de uva juntamente com o bagaço das cultivares Isabel e Bordô (safra 2014/2015) foram fornecidas pela Coaviti (Cooperativa Agroindustrial dos Viticultores, Marialva-PR, Brasil), sendo oriundas de Rolândia - PR, Brasil. As

sementes foram separadas manualmente do bagaço e lavadas com água corrente e secas em estufa com renovação de ar (modelo TE- 394/2, Tecnal, Piracicaba, Brasil) a 60°C por 6 h. Após a limpeza e secagem, as sementes foram armazenadas em frascos herméticos cobertos por papel alumínio em freezer a -22°C. Previamente às análises, as sementes foram moídas em um moinho de sementes (modelo A11, Ika, Staufen, Alemanha) durante 20 segundos e peneiradas a fim de padronizar o tamanho das partículas para 0,841 mm (20 mesh). A composição centesimal das sementes de uva das variedades Isabel e Bordô, obtida segundo a metodologia da AOAC (1997) foi: 11,15 ± 0,38% (base úmida) de umidade, 16,30 ± 0,56% (base seca, bs) de lipídeos, 12,36 ± 0,17% (bs) de proteínas, 2,31 ± 0,04 % (bs) de cinzas e 69,04 ± 0,69% (bs) de carboidratos totais (calculado por diferença). A goma arábica (GA) (Instantgum BB) foi fornecida pela empresa Nexira Brasil (São Paulo, Brasil), e a maltodextrina (MD) (Mor-Rex 1910) pela empresa Ingredion Brasil (Rio de Janeiro, Brasil). Todos os reagentes utilizados eram de pureza analítica.

## 2.2 EXTRAÇÃO DO ÓLEO DE SEMENTES DE UVA

A extração assistida por ultrassom do óleo foi realizada em sonicador (modelo Q700, QSONICA, Newtown, EUA) conforme metodologia descrita por Da Porto, Porretto e Decorti (2013). 18,75 g de sementes de uva foram misturados com 150 mL de hexano (proporção líquido:sólido 8:1,v/m) em um béquer encamisado, no qual o controle da temperatura ( $\pm 2^{\circ}\text{C}$ ) foi feito por um banho termostaticado com bomba de circulação externa (modelo TE-2005, Tecnal, Piracicaba, Brasil). A sonda trabalhou em frequência constante de 20 kHz, tempo de 30 minutos, 15°C, e amplitude de 42  $\mu\text{m}$  (condições previamente otimizadas). Após extração, a mistura foi filtrada a vácuo com filtro de papel e o solvente foi removido do óleo extraído com um evaporador rotativo (7 rpm) a vácuo (modelo MA 120, Marconi, Piracicaba, Brasil) a 50°C por 15 minutos (DA PORTO; PORRETO; DECORTI, 2013).

## 2.3 FORMAÇÃO E AVALIAÇÃO DAS EMULSÕES

A concentração de sólidos totais (material de parede + óleo) nas emulsões foi 30% (BARANAUSKIENÉ et al., 2007; PARAMITA et al., 2010) e o teor de óleo/sólidos foi 10% (ASCHERI; MARQUEZ; MARTUCCI, 2003). Os materiais de parede utilizados foram (a) goma arábica (GA) e (b) goma arábica + maltodextrina (GA/MD, 50:50). O material de parede foi adicionado em água destilada a 40°C e a mistura foi mantida sob agitação, até sua completa dissolução, e resfriada até temperatura ambiente. Em seguida o óleo foi adicionado na solução e as emulsões foram preparadas utilizando um homogeneizador tipo Turrax (modelo MA 102, Marconi, Piracicaba, Brasil) operando a 16.000 rpm, durante 5 minutos. Após o preparo das emulsões, estas foram avaliadas quanto à estabilidade e diâmetro médio das gotas.

### 2.3.1 Avaliação da Estabilidade

Alíquotas de 10 mL de cada emulsão foram transferidas para provetas graduadas de 25 mL, as quais foram cobertas com filme de PVC e deixadas sobre a bancada à temperatura ambiente por 24 horas. A avaliação da estabilidade foi realizada observando-se a ocorrência ou não da separação de fase das emulsões, 4 horas e 24 horas após o processo de emulsificação (FRASCARELI et al., 2012).

### 2.3.2 Diâmetro Médio das Gotas

A microestrutura das emulsões foi avaliada através de microscopia ótica. Após a formação das emulsões, alíquotas das amostras foram colocadas em lâminas, cobertas com lamínulas e observadas em um microscópio ótico (Leica DMLS, Wetzlar, Alemanha). A captação de imagens foi realizada por câmera digital Motican 2500 UBS 2.0 utilizando uma objetiva de 40x. Após sequestro das imagens, o diâmetro de 500 gotas de cada amostra foi medido utilizando-se o *software* Motic Images Plus 2.0. Considerando as gotas da emulsão perfeitamente esféricas, o

diâmetro médio superficial das gotas (diâmetro médio de Sauter -  $D_{32}$ ) foi calculado pela equação 1.

$$D_{32} = \frac{\sum_{i=1}^n z_i d_i^3}{\sum_{i=1}^n z_i d_i^2} \quad (1)$$

Onde  $z_i$  é o número de gotas com diâmetro  $d_i$ .

#### 2.4 MICROENCAPSULAÇÃO POR *SPRAY DRYING* E AVALIAÇÃO DAS MICROESFERAS

Após o preparo das emulsões com diferentes materiais de parede e proporções, foi realizada a secagem e microencapsulação do óleo de sementes de uva por *spray dryer* laboratorial (modelo SD-05, LabPlant, Chelmsford, Inglaterra).

As condições do processo foram diâmetro do bico de 0,7 mm; temperatura do ar de entrada de 180°C ( $\pm 3$  °C); temperatura do ar de saída de 105°C ( $\pm 8$  °C); vazão de alimentação de 350 mL/h; fluxo de ar de 73 m<sup>3</sup>/h ( $\pm 3$  m<sup>3</sup>/h) e pressão do ar comprimido de 1,8 bar.

As microesferas obtidas foram avaliadas quanto ao teor de óleo superficial, óleo total, eficiência de encapsulação, retenção de óleo, compostos fenólicos, atividade antioxidante, índice de peróxido, ácidos graxos, umidade, atividade de água, densidade aparente, tamanho de partículas, *span* e morfologia.

##### 2.4.1 Extração do Óleo das Microesferas

Previamente às análises de teor de óleo total, conteúdo de compostos fenólicos, atividade antioxidante e ácidos graxos, foi realizada a extração do óleo das microesferas. Para isso, amostras de pó (0,5 ou 2,5 g) foram dissolvidas em 4 mL de água destilada a 50°C, e agitadas por 10 min a 500 rpm em agitador magnético. Em seguida, foram adicionados 20 ou 50 mL, de hexano:isopropanol (3:1) e agitados por 10 min a 500 rpm em agitador magnético. As amostras foram centrifugadas a 5000 rpm a 4°C por 10 minutos (Eppendorf 5804 R, Hamburgo, Alemanha), coletou-se a fase de sobrenadante e evaporou-se os solventes a 30°C

em evaporador rotativo (7 rpm) a vácuo (modelo MA 120, Marconi, Piracicaba, Brasil) até peso constante.

#### 2.4.2 Teor de Óleo, Eficiência de Encapsulação e Retenção de Óleo

Após a extração do óleo das microesferas conforme item 2.4.1, o conteúdo de óleo total nas microesferas (TO, %) foi determinado em duplicata como sendo a razão entre a massa do óleo extraído e a massa do pó. O teor de óleo superficial (SO, %) foi determinado em duplicata de acordo com o método descrito por Tan, Chan e Heng (2005) com modificações de Bae e Lee (2008). 15 mL de hexano foram adicionados a 1,5 g de pó e agitado manualmente para a extração de óleo livre, durante 2 min, à temperatura ambiente. A mistura de solvente foi filtrada e o retido no filtro foi lavado três vezes com 20 mL de hexano. Em seguida, o solvente foi evaporado à temperatura ambiente e depois a 60 °C em evaporador rotativo (7 rpm) a vácuo (modelo MA 120, Marconi, Piracicaba, Brasil) até peso constante. O óleo não-encapsulado (óleo superficial) foi determinado como sendo a relação entre a massa do óleo superficial e a do pó (JAFARI; ASSADPOOR; BHANDARI, 2008).

A eficiência de encapsulação (EE) foi calculada a partir da equação 2.

$$EE = \left( \frac{TO - SO}{TO} \right) \times 100 \quad (2)$$

Onde: TO é o conteúdo total de óleo (%), e SO o teor de óleo superficial (%).

