



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

JÉSSICA BASSETTO CARRA

**PADRONIZAÇÃO DE METODOLOGIA DE SECAGEM PARA
SUBPRODUTO DA UVA (*VITIS LABRUSCA*) E
DESENVOLVIMENTO DE FORMULAÇÃO FARMACÊUTICA
ENCAPSULADA**

JÉSSICA BASSETTO CARRA

**PADRONIZAÇÃO DE METODOLOGIA DE SECAGEM PARA
SUBPRODUTO DA UVA (*VITIS LABRUSCA*) E
DESENVOLVIMENTO DE FORMULAÇÃO FARMACÊUTICA
ENCAPSULADA**

Dissertação de mestrado apresentada ao Departamento de Química da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Química.

Orientadora: Profa. Dra. Marcela Maria Baracat
Coorientador: Prof. Dr. Nilton Syogo Arakawa

Londrina
2019

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

Carra, Jéssica Bassetto.

Padronização de metodologia de secagem para subproduto da uva (*Vitis labrusca*) e desenvolvimento de formulação farmacêutica encapsulada / Jéssica Bassetto Carra. - Londrina, 2019.

102 f. : il.

Orientador: Marcela Maria Baracat.

Coorientador: Nilton Syogo Arakawa.

Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Exatas, Programa de Pós-Graduação em Química, 2019.

Inclui bibliografia.

1. *Vitis labrusca* - Tese. 2. Microcápsulas - Tese. 3. *Spray dryer* - Tese. 4. Atividade Antioxidante - Tese. I. Baracat, Marcela Maria . II. Arakawa, Nilton Syogo . III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Exatas. Programa de Pós-Graduação em Química. IV. Título.

JÉSSICA BASSETTO CARRA

**PADRONIZAÇÃO DE METODOLOGIA DE SECAGEM PARA
SUBPRODUTO DA UVA (*VITIS LABRUSCA*) E DESENVOLVIMENTO
DE FORMULAÇÃO FARMACÊUTICA ENCAPSULADA**

Dissertação de mestrado apresentada ao Departamento de Química da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Química.

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Marcela Maria Baracat
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Prof^a. Dr^a. Sandra Regina Georgetti
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Prof^a. Dr^a. Maria Luiza Zeraik
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Londrina, 06 de Fevereiro de 2019.

Dedico este trabalho à minha família.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por essa oportunidade.

À minha família, principalmente à minha irmã Caroline Bassetto Carra e meus pais Solange Maria Bassetto Carra e José Augusto Carra, que sempre me apoiaram.

À minha orientadora profa. Dra. Marcela Maria Baracat e meu co-orientador prof. Dr. Nilton Syogo Arakawa não só pela constante orientação neste trabalho, mas sobretudo pela sua amizade ao longo do caminho.

Aos professores Renê Oliveira do Couto, Rubia Casagrande e Sandra Regina Georgetti por todas as vezes que me socorreram e sanaram as dúvidas.

Aos colegas e amigos do laboratório que sempre estiveram dispostos a ajudar, principalmente ao Ricardo Luis Nascimento de Matos, que muitas vezes surgiu com a luz no final do túnel.

Às alunas de iniciação científica Ana Paula Novelli, Pietra Mitiko Tateyama Pattini, Júlia Câmara Gomes e Mariana Pinheiro por toda dedicação ao auxiliar nos experimentos.

Ao Laboratório de Química Prebiótica por realizar a operação de secagem pelo método de liofilização, ao laboratório de Tecnologia de Alimentos por nos permitir utilizar o *spray dryer*, ao laboratório Fenn de Espectrometria de massas (UFPR- Campus Jandaia do Sul) por realizar a identificação de antocianinas e aos Laboratórios de Espectroscopia (ESPEC) e de Microscopia Eletrônica e Microanálise (LMEM) pelas análises de caracterização.

Às minhas amigas Marciéli Fabris, Gabrielle Cristina Calegari, Larissa Lourdes Luz Ferreira e Giulia Caroline Borges Cristo que mesmo distante sempre estiveram presentes.

Às amigas e parcerias adquiridas nesta fase, principalmente Anne Catherine da Luz dos Santos e Kaio Maciel de Santiago.

À minha orientadora de iniciação científica Larissa Macedo dos Santos Tonial por ter me apresentado a este mundo maravilhoso da pesquisa.

Gostaria de agradecer também a todas pessoas que contribuíram de alguma forma ao longo dessa caminhada.

“O sucesso é a soma de pequenos esforços repetidos dia após dia.”

(Robert Collier)

CARRA, Jéssica Bassetto. **Padronização de metodologia de secagem para subproduto da uva (*Vitis labrusca*) e desenvolvimento de formulação farmacêutica encapsulada**. 2019. 102 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2019.

RESUMO

A uva é um fruto muito consumido no Brasil, e que após processamentos para a obtenção de seus derivados, gera milhões de toneladas de resíduos. Uma alternativa para destinar os resíduos é o estudo dos compostos bioativos presentes na casca da uva, no entanto, é um desafio trabalhar com esses compostos em virtude de sua instabilidade. O presente trabalho teve como objetivos padronizar a metodologia de secagem do extrato hidroetanólico 50% (v/v), acidificado com HCl 0,1% (v/v), obtido da casca de uva (*Vitis labrusca*) e desenvolver formulação encapsulada com o propósito de otimizar a utilização de seus bioativos. Os compostos foram extraídos utilizando-se solução extratora na proporção 1:6 m/v (cascas de uva:solução extratora). Os extratos obtidos foram secos por liofilização e por *spray drying*. No processo de *spray drying* foram avaliados maltodextrina 10DE, manitol, celulose microcristalina e amido de milho como agentes carreadores na secagem do extrato. Além disso, extratos revestidos com os polímeros de caseína/pectina foram secos por esta técnica. Os extratos (secos ou microencapsulados) foram analisados determinando-se a atividade antioxidante (método de DPPH) e os teores de compostos fenólicos e antocianinas. O processo de liofilização apresentou maior degradação dos compostos e perda da atividade antioxidante e, a maltodextrina 10DE foi indicada como o melhor agente carreador, dentre os adjuvantes analisados para a secagem por *spray dryer*. A microcápsula de caseína/pectina apresentou teores de compostos fenólicos e antocianinas similares ao da maltodextrina 10DE e elevada eficiência de encapsulação para compostos hidrossolúveis. A condição de secagem utilizando vazão de alimentação de 10 mL min⁻¹, temperatura de entrada de 140 °C e vazão do ar de secagem de 51 m³ h⁻¹ resultou em 417,312 µg mL⁻¹ de atividade antioxidante (IC₅₀); 116,50 mgGAE g⁻¹ de compostos fenólicos; 208,28 mg L⁻¹ de antocianinas; 15,29% de rendimento de secagem; e 73,72% de eficiência de encapsulação. As microcápsulas secas foram analisadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) e os resultados mostraram micropartículas esféricas e de tamanhos variados, e observou-se que a vazão de alimentação teve maior influência na morfologia do material de parede. O tamanho de partícula médio foi de 9,80 ± 0,19 e 8,69 ± 0,13 µm para a microcápsula inerte e contendo extrato, respectivamente. As análises de calorimetria diferencial de varredura (DSC) e infravermelho com transformada de Fourier (IV-TF) confirmaram a encapsulação do extrato da casca da uva. Os resultados sugerem que a microcápsula de caseína/pectina é promissora para proteção dos compostos bioativos presentes na casca da uva.

Palavras-chave: Compostos bioativos. Conjugado caseína/pectina. Liofilização. Microcápsulas. *Spray dryer*.

CARRA, Jéssica Bassetto. **Standardization of drying methodology for grape by-product (*Vitis labrusca*) and development of encapsulated pharmaceutical formulation.** 2019. 102 f. Dissertation (Master's degree in Chemistry) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2019.

ABSTRACT

The grape is a fruit very consumed in Brazil, after processing to obtain its products, generate millions of tonnes of waste. An alternative to waste is the study of the bioactive compounds present in the grape peel, however, it is a challenge to work with these compounds by virtue of their stability. The objective of the present work was to standardize the drying methodology of the 50% (v/v) hydroethanolic extract, acidified with 0.1% HCl (v/v), obtained from the grape peel (*Vitis labrusca*) and to develop encapsulated formulation with the purpose of optimizing the use of bioactive materials. The compounds were extracted using a 1:6 m/v extraction solution (grape peels:extractive solution). The extracts were dried by lyophilization and spray dryer. In the spray drying process maltodextrin 10DE, mannitol, microcrystalline cellulose and corn starch were evaluated as carrier agents in the drying of the extract. In addition, extracts coated with the casein/pectin polymers were dried by this technique. The extracts (dried or microencapsulated) were analyzed by determining the antioxidant activity (DPPH method) and the contents of phenolic compounds and anthocyanins. The lyophilization process presented higher degradation of the compounds and loss of antioxidant activity and, maltodextrin 10DE was indicated as the best carrier agent among the adjuvants analyzed for spray dryer. The casein/pectin microcapsule presented results similar to maltodextrin 10DE and a high encapsulation efficiency for water soluble compounds. The drying condition using a feed flow of 10 mL min⁻¹, inlet temperature of 140 °C and drying air flow rate of 51 m³ h⁻¹ resulted in 417.312 µg mL⁻¹ of antioxidant activity (IC₅₀); 116.50 mgGAE g⁻¹ of phenolic compounds; 208.28 mg L⁻¹ of anthocyanins; 15.29% drying yield; and 73.72% encapsulation efficiency. The dried microcapsules were analyzed by Scanning Electron Microscopy (SEM) and the results showed spherical microparticles of varying sizes, and it was observed that the feed rate had a greater influence on the morphology of the wall material. The mean particle size was 9.80 ± 0.19 and 8.69 ± 0.13 µm for the inert and extract-containing microcapsule, respectively. Differential Scanning Calorimetry (DSC) and Fourier Transform Infrared (FTIR) confirmed the encapsulation of the grape peel extract. The results suggest that the casein/pectin microcapsule is promising for protection of the bioactive compounds present in the grape peel.

Keywords: Bioactive compounds. Conjugate casein/pectin. Lyophilization. Microcapsules. Spray dryer.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Cultivares Isabel (A) e Bordô (B).....	19
Figura 2 – Compostos fenólicos presentes na casca e na semente da uva.....	20
Figura 3 – Estrutura química de alguns ácidos fenólicos encontrados na casca da uva	21
Figura 4 – Estrutura química dos taninos hidrolisáveis	22
Figura 5 – Estrutura química dos taninos condensados.....	22
Figura 6 – Estrutura química dos flavonoides	23
Figura 7 – Exemplo de flavonoides	23
Figura 8 – Estrutura química das antocianinas	24
Figura 9 – Diferentes estruturas químicas em função do pH	25
Figura 10 – Possível mecanismo de degradação térmica de antocianinas.....	26
Figura 11 – Interações (A) entre moléculas de antocianinas, (B) intramolecular, (C) complexação com um metal e (D) intermolecular.....	27
Figura 12 – Representação de microcápsulas (A, B e C) e microesferas (D e E).....	29
Figura 13 – Representação do sistema de liberação de ruptura	30
Figura 14 – Ilustração do processo de microencapsulação por coacervação simples	31
Figura 15 – Ilustração do processo de microencapsulação por coacervação complexa.....	31
Figura 16 – (A) Ilustração e (B) microscopia eletrônica de varredura da micela de caseína	33
Figura 17 – Estrutura da pectina	35
Figura 18 – Formação do conjugado caseína/pectina.....	36
Figura 19 – Ilustração da técnica de <i>spray drying</i>	37
Figura 20 – Estrutura química do manitol.....	38
Figura 21 – Estrutura química da maltodextrina.....	38
Figura 22 – Estrutura química do amido	39
Figura 23 – Estrutura química da celulose	44
Figura 24 – Análises realizadas com a safra 01 (2014/2015)	45
Figura 25 – Análises realizadas com a safra 02 (2017)	46

Figura 26 – Reação entre DPPH• e antioxidante	51
Figura 27 – Diagrama de Ishikawa.....	59
Figura 28 – Estruturas químicas das antocianinas encontradas no extrato da casca da uva	61
Figura 29 – (A) Teor de sólidos, (B) densidade aparente, (C) viscosidade e (D) pH obtidos para os extratos após a adição do adjuvante.....	63
Figura 30 – (A) Rendimento de secagem, (B) teor de compostos fenólicos, (C) teor de antocianinas e (D) atividade antioxidante (IC ₅₀) obtidos para os extratos após a secagem.....	64
Figura 31 – Extratos secos com (A) maltodextrina 10DE, (B) manitol, (C) celulose microcristalina e (D) amido de milho	65
Figura 32 – Microscopia óptica dos extratos secos com (A) maltodextrina 10DE, (B) manitol, (C) celulose microcristalina e (D) amido de milho no aumento de 40x.....	66
Figura 33 – Curva analítica porcentagem de ação antioxidante por µg mL ⁻¹ de extrato	68
Figura 34 – (A) Rendimento de secagem, (B) atividade antioxidante (IC ₅₀), (C) teor de compostos fenólicos e (D) teor de antocianinas obtidos para as MC após a secagem.....	68
Figura 35 – (A) MC extrato e (B) MC extrato + maltodextrina	69
Figura 36 – (A) Teor de compostos fenólicos e (B) teor de antocianinas obtidos para o extrato com maltodextrina 10DE e MC extrato	69
Figura 37 – (A) Rendimento de secagem, (B) atividade antioxidante (IC ₅₀), (C) teor de antocianinas e (D) teor de compostos fenólicos obtidos para os processos de secagem.....	71
Figura 38 – Gráfico de Pareto para a atividade antioxidante	75
Figura 39 – Superfície de resposta do teor de compostos fenólicos em função da: (A) temperatura de entrada e vazão do ar de secagem; e (B) gráfico de Pareto para o teor de compostos fenólicos	76

Figura 40 – Superfície de resposta do teor de antocianinas em função da: (A) vazão de alimentação e temperatura de entrada; (B) vazão de alimentação e vazão do ar de secagem; (C) vazão do ar de secagem e temperatura de entrada; e (D) gráfico de Pareto para o teor de antocianinas	77
Figura 41 – Superfície de resposta do rendimento de secagem em função da: (A) temperatura de entrada e vazão de alimentação; (B) vazão do ar de secagem e vazão de alimentação; (C) temperatura de entrada e vazão do ar de secagem; e (D) gráfico de Pareto para o rendimento de secagem	78
Figura 42 – Superfície de resposta da eficiência de encapsulação em função da: (A) vazão do ar de secagem e temperatura de entrada; e (B) gráfico de Pareto para a eficiência de encapsulação	79
Figura 43 – Superfície de resposta da temperatura de saída em função da: (A) vazão de alimentação e temperatura de entrada; (B) vazão de alimentação e vazão do ar de secagem; (C) vazão do ar de secagem e temperatura de entrada; e (D) gráfico de Pareto para a temperatura de saída	81
Figura 44 – Fotomicrografias por MEV da MC extrato 1, nos aumentos de (A) 2500x e (B) 5000x	83
Figura 45 – Fotomicrografias por MEV da MC extrato 5, nos aumentos de (A) 2500x e (B) 5000x	83
Figura 46 – Fotomicrografias por MEV da MC extrato 14, nos aumentos de (A) 2500x e (B) 5000x	84
Figura 47 – Fotomicrografias por MEV da MC extrato 4, nos aumentos de (A) 2500x e (B) 5000x	84
Figura 48 – Fotomicrografias por MEV da MC inerte, nos aumentos de (A) 2500x e (B) 5000x	85
Figura 49 – Histogramas de frequência (%) e de frequência acumulada (%) para (A) MC inerte e (B) MC extrato.....	86
Figura 50 – Curvas de DSC (–) MC 5, (–) MC inerte e (–) extrato da casca da uva	87

Figura 51 – Representação da interferência da taxa de aquecimento nas curvas de DSC	88
Figura 52 – Espectros de FTIR (–) MC 5, (–) MC inerte e (–) extrato da casca da uva	89

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	– Produção de uvas 2015/2017 (em toneladas).....	18
Tabela 2	– Substituintes que formam as antocianinas encontradas na uva	24
Tabela 3	– Processos de produção de micropartículas	30
Tabela 4	– Propriedades físico-químicas das caseínas presentes no leite de vaca.....	33
Tabela 5	– Fontes de pectina.....	34
Tabela 6	– Fatores codificados e seus níveis em um fatorial 3 ³ Box- Behnken	52
Tabela 7	– Matriz do planejamento fatorial 3 ³ Box-Behnken.....	53
Tabela 8	– Sólidos solúveis, densidade aparente, pH, teor de compostos fenólicos, teor de antocianinas, atividade antioxidante e rendimento de secagem dos extratos obtidos da safra 01	56
Tabela 9	– Sólidos solúveis, densidade aparente, pH, teor de compostos fenólicos, teor de antocianinas e atividade antioxidante dos extratos obtidos da safra 02	58
Tabela 10	– Dados de MRM para os extratos bruto e concentrado das antocianinas presentes na casca das uvas Bordô e Isabel	59
Tabela 11	– Eficiência de encapsulação e quantificação das MC extrato e MC extrato + maltodextrina	67
Tabela 12	– Eficiência de encapsulação e quantificação das MC <i>spray dryer</i> e MC liofilizada.....	72
Tabela 13	– Matriz do planejamento fatorial 3 ³ Box-Behnken com resultados das variáveis dependentes expressos como média de triplicatas reais	72
Tabela 14	– Resumo dos resultados da MSR.....	75
Tabela 15	– Matriz de correlação entre as variáveis dependentes	82

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA	Análise de variância
DE	Dextrose Equivalente
DSC	Do inglês, <i>Differential Scanning Calorimetry</i>
DPPH	2,2 difenil-1-picrilhidrazil
EE	Eficiência de Encapsulação
ESI	Eletrospray
IBRAVIN	Instituto Brasileiro do Vinho
IC ₅₀	Metade da concentração inibitória máxima
IV-TF	Infravermelho Médio com Transformada de Fourier
<i>m/z</i>	Razão massa carga
MC	Microcápsula
MC extrato	Extrato microencapsulado com caseína/pectina
MC extrato + maltodextrina	Extrato com maltodextrina 10DE incorporada microencapsulado com caseína/pectina
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
mgGAE g ⁻¹	Miligramas equivalentes de ácido gálico por grama de extrato
MRM	Do inglês, <i>Multiple-Reaction Monitoring</i>
MS	Do inglês, <i>Mass Spectrometry</i>
MSR	Metodologia de Superfície de Resposta
P. A.	Pureza Analítica
pH	Potencial Hidrogeniônico
RS	Rendimento de Secagem
I _T	Temperatura de Entrada
TS	Temperatura de Saída
TA	Teor de Antocianinas
TF	Teor de Compostos Fenólicos
E _F	Vazão de Alimentação
V _S	Vazão do Ar de Secagem

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
2	REFERENCIAL TEÓRICO	18
2.1	<i>VITIS SP.</i>	18
2.2	COMPOSTOS BIOATIVOS	20
2.2.1	Ácidos Fenólicos.....	21
2.2.2	Taninos	21
2.2.3	Flavonoides	22
2.2.4	Antocianinas	23
2.3	MICROENCAPSULAÇÃO	28
2.3.1	Agentes Encapsulantes	32
2.3.1.1	Caseína	32
2.3.1.2	Pectina.....	34
2.4	SECAGEM.....	36
2.4.1	<i>Spray Drying</i>	37
2.4.2	Liofilização	40
2.4.3	Secagem de Extratos	40
3	OBJETIVOS	42
3.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	42
4	MATERIAL E MÉTODOS	43
4.1	MATERIAL VEGETAL	43
4.2	OBTENÇÃO DOS EXTRATOS BRUTO E CONCENTRADO.....	43
4.3	SECAGEM DO EXTRATO PELO MÉTODO DE LIOFILIZAÇÃO	43
4.4	ANÁLISES REALIZADAS COM AS SAFRAS 01 E 02	44
4.5	DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO DE SEQUESTRO DE RADICAIS LIVRES (DPPH)	45
4.6	DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS	46
4.7	TEOR DE ANTOCIANINAS.....	47
4.8	DEGRADAÇÃO DE ANTOCIANINAS E COMPOSTOS FENÓLICOS	47
4.9	IDENTIFICAÇÃO DE ANTOCIANINAS	48

4.10	ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS PARA DETERMINAÇÃO DO AGENTE CARREADOR PARA SECAGEM PELO MÉTODO DE <i>SPRAY DRYING</i>	48
4.11	PREPARAÇÃO DAS MICROCÁPSULAS (MC).....	49
4.12	QUANTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS COM PROPRIEDADES ANTIOXIDANTES E EFICIÊNCIA DE ENCAPSULAÇÃO.....	50
4.13	AVALIAÇÃO DO MÉTODO DE SECAGEM: LIOFILIZAÇÃO OU <i>SPRAY DRYING</i>	51
4.14	PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL PARA SECAGEM PELO MÉTODO <i>SPRAY DRYING</i>	51
4.15	CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO DA CASCA DA UVA MICROENCAPSULADO COM CASEÍNA/PECTINA.....	53
4.15.1	Amostras.....	53
4.15.2	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	54
4.15.3	Distribuição do Tamanho das Partículas.....	54
4.15.4	Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC).....	54
4.15.5	Infravermelho com Transformada de Fourier (IV-TF).....	55
4.16	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	55
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	56
5.1	SAFRA 01.....	56
5.2	SAFRA 02.....	57
5.3	IDENTIFICAÇÃO DE ANTOCIANINAS.....	58
5.4	SELEÇÃO DO AGENTE CARREADOR.....	60
5.5	ANÁLISES DOS MÉTODOS DE SECAGEM PARA A MICROCÁPSULA (MC) EXTRATO.....	70
5.6	CONDIÇÕES DE SECAGEM.....	72
5.6.1	Avaliação das Interações das Variáveis Estudadas.....	74
5.7	MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV).....	82
5.8	DISTRIBUIÇÃO DO TAMANHO DAS PARTÍCULAS.....	83
5.9	CALORIMETRIA DIFERENCIAL DE VARREDURA (DSC).....	87
5.10	INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (IV-TF)..	89
6	CONCLUSÃO	91
	REFERÊNCIAS	92

1 INTRODUÇÃO

A uva foi introduzida no Brasil pelos colonizadores portugueses em 1532, sendo a variedade americana *Vitis labrusca* mais resistente à doenças que outras variedades, este cultivar foi introduzida no estado do Rio Grande do Sul em 1840, pelo inglês Thomas Messiter (INSTITUTO BRASILEIRO DO VINHO, 2018a). Atualmente, essa é a variedade mais cultivada no Brasil, sendo a maior parte da uva destinada ao processamento para a produção de sucos e vinhos, que gera milhões de toneladas de resíduos, tornando-se um grande problema ambiental (DO NASCIMENTO FILHO, FRANCO, 2015).

Uma alternativa para dar destino a esse resíduo é o estudo dos compostos bioativos presentes na casca da uva, principalmente as antocianinas, que apresentam atividades antioxidantes (CATANEO et al., 2008; MELO et al., 2011; ROCKENBACH et al., 2007), anticarcinogênicas (VARONI et al., 2016; ALUYEN et al., 2012) e anti-inflamatórias (SILVA, 2017).

As antocianinas estão presentes em vários materiais vegetais como maçã, morango, jaboticaba, açaí, hibisco, berinjela, mirtilo, groselha, repolho, entre várias outras fontes (MALACRIDA, MOTTA, 2006). A estabilidade dessas moléculas é afetada por diversos fatores como pH, luz, temperatura e oxigênio. O pH interfere na estrutura química e coloração dessas substâncias. A luz e a temperatura degradam estes compostos e a presença de oxigênio permite que ocorram reações de oxidação direta ou indireta (LOPES et al., 2007).

Após a obtenção do extrato da casca da uva, a secagem é relevante para inibir o desenvolvimento de patógenos e impedir que reações químicas e físicas ocorram, aumentando o tempo de vida útil dos compostos (OLIVEIRA, PETROVICK, 2010). A secagem pode estar associada a técnicas de revestimento, como os processos de micro/nanoencapsulação, corroborando para garantir a estabilidade dos produtos (AJAZUDDIN, 2010), podendo ser desenvolvidos para obtenção de formas farmacêuticas, para aplicação como antioxidante para administração em diferentes vias.

Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivos padronizar a metodologia de secagem do extrato hidroetanólico 50% (v/v), acidificado, obtido da casca de uva (*Vitis labrusca*) e desenvolver formulação encapsulada com o propósito de otimizar a utilização de compostos bioativos.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 VITIS SP.

A uva é um fruto do tipo baga, de polpa comestível, proveniente da videira que é uma planta trepadeira lenhosa, com folhas grandes, pertencente ao gênero *Vitis* e a família *Vitaceae* (SEBRAE, 2018). A videira (*Vitis sp.*) é uma cultura de clima temperado que necessita de baixas temperaturas em seu período de dormência, por este motivo o cultivo da uva ficou concentrado na região sul do país até o final dos anos 1950, quando foi desenvolvida a viticultura tropical brasileira que permitiu o plantio desta fruta no Vale do Submédio São Francisco e nas regiões norte do Paraná, noroeste de São Paulo e norte de Minas Gerais, devido aos novos cultivares que se adaptam bem à essas regiões, além de técnicas de monitoramento nutricional e sistemas de irrigação implementados (CAMARGO, TONIETTO, HOFFMANN, 2011). Atualmente, o estado do Rio Grande do Sul é o maior produtor de uvas do país, seguido por Pernambuco (Tabela 1) (KIST et al., 2018).

Tabela 1 - Produção de uvas 2015/2017 (em toneladas).

Unidade da Federação	2015	2016	2017
Rio Grande do Sul	876.215	413.640	956.913
Pernambuco	237.367	242.967	390.300
São Paulo	142.631	144.110	133.118
Santa Catarina	69.118	33.849	65.800
Paraná	69.035	66.000	56.295
Bahia	77.408	62.740	51.090
Minas Gerais	12.615	11.224	13.070
Espírito Santo	2.327	2.469	3.608
Paraíba	2.196	2.636	2.620
Goiás	4.008	2.566	1.974
Outros	4.382	4.858	5.232
Total	1.497.302	987.059	1.680.020

Fonte: Kist et al. (2018).

Comercialmente, as uvas são divididas em uvas finas (*Vitis vinífera*) e uvas rústicas ou comuns (*Vitis labrusca* e *Vitis bourguina*), sendo as comuns (variedades Isabel, Bordô, Jacquez, Couderc Tinto, Niágara Branca e Niágara Rosada) (CAMARGO, MAIA, NACHTIGAL, 2005; CAMARGO, NACHTIGAL, 2007) responsáveis pela maior parte da produção nacional.

As uvas rústicas se caracterizam por apresentar alta resistência às doenças que afetam os cultivares *Vitis vinífera*, além de apresentar elevada produtividade. Alguns cultivares, como o Isabel (Figura 1a), se adaptam bem ao clima tropical e por esse motivo é cultivado em todo território nacional. Esse cultivar é um híbrido natural de *Vitis labrusca* x *Vitis vinífera*, no entanto ele normalmente é descrito como um cultivar *Vitis labrusca* devido à sua origem (Estados Unidos da América) (EMBRAPA, 2016). Outros cultivares, como o Bordô (*Vitis labrusca*) (Figura 1b), necessitam do período de inverno e, portanto, se restringem ao Sul de Minas Gerais, Norte do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. Esse cultivar apresenta coloração intensa em sua casca e por este motivo pode ser misturado com outros cultivares, como o Isabel, para melhorar a coloração de sucos e vinhos (MAIA, CAMARGO, 2005).

Figura 1 – Cultivares Isabel (A) e Bordô (B).

(A)



(B)

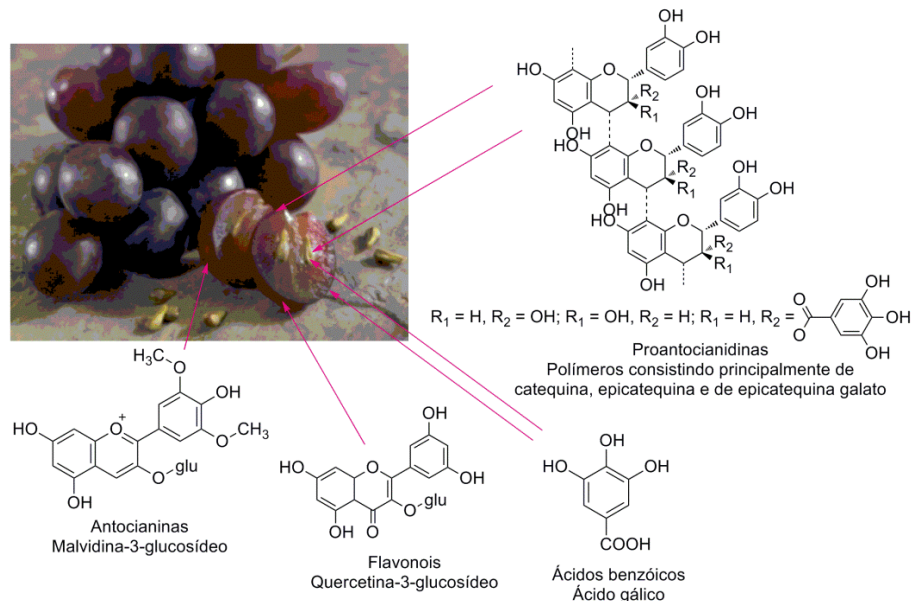


Fonte: EMBRAPA (2016); Vinicola Lucano (2018).