A retenção de óleo (RO) foi calculada usando a equação (3) (HUYNH et al., 2008).

$$RO = \frac{(\text{Óleo total})}{\text{Óleo inicial}} \times 100 \quad (3)$$

Onde: Óleo Total é a quantidade de óleo total obtido analiticamente nas microesferas (g) e Óleo Inicial é a quantidade inicial de óleo adicionada à emulsão antes da secagem (g).

### 2.4.3 Compostos Fenólicos

Previamente à análise, os compostos fenólicos do óleo de sementes de uva sem microencapsular foram extraídos com solução metanol:água (90:10 v/v), conforme Parry et al. (2005), com modificações descritas por Bail et al. (2008). O procedimento foi efetuado três vezes. Todos os extratos metanólicos foram combinados, concentrados até à secura e dissolvidos em solução metanol:água (10:90 v/v). Para a análise das microesferas, o óleo foi extraído conforme item 2.4.1. Em seguida, o óleo foi dissolvido em solução de metanol:água (10:90 v/v).

O conteúdo de compostos fenólicos nos extratos obtidos foi analisado de acordo com o método do reagente Folin-Ciocalteu (SINGLETON; ROSSI, 1965). Os extratos foram misturados com água, reagente de Folin-Ciocalteu e solução de carbonato de sódio 10%. Após 60 min, a absorção foi medida a 765 nm em espectrofotômetro UV-visível (modelo Libra S22, Biochrom, Cambridge, Reino Unido). Os resultados foram correlacionados com uma curva padrão de ácido gálico (Dinâmica, Diadema, Brasil). Os ensaios foram realizados em duplicata.

### 2.4.4 Atividade Antioxidante

A determinação da atividade antioxidante por DPPH foi realizada conforme descrito por Tuberoso et al. (2007) com algumas modificações. Para a análise das microesferas, foi feita previamente a extração do óleo conforme item 2.4.1. O óleo extraído das microesferas e o óleo sem microencapsular foi dissolvido em 3 mL de solução de DPPH (Sigma-Aldrich, Saint Louis, EUA) em acetato de etila (0,07 mM). As leituras espectrofotométricas foram efetuadas após 1 h de incubação, no escuro e à temperatura ambiente, a 517 nm em espectrofotômetro UV-visível (modelo Libra S22, Biochrom, Cambridge, Reino Unido). Os resultados foram correlacionados com uma curva padrão de Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico) (Sigma-Aldrich, Saint Louis, EUA). Os ensaios foram realizados em duplicata.

Para a atividade antioxidante pelo método FRAP, foi realizada preparação de extrato do óleo sem microencapsular conforme descrito por Tuberoso

et al. (2007) utilizando metanol. O óleo da microesfera foi extraído conforme item 2.4.1 e em seguida, adicionou-se 500  $\mu\text{L}$  de metanol ao óleo. O método espectrofotométrico FRAP foi realizado de acordo com Benzie e Strain (1996) com algumas modificações. O reagente FRAP foi composto por 2,5 mL de solução de TPTZ (2,4,6-Tris(2-piridil)-s-triazine) (Sigma-Aldrich, Saint Louis, EUA) 10 mmol/L em ácido clorídrico (HCl) 40 mmol/L, 2,5 mL de cloreto de ferro hexahidratado ( $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) 20 mmol/L e 25 mL de tampão acetato 0,1 mol/L (pH 3,6). Em seguida, foi incubado a 37°C durante 30 min em banho maria (modelo MA 127, Marconi, Piracicaba, Brasil). Para a reação, 30  $\mu\text{L}$  de extrato metanólico do óleo e 70  $\mu\text{L}$  de água destilada foram misturados com 900  $\mu\text{L}$  de reagente FRAP. A reação ocorreu no escuro mantendo a temperatura em 37°C durante 30 min. As leituras de absorbância foram realizadas a 595 nm em espectrofotômetro UV-visível (modelo Libra S22, Biochrom, Cambridge, Reino Unido). Os resultados foram correlacionados com uma curva padrão de Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico) (Sigma-Aldrich, Saint Louis, EUA). Os ensaios foram realizados em duplicata.

#### 2.4.5 Ácidos Graxos

Após extração do óleo da microesfera conforme item 2.4.1, foi feita a hidrólise e transesterificação dos ácidos graxos dos óleos (extraídos das microesferas e óleo de sementes de uva sem microencapsular) segundo o método 5509 da ISO (1978) com n-heptano e solução de NaOH/Metanol 2M. Após separação das fases, a fase superior contendo n-heptano e ésteres metílicos de ácidos graxos foi transferida para um vial âmbar e armazenada a 18°C até o momento da análise. Ésteres metílicos de ácidos graxos foram analisados utilizando cromatógrafo gasoso (modelo 17A, Shimadzu, Quioto, Japão) equipado com detector de ionização de chama e coluna capilar (100m x 0,25 mm) com 0,25  $\mu\text{m}$  de cianopropilpolisiloxano CP SII 88. A rampa de temperatura de coluna foi programada para: 65°C por 15 min; 10°C.min<sup>-1</sup> até 165°C e mantido por 2 min; 4°C.min<sup>-1</sup> até 185°C e mantido por 8 min; 4°C.min<sup>-1</sup> até 235°C e mantido por 5 min. O detector e injetor foram mantidos a 260°C, utilizando Split de 1/100. O fluxo de gases foi de 1,2 mL.min<sup>-1</sup> para o gás de arraste ( $\text{N}_2$ ), 30 mL.min<sup>-1</sup> para o gás auxiliar ( $\text{H}_2$ ), 30 e 300 mL.min<sup>-1</sup> para os gases da chama,  $\text{H}_2$  e ar sintético, respectivamente. A identificação

dos ácidos graxos foi baseada em padrões de ésteres metílicos de ácidos graxos (Sigma-Aldrich, Saint Louis, EUA). A análise foi realizada em duplicata.

#### 2.4.6 Índice de Peróxido

A extração do óleo para determinação do índice de peróxido foi realizada segundo metodologia proposta por Partanen et al. (2008), com algumas modificações. 0,5 g de pó foi misturado com 5 mL de água destilada (40°C) e o tubo foi agitado durante 5 minutos em vortex. Uma porção de 400 µL foi retirada e agitada durante 10 segundos com 1,5 mL de uma mistura iso-octano/isopropanol (2:1). Em seguida, as fases foram separadas por centrifugação (Eppendorf 5804 R, Hamburgo, Alemanha) a 2400 rpm a 4°C por 5 minutos. A determinação do índice de peróxidos foi realizada espectrofotometricamente de acordo com o método padrão IDF 74A:1991. Para determinar o índice de peróxidos no óleo sem microencapsular uma porção de 0,05g do óleo foi pesada e do óleo extraído da microesfera uma alíquota de 400 µL do meio de extração foi adicionada a 9,6 mL de uma solução de clorofórmio/metanol (7:3). Para a formação de cor, foram adicionados 50 µL de soluções de cloreto de ferro (II) e 50 µL de tiocianato de amônia. As amostras foram agitadas, mantidas em repouso, no escuro, por 5 minutos e então foi medida a absorbância a 500 nm em espectrofotômetro UV-visível (modelo Libra S22, Biochrom, Cambridge, Reino Unido). Os resultados foram correlacionados com uma curva padrão de Fe<sup>+3</sup> (SHANTHA; DECKER, 1994). A análise foi realizada em duplicata.

#### 2.4.7 Umidade e Atividade de Água

A umidade das microesferas foi determinada gravimetricamente por secagem em estufa a 105° C por 6h. A análise foi feita em duplicata usando 1 g de amostra (AOAC, 1997). A atividade de água foi realizada em triplicata e medida em um higrômetro digital Aqualab 4 TEV (Decagon, Pullman, EUA) a 25°C.

#### 2.4.8 Densidade Aparente, Distribuição de Tamanho Das Partículas, Área Superficial e *Span*

A densidade aparente das partículas foi determinada através da medida do volume ocupado por 2 g da amostra em pó em uma proveta graduada de 25 mL em duplicata (GOULA; ADAMOPOULOS, 2004).

A distribuição de tamanho das partículas, a área superficial e o *span* das microesferas foram determinados em um analisador de tamanho de partículas por difração a laser (Laser Scattering Spectrometer Mastersizer, modelo 2000, Malvern, Reino Unido). O diâmetro médio foi determinado baseando-se no diâmetro médio de uma esfera de mesmo volume (diâmetro de De Brouckere  $D_{43}$  - equação 4). Para esta análise, uma pequena quantidade da amostra foi dispersa em álcool etílico (99,5 %) e submetida a 2 leituras em triplicata.

$$D_{43} = \frac{\sum_{i=1}^n z_i d_i^4}{\sum_{i=1}^n z_i d_i^3} \quad (4)$$

Onde  $z_i$  é o número de partículas de diâmetro  $d_i$ .