Segundo o Instituto Brasileiro do Vinho (IBRAVIN), a produção de uvas de 2017 do estado do Rio Grande do Sul foi destinada a produção de vinhos e derivados (50,9%) e suco de uvas e derivados (49,1%) (INSTITUTO BRASILEIRO DO VINHO, 2018b). Estima-se que o resíduo gerado a partir do processamento, composto pelas cascas e as sementes, corresponda a 20-25% do peso da uva. Este resíduo é utilizado como ração animal e adubação, porém a quantidade gerada não é suficientemente utilizada, o que acarreta em um problema ambiental, pelo fato deste material demorar em se degradar causando o acúmulo de matéria orgânica no ambiente (MELLO, SILVA, 2014).

Uma alternativa para este resíduo é utilizá-lo para extrair e estudar os compostos bioativos presentes e remanescentes nas cascas e sementes (Figura 2). Estes compostos podem ser de extrema importância para indústria farmacêutica, e sua composição depende de fatores climáticos e do processamento da uva (MONAGAS, BARTOLOMÉ, GÓMEZ-CORDOVÉS, 2005; OBREQUE-SLIER et al., 2010).

Figura 2 – Compostos fenólicos presentes na casca e na semente da uva.



Fonte: Pinelo, Arnous e Meyer (2006).

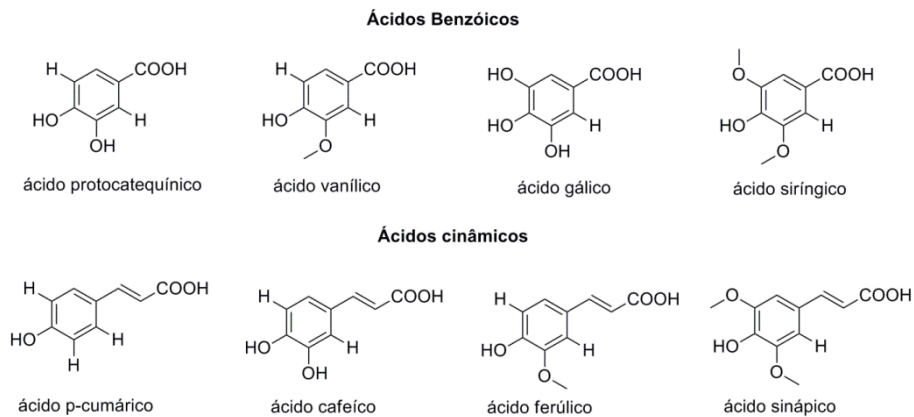
2.2 COMPOSTOS BIOATIVOS

Os polifenóis são metabólicos secundários desenvolvidos pelas plantas para proteção contra raios ultravioleta e visível, como uma das substâncias importantes para o processo de polinização, para controle da ação de hormônios vegetais e para proteção contra insetos, fungos e bactérias (BECKMAN, 2000; SIMÕES et al., 2017). Estes compostos apresentam um ou mais núcleos aromáticos substituídos por grupos hidroxila, (MONAGAS, BARTOLOMÉ, GÓMEZ-CORDOVÉS, 2005; SIMÕES et al., 2017) e podem ser classificados em ácidos fenólicos, taninos e flavonoides (NACZK, SHAHIDI, 2004).

2.2.1 Ácidos Fenólicos

Os ácidos fenólicos possuem um anel benzênico, um grupamento carboxílico e um ou mais grupamentos hidroxila. Essa classe pode ser subdividida em: derivados do ácido benzóico e derivados do ácido cinâmico (D'ARCHIVIO et al., 2007; SOARES, 2002). O primeiro grupo apresenta os ácidos fenólicos mais simples e é constituído por sete átomos de carbono (C6-C1). O segundo grupo é composto por nove átomos de carbono (C6-C3) (Figura 3) (SOARES, 2002).

Figura 3 – Estrutura química de alguns ácidos fenólicos encontrados na casca da uva.



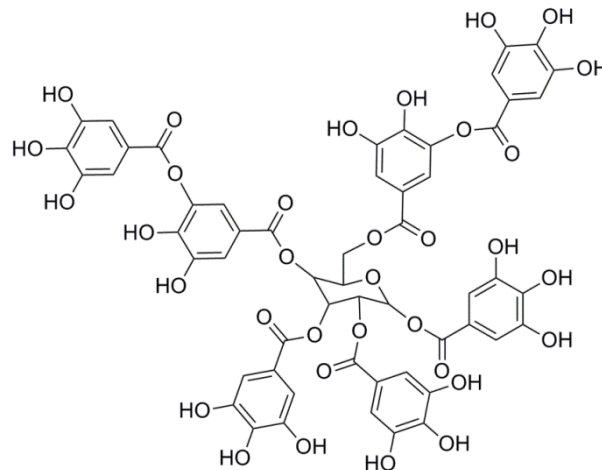
Fonte: Kammerer et al. (2004); Casazza et al. (2012); Teixeira et al. (2014).

2.2.2 Taninos

Os taninos são compostos de alto peso molecular que podem ser combinados com proteínas, celulose e pectina formando complexos insolúveis. Esses compostos são classificados em dois grupos segundo sua estrutura química: hidrolisáveis e condensados (NEIDLEMAN, LASKIN, 1997).

Os taninos hidrolisáveis (Figura 4) são compostos solúveis em água e são formados por ésteres de ácido gálico e ácido elágico glicosilados que podem ser hidrolisados com a utilização de calor e/ou ácidos diluídos por serem unidos por ligações éster-carboxila (BHAT, SINGH, SHARMA, 1998; VICKERY, VICKERY, 1981).

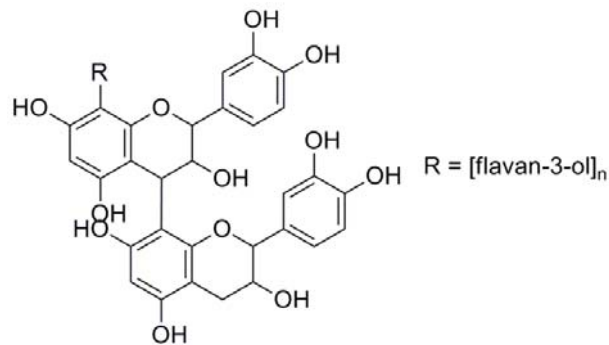
Figura 4 – Estrutura química dos taninos hidrolisáveis.



Fonte: Neidleman, Laskin (1997).

Os taninos condensados (proantocianidinas) (Figura 5) são polímeros unidos por blocos C4-C6 ou C4-C8, provenientes de flava-3-ols (catequina) ou flavan-3,4-diols (leucoantocianinas), que não apresentam resíduos de açúcar em sua estrutura (NEIDLEMAN, LASKIN, 1997; KARONEN et al., 2004).

Figura 5 – Estrutura química dos taninos condensados.

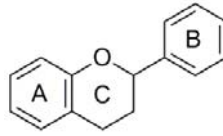


Fonte: Neidleman, Laskin (1997).

2.2.3 Flavonoides

A estrutura dos flavonoides (Figura 6) é constituída por 15 átomos de carbonos arranjados em três anéis denominados A, B e C (C6-C3-C6), formados a partir de derivados do ácido chiquímico e condensados com três moléculas de acetato, na qual justifica a sua origem a partir de uma via mista (PIETTA, 2000).

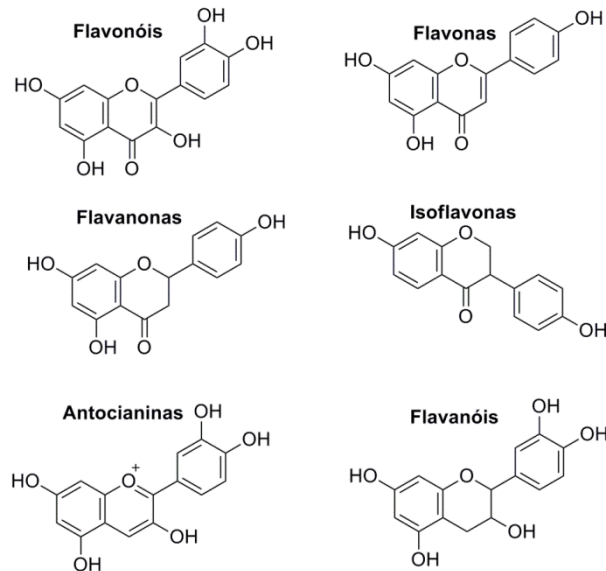
Figura 6 – Estrutura química dos flavonoides.



Fonte: Pietta (2000).

Esses compostos apresentam baixo peso molecular e são divididos em classes em função do estado de oxidação do anel C, os principais grupos são: flavonas, flavonóis, flavanonas, isoflavonas, flavanóis e antocianidinas (Figura 7) (D'ARCHIVIO et al., 2007; MARTÍNEZ-FLÓREZ et al., 2002).

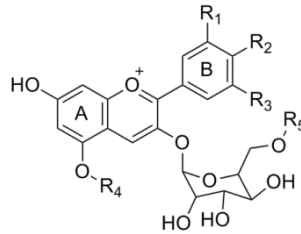
Figura 7 – Exemplo de flavonoides.



Fonte: D'Archivio et al. (2007).

2.2.4 Antocianinas

As antocianinas são os pigmentos responsáveis pelas várias cores (laranja, rosa, vermelho, violeta e azul) presentes em flores e frutas (CASTAÑEDA-OVANDO et al., 2009). Nas uvas, em sua maioria, apresentam uma molécula de açúcar ligada à estrutura (Figura 8), o que aumenta sua estabilidade química (JACKSON, 2008).

Figura 8 – Estrutura química das antocianinas.

Fonte: Jackson (2008).

A classificação de antocianinas baseia-se principalmente na posição dos grupos hidroxilas e metoxilas no anel B presentes na molécula da antocianina (Tabela 2), que está diretamente relacionada à coloração. Esses compostos também podem ser classificados em função do número de moléculas de açúcar unidas à estrutura (JACKSON, 2008; MAZZA, BROUILLARD, 1987; FRANCIS, MARKAKIS, 1989).

Tabela 2 - Substituintes que formam as antocianinas encontradas na uva.

Nome	1	2	3	Cor
Cianidina	OH	OH	H	Vermelho/laranja
Peonidina	OCH ₃	OH	H	Laranja/vermelho
Delfinidina	OH	OH	OH	Azul/vermelho
Petunidina	OCH ₃	OH	OH	Azul/vermelho
Malvidina	OCH ₃	OH	OCH ₃	Azul/vermelho

Derivados

R4 - H: monoglicosídeo; glicose: diglicosídeo

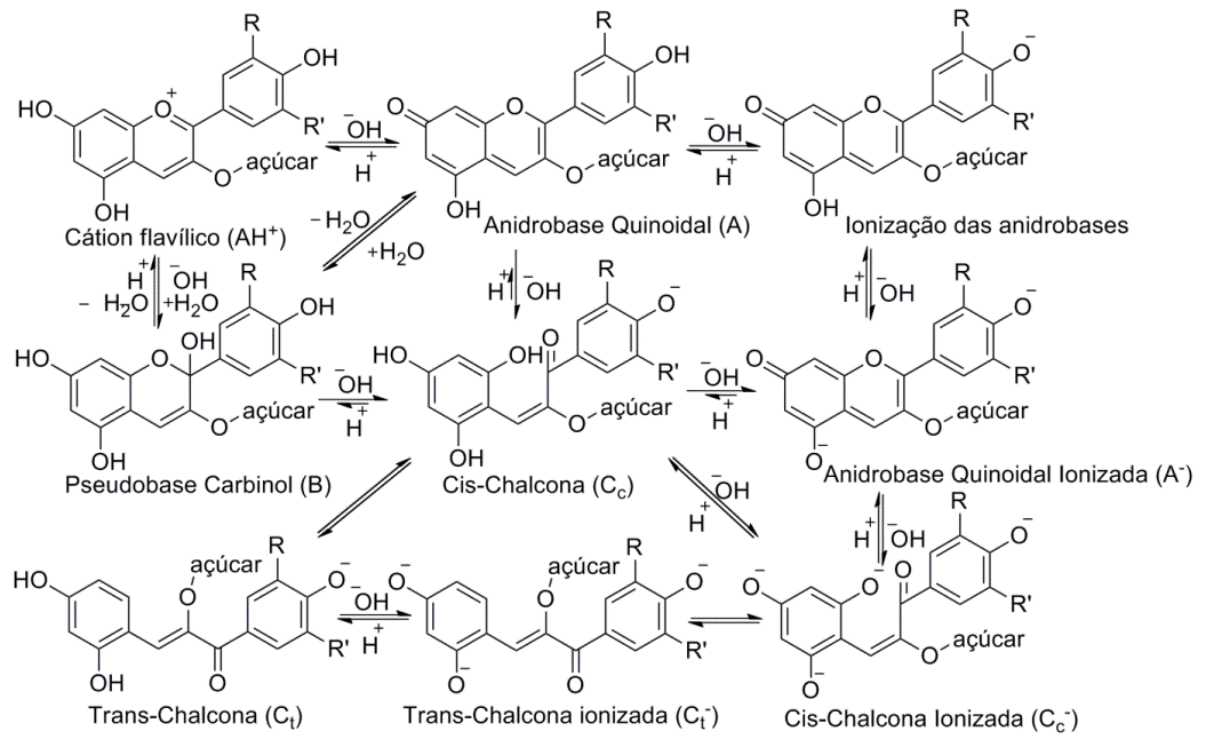
R5 - acetil, *p*-cumaril, cafeína

Fonte: Castañeda-Ovando et al. (2009); Jackson (2008).

Essas moléculas são instáveis devido a carga formal positiva presente no átomo de oxigênio, e desta forma, sua estabilidade é afetada por diversos fatores como pH, luz, temperatura, oxigênio, atividade de água, presença de copigmentos e solventes utilizados no processo de extração (LOPES et al., 2007; CARLSEN, STAPELFELDT, 1997; JACKMAN, SMITH, 1996; CASTAÑEDA-OVANDO et al., 2009; REVILLA, RYAN, MARTIN-ORTEGA, 1998).

Março, Poppi e Scarminio (2008) explicaram que as antocianinas, quando em soluções aquosas, apresentam estruturas diferentes em função do pH, como mostrado na Figura 9.

Figura 9 – Diferentes estruturas químicas em função do pH.



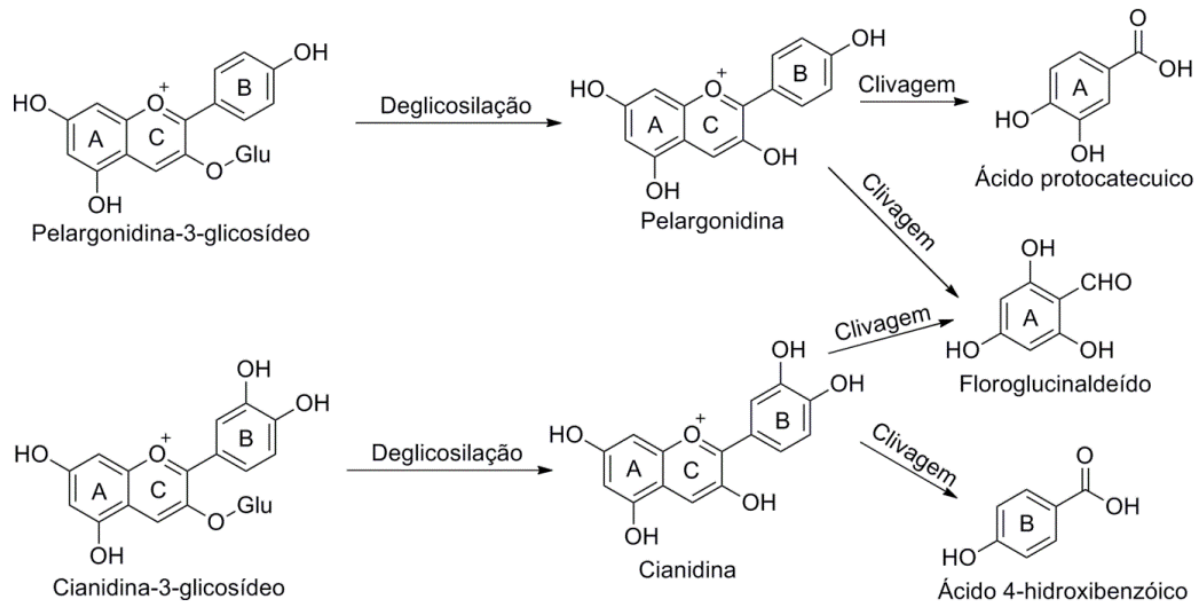
Fonte: Março, Poppi, Scarminio (2008).

Em meios extremamente ácidos, o cátion flavílico (AH^+) é predominante e a solução apresenta coloração avermelhada. Com o aumento gradual do valor de pH, observa-se o surgimento da espécie pseudobase carbinol (B), que permanece em equilíbrio com a espécie AH^+ até atingir o pH 6, quando ocorre o predomínio da espécie B, que é incolor. Acima deste valor de pH, ocorre a ruptura do anel heterocíclico das estruturas pseudobase carbinol e anidrobases quinoidais (A), aumentando o pH bruscamente ou gradativamente (formando as espécies anidrobases ionizadas (A^-)), gerando a espécie cis-chalcona (C_c). Quando as antocianinas começam a se ionizar a solução apresenta coloração azul, indicando a formação das espécies anidrobases e em meio extremamente alcalino a solução apresenta coloração amarelada, por causa do equilíbrio entre as formas ionizadas das chalconas cis e trans (MARÇO, POPPI, SCARMINIO, 2008).

A luz é indispensável para a biossíntese das antocianinas no tecido das plantas, no entanto, após o seu isolamento, ela acelera a degradação destas moléculas, favorecendo a clivagem da ligação C2-C3 formando o ácido 3,4-dihidroxibenzoico e o 2,4,6-trihidroxibenzaldeído (FURTADO et al., 1993; CARLSEN, STAPELFELDT, 1997).

O processo de degradação das antocianinas é acelerado em temperaturas elevadas, e é mais acentuado na presença de oxigênio ou em meio básico (ADAMS, 1973; LOPES et al., 2007). Adams (1973) constatou que a ligação antocianina-açúcar se hidrolisa facilmente, e propôs que esta é a primeira etapa do processo. Patras et al. (2010) relataram variedades de estruturas que podem ser obtidas por meio da degradação térmica das antocianinas (Figura 10).

Figura 10 – Possível mecanismo de degradação térmica de antocianinas.



Fonte: Patras et al. (2010).

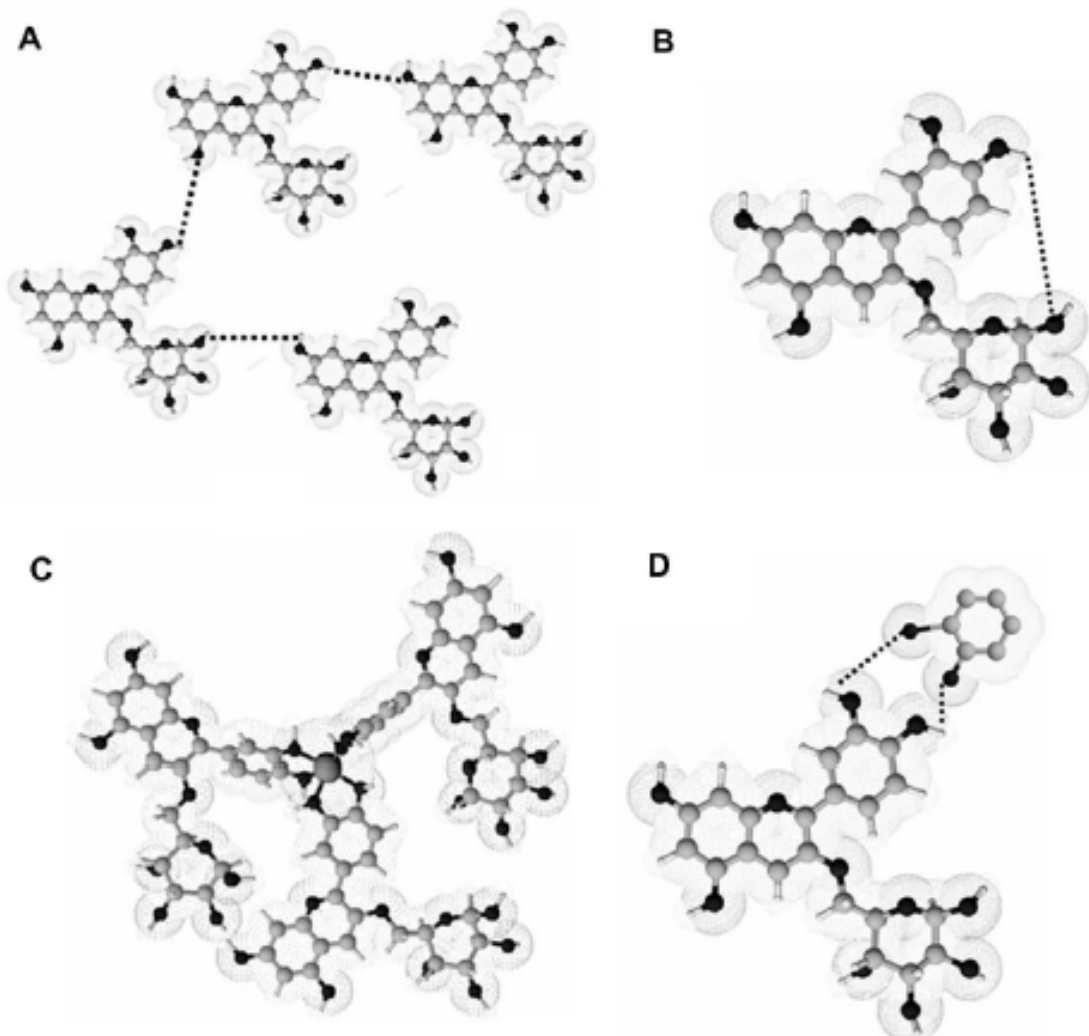
As insaturações presentes na estrutura química das antocianinas sujeitam a molécula a reações de oxidação direta e/ou indireta, independente do pH ou da presença de luz (JACKMAN et al., 1987; LOPES et al., 2007; GIUSTI, WALLACE, 2009). Jackson (2008) menciona que o processo de oxidação é influenciado pela presença de orto-difenóis no anel B e, que por esta razão, a malvidina e a peonidina são mais resistentes à degradação, visto que elas não possuem hidroxilas na posição orto.

Reduzir a atividade de água aumenta a estabilidade dos compostos fenólicos, pois reduz a ocorrência de hidrólise (JACKMAN, SMITH, 1996; SUI, 2017). Jackman e Smith (1996) relataram um aumento na estabilidade em pós de antocianinas que possuíam atividade de água menor ou igual 0,3 (adimensional) em recipientes hermeticamente fechados.

A copigmentação é um processo que ocorre na natureza com o objetivo de estabilizar as antocianinas e manter a coloração de flores e frutos. Os copigmentos são moléculas ricas em elétrons, normalmente incolores, que formam interações com as antocianinas por sobreposição de ligações π - π , interação dipolo-dipolo ou ligações de hidrogênio (JACKMAN, SMITH, 1996; CASTAÑEDA-OVANDO et al., 2009; DANGLES, BROUILLARD, 1992).

Essas interações produzem um efeito hipercrômico e batocrômico (deslocamento nos espectros de absorção na região UV-Vis) e podem ocorrer entre moléculas de antocianinas (Figura 11A), intramolecularmente (Figura 11B), por complexação com um metal (Figura 11C), ou ainda intermolecularmente (Figura 11D) (CASTAÑEDA-OVANDO et al., 2009).

Figura 11 – Interações (A) entre moléculas de antocianinas, (B) intramolecular, (C) complexação com um metal e (D) intermolecular.



Fonte: Castañeda-Ovando et al. (2009).

A extração das antocianinas da casca da uva é realizada por meio de solventes orgânicos polares acidificados, por causa da estrutura química e estabilidade destes compostos. No entanto, a solução extratora não deve ser extremamente ácida (acidez superior a 1%) para não resultar na hidrólise parcial das antocianinas (TEIXEIRA, STRINGHETA, OLIVEIRA, 2008; REVILLA, RYAN, MARTIN-ORTEGA, 1998).

Revilla, Ryan e Martín-Ortega (1998) estudaram várias soluções extratoras (acidificadas ou sem adição de ácido), variando as proporções de água, metanol e acetona. Esses autores concluíram que a adição do ácido é essencial na extração das antocianinas, independente do solvente utilizado.

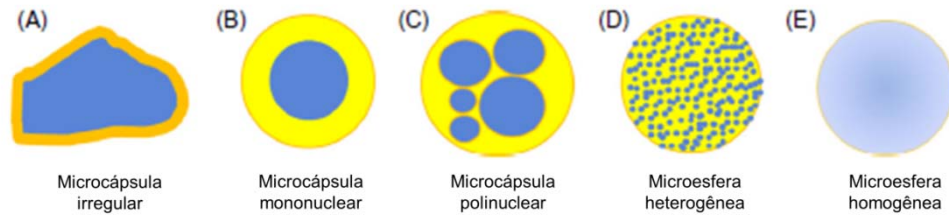
Lima et al. (2011) analisaram cinco solventes para extrair antocianinas da jabuticaba: água 100%, etanol 95% P.A., solução hidroetanólica 50%, metanol 50% e acetona 30%, todos acidificados. A melhor extração e estabilidade dos pigmentos foi observado para o etanol acidificado com HCl 1,5 mol L⁻¹ (85:15).

Em outro estudo, Silva (2017) avaliou cinco solventes extratores para os compostos bioativos do resíduo agroindustrial da uva das variedades Isabel e Bordô: EtOH 100%, EtOH 70%, EtOH 50%, EtOH 30%, H₂O 100%, todos acidificados com HCl 0,1% (v/v). Os resultados mostraram que o extrato bruto EtOH 50%, apresentou elevados teores de compostos fenólicos, atividade antioxidante e efeitos analgésico e anti-inflamatório.

2.3 MICROENCAPSULAÇÃO

Uma alternativa para proteger os compostos bioativos presentes na casca da uva e preservar a atividade antioxidante é utilizar a tecnologia de microencapsulação. Essa técnica consiste na formação de partículas, cujo diâmetro encontra-se entre 1 e 1000 µm. Essas micropartículas abrangem as microesferas, que são micropartículas esféricas (homogêneas ou heterogêneas), e as microcápsulas, que possuem um núcleo sólido, líquido ou gasoso, que pode ser mono ou polinuclear e revestido por um material diferente do núcleo (Figura 12) (SILVA et al., 2003; BROWN, 2004).

Figura 12 – Representação de microcápsulas (A, B e C) e microesferas (D e E).



Fonte: Adaptado de Gaonkar et al. (2014).

Essa tecnologia tem sido extensamente utilizada nas áreas alimentícia, agrícola, médica e cosmética. Na área farmacêutica, essa técnica é estudada no desenvolvimento de sistemas de liberação de fármacos; é utilizada para converter líquidos em sólidos e mascarar odor e sabor; além de ser uma alternativa para proteger os compostos dos efeitos que causam sua degradação (temperatura, umidade, oxigênio e luz) ou ainda de compostos que podem ser irritantes ao organismo (SILVA et al., 2003; GAONKAR et al., 2014; RAY, RAYCHAUDHURI, CHAKRABORTY, 2016).

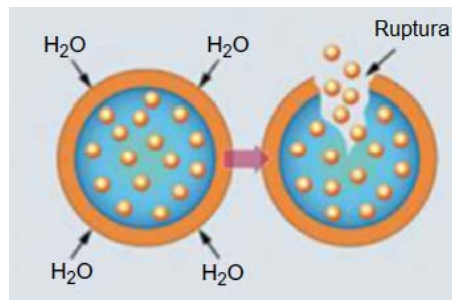
As micropartículas podem ser obtidas por diversas técnicas químicas e físicas. A escolha da técnica depende da fase física do material que será encapsulado (sólido ou líquido), sendo que a morfologia obtida (microcápsula ou microesfera) depende do processo utilizado (Tabela 3).

A morfologia (microcápsula ou microesfera) influencia na taxa de liberação da formulação, na proteção do núcleo e na quantidade de fármaco que compõe a micropartícula. Nas microesferas normalmente a taxa de liberação ocorre pelo modelo de difusão de primeira ordem e o material do núcleo próximo à superfície fica desprotegido. Nas microcápsulas a liberação da substância ativa pode ocorrer por ruptura da membrana ou erosão (Figura 13); no entanto, essas micropartículas protegem uniformemente o material do núcleo e é possível carregar mais material de núcleo do que as microesferas (GAONKAR et al., 2014).

Tabela 3 – Processos de produção de micropartículas.