#### 2.4.9 Morfologia

O estudo da morfologia das partículas foi realizado através da microscopia eletrônica de varredura (MEV). As amostras foram fixadas em porta espécimens metálicos (stubs), com uma fita de carbono dupla face. Em seguida, foram metalizadas com uma liga de ouro com grau de pureza de 99,6%, em um metalizador (Sputter Coater SCD 050 BAL-TEC) a uma taxa de recobrimento de 0,51 Å/s, por 98 segundos, em voltagem de 40 mA, e  $5 \times 10^{-1}$  mbar. As amostras foram observadas em um microscópio eletrônico de varredura (FEI Quanta 200). A aquisição das imagens foi realizada pelo software XTM 2001 Fei company.

## 2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para avaliar os resultados, foi utilizado o software Statistica 10 (Stasoft, Tulsa, EUA). Os dados das variáveis foram submetidos à análise estatística de variância e ao teste de Tukey a 5% de significância.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 3.1 AVALIAÇÃO DAS EMULSÕES

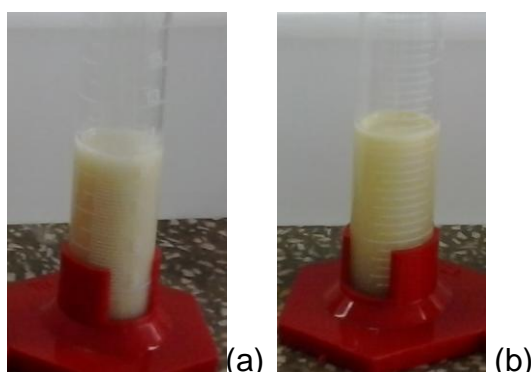
#### 3.1.1 Estabilidade das Emulsões

Para a microencapsulação de óleos, é necessário que a emulsão formada seja estável durante todo o processo, ou seja, não ocorra a separação de fases, uma vez que resulta em baixa eficiência de encapsulação. Durante todo o tempo necessário para o processo de microencapsulação as emulsões permaneceram estáveis, não apresentando separação de fases.

A fim de avaliar o comportamento das emulsões com diferentes materiais de parede a estabilidade (figura 1) foi avaliada 4 h e 24 h após a emulsificação. As emulsões registraram boa estabilidade após 4 h, não ocorrendo separação de fases. Após as 24 h, a emulsão com GA apresentou algumas gotículas de óleo na superfície. Já a emulsão com GA/MD teve separação de fases, que pode ser atribuída à deficiência de propriedade emulsificante da maltodextrina. Assim, quando somente a goma arábica foi utilizada, a estabilidade da emulsão foi melhor, uma vez que possui boas propriedades emulsificantes devido à pequena porção proteica em sua composição (BEMILLER; WHISTLER, 1996).

Figura 1- Estabilidade das emulsões.

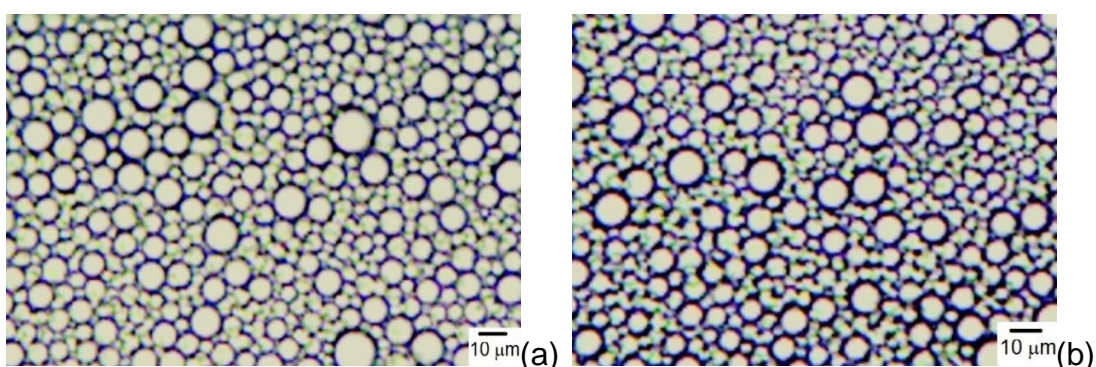
(a) goma arábica; (b) goma arábica e maltodextrina.



### 3.1. 2 Diâmetro Médio das Gotas das Emulsões

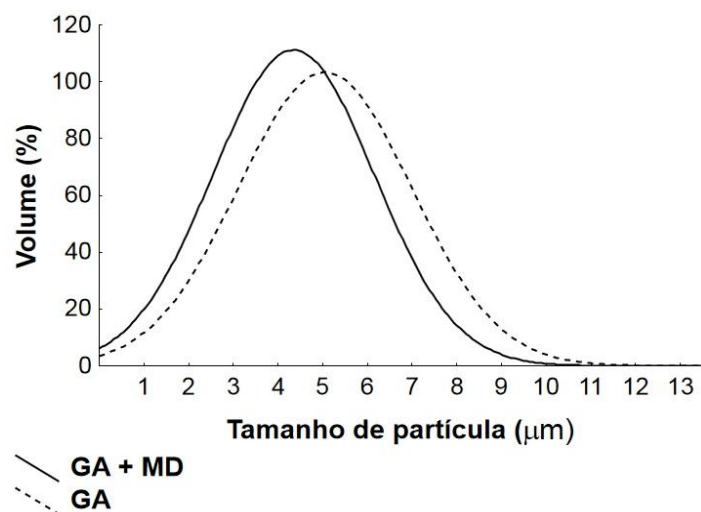
Por microscopia ótica (figura 2), foram determinadas a distribuição do tamanho das gotas das emulsões (figura 3) e o diâmetro médio. A emulsão de GA apresentou um diâmetro médio de  $6,47 \pm 0,06 \mu\text{m}$  enquanto que a emulsão de GA/MD  $5,80 \pm 0,11 \mu\text{m}$ , havendo diferença estatística entre as emulsões avaliadas ( $p < 0,05$ ).

Figura 2- Microscopia ótica das emulsões. (a) goma arábica; (b) goma arábica e maltodextrina. Aumento de 40 vezes.



Em relação às distribuições de tamanho, as emulsões apresentaram distribuição unimodal, ou seja, com um pico representativo da amostra avaliada. A emulsão de GA/MD apresentou menor diâmetro médio e um pico mais estreito e mais alto, indicando uma maior uniformidade das gotas.

Figura 3 – Distribuição das partículas das emulsões.



### 3.3 Umidade e Atividade de Água

De acordo com a tabela 1, a umidade das microesferas diferiu significativamente e variou de 4,15 a 5,51 %, sendo que o óleo encapsulado com GA apresentou o maior teor de umidade. Já Carneiro et al. (2013) não encontraram diferenças significativas na umidade do pó ao estudar diferentes materiais encapsulantes.

Tabela 1 – Parâmetros avaliados no óleo microencapsulado de sementes de uva.

Parâmetros	GA	GA/MD
Umidade (%)	5,51 ± 0,07 a	4,15 ± 0,3 b
Atividade de água	0,21 ± 0,02 b	0,30 ± 0,01 a
Densidade aparente (g/cm <sup>3</sup> )	0,39 ± 0,00 a	0,40 ± 0,00 a
Span	2,01 ± 0,03 a	2,00 ± 0,05 a
D <sub>43</sub> (µm)	27,28 ± 0,51 a	26,96 ± 0,46 a
Área superficial (m <sup>2</sup> /g)	0,60 ± 0,004 b	0,61 ± 0,01 a
Óleo total (%)	9,19 ± 0,14 a	9,13 ± 0,09 a
Óleo superficial (%)	2,95 ± 0,1 b	3,30 ± 0,04 a
Retenção de óleo (%)	92,00 ± 1,41 a	91,50 ± 0,71 a
Eficiência de encapsulação (%)	67,92 ± 1,55 a	63,47 ± 0,49 a*

\*Médias seguidas do seu desvio padrão. As médias seguidas pela mesma letra na horizontal não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5 % de probabilidade. GA= goma arábica; GA/MD= goma arábica e maltodextrina (50:50); D<sub>43</sub>= diâmetro médio.

Observa-se que a amostra GA/MD teve maior valor de aw em comparação à amostra de GA. Os valores obtidos foram baixos variando de 0,21 a 0,30 (tabela 1). A atividade de água está relacionada à conservação dos alimentos,

uma vez que indica a disponibilidade de água para reações.

Comparando os resultados de umidade e atividade de água, observa-se que as amostras encapsuladas com GA apresentaram maior umidade com baixa  $a_w$ . Por outro lado, as microcápsulas com GA/MD tiveram menor umidade em maior  $a_w$ , indicando a baixa higroscopicidade destas. Tal comportamento pode ser explicado à estrutura química de cada agente encapsulante. O fenômeno de adsorção de água por carboidratos é atribuído às ligações entre o hidrogênio presente nas moléculas de água e os grupos hidroxilas disponíveis nas regiões amorfas do substrato. A goma arábica, por possuir maior número de ramificações com grupos hidrofílicos do que a maltodextrina 10DE, adsorve mais facilmente a umidade do ar ambiente (TONON; FREITAS; HUBINGER, 2011).

#### 3.4 DISTRIBUIÇÃO DE TAMANHO DAS MICROESFERAS, SPAN, ÁREA SUPERFICIAL E DENSIDADE APARENTE

A distribuição do tamanho das microesferas consiste de um importante parâmetro físico que pode influenciar a mistura de componentes diferentes na compactação e segregação da mistura, sendo que as partículas menores permanecem distribuídas sobre a parte inferior, enquanto as partículas maiores tendem a permanecer na parte superior da embalagem. As curvas de distribuição do tamanho das partículas (figura 4) mostram que as distribuições de tamanho de partículas foram do tipo trimodal, ou seja, existem três picos distintos cada um representando uma população com tamanho diferente.

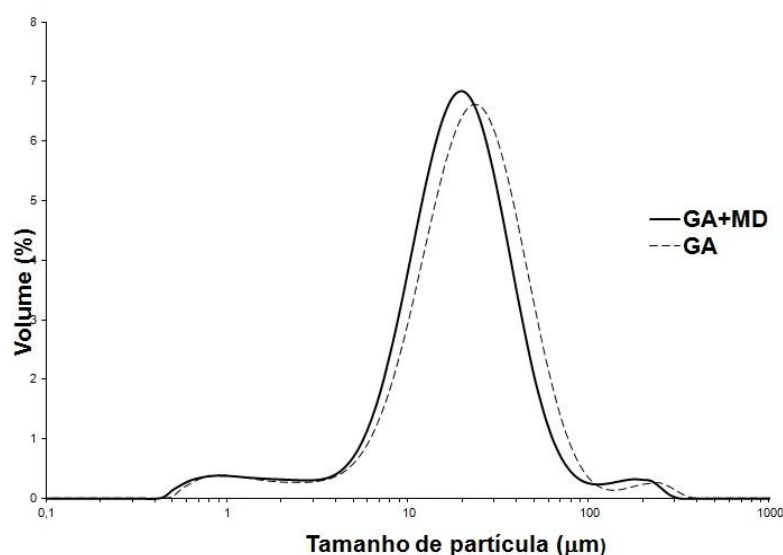
De acordo com Gong et al. (2007), pós secos obtidos por spray drying têm um pequeno tamanho de partícula ( $<50 \mu\text{m}$ ), e neste estudo o diâmetro médio  $D_{43}$  ( $\mu\text{m}$ ) das microesferas encapsuladas com GA e GA/MD não apresentaram diferença ( $p>0,05$ ). De acordo com Toth e Pallai-Varsanyi (2006), produtos com partículas muito pequenas apresentam baixa fluidez e propriedades de dissolução, tais como dispersibilidade e molhabilidade.

Em adição, o diâmetro médio das partículas é um importante parâmetro físico em relação à estabilidade dos pós, uma vez que partículas menores apresentam maior área total superficial, causando grande afinidade por umidade e levando a maior possibilidade de compactação do produto durante estocagem

(HOGEKAMP; SCHUBERT, 2003). Comparando as amostras, apesar de valores muito próximos, verificou-se que houve diferença significativa na área superficial (tabela 1).

A fim de melhor comparação com os valores medidos calculou-se o *span*, que considera o diâmetro médio equivalente a 90%, 50% e 10% do volume cumulativo. Os valores de *span* caracterizam o quão homogêneo é a distribuição do tamanho das partículas, ou seja, quanto maior o valor do *span*, mais heterogênea ou polidispersa é a sua distribuição (HIJO et al., 2014).

Figura 4 – Distribuição das partículas das microesferas.



Observando a tabela 1, verifica-se que não houve diferença no *span* das amostras analisadas ( $p > 0,05$ ). O *span* encontrado neste estudo foi superior ao encontrado por Tonon et al. (2012) ao estudar óleo de linhaça utilizando goma arábica como material de parede e próximo ao encontrado por Fernandes; Borges; Botrel (2014) e Botrel et al. (2012) ao microencapsular óleo essencial de alecrim com amido e goma arábica e óleo essencial de orégano com goma arábica, capsul e maltodextrina, respectivamente. Tais trabalhos comprovam as diferenças nos valores de *span* encontrados de acordo com material de recheio, material encapsulante e condições do processo, sendo que os valores encontrados nesse estudo podem ser considerados valores médios.

A densidade é um parâmetro muito importante para processamento, embalagem, transporte, e estocagem de produtos em pó, uma vez que a partir desta

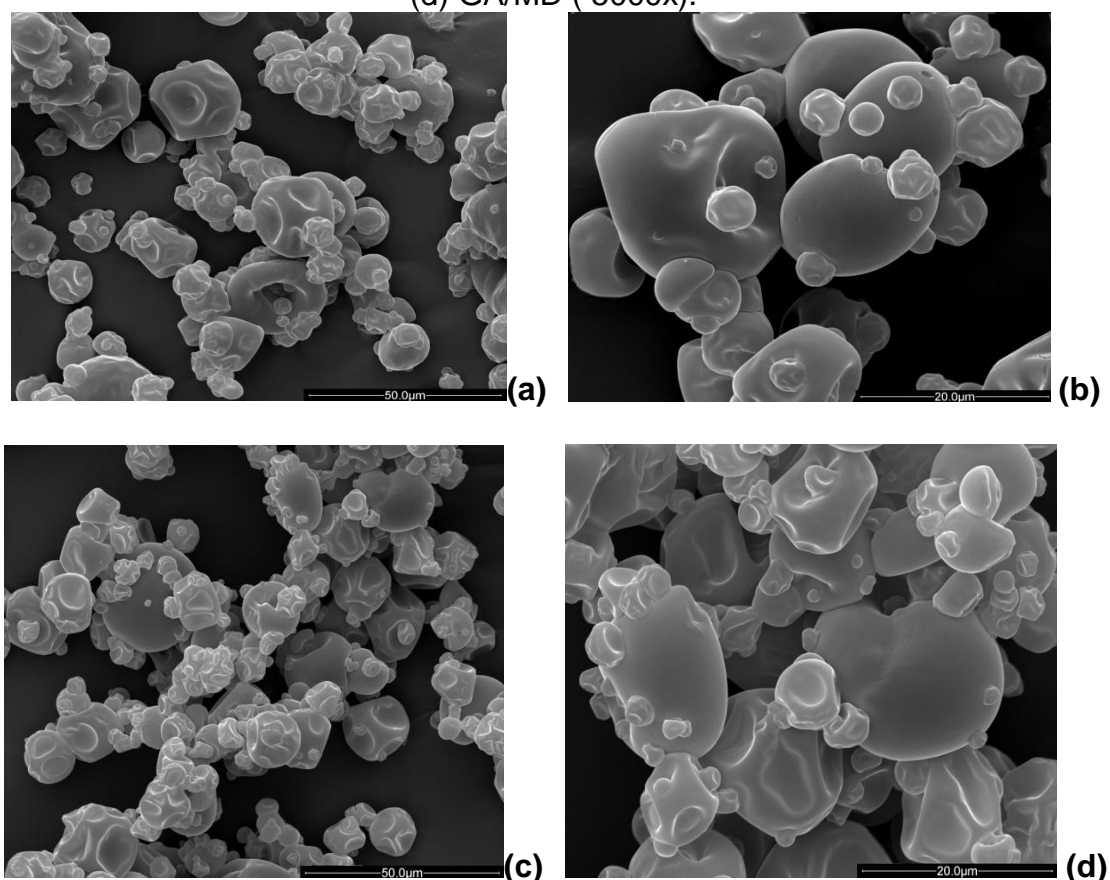
característica se pode mensurar o espaço ocupado por determinada quantidade de produto. Em produtos em pó, a densidade mais utilizada é a densidade aparente que considera o volume de material e o volume de ar entre partículas (BARBOSA-CANOVÁS; JULIANO, 2005).