Processo	Microesfera	Microcápsula	Fase
Atomização	Sim	Não	Sólido/Líquido
<i>Spray drying</i>	Sim	Não	Sólido/Líquido
<i>Spray chilling/congealing/prilling</i>	Sim	Não	Sólido/Líquido
Disco rotativo	Sim	Sim	Sólido/Líquido
Spray coating	Não	Sim	Sólido
Leito fluidizado	Não	Sim	Sólido
<i>Pan coating</i>	Não	Sim	Sólido
Granulação	Sim	Não	Sólido
Coextrusão	Sim	Sim	Líquido
Bico estacionário	Sim	Sim	Líquido
Bico de vibração	Sim	Sim	Líquido
Bico centrífugo	Sim	Sim	Líquido
Bico submerso	Sim	Sim	Líquido
Bico EHD	Sim	Sim	Líquido
Emulsão	Sim	Sim	Líquido
Coacervação simples / complexa	Não	Sim	Sólido/Líquido
Polimerização <i>in situ</i>	Não	Sim	Sólido/Líquido
Polimerização interfacial	Não	Sim	Líquido
Evaporação de solvente	Sim	Não	Sólido/Líquido
Lipossomas	Não	Sim	Líquido
Sol-gel	Sim	Sim	Sólido/Líquido
Extrusão	Sim	Não	Sólido/Líquido
Complexação Molecular	Sim	Não	Líquido

Fonte: Gaonkar et al. (2014).

Figura 13 – Representação do sistema de liberação de ruptura.

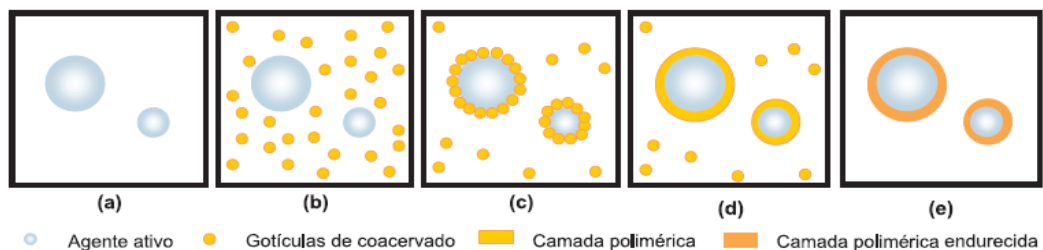
Fonte: Gaonkar et al. (2014).

A coacervação é uma técnica de microencapsulação que tem como princípio a separação de fases pela deposição do polímero ao redor do insumo farmacêutico que ocorre pela alteração do meio, seja modificando a temperatura, o pH, ou adicionando um sal, um “não-solvente” do polímero ou um polímero incompatível com a solução polimérica, resultando na separação da solução em duas fases líquidas imiscíveis entre si (SEVERINO et al., 2011).

Esse processo pode ser simples, utilizando-se apenas um polímero, ou complexo, utilizando-se dois ou mais polímeros que possuem cargas elétricas opostas (ALOYS et al., 2016).

Na coacervação simples (Figura 14), ocorre: (a) a dispersão do insumo farmacêutico na solução polimérica; (b) a formação de gotículas de coacervado pela alteração do meio; (c) a deposição destas gotículas ao redor dos núcleos contendo o fármaco; (d) a formação da camada polimérica pela coalescência das gotículas; e (e) o enrijecimento da camada polimérica, que pode ocorrer pela difusão do solvente ou mudança de temperatura (SUAVE et al., 2006).

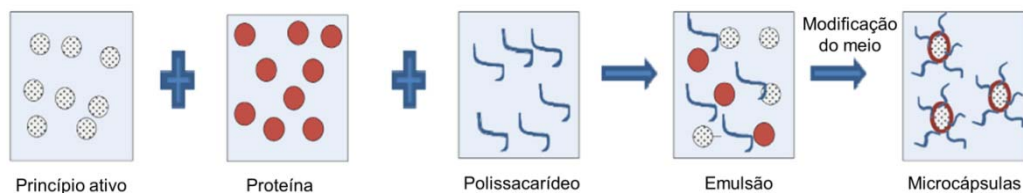
Figura 14 – Ilustração do processo de microencapsulação por coacervação simples.



Fonte: Suave et al. (2006).

A coacervação complexa (Figura 15) é similar ao processo de coacervação simples, ocorrendo a formação da camada polimérica ao redor do princípio ativo pela alteração do meio. No entanto, utilizam-se dois ou mais polímeros, normalmente proteínas e polissacarídeos (com cargas opostas) (ALOYS et al., 2016).

Figura 15 – Ilustração do processo de microencapsulação por coacervação complexa.



Fonte: Kaushik et al. (2015).

2.3.1 Agentes Encapsulantes

Existem diversos agentes encapsulantes, no entanto, estes compostos, que normalmente são polímeros, devem ser inertes em relação ao fármaco, biocompatíveis, biodegradáveis e apresentar baixos valores de higroscopicidade, viscosidade e custo (TONON, BRABET, HUBINGER, 2010; BARROS, STRINGHETA, 2006; SRI.S et al., 2012). Dentre os materiais mais utilizados como encapsulantes destacam-se: os carboidratos, as gomas, os lipídeos, os poliésteres naturais, os polímeros sintéticos, as celuloses, as proteínas, a quitosana e a pectina (SUAVE et al., 2006; SRI.S et al., 2012).

Na literatura, há relatos que goma arábica, maltodextrina, polidextrose (PD) e goma guar parcialmente hidrolisada (PHGG) são materiais utilizados para microencapsular extratos obtidos a partir da casca da uva (SOUZA et al., 2015; KUCK, NOREÑA, 2016; SOUZA et al., 2014; VALDUGA et al., 2008). No entanto, nenhum destes trabalhos explica quimicamente a interação entre estes agentes e os compostos da uva.

2.3.1.1 Caseína

As caseínas são fosfoproteínas, que apresentam caráter anfifílico. Elas são classificadas em quatro grupos α , β , κ e γ , sendo que as caseínas α se apresentam em subgrupos com características diferentes: α_{S0} a α_{S5} (SGARBIERI, 2005). Os quatro grupos de proteínas possuem propriedades físico-químicas e proporções diferentes no leite de vaca (Tabela 4).

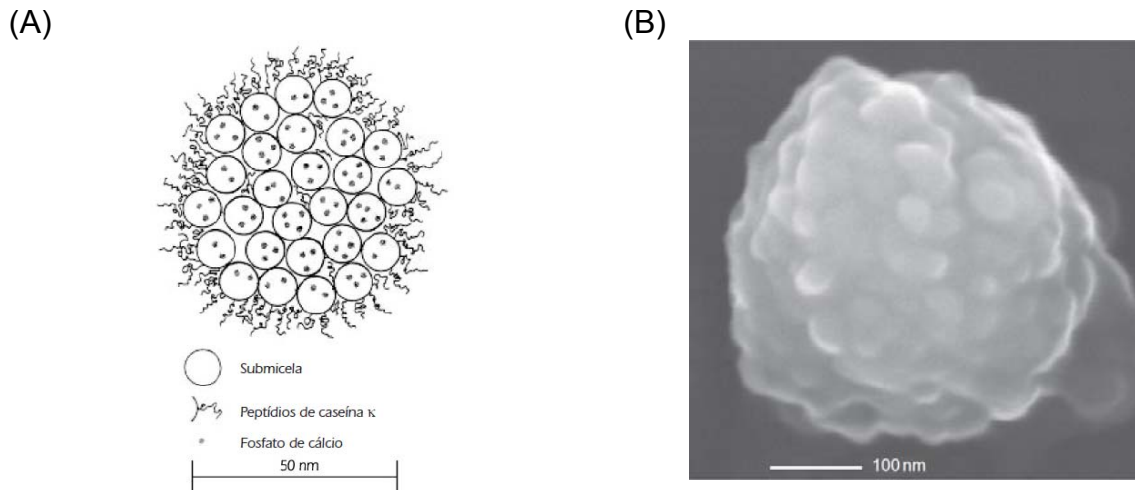
As micelas de caseína presentes no leite são formadas de 93% de caseínas (α_{S1} , α_{S2} , β e κ , na proporção de 3:1:3:1) e 7% de minerais, apresentam diâmetro de 500 a 3.000 angstroms e peso molecular de aproximadamente $2,5 \times 10^8$ Da (SGARBIERI, 2005).

Tabela 4 – Propriedades físico-químicas das caseínas presentes no leite de vaca.

Fração proteica	Porcentagem no leite desnatado	Ponto Isoelético	Coefficiente de sedimentação (20 °C)	Peso molecular (Da)
Caseína α_{s1} (α_{s0} , α_{s2} , α_{s3} , α_{s4} , α_{s5})	45-55	4,1	3,99	23613
Caseína β	25-35	4,5	1,57	24000
Caseína κ	8-15	4,1	1,40	19000
Caseína γ	3-7	5,8	1,55	21000
γ_1				20500
γ_2				11800
γ_3				11500

Fonte: Sgarbieri (2005).

Walstra (1999) propôs que as micelas de caseína são esféricas com superfície esponjosa, constituídas de subunidades e variam em composição; elas são ligadas por moléculas de fosfato de cálcio de forma que a caseína κ se dispõe na superfície evitando outras agregações por impedimento estérico e eletrônico (Figura 16).

Figura 16 – (A) Ilustração e (B) microscopia eletrônica de varredura da micela de caseína.

Fonte: (A) Walstra.(1999); (B) Huppertz, Fox, Kelly, 2018.

Por causa de sua carga e suas características hidrofóbicas as caseínas podem ser utilizadas com outros biopolímeros para formar novas estruturas químicas (JOYE, MCCLEMENTS, 2014).

2.3.1.2 Pectina

A pectina é um conjunto de polissacarídeos estruturais que contribuem com a adesão entre as células, firmeza e a resistência mecânica (PAIVA, LIMA, PAIXÃO, 2009; BRANDÃO, ANDRADE, 1999). Pode ser encontrada em diversas fontes vegetais, sendo que seu teor varia conforme a fonte (Tabela 5).

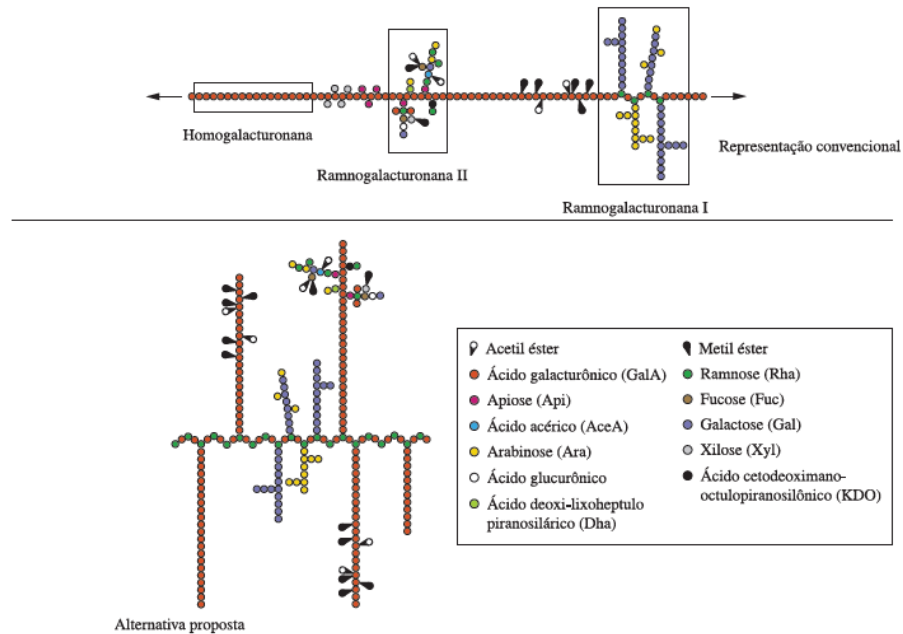
Tabela 5 – Fontes de pectina.

Fruto	Porcentagem em massa fresca (%)	Porcentagem em massa seca (%)
Maçã (<i>Malus</i> sp.)	0,5-1,6	4-7
Bagaço de maçã	1,5-2,5	15-20
Albedo cítrico (<i>Citrus</i> sp.)	-	30-35
Casca de laranja (<i>Citrus sinensis</i>)	3,5-5,5	-
Maracujá (<i>Passiflora edulis</i> S.)	0,5	-
Maracujá gigante (<i>Passiflora quadrangularis</i> L.)	0,4	-
Casca de maracujá	2,1-3,0	-
Batata	-	2,5
Banana (<i>Musa acuminata</i>)	0,7-1,2	-
Beterraba (<i>Beta vulgaris</i>)	1,0	-
Bagaço de beterraba	-	15-20
Carambola (<i>Averrhoa carambola</i>)	0,7	-
Cenoura (<i>Daucus carota</i>)	0,2-0,5	10
Goiaba (<i>Psidium guajava</i>)	0,8-1,0	-
Polpa de limão (<i>Citrus lemon</i>)	2,5-4,0	-
Lichia (<i>Litchi chinensis</i> S.)	0,4	-
Manga (<i>Mangifera indica</i> L.)	0,2-0,4	-
Mamão (<i>Carica papaya</i>)	0,7-1,0	-
Pêssegos (<i>Prunus persica</i>)	0,1-0,9	-
Abacaxi (<i>Ananas comosus</i> L.)	0,04-0,1	-
Morangos (<i>Fragaria ananassa</i>)	0,6-0,7	-
Tamarindo (<i>Tamarindus indica</i> L.)	1,71	-
Tomate (<i>Lycopersicon esculentum</i>)	0,2-0,6	3

Fonte: Canteri et al. (2012).

Estruturalmente, a pectina é um grupo complexo de heteropolissacarídeos (Figura 17), formado majoritariamente por unidades de ácido galacturônico (LOPES DA SILVA, RAO, 2006). Diversas unidades podem estar esterificadas, acetiladas e/ou amidadas, e esses diferentes grupos funcionais influenciam nas propriedades da molécula (CANTERI et al., 2012; PAIVA, LIMA, PAIXÃO, 2009).

Figura 17 – Estrutura da pectina.



Fonte: Canteri et al. (2012).