As amostras encapsuladas por GA e GA/MD não apresentaram diferença significativa (tabela 1). As densidades encontradas foram maiores que as reportadas por Fernandes; Borges; Botrel (2014) e Bae e Lee (2008) para microcápsulas de óleo essencial de alecrim e óleo de abacate. Materiais com baixa densidade não são desejáveis uma vez que necessita maior espaço para armazenamento, o que gera aumento de custo (SANTANA et al., 2013). Além disso, o produto pode conter uma maior quantidade de ar em contato e, conseqüentemente, terá maior probabilidade de degradação oxidativa e menor estabilidade na estocagem (BARBOSA-CANOVÁS; JULIANO, 2005).

### 3.5 MORFOLOGIA

A morfologia das partículas obtidas por *spray drying* foi avaliada através da microscopia eletrônica de varredura (figura 5). As microesferas apresentaram formato esférico e tamanho variado, que é uma característica típica de partículas produzidas por *spray drying*. Além disso, mostraram-se intactas, sem fissuras ou rachaduras aparentes, o que é desejável, uma vez que essa característica representa menor permeabilidade das cápsulas a gases, aumenta a proteção e retenção do óleo de sementes de uva. De acordo com Ré (1998), é desejável obter partículas esféricas porque apresentam maior fluidez, menor razão superfície/volume, e assim favorecem a retenção de aroma, e maior densidade aparente, resultando em um melhor “empacotamento” do material de recheio.

Figura 5 - Morfologia das micropartículas contendo óleo de sementes de uva: (a) GA (aumento de 2000x), (b) GA (5000 x), (c) GA/MD (2000x), (d) GA/MD ( 5000x).



As microesferas apresentaram predominantemente superfície rugosa, que também é uma característica peculiar às partículas obtidas pelo processo de secagem por atomização, e é resultante do encolhimento das gotas durante as etapas iniciais da secagem. Essa característica pode interferir nas condições de escoamento do material, e, devido a apresentar maior área superficial podem ser mais susceptíveis a reações como oxidação (ROSENBERG; KOPPELMAN; TALMON, 1990).

Segundo Ré (1998), tais imperfeições são formadas quando há um lento processo de formação de filme durante a secagem das gotículas atomizadas, associando a presença de depressões superficiais ao colapso sofrido pelas gotas durante os estágios iniciais da secagem. Ameri e Maa (2006) reportaram que o formato e a morfologia das partículas secas em *spray-dryer* utilizando fluxo co-corrente são determinados pela taxa de evaporação do solvente e a composição da emulsão. Se a taxa de evaporação do solvente for muito rápida produz partículas

deformadas ou rompidas; por outro lado, se for lenta produz partículas com umidade alta e pegajosas. A composição da emulsão define o formato da partícula. No início da secagem, ocorre a formação de um filme ao redor da gota atomizada, o qual irá dificultar a difusão da água para fora e fazer com que aumente a pressão de vapor no interior da gota. Em uma determinada pressão crítica, pode acontecer a ruptura do filme, resultando na deformação da partícula.

### 3.6 ÓLEO TOTAL, ÓLEO SUPERFICIAL, RETENÇÃO DE ÓLEO E EFICIÊNCIA DE ENCAPSULAÇÃO

O teor de óleo superficial é referente ao óleo que não foi microencapsulado em relação à massa das microesferas. Sua presença influencia adversamente as propriedades físicas das microesferas produzidas por *spray drying*, tais como fluidez, densidade aparente e dispersibilidade, além de estar mais susceptível a oxidação (KEOGH et al., 2001).

A amostra microencapsulada com GA/MD apresentou maior teor de óleo superficial (3,30%) em comparação com a amostra microencapsulada com GA (2,95%). Esse resultado está condizente com o encontrado por Frascareli (2010) ao estudar a microencapsulação de óleo de café com 15% de óleo com GA e GA/MD que apresentaram óleo superficial de 2,10 e 2,90%, respectivamente. A autora observou que o teor de óleo superficial aumentava proporcionalmente à quantidade de maltodextrina empregada. A maior quantidade de óleo superficial pode ser decorrente da falta de capacidade emulsificante da maltodextrina, que também está condizente com a estabilidade da emulsão, onde a emulsão de GA/MD se mostrou menos estável do que a emulsão com GA.

Já a eficiência de microencapsulação indica a porcentagem de óleo que está efetivamente encapsulada, ou seja, no interior das partículas. A eficiência de encapsulação foi 63,47 (GA/MD) e 67,92 % (GA) (tabela 1), e não houve diferença estatística. Fernandes; Borges; Botrel (2014) e Carneiro et al. (2013), ao estudar microencapsulação de óleo essencial de alecrim e óleo de linhaça com GA/MD, respectivamente, reportaram que a eficiência de microencapsulação diminuía com aumento da proporção de maltodextrina. A melhor eficiência e retenção de óleo encontrada nas microcápsulas com goma arábica é devido a sua maior capacidade emulsificante, que leva à formação de emulsões mais estáveis

durante a secagem. No entanto, neste estudo, na proporção de GA/MD utilizada (50:50), a maltodextrina não afetou negativamente a eficiência e retenção de óleo, agindo de forma semelhante a GA. Assim, pode-se afirmar que a maltodextrina pode ser uma alternativa para reduzir o custo da microencapsulação sem afetar tais parâmetros.

As amostras analisadas apresentaram resultados muito próximos de óleo total, 9,13 e 9,19 %, não apresentando diferença ( $p > 0,05$ ), sendo que a quantidade inicial de óleo adicionada na emulsão foi de 10% em relação ao total de sólidos. Com relação à retenção de óleo nas microesferas, tal parâmetro indica a quantidade de óleo que se encontra na partícula após encapsulação, em relação à sua quantidade na emulsão. De acordo com a tabela 1, a retenção de óleo das amostras foi 92,00 % (GA) e 91,50 % (GA/MD), indicando que pode ter ocorrido uma pequena degradação do óleo durante o processo, e além disso de acordo com ROSENBERG; KOPELMAN; TALMON (1985) a retenção do encapsulado é alterada pelo tipo de agente encapsulante, composição da solução de alimentação, concentração de sólidos, temperatura de entrada e saída do ar, velocidade e umidade do ar, velocidade do fluxo do material, características de atomização e natureza do material ativo.

Fernandes; Borges; Botrel (2014) reportaram diferença significativa para os valores de retenção de óleo ao microencapsular óleo essencial de alecrim com GA e GA/MD; no entanto, encontraram valores inferiores ao encontrado nesse estudo. Frascareli (2010), ao avaliar a microencapsulação de óleo de café com GA e GA/MD, encontrou valores superiores de retenção de óleo, porém ao aumentar a proporção de maltodextrina às microcápsulas apresentaram menor valor diferindo significativamente.

### 3.7 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE, COMPOSTOS FENÓLICOS E ÍNDICE DE PERÓXIDOS

O óleo puro apresentou maior conteúdo de compostos fenólicos em relação às amostras microencapsuladas com GA e GA/MD. Analisando a tabela 2, verifica-se que houve uma relação direta entre o conteúdo de compostos fenólicos com a atividade antioxidante determinada por DPPH, que foi maior no óleo puro em relação aos óleos microencapsulados. Provavelmente, durante o processo de

microencapsulação, ocorreu a degradação de alguns compostos fenólicos devido a alta temperatura utilizada no processo de atomização, reduzindo a capacidade de sequestrar o radical DPPH.

Tabela 2. Atividade antioxidante, compostos fenólicos e índice de peróxido.

<b>Amostras</b>	<b>Fenólicos (mg ácido gálico/g óleo)</b>	<b>DPPH (mM Trolox/g óleo)</b>	<b>FRAP (mM Trolox/g óleo)</b>	<b>Índice de peróxido (meq/kg óleo)</b>
Óleo	68,82 ± 0,20 a	44,06 ± 1,73 a	16,93 ± 0,47 c	4,60 ± 0,17 c
GA	41,60 ± 0,06 b	11,90 ± 1,07 b	27,32 ± 1,40 b	26,99 ± 0,58 a
GA/MD	32,31 ± 0,37 c	17,31 ± 2,13 b	37,28 ± 0,33 a	22,49 ± 0,10 b*

\*Médias seguidas do seu desvio padrão. As médias seguidas pela mesma letra na vertical não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5 % de probabilidade. GA= goma arábica; GA/MD= goma arábica e maltodextrina (50:50).