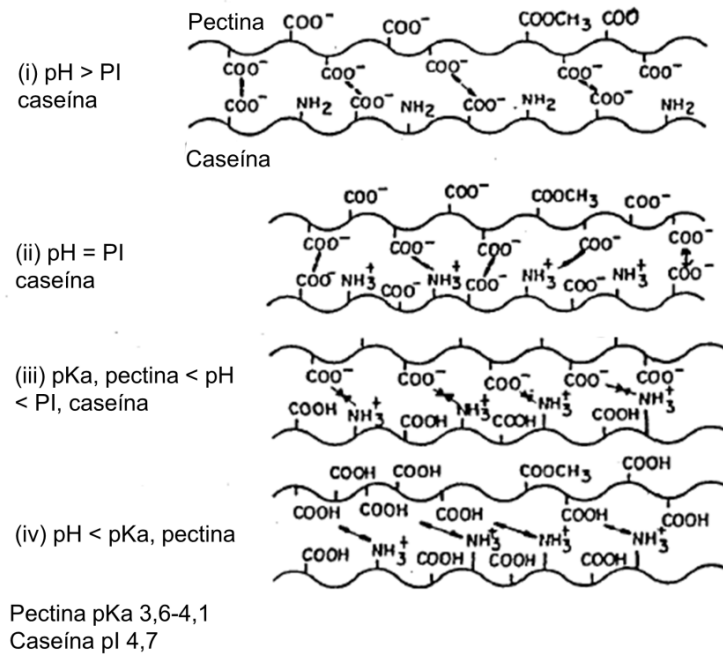
A pectina tem grande potencial para uso farmacêutico, no entanto, apresenta o inconveniente de rápido intumescimento. Uma proposta para evitar este problema é a formação de complexo com a caseína, que favorece a obtenção de um material com características diferentes dos materiais de origem, com a formação de coacervados espontâneos, que podem ser manipulados de forma a proteger os compostos bioativos durante o processo de secagem (BARACAT et al., 2012).

Este conjugado é formado pela alteração de pH do meio (Figura 18). Quando o pH do meio está acima do ponto isoelétrico (pI) da caseína, ocorre o desprotonamento de todos os grupamentos amina presentes na caseína e dos grupamentos carboxílicos do ácido galacturônico da pectina; e favorece o ataque nucleofílico dos grupamentos amina desprotonados (Figura 18i). Desta forma, em meio alcalino ocorre a formação de um sistema organizado, no entanto, esse sistema é instável por causa da repulsão de cargas que existem entre os íons carboxilatos (BARACAT, 2004; CAMILO, 2007).

A redução do pH promove a protonação da amina ($-\text{NH}_3^+$) presente na caseína, quando o pH é igual a 4,7 (Figura 18ii), ocorre atração e repulsão de cargas entre os grupamentos da caseína e da pectina. Quando o pH está entre 3,6 e 4,7 (Figura 18iii), todos os grupamentos da caseína estão protonados, isto gera atração máxima de cargas entre os grupamentos amina da caseína e os íons

carboxilatos da pectina. Neste momento o processo deve ser interrompido, porque se continuar reduzindo o pH do meio, os grupamentos da pectina serão protonados e o sistema voltará a ser instável (Figura 18iv) (BARACAT, 2004; CAMILO, 2007).

Figura 18 – Formação do conjugado caseína/pectina.



Fonte: Adaptado de Thakur et al. (1997).

Esse conjugado polimérico tem sido estudado para microencapsulação de fármacos como o acetaminofeno (BARACAT et al., 2012), quercetina (GUAZELLI et al., 2013) e indometacina (BARACAT et al., 2004) e para microencapsulação de probióticos (OLIVEIRA et al., 2007). Não se encontrou nenhum trabalho na literatura sobre a utilização deste conjugado na microencapsulação de extratos que contêm antocianinas.

2.4 SECAGEM

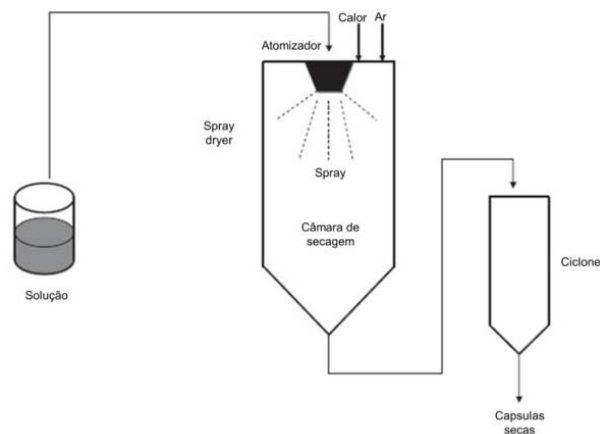
A indústria farmacêutica comercializa a maioria dos medicamentos fitoterápicos na forma sólida, deste modo, reduz-se a proliferação de patógenos e impede-se que reações químicas e físicas, ambas degradativas, ocorram (OLIVEIRA, PETROVICK, 2010).

Após o processo de microencapsulação, o sistema microencapsulado permanece em dispersão, sendo necessária a utilização da operação de secagem. Os processos de atomização (*spray drying*) e liofilização (*freeze drying*) são os mais utilizados pela indústria (AQUINO et al., 2008).

2.4.1 *Spray Drying*

A secagem por atomização, aliada ao encapsulamento, tem sido utilizada pela indústria para proteção de compostos sensíveis. A técnica de *spray drying* (Figura 19) consiste em transformar um líquido em um pó seco por meio de um fluxo de ar quente que proporciona a rápida evaporação do solvente em um processo contínuo, simples e rápido (SOUZA et al., 2015; VOS et al., 2010).

Figura 19 – Ilustração da técnica de *spray drying*.



Fonte: Vos et al. (2010).

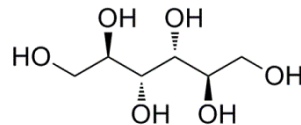
A dispersão é bombeada para a câmara de secagem, onde ocorre o contato com o ar quente (concorrente ou contracorrente). Posteriormente, as microcápsulas são direcionadas para o ciclone e em seguida para o frasco coletor (OLIVEIRA, PETROVICK, 2010; GHARSALLAOUI et al., 2007).

Esse processo de secagem é considerado simples, rápido e barato, no entanto, precisa ser otimizado, pois as características físico-químicas dos pós obtidos dependem de variáveis como a temperatura do ar de secagem e a concentração do polímero encapsulante (teor de sólidos) (TONON, BRABET, HUBINGER, 2008).

Materiais ricos em açúcares são pegajosos, grudam facilmente na câmara de secagem e por isso são mais difíceis de secar sem adição de agentes carreadores (SHISHIR, CHEN, 2017), como manitol, maltodextrina, celulose microcristalina e amido de milho. DeZarn (1995) sugerem que as dispersões que serão secas por atomização devem conter entre 5 e 50% de sólidos, no entanto, os mesmos autores mencionam que não há necessidade de se utilizar concentrações acima de 30%.

O D-manitol possui seis grupamentos hidroxila (Figura 20), sendo isômero do sorbitol. É um pó cristalino branco e inodoro, utilizado na indústria como diluente e agente edulcorante (ROWE, SHESKEY, QUINN, 2009).

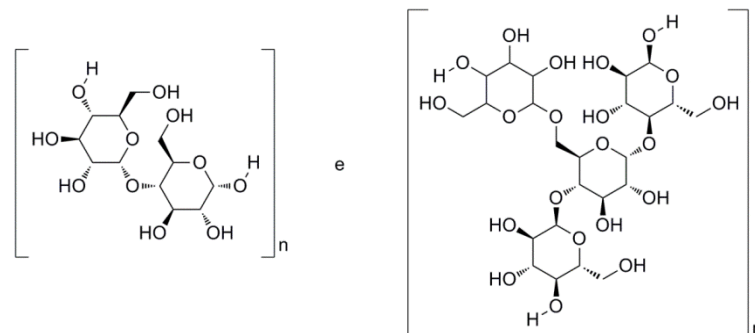
Figura 20 – Estrutura química do manitol.



Fonte: Rowe, Sheskey, Quinn (2009).

A maltodextrina é um conjunto de unidade de D-glicose unidas por ligações α -(1 \rightarrow 4) e α -(1 \rightarrow 6) (Figura 21), produzida a partir da hidrólise parcial do amido com valores de dextrose equivalente (DE) menor que 20 (WANG, WANG, 2000; CHRONAKIS, 1998).

Figura 21 – Estrutura química da maltodextrina.

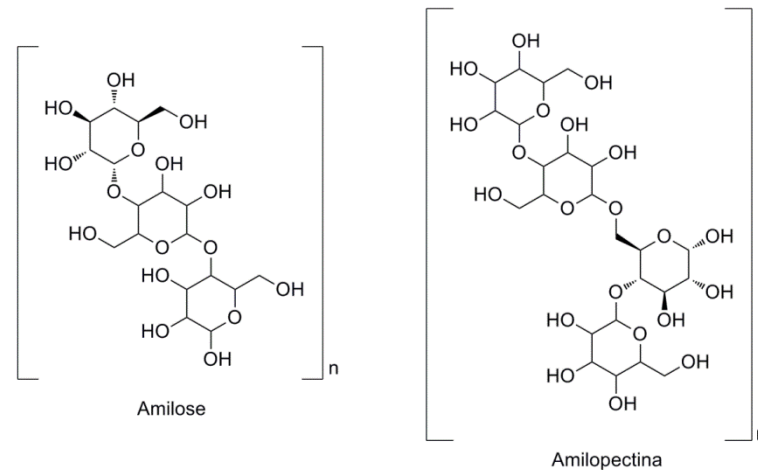


Fonte: Rowe, Sheskey, Quinn (2009).

Este adjuvante é um pó branco ou granulado, inodoro, utilizado na indústria farmacêutica para revestimentos, aumento de viscosidade e como diluente e aglutinante de comprimidos (ROWE, SHESKEY, QUINN, 2009).

O amido é formado por dois polissacarídeos: amilose e amilopectina. Ambos são cadeias de D-glucose, apresentando diferenças estruturais (Figura 22): a amilose apresenta apenas ligações 1,4 lineares, enquanto a amilopectina apresenta ramificações (CORRADINI et al., 2005).

Figura 22 – Estrutura química do amido.

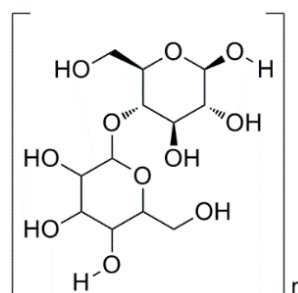


Fonte: Rowe, Sheskey, Quinn (2009).

É um pó branco e inodoro; pode ser extraído de diversos alimentos como batata, milho e arroz, sendo que o peso molecular depende da fonte que é extraído, podendo variar entre 50 e 500 milhões Da. A indústria farmacêutica o utiliza como diluente de comprimidos e cápsulas, além de agente espessante em formas farmacêuticas líquidas (ROWE, SHESKEY, QUINN, 2009).

A celulose é um polímero presente na parede celular de plantas, ela é constituída de moléculas de glicose unidas por ligações α -(1 \rightarrow 4) (Figura 23) e apresenta peso molecular entre 300.000 e 500.000 Da (LIMA NETO, PETROVICK, 1997).

Figura 23 – Estrutura química da celulose.



Fonte: Rowe, Sheskey, Quinn (2009).

A celulose microcristalina é purificada e parcialmente despolimerizada; se apresenta como um pó cristalino branco, inodoro e insípido. A indústria a utiliza como adsorvente e diluente para comprimidos (ROWE, SHESKEY, QUINN, 2009).

A temperatura de entrada para secagem por *spray drying* deve ser superior à temperatura de ebulição do solvente utilizado na dispersão. Quanto mais alta ela for, menor será a umidade do pó no final do processo; e por mais elevada que a temperatura de entrada seja, o tempo de contato entre o ar quente e o material é curto, portanto, o núcleo das gotículas nunca será aquecido acima da temperatura de saída (SHISHIR, CHEN, 2017; OLIVEIRA, PETROVICK, 2010).

Outros fatores importantes são o fluxo de ar, que interfere na taxa de evaporação do solvente, a viscosidade e o fluxo de alimentação que estão diretamente correlacionados com o diâmetro das micropartículas (SHISHIR, CHEN, 2017; OLIVEIRA, PETROVICK, 2010).

2.4.2 Liofilização

A liofilização, que possui como princípio o processo de sublimação, é outro método de secagem utilizado pela indústria. Este processo ocorre em três estágios: congelamento, sublimação (secagem primária) e dessorção (secagem secundária); ele é realizado com vácuo e em baixas temperaturas para evitar reações de degradação do material, como as de oxidação. Apesar de ser uma técnica cara, ela reduz eficientemente a atividade de água, preservando o composto (BARBOSA-CÁNOVAS et al., 2005; MARQUES, COSTA, 2015; RATTI, 2001).

2.4.3 Secagem de Extratos

A liofilização e o *spray drying* também podem ser utilizados para secagem de extratos. Souza et al. (2014), Kuck e Noreña (2016), Souza et al. (2015) e Valduga et al. (2008) utilizaram a técnica de *spray drying* para secar extratos obtidos a partir da casca de uva; Silva et al. (2013 e 2010) utilizaram esta técnica para extratos obtidos a partir da casca de jabuticaba; Tonon, Brabet e Hubinger (2008 e 2010) e Tonon et al. (2009) para extratos de açaí. A liofilização é menos utilizada que a técnica de *spray drying* para a secagem de extratos, no entanto, Abe

et al. (2007) utilizaram esta técnica para secar extratos obtidos a partir da casca de uva, Oliveira (2014) secou por liofilização extratos de vinho e Constant (2003) secou extratos de açaí por esta técnica.

3 OBJETIVOS

Padronizar a metodologia de secagem do extrato hidroetanólico 50% (v/v), acidificado com HCl 0,1% (v/v), da casca de uva (*Vitis labrusca*) proveniente de resíduo agroindustrial e desenvolver formulação encapsulada.

3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Padronizar metodologia de secagem pelo método de *spray drying*;
- Secar o extrato pelo método de liofilização;
- Analisar os produtos obtidos após processo de secagem por determinação de compostos fenólicos totais, teor de antocianinas e da atividade antioxidante pelo método de sequestro de radicais livres (método de DPPH);
- Desenvolver formulação farmacêutica encapsulada para evitar degradação de antocianinas;
- Analisar a morfologia da formulação microencapsulada;
- Analisar os produtos encapsulados obtidos por determinação de compostos fenólicos totais, teor de antocianinas e da atividade antioxidante pelo método de sequestro de radicais livres (método de DPPH);
- Avaliar a eficiência de encapsulação dos produtos obtidos.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAL VEGETAL

As cascas, engaços e sementes, derivados dos cultivares de uva Isabel e Bordô, que constituíam o resíduo agroindustrial, foram fornecidos pela Cooperativa Agroindustrial dos Viticultores (COAVITI), localizada no município de Marialva, Paraná (23°28'20.1"S 51°48'57.9"W). Foram realizadas análises com as cascas dos resíduos da safra 2014/2015 (safra 01) e da safra 2017 (safra 02). O material vegetal foi acondicionado em congelador (-4 °C) e protegido da luz até o momento da obtenção do extrato.