Ferreira et al. (2016) observaram uma redução significativa na capacidade de sequestrar o radical livre DPPH no óleo de palma após microencapsulação por spray drying. Os autores sugeriram que tal resultado foi devido ao elevado grau de oxidação do óleo e à redução de antioxidantes, tais como vitamina E, após o processo de microencapsulação. Tal redução na atividade antioxidante foi reportada também por Razmkhah et al. (2013) para óleo de semente de Kenaf microencapsulado por spray drying. Os autores observaram também que essa diminuição na atividade antioxidante foi devido à degradação de compostos fenólicos presentes na amostra, resultado do estresse térmico e oxidativo. Por outro lado, um comportamento contrário foi reportado por Arana-Sánchez et al. (2010), na qual houve um aumento na atividade antioxidante por DPPH do óleo essencial de orégano após encapsulamento por spray drying. Os autores atribuíram esse resultado à mudanças na composição de óleos puros no processo de microencapsulação, uma vez que foi verificado uma menor degradação dos mesmos.

Já os resultados de atividade antioxidante por FRAP indicaram um comportamento inverso, sendo que os óleos microencapsulados apresentaram maior capacidade redutora do íon ferro, embora apresentassem menor conteúdo de compostos fenólicos e menor capacidade de sequestrar o radical DPPH. Isso pode ser decorrente da formação de alguns compostos com propriedades antioxidantes

resultantes da reação de Maillard durante o aquecimento, tais como as melanoidinas que possuem, entre outras propriedades, capacidade antioxidante. Embora os componentes específicos responsáveis pela proteção e comportamento antioxidante observados nesses produtos ainda não sejam totalmente compreendidos, as melanoidinas estão sendo considerados produtos importantes na prevenção da oxidação (WANG; QIAN; YAO, 2011).

Carneiro et al. (2013) também sugeriram uma provável formação de melanoidinas nas partículas de óleo de linhaça durante o armazenamento. Para os autores, esses produtos podem ter atribuído propriedades antioxidantes às cápsulas, devido à melhor estabilidade à oxidação. Tal comportamento também foi encontrado nesse estudo, onde a microesfera de GA/MD apresentou maior capacidade redutora (FRAP) e menor índice de peróxido quando comparado com a microesfera de GA.

Foi verificado que os óleos microencapsulados apresentaram maior índice de peróxidos que o óleo puro, indicando que o processo de microencapsulação empregado favoreceu a oxidação do óleo de semente de uva. Este resultado pode ser esperado, uma vez que este óleo apresenta alto teor de ácidos graxos poli-insaturados que são susceptíveis ao processo oxidativo, principalmente em altas temperaturas.

Carneiro et al. (2013) encontraram valores inferiores de índice de peróxido no óleo de linhaça, sendo que o óleo puro e as cápsulas de WPC/MD e Capsul/MD apresentaram menor grau de oxidação do que as amostras encapsuladas com HiCap/MD e GA/MD. Após uma semana de armazenamento a 45°C, as amostras encapsuladas com HiCap/MD e GA/MD apresentaram maior concentração de peróxidos, atingindo valores próximos ao encontrados neste estudo. Bae; Lee (2008) observaram que não houve diferenças significativas no índice de peróxido entre os óleos encapsulados e o puro e que a adição de maltodextrina à proteína resultou na diminuição da oxidação, da mesma forma que o encontrado nesse estudo, onde a adição de maltodextrina à goma arábica diminuiu o índice de peróxido. Tal resultado pode estar relacionado ao fato de a maltodextrina (hidrofílica) reduzir a permeabilidade do oxigênio (hidrofóbico) à matriz (DZONDO-GADET et al., 2005). Além disso, a permeabilidade da matriz ao oxigênio também pode ser afetada pela sua porosidade (BAE; LEE, 2008).

Geralmente uma maior eficiência de encapsulação é acompanhada

de menor teor de óleo superficial e menor oxidação lípidica. Entretanto, neste estudo a eficiência de encapsulação não diferiu significativamente e não foi possível observar uma correlação entre o conteúdo de óleo superficial e o índice de peróxido, uma vez que a amostra que apresentou o maior teor de óleo superficial foi o óleo encapsulado com GA/MD; no entanto, o mesmo apresentou menor índice de peróxido, indicando melhor proteção do óleo encapsulado. Por outro lado, o índice de peróxidos mostrou uma relação com o tamanho das gotas da emulsão, já que o maior tamanho das gotas foi observado na emulsão com goma arábica a qual também apresentou o maior índice de peróxidos. Essa relação também foi verificada por Tonon; Grosso e Hubinger (2011) ao estudar óleo de linhaça.

De acordo com a Andersen et al. (2000), quando o óleo é encapsulado numa matriz alimentar vítrea, algumas partículas de óleos podem oxidar rapidamente, em que outras podem oxidar mais lentamente devido à heterogeneidade no grau de encapsulamento. Tonon; Grosso e Hubinger (2011) verificaram que o índice de peróxidos aumentou com o aumento da temperatura de secagem e sugeriram que a utilização de temperaturas mais elevadas de entrada de ar proporciona mais energia disponível para o processo de oxidação de lipídeos, que ocorre mais intensamente, favorecendo a formação de peróxidos.

### 3.8 ÁCIDOS GRAXOS

Analisando a tabela 3, foi verificado que não houve diferença significativa na composição do óleo encapsulado com GA e GA/MD, bem como no óleo puro. Tal composição está em conformidade com os valores recomendados pela FAO/WHO para o óleo de sementes de uva. Os óleos apresentaram um alto conteúdo de ácido linoleico e oleico. Dessa forma, pode-se afirmar que o processo de microencapsulação por spray drying é uma ótima alternativa para a proteção do óleo.

Calvo et al. (2010) avaliaram óleo de oliva extra virgem e também não verificaram diferença significativa no perfil de ácidos graxos após a microencapsulação. Já Ferreira et al. (2016) encapsularam óleo bruto de palma e encontraram diferença significativa no conteúdo de ácido palmítico e oleico após a microencapsulação.

Tabela 3. Conteúdo de ácidos graxos em óleo de sementes de uva e microcápsulas.

<b>Ácido graxo</b>	<b>GA (% ácido graxo)</b>	<b>GA/MD (% ácido graxo)</b>	<b>Óleo com ultrassom (% ácido graxo)</b>	<b>FAO/WHO (% ácido graxo)</b>
c 6:0	nd	nd	nd	nd
c 8:0	nd	nd	nd	nd
c 10:0	nd	nd	nd	nd
c 12:0	nd	nd	nd	nd
c 14:0	0,09 ± 0,00 a	0,09 ± 0,01 a	0,09 ± 0,01 a	nd-0,3
c 16:0	8,76 ± 0,29 a	8,79 ± 0,19 a	8,75 ± 0,11 a	5,5 - 11,0
c 16:1	nd	nd	nd	nd-1,2
c 17:0	nd	nd	nd	nd-0,2
c 17:1	nd	nd	nd	nd-0,1
c 18:0	3,27 ± 0,11 a	3,22 ± 0,00 a	3,20 ± 0,05 a	3,0-6,5
c 18:1	20,93 ± 0,02 a	20,90 ± 0,05 a	20,78 ± 0,15 a	12,0 - 28,0
c 18:2	65,68 ± 0,23 a	65,75 ± 0,10 a	65,88 ± 0,16 a	58,0 - 78,0
c 18:3	0,65 ± 0,05 a	0,64 ± 0,02 a	0,68 ± 0,08 a	nd-1,0
c 20:0	nd	0,06 ± 0,00 a	0,06 ± 0,01 a	nd-1,0
c 20:1	nd	nd	nd	nd-0,3
c 20:2	nd	nd	nd	nd
c 22:0	nd	nd	nd	nd-0,5
c 22:1	nd	nd	nd	nd-0,3
c 22:2	nd	nd	nd	nd
c 24:0	nd	nd	nd	nd-0,4
c 24:1	nd	nd	nd	nd
AGS	12,25 ± 0,16 a	12,23 ± 0,18 a	12,13 ± 0,06 a	
AGMI	21,00 ± 0,01 a	20,97 ± 0,06 a	20,85 ± 0,15 a	
AGPI	66,35 ± 0,28 a	66,41 ± 0,12 a	66,59 ± 0,08 a*	

\*Médias seguidas do seu desvio padrão. As médias seguidas pela mesma letra na horizontal não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5 % de probabilidade. nd- não detectável, definida como  $\leq 0,05\%$ . GA= goma arábica; GA/MD= goma arábica e maltodextrina (50:50). AGS: ácidos graxos saturados; AGMI: ácidos graxos monoinsaturados; AGPI: ácidos graxos poli-insaturados.