4.2 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS BRUTO E CONCENTRADO

As extrações foram realizadas adicionando-se 250 mL de solução hidroetanólica 50% (v/v), acidificada com HCl 0,1% (v/v), à 50,0 g de cascas de uva com turbo extração (M Vithory) por 1 min. Em seguida, aplicou-se ultrassonicação (Ultranique, Q3.8/40) com temperatura controlada (máximo 25 °C) ao abrigo de luz por uma hora, o extrato foi filtrado e o processo extrativo repetido com a fração sólida. Posteriormente, os extratos foram concentrados por meio de evaporador rotativo (Yamato, RE-301-AW RE301) a 80 °C, 80 rpm e 450 mmHg durante 4 horas. O extrato concentrado foi acondicionado em congelador (-4 °C) e protegido da luz até o momento da secagem (adaptado de SILVA, 2017).

4.3 SECAGEM DO EXTRATO PELO MÉTODO DE LIOFILIZAÇÃO

O extrato concentrado, obtido da safra 01, foi submetido à secagem pelo método de liofilização (Liotop, L101) por um período de 15 dias, à temperatura de -54 °C e à pressão de 0,01 mbar, utilizando uma bomba de vácuo tipo RC.8D 9602021.

4.4 ANÁLISES REALIZADAS COM AS SAFRAS 01 E 02

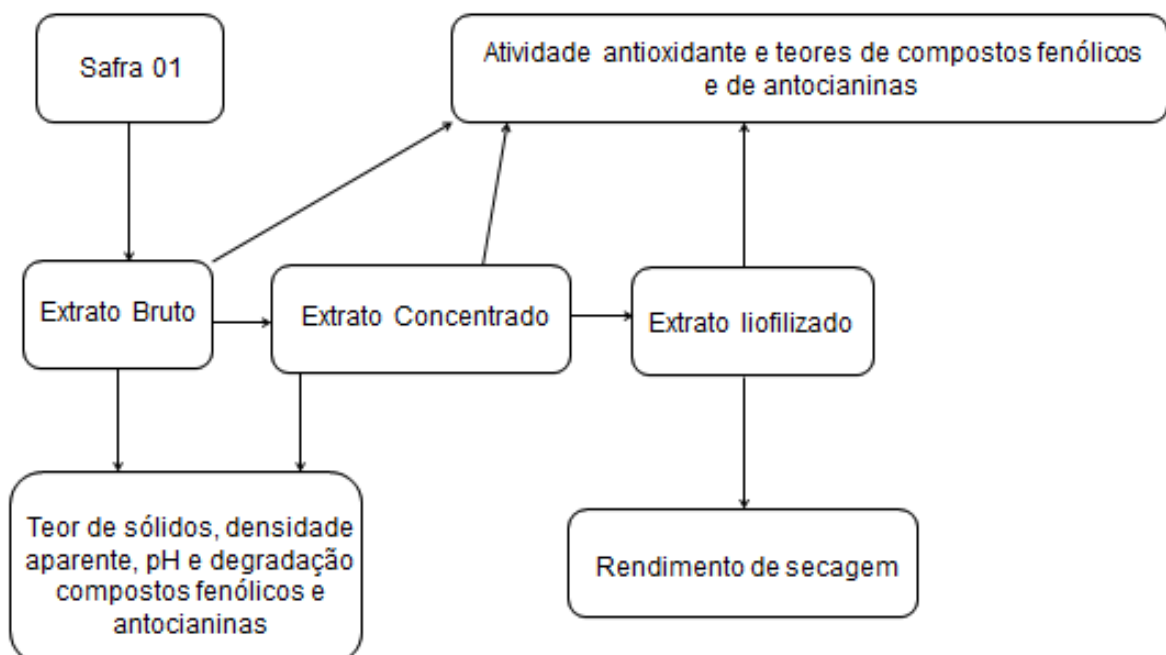
Foram obtidos extratos brutos e concentrados das safras 01 e 02, além do extrato liofilizado da safra 01. Esses extratos foram analisados quanto à atividade antioxidante pelo método de sequestro de radicais livres (método de DPPH) e aos teores de compostos fenólicos e antocianinas, conforme itens 4.5, 4.6 e 4.7, respectivamente.

Os extratos bruto e concentrado, das safras 01 e 02, foram analisados quanto ao teor de sólidos utilizando a metodologia descrita na Farmacopeia Brasileira (ANVISA, 2010), a densidade aparente foi avaliada pesando-se 2 mL e dividindo a massa pelo volume e o pH foi avaliado, em triplicata, utilizando-se pHmetro (Mettler Toledo, FE20 FiveEasy).

Para a safra 01 calculou-se o rendimento de secagem do extrato pelo método de liofilização e avaliou-se a degradação dos compostos fenólicos e antocianinas dos extratos bruto e concentrado, conforme item 4.8.

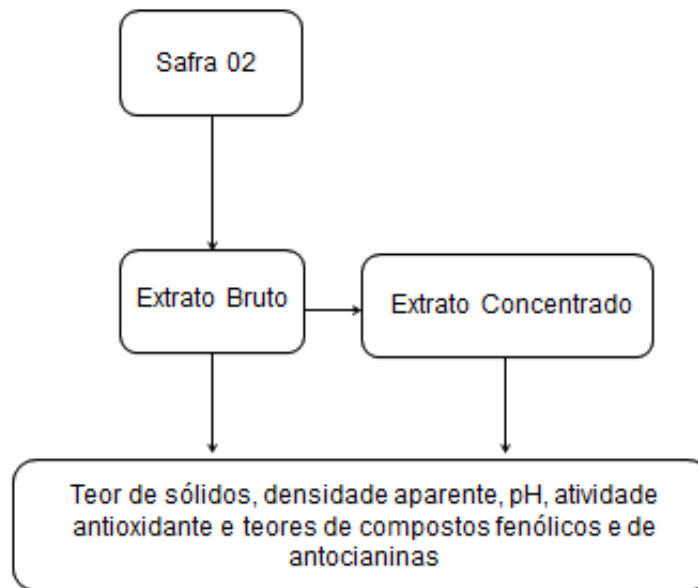
As Figuras 24 e 25 apresentam esquemas que mostram as análises realizadas para as safras 01 e 02.

Figura 24 – Análises realizadas com a safra 01 (2014/2015).



Fonte: o próprio autor.

Figura 25 – Análises realizadas com a safra 02 (2017).



Fonte: o próprio autor.

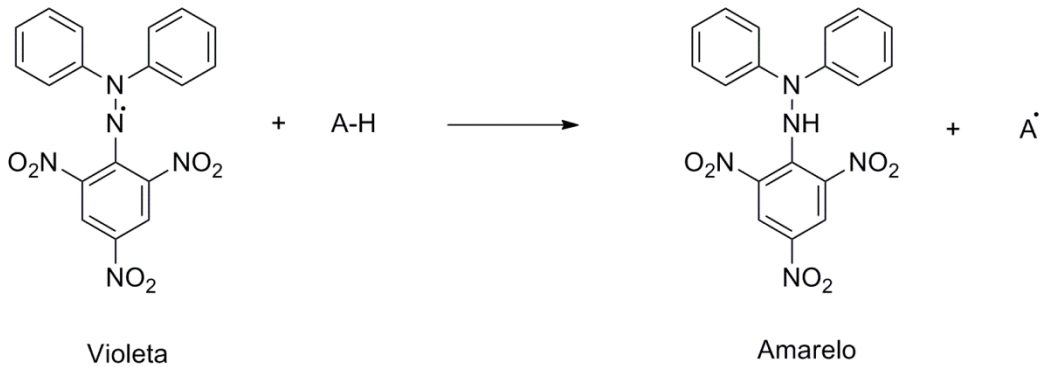
4.5 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO DE SEQUESTRO DE RADICAIS LIVRES (MÉTODO DE DPPH)

A capacidade antioxidante foi avaliada utilizando o método do sequestro de radical livre DPPH (2,2 difenil-1-picrilhidrazil), segundo Blois (1958). Nessa reação um antioxidante doa um próton ou um elétron reduzindo a molécula de DPPH[•], a reação pode ser observada pela mudança da coloração violeta para a coloração amarela (Figura 26) (OLIVEIRA, 2015).

Essa reação consiste em misturar 1 mL de tampão acetato pH 5,5, 1 mL de etanol, 0,5 mL de solução etanólica de DPPH (250 $\mu\text{mol L}^{-1}$) e 200 μL de amostra. A mistura reacional foi incubada por 10 min, ao abrigo da luz, e foi medido a absorbância a 517 nm (Thermo Scientific, Evolution 60) (SILVA, 2017). O controle positivo foi preparado na ausência de amostra e o branco preparado apenas com solução tampão e etanol. Todos os ensaios foram realizados em triplicatas.

Foi realizado controle de cor com o intuito de verificar se as antocianinas não aumentavam a absorção, porque essas moléculas e o DPPH absorvem em comprimentos de onda próximos, e verificou-se que não existe interferência na absorção.

Figura 26 – Reação entre DPPH• e antioxidante.



Fonte: Oliveira (2015).

Obteve-se curvas com concentrações de 6280 à 72,19 $\mu\text{g mL}^{-1}$, para a safra 01 (extratos bruto e concentrado), e de 5244 à 18,05 $\mu\text{g mL}^{-1}$, para safra 02 (extratos bruto e concentrado). Realizou-se a reação para cada ponto das curvas e com as absorvâncias calculou-se a porcentagem de inibição do oxidante (Equação 1), assim foi possível determinar o IC_{50} utilizando o programa GraphPad Prism (versão 7,0, GraphPad Software, Inc., San Diego, EUA).

$$\text{Porcentagem de inibição (\%)} = \frac{A_{\text{amostra}}}{A_{\text{controle}}} \cdot 100\% \quad (1)$$

Sendo A_{amostra} a média de absorção da amostra e A_{controle} a média de absorção do controle positivo.

4.6 DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS

O conteúdo de polifenóis totais nos extratos foi determinado pelo método colorimétrico utilizando o Folin-Ciocalteu como reagente (SINGLETON, ORTHOFER, LAMUELA-RAVENTÓS, 1999) e o ácido gálico como padrão. Para a realização da análise utilizou-se soluções dos extratos bruto e concentrado a 0,04% para a safra 01. Para a safra 02 preparou-se soluções a 0,01% para o extrato concentrado e a 0,02% para o extrato bruto.

Nesta reação misturou-se 0,5 mL de amostra, 0,5 mL do reagente Folin-Ciocalteu e 0,5 mL de Na_2CO_3 10%. A mistura reacional foi incubada por 1 hora, ao abrigo da luz, e medido a absorvância a 760 nm (Thermo Scientific,

Evolution 60). O branco foi preparado na ausência de amostra e todos os ensaios foram realizados em triplicatas.

Os resultados foram expressos em equivalente de ácido gálico utilizando-se a Equação (2) obtida da curva analítica absorvância por $\mu\text{g mL}^{-1}$ de ácido gálico.

$$y = 0,0265x - 0,0126 \quad (2)$$

$$R^2 = 0,9992$$

4.7 TEOR DE ANTOCIANINAS

O teor total de antocianinas foi determinado pelo método diferencial do pH (GIUSTI, WROLSTAD, 2001). A absorvância das soluções de extrato em pH 1,0 e 4,5 foi lida em 520 e 700 nm em um espectrofotômetro (Thermo Scientific, Evolution 60). Os resultados foram expressos como equivalente da concentração do pigmento monomérico da malvidina-3-glicosídeo (mg L^{-1}). Foram utilizados o coeficiente de extinção molar de $28\,000\text{ L cm}^{-1}\text{ mol}^{-1}$ e o peso molecular de $463,3\text{ g mol}^{-1}$ para malvidina-3-glicosídeo (ROCKENBACH et al., 2011). Todos os ensaios foram realizados em triplicatas.

4.8 DEGRADAÇÃO DE ANTOCIANINAS E COMPOSTOS FENÓLICOS

Os extratos bruto e concentrado (safra 01) foram colocados em placas de Petri para expor ao máximo a superfície. Posteriormente, estas foram armazenadas em dessecadores contendo solução saturada de MgCl_2 (32,8% de umidade relativa) à $25\text{ }^\circ\text{C}$. As amostras foram armazenadas durante 120 dias e a cada 30 dias foi analisado o teor total de antocianinas e compostos fenólicos (adaptado de TONON, BRABET, HUBINGER, 2010). A perda total destes compostos foi determinada pela Equação (3).

$$\text{Perda total (\%)} = \left(1 - \frac{c_{\text{final}}}{c_0}\right) \times 100 \quad (3)$$

Sendo C_0 o teor inicial de antocianinas/compostos fenólicos e C_{120} o teor final.

4.9 IDENTIFICAÇÃO DE ANTOCIANINAS

A identificação das antocianinas no extrato foi realizada em espectrômetro de massas triplo-quadrupolo (QqQ) com ionização por eletrospray (ESI) em modo sequencial (ESI-tandem-MS) – Waters® e2795 Separations Modules no laboratório Fenn de Espectrometria de massas na Universidade Federal do Paraná (UFPR) - Campus Jandaia do Sul, em colaboração com o Professor Doutor Eduardo Cesar Meurer.

A técnica de múltiplas reações monitoradas (MRM, do inglês, *multiple-reaction monitoring*) monitora, realizando uma varredura qualitativa, a fragmentação de vários íons pré-selecionados simultaneamente (CHIARADIA, COLLINS, JARDIM, 2008).

Uma alíquota de 100 μL de cada extrato (bruto e concentrado) foi diluída com álcool metílico (Vetec, 99,9% a nível UV/HPLC) completando 1 mL de solução, que foi filtrada com microfiltro de 0,22 μm . Posteriormente, essas soluções foram diluídas (0,1:1) com a fase móvel positiva (ácido fórmico 0,1%) e injetadas no equipamento de ESI/MS.

Os parâmetros de análises para MRM-ESI-MS para ionização no modo positivo foram: vazão de gás (Argônio): 0,14 mL min^{-1} ; temperatura da dessolvatação: 250 $^{\circ}\text{C}$; capilar: 3500 V; cone: 30 V; energia de colisão: 30 V, vazão da seringa: 50 $\mu\text{L min}^{-1}$; tempo de ciclo: 2 segundos e; número de canais, 31.

4.10 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS PARA DETERMINAÇÃO DO AGENTE CARREADOR PARA SECAGEM PELO MÉTODO DE *SPRAY DRYING*

Foram avaliados quatro adjuvantes (maltodextrina 10DE, manitol, celulose microcristalina e amido de milho) como agente carreador no processo de secagem por atomização em *Spray Dryer*.