Ao considerar a classificação geral dos ácidos graxos (tabela 3), verificou-se que os óleos de sementes de uva, microencapsulado ou não, apresentaram maior concentração de AGPI do que AGMI, seguido por AGS, indicando que a inclusão de óleo de sementes de uva na dieta humana pode trazer benefícios para a saúde. Alguns AGPI, tais como o linoleico e linolênico, são essenciais para o corpo humano, já que não podem ser sintetizados (BAYDAR; OZKAN; ÇETIN, 2007). O elevado teor de ácido linoleico nos óleos de sementes de uva é interessante por ser o principal ácido graxo alimentar que regula a lipoproteína de baixa densidade (LDL) (WIJENDRAN; HAYES, 2004).

## 4 CONCLUSÃO

Neste estudo, foi possível avaliar o desempenho da goma arábica e mistura de goma arábica e maltodextrina na microencapsulação do óleo de sementes de uva. O material de parede utilizado não influenciou os resultados das microesferas de diâmetro médio, *span*, densidade aparente, óleo total, e retenção de óleo. O perfil dos ácidos graxos antes e após a microencapsulação não apresentou diferença, demonstrando que o processo e o material de parede não afetaram a composição dos ácidos graxos.

Embora a microesfera produzida com GA/MD tenha apresentado maior teor de óleo superficial, este resultado não afetou significativamente a eficiência de encapsulação, e apresentou ainda a maior atividade antioxidante pelo método FRAP (comparado com o óleo encapsulado com GA e óleo puro), e menor índice de peróxidos do que a microesfera com GA. Por outro lado, o conteúdo de compostos fenólicos e atividade antioxidante pelo método DPPH no óleo diminuíram após o processo de microencapsulação, e a microesfera com GA apresentou o maior conteúdo de compostos fenólicos do que a encapsulada com GA/MD. O índice de peróxido nos óleos encapsulados teve um aumento ao ser comparado com o óleo puro, indicando que a alta temperatura utilizada no processo de secagem por atomização pode ter favorecido o processo oxidativo do óleo. Dessa forma, mais estudos ainda são necessários para otimizar a microencapsulação do óleo de sementes de uva e entender o mecanismo de reações no óleo encapsulado.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem pelo apoio financeiro à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal do Nível Superior (CAPES) e à Fapesp (EMU 2009/54137-1).

## REFERÊNCIAS

AMERI, M.; MAA, Y. Spray-drying of biopharmaceuticals: stability and process considerations. **Drying Technology**, v. 24, n.6, p. 763-768, 2006.

ANDERSEN, A.B.; RISBO, J.; ANDERSEN, M.L.; SKIBSTED, L.H. Oxygen permeation through an oil-encapsulating glassy food matrix studied by ESR line broadening using a nitroxyl spin probe. **Food Chemistry**, v. 70, n.4, p. 499–508, 2000.

AOAC INTERNATIONAL. **Official methods of analysis**. 16<sup>a</sup> ed., 3<sup>a</sup> rev. Gaithersburg: Published by AOAC International, 1997. v.2, cap. 32, p.1-43.

ARANA-SÁNCHEZ, A.; ESTARRÓN-ESPINOSA, M.; OBLEDO-VÁZQUEZ, E. N.; PADILLA-CAMBEROS, E.; SILVA-VÁZQUEZ, R.; LUGO-CERVANTES, E. Antimicrobial and antioxidant activities of Mexican oregano essential oils (*Lippia graveolens* H. B. K.) with different composition when microencapsulated in  $\beta$ -cyclodextrin. **Letters in Applied Microbiology**, v. 50, p.585–590, 2010.

ASCHERI, D. P.R.; MARQUEZ, M. O.M.; MARTUCCI, E. T. Microencapsulação de óleo essencial de laranja: Seleção de material de parede. **Ciência e tecnologia de Alimentos**, v.23, p.1-6, 2003.

BAE, E. K.; LEE, S. J. Microencapsulation of avocado oil by spray drying using whey protein and maltodextrin. **Journal of Microencapsulation**, v. 25, n.8, p.549–560, 2008.

BAIL, S.; STUEBIGER, G.; KRIST, S.; UNTERWEGER, H.; BUCHBAUER, G. Characterisation of various grape seed oils by volatile compounds, triacylglycerol composition, total phenols and antioxidant capacity. **Food Chemistry**, v.108, p.1122–1132, 2008.

BARANAUSKIENÉ, R.; BYLAITE, E.; ZUKAUSKAITE, J.; VENSKUTONIS, R. Flavour retention of peppermint (*Mentha piperita* L.) essential oil spray-dried in modified starches during encapsulation and storage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 3027 – 3036, 2007.

BARBOSA-CÁNOVAS, G.V.; JULIANO, P. Physical and chemical properties of food powders. In: ONWULATA, C. (Ed.). **Encapsulated and powdered foods**, Boca Raton, Taylor & Francis, 2005, p.39-71.

BAYDAR, N.; OZKAN, O.; ÇETIN, E. Characterization of grape seed and pomace oil extracts. **Grasas Y Aceites**, v.58, p. 29-33, 2007.

BEMILLER, J. N.; WHISTLER, R. L. Carbohydrates. In: FENNEMA, O.R. **Food Chemistry**. 3 ed. Cap.4, p.157-224, 1996.

BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, p.70–76, 1996.

BHANDARI, B. R.; DUMOULIN, E. D.; RICHARD, H. M. J.; NOLEAU, I.; LEBERT, A. M. Flavor Encapsulation by spray drying – application to citral and linalyl acetate. **Journal of Food Science**, v.57, n.1, p.217-221. 1992.

BOTREL, D. A.; BORGES, S. V.; FERNANDES, DE B. R. V.; VIANA, A. D.; DA COSTA, J. M. G.; MARQUES, G. R. Evaluation of spray drying conditions on properties of microencapsulated oregano essential oil. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 47, p. 2289–2296, 2012.

CALVO, P.; HERNÁNDEZ, T.; LOZANO, M.; GONZÁLEZ-GÓMEZ, D. Microencapsulation of extra-virgin olive oil by spray-drying: Influence of wall material and olive quality. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v.112, p.852–858, 2010.

CARNEIRO, H. C. F. **Microencapsulação de óleo de linhaça por *spray drying*: influência da utilização de diferentes combinações de materiais de parede.** 2011. 113f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2011.

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

**CODEX ALIMENTARIUS (FAO/WHO)**. Codex Standard for Named Vegetable Oils, *STAN 210-1999*. 16 f (Alterado em 2003). Codex Alimentarius, Roma, Itália, 2003.

DA PORTO, C.; PORRETTO, E.; DECORTI, D. Comparison of ultrasound- assisted extraction with conventional extraction methods of oil and polyphenols from grape (*Vitis vinifera* L.) seeds. **Ultrasonics Sonochemistry**, v.20, p.1076–1080, 2013.

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

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

DZONDO-GADET, A.; NZIKOU, J. M.; ETOUMONGO, A.; LINDER, A.; DESOBRY, S. Encapsulation and storage of safou pulp oil in 6DE maltodextrins. **Process Biochemistry**, v. 40, p.265–271, 2005.

FERNANDES, DE B. R. V.; BORGES, S. V.; DIEGO BOTREL, A. Gum arabic/starch/maltodextrin/inulin as wall materials on the microencapsulation of rosemary essential oil. **Carbohydrate Polymers**, v. 101, p. 524– 532, 2014.

FERREIRA, C. D.; DA CONCEIÇÃO, E. J. L.; MACHADO, B. A. S.; HERMES, V. S.; RIOS, A. DE O.; DRUZIAN, J. I.; NUNES, I. L. Physicochemical Characterization and Oxidative Stability of Microencapsulated Crude Palm Oil by Spray Drying. **Food Bioprocess Technology**, v.9, p.124–136, 2016.

FRASCARELI, E. C. **Microencapsulação de óleo de café através de secagem por atomização: avaliação das propriedades da emulsão e do tipo de material de parede sobre as características do pó**. 2010.181f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos). Pós Graduação da Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2010.

FRASCARELI, E.C.; SILVA, V.M.; TONON, R.V.; HUBINGER, M.D. Effect of process conditions on the microencapsulation of coffee oil by spray-drying. **Food and Bioproducts Processing**, v.90, n. 3, p. 413-424, 2012.

GONG, Z.; ZHANG, M.; MUJUMDAR, A. S.; SUN, J. Spray drying and agglomeration of instant bayberry powder. **Drying Technology**, v. 26, n. 1, p. 116-121, 2007.