Realizou-se a operação de secagem em escala laboratorial (Lab Plant, modelo SD-05) com diâmetro do bico de 1,0 mm. Utilizou-se a condição central do planejamento fatorial 3^3 Box-Behnken (12 mL min^{-1} , 140 $^{\circ}\text{C}$, 54 $\text{m}^3 \text{h}^{-1}$)

(item 4.14), sendo incorporados 15% de adjuvantes à 300 mL de extrato, 12 horas antes do processo (COUTO et al., 2011).

Os extratos com adjuvantes foram analisados quanto ao teor de sólidos utilizando a metodologia descrita na Farmacopeia Brasileira (ANVISA, 2010); neste processo, realizado em triplicata, 2 mL de cada extrato foram dessecados em estufa a 105 °C até se obter o peso constante.

A densidade aparente foi avaliada por dois métodos: pesando-se 2 mL e dividindo a massa pelo volume; e utilizando um densímetro (Mettler Toledo, DE40 Density Meter).

A viscosidade foi medida com o auxílio de viscosímetro (Marte, MVD8), utilizando *spin* 3 para o maltodextrina 10DE, manitol e celulose microcristalina, e *spin* 4 para o amido de milho. A escolha do *spin* é determinada pela relação viscosidade/velocidade de rotação (%) que deve estar entre 20 e 90%.

O pH foi avaliado, em triplicata, utilizando-se pHmetro (Mettler Toledo, FE20 FiveEasy).

Após a secagem, foram avaliados o rendimento, atividade antioxidante e os teores de compostos fenólicos e antocianinas para todas as amostras (itens 4.5, 4.6 e 4.7). Sendo que para determinar o teor de compostos fenólicos preparou-se soluções a 0,01%.

Mediante os resultados e discussão (item 5), o trabalho propôs revestir com os polímeros de caseína/pectina o extrato da casca da uva concentrado e o extrato com maltodextrina 10DE incorporada, com o intuito de verificar se existe sinergismo entre esse agente carreador e o complexo caseína/pectina na proteção dos compostos bioativos da uva. Assim, obteve-se as MC denominadas MC extrato e MC extrato + maltodextrina, respectivamente, que foram preparadas conforme item 4.11.

Essas MC foram avaliadas quanto à quantificação e eficiência de encapsulação (item 4.12), ao rendimento de secagem, à atividade antioxidante e aos teores de compostos fenólicos e antocianinas (itens 4.5, 4.6 e 4.7). Sendo que para determinar o teor de compostos fenólicos preparou-se soluções a 0,02%.

4.11 PREPARAÇÃO DAS MICROCÁPSULAS (MC)

A preparação das MC foi realizada pelo método de coacervação

complexa, de acordo com Baracat et al. (2012) com adaptações. Uma alíquota de 100 mL de extrato ou extrato com maltodextrina 10DE foram adicionados separadamente à dispersão do conjugado polimérico, na proporção 1:26 m/m (extrato:polímero), sob agitação constante a partir do pH 5,0. Posteriormente, o pH foi reduzido lentamente e gradualmente para $3,5 \pm 0,1$ pela adição de ácido cítrico $1,0 \text{ mol L}^{-1}$. Para a preparação das MC inertes foi utilizada a mesma metodologia, porém, sem adição do extrato.

4.12 QUANTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS COM PROPRIEDADES ANTIOXIDANTES E EFICIÊNCIA DE ENCAPSULAÇÃO

Para a quantificação de compostos com propriedades antioxidantes do extrato da casca da uva microencapsulado, pesou-se o equivalente a 1 mL de extrato que foi disperso em 10 mL de H_2O ultrapura. Em seguida, essas MC foram levadas ao vortex durante 3 minutos e centrifugadas à 2400 RPM por 10 minutos, de acordo com Baracat et al. (2012), com adaptações. Foram realizadas 10 extrações sequenciais e o teor de compostos antioxidantes presentes no sobrenadante foi quantificado pela técnica de determinação da atividade antioxidante pelo método de sequestro de radicais livres (método de DPPH), conforme item 4.5. Para isto, obteve-se uma curva analítica da porcentagem de ação antioxidante em função de $\mu\text{g mL}^{-1}$ de extrato e os resultados foram calculados pela Equação (4).

$$y = 0,1661x + 8,301 \quad (4)$$

$$R^2 = 0,9974$$

A eficiência de encapsulação (EE) foi realizada pesando-se o equivalente a 1 mL de extrato que foi disperso em 10 mL de etanol 80%. Em seguida, essas MC foram agitadas manualmente e centrifugadas à 2400 RPM por 10 minutos, de acordo com Baracat et al. (2012), com adaptações. Foram realizadas 3 extrações sequenciais e o teor de compostos antioxidantes presentes no sobrenadante foi quantificado pela técnica de determinação da atividade antioxidante pelo método de sequestro de radicais livres (método de DPPH), conforme item 4.5. A EE foi calculada pela Equação (5).

$$EE = \frac{\text{capacidade antioxidante na formulação} - \text{capacidade antioxidante no sobrenadante}}{\text{capacidade antioxidante na formulação}} \times 100 \quad (5)$$

4.13 AVALIAÇÃO DO MÉTODO DE SECAGEM: LIOFILIZAÇÃO OU *SPRAY DRYING*

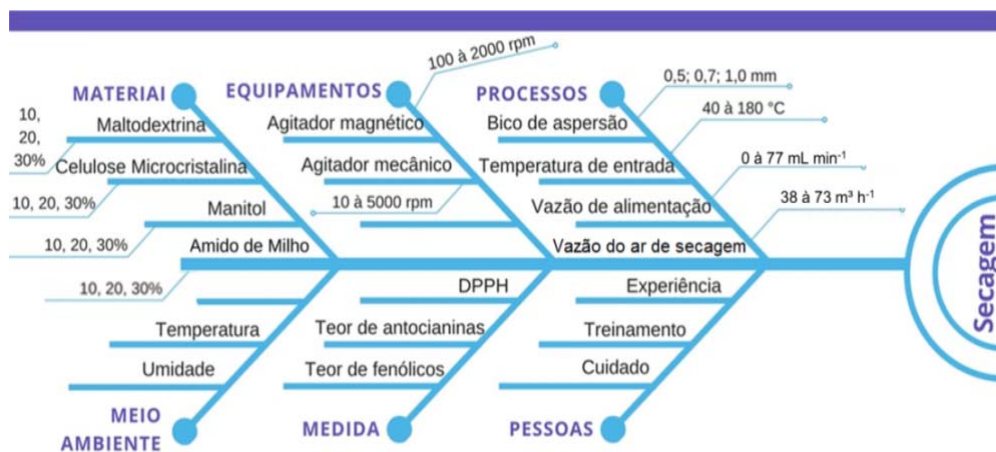
Foi realizado a secagem por liofilização (item 4.3), por um período de três semanas, e *spray drying* (item 4.10) com a formulação de MC de caseína/pectina contendo extrato da casca da uva (selecionado no item 5) e, deste modo, avaliou-se qual o melhor método de secagem analisando rendimento, atividade antioxidante e teores de compostos fenólicos e antocianinas para dar a continuidade do projeto.

4.14 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL PARA SECAGEM PELO MÉTODO *SPRAY DRYING*

Mediante os resultados e discussão (item 5), a técnica de *spray drying* foi escolhida para continuação do projeto e elaborou-se um planejamento fatorial, que foi executado com o extrato microencapsulado.

Realizou-se o levantamento de todas as variáveis que podem interferir no processo de secagem e construiu-se um diagrama de Ishikawa (Figura 27) para analisá-las.

Figura 27 – Diagrama de Ishikawa.



Fonte: o próprio autor.

Em conjunto com a revisão na literatura, optou-se por variar as condições relacionadas ao processo: temperatura de entrada, vazão de alimentação e vazão do ar de secagem. Fixou-se o material de entrada e os equipamentos após a determinação do agente carreador. Em estudos anteriores do nosso grupo de pesquisa padronizou-se a utilização do bico de aspersão de 1,0 mm (GUAZELLI, 2017; SOUZA, 2018). As variáveis relacionadas ao ambiente não puderam ser controladas, mas foram monitoradas utilizando-se um termohigrômetro (Akso, Ak28).

As variáveis de medida, atividade antioxidante e teores de compostos fenólicos e antocianinas, foram padronizadas no início do projeto e foram utilizadas como variáveis dependentes, juntamente com a eficiência de encapsulação, o rendimento de secagem e a temperatura de saída do equipamento.

O planejamento empregado foi o fatorial 3^3 Box-Behnken com três pontos centrais (MYERS, MONTGOMERY, ANDERSON-COOK, 2009), totalizando 15 experimentos que foram executados aleatoriamente. A Tabela 6 apresenta os níveis para os fatores e seus valores codificados e não-codificados, e a Tabela 7 mostra a matriz do planejamento fatorial com os fatores e níveis estudados.

Tabela 6 – Fatores codificados e seus níveis em um fatorial 3^3 Box-Behnken.

Fatores	Níveis		
	-1	0	+1
E_F (mL min ⁻¹)	10	12	14
I_T (°C)	120	140	160
V_S (m ³ h ⁻¹)	51	54	57

E_F = vazão de alimentação; I_T = temperatura de entrada; V_S = vazão do ar de secagem.

Fonte: o próprio autor.

Para realizar a análise de variância (ANOVA) os fatores foram codificados utilizando-se a Equação (6).

$$\text{Valor codificado} = \frac{(\text{valor não codificado} - 0,5 \times (\text{nível alto} + \text{nível baixo}))}{0,5 \times (\text{nível alto} - \text{nível baixo})} \quad (6)$$

As análises estatísticas dos dados experimentais foram realizadas por ANOVA e regressão linear usando a Metodologia de Superfície de Resposta (MSR), empregando o módulo *Visual General Linear Model (VGLM)* do software Statistica 7 (Statsoft Inc., Tulsa, EUA), sendo aplicada uma equação polinomial

quadrática, dada pela Equação (6), como função de resposta. Apenas os fatores com significância maior ou igual a 5% ($p \leq 0,05$) foram considerados.

$$Y = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \beta_3 x_3 + \beta_{11} x_1^2 + \beta_{22} x_2^2 + \beta_{33} x_3^2 + \beta_{12} x_1 x_2 + \beta_{13} x_1 x_3 + \beta_{23} x_2 x_3 \quad (6)$$

Sendo Y a variável dependente; β_0 a constante do modelo; x_1 , x_2 e x_3 as variáveis independentes; β_1 , β_2 e β_3 os coeficientes lineares; β_{11} , β_{22} e β_{33} os coeficientes quadráticos; e β_{12} , β_{13} e β_{23} os coeficientes de interação.

Tabela 7 – Matriz do planejamento fatorial 3^3 Box-Behnken.

Exp.	E_F	I_T	V_S
1	-1	-1	0
2	+1	-1	0
3	-1	+1	0
4	+1	+1	0
5	-1	0	-1
6	+1	0	-1
7	-1	0	+1
8	+1	0	+1
9	0	-1	-1
10	0	+1	-1
11	0	-1	+1
12	0	+1	+1
13	0	0	0
14	0	0	0
15	0	0	0

E_F = vazão de alimentação; I_T = temperatura de entrada; V_S = vazão do ar de secagem.

Fonte: o próprio autor.

4.15 CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO DA CASCA DA UVA MICROENCAPSULADO COM CASEÍNA/PECTINA

4.15.1 Amostras

Mediante os resultados e discussão (item 5), o experimento de secagem utilizando vazão de alimentação de 10 mL min^{-1} , temperatura de entrada

de 140 °C e vazão do ar de secagem de 51 m³ h⁻¹ (experimento 5) foi o que apresentou melhor resultado correlacionando-se rendimento de secagem, eficiência de encapsulação, atividade antioxidante e os teores de compostos fenólicos e antocianinas. Desta forma, realizou-se as análises do extrato e das microcápsulas inerte e contendo o extrato por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), distribuição do tamanho das partículas, Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC) e Infravermelho com Transformada de Fourier (IV-TF) para este experimento.

Além disso, com o intuito de verificar como os parâmetros estudados (vazão de alimentação, temperatura de entrada e vazão do ar de secagem) afetam a morfologia, realizou-se a análise de MEV para diferentes experimentos do planejamento fatorial: 1 (um), que apresentou melhor rendimento de secagem; 4 (quatro), que é um dos experimentos que dispõe de níveis diferentes do experimento 5 (cinco) no planejamento fatorial; e 14 (quatorze), que apresentou bons resultados.

4.15.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As formulações microencapsuladas (MC extrato e MC inerte) foram colocadas em *stubs* e recobertos com uma camada de aproximadamente 15 nm de ouro utilizando um *Sputter Coater* (BAL-TEC, SDC 050) para fornecer condutividade à superfície do material. Posteriormente, as amostras foram analisados por Microscópio Eletrônico de Varredura (FEI-PHILIPS, Quanta 200), nos aumentos de 2500 e 5000x, operando com um feixe de elétrons de 20 kV.

4.15.3 Distribuição do Tamanho das Partículas

As fotomicrografias de MEV foram utilizadas para medir o diâmetro médio das microcápsulas com auxílio do programa Image Pro Plus (versão 4,0, Media Cybernetics, Inc., Rockville, EUA). A distribuição do tamanho das partículas foi expressa em % de frequência e % de frequência acumulada.

4.15.4 Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)

Foram aquecidas 5 mg de amostra (MC extrato, MC inerte e extrato) em cadinho de alumínio com tampa perfurada, no intervalo de 25 a 400 °C, com uma

taxa de aquecimento de $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$, em fluxo de gás de nitrogênio, com vazão média de 50 mL min^{-1} , utilizando o equipamento SHIMADZU DSC-60.

4.15.5 Infravermelho com Transformada de Fourier (IV-TF)

A obtenção dos espectros de IV-TF das amostras (MC extrato, MC inerte e extrato) foi realizada por meio de pastilhas de brometo de potássio (KBr) e amostra, na faixa de $4000\text{-}400\text{ cm}^{-1}$, com resolução de 4 cm^{-1} e 64 scans, utilizando-se um espectrômetro SHIMADZU IRPrestige-21.

4.16 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As diferenças estatisticamente significativas foram determinadas pelo teste paramétrico ANOVA de uma via, seguido pelo teste de Tukey, para comparação entre os grupos (comparação múltipla), e pelo teste t de Student para dois grupos específicos. As análises estatísticas foram realizadas usando-se o software GraphPad Prism (versão 7,0, GraphPad Software, Inc., San Diego, EUA). As diferenças foram consideradas estatisticamente significativas para valores correspondentes a $p < 0,05$, e os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão de triplicatas reais.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 SAFRA 01

Os resultados das análises físico-químicas e atividade antioxidante dos extratos da casca da uva referentes à safra 01 (2014/2015), estão apresentados na Tabela 8. No processo de concentração do extrato, o etanol é removido e, assim, verificou-se o aumento do teor de sólidos, de 0,82 para 2,08%, e da densidade (m/V), de