GOULA, A. M.; ANADAMOPOULOS, K. G. Spray drying of tomato pulp: effect of feed concentration. **Drying Technology**, v. 22, n.10, p. 2309–2330, 2004.

HIJO, A. A. C. T.; COSTA, J. M. G.; SILVA, E. K.; AZEVEDO, V. M.; YOSHIDA, M. I.; BORGES, S. V. Physical and thermal properties of oregano (*Origanum vulgare* L.) essential oil particles. **Journal of Food Process Engineering**, 2014.

HUYNH, T. V.; CAFINN, N.; DYKES, G.A.; BHANDARI, B. Optimization of the microencapsulation of lemon myrtle oil using response surface methodology. **Drying technology**, v. 26, p. 357-368, 2008.

HOGKAMP, S.; SCHUBERT, H. Rehydration of food powders. **Food Science and Technology International**, v.9, n.3, p. 223–235, 2003.

JAFARI, S. M.; ASSADPOOR, E.; HE, Y.; BHANDARI, B. Encapsulation efficiency of food flavours and oils during spray drying. **Drying Technology**, v.26, n.7, p.816-835, 2008.

KEOGH, M.K.; O'KENNEDY, B.T.; KELLY, J.; AUTY, M.A.; KELLY, P.M.; FUREBY, A.; HAAHR, A.M. Stability to oxidation of spray-dried fish oil powder microcapsulated using milk ingredients. **Journal of Food Science**, v. 66, n. 2, 2001.

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

McNAMEE, B. F.; O'RIORDAN, E. D.; O'SULLIVAN, M. Emulsification and microencapsulation properties of gum Arabic. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.46, p.4551-4555, 1998.

NYAM, K. L.; TAN, C. P.; LAI, O. M.; LONG, K.; CHE MAN, Y. B. Physicochemical properties and bioactive compounds of selected seed oils. **LWT - Food Science and Technology**, v. 42, p. 1396–1403, 2009.

- PARAMITA, V.; IIDA, K.; YOSHII, H.; FURUTA, T. Effect of feed liquid temperature on the structural morphologies of d-limonene microencapsulated powder and its preservation. **Journal Engineering and Physical Properties**, v. 75, n. 1, p. 39-45, 2010.
- PARRY, J.; SU, L.; LUTHER, M.; ZHOU, K.; YURAWECZ, M. P.; WHITTAKER, P.; YU, L. Fatty acid composition and antioxidant properties of cold-pressed marionberry boysenberry red raspberry and blueberry seed oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n.3, p.566–573, 2005.
- PARTANEN, R.; RAULA, J.; SEPPÄNEN, R.; BUCHERT, J.; KAUPPINEN, E.; FORSSELL, P. Effect of relative humidity on oxidation of flaxseed oil in spray dried whey protein emulsions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.56, n.14, p.5717-5722. 2008.
- RAZMKHAH, S.; TAN, C-P.; LONG, K.; NYAM, K-L. Quality Changes and Antioxidant Properties of Microencapsulated Kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) Seed Oil During Accelerated Storage. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 90, p.1859–1867, 2013.
- RÉ, M.I. Microencapsulation by spray drying. **Drying Technology**, v.16, n.6, p.1195-1236, 1998.
- ROSENBERG, M.; KOPPELMAN, I. J.; TALMON, Y. Factors affecting retention in spray-drying microencapsulation of volatile materials. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 38, n. 5, p. 1288-1294, 1990.
- ROSENBERG, M.; KOPELMAN, I. J.; TALMON, Y. A scanning electron microscopy study of microencapsulation. **Journal of Food Science**, v. 50, p. 139-144, 1985.
- SANTANA, A. A.; DE OLIVEIRA, R. A.; PINEDO, A. A.; KUROZAWA, L. E.; PARK, K. J. Microencapsulation of babassu coconut Milk. **Food Science and Technology**, v.33, n.4, p. 737-744, 2013.
- SHAHIDI, F.; HAN, X.Q. Encapsulation of Food Ingredients. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.33, n.6, p.501-547, 1993.
- SHANTHA, N.C.; DECKER, E.A. Rapid, sensitive, iron-based spectrophotometric methods for determination of peroxide value of food lipid. **Journal of AOAC International**, v.77, n. 2, p.421-424. 1994.
- SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic–phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, 144–158, 1965.
- SUAVE, J.; DALL'AGNOL, E. C.; PEZZIN, A. P. T.; SILVA, D. A. K.; MEIER, M. M.; SOLDI, V. Microencapsulação: Inovação em diferentes áreas. *Revista Saúde e Ambiente / Health and Environment Journal*, v. 7, n. 2, 2006.

- TAN, L. H.; CHAN, L.W.; HENG, P. W. Effect of oil loading on microspheres produced by spray drying. **Journal of Microencapsulation**, v.22, p. 253–259, 2005.
- TONON, R. V.; GROSSO, C. R. F.; HUBINGER, M. D. Influence of emulsion composition and inlet air temperature on the microencapsulation of flaxseed oil by spray drying. **Food Research International**, v. 44, p. 282–289, 2011.
- TONON, R.V., FREITAS, S.S., HUBINGER, M.H. Spray drying of açai (*Euterpe oleracea* Mart.) juice: Effect of inlet air temperature and type of carrier agent. **Journal of Food Processing and Preservation**, v.35, p.691-700, 2011.
- TONON, R. V.; PEDRO, R. B.; GROSSO, C. R. F.; HUBINGER, M. D. Microencapsulation of Flaxseed Oil by Spray Drying: Effect of Oil Load and Type of Wall Material. **Drying Technology**, v. 30, p.1491–1501, 2012.
- TOTH, J.; PALLAI-VARSANYI, E. **Drying of bovine serum albumin on inert particle surface in msb dryer**. In: INTERNATIONAL DRYING SYMPOSIUM, 15, 2006, Budapest. Proceedings, p.1216-1222.
- TUBEROSO, C. I.G.; ADAM KOWALCZYK, A.; SARRITZU, E.; CABRAS, P. Determination of antioxidant compounds and antioxidant activity in commercial oilseeds for food use. **Food Chemistry**, v.103, p.1494–1501, 2007.
- VELASCO, J.; DOBARGANES, M.C.; MÁRQUEZ-RUIZ, G., . Variables affecting lipid oxidation in dried microencapsulated oils. **Grasas y Aceites**, v.54, p.304–314, 2003.
- WANG, H., QIAN, H., YAO, W. Melanoidins produced by the Maillard reaction: structure and biological activity. **Food Chemistry**, v. 128, n.3, p. 573–584, 2011.
- WIJENDRAN, V.; HAYES, K. C. Dietary n–6 and n–3 fatty acid balance and cardiovascular health. **Annual Review of Nutrition**, v.24, p. 597–615, 2004.

## 6 CONCLUSÃO

A partir deste trabalho foi possível verificar que a extração assistida por ultrassom (EAU), pode melhorar o rendimento do óleo de sementes de uva em relação a extração com agitação magnética, e quando comparado com Soxhlet, mostrou que pode ter um rendimento considerável, em menor tempo e com menor temperatura e menor utilização de solvente. O óleo de sementes de uva extraído por ultrassom não apresentou diferença na composição de ácidos graxos e nos índices de acidez e no índice de iodo apresentou diferença apenas com 30 dias de incubação em relação ao óleo extraído sem aplicação do ultrassom e apresentou ainda alto teor de compostos fenólicos e atividade antioxidante pelo método FRAP, entretanto, menor atividade antioxidante pelo método DPPH, maior conteúdo de radicais livres e maior índice de peróxido.

Após caracterização do óleo, o mesmo foi microencapsulado e pode-se verificar que o material de parede não influenciou o diâmetro médio, *span*, densidade aparente, óleo total, retenção de óleo e eficiência de encapsulação. O perfil dos ácidos graxos no óleo antes e após a microencapsulação também não foi alterado. A microesfera produzida com GA/MD apresentou maior teor de óleo superficial, maior atividade antioxidante pelo método FRAP e menor índice de peróxidos do que a microesfera com GA. Por outro lado, o conteúdo de compostos fenólicos e atividade antioxidante pelo método DPPH diminuíram ao ser comparado com o óleo puro, e a microesfera com GA apresentou o maior conteúdo de compostos fenólicos do que a microesfera com GA/MD. O índice de peróxido nos óleos encapsulados teve um aumento ao ser comparado com o óleo puro, indicando a alta temperatura utilizada no processo de atomização pode ter aumentado e/ou favorecido o processo oxidativo do óleo e que mais estudos são necessários para otimizar a microencapsulação do óleo de sementes de uva e entender o mecanismo de reações no óleo encapsulado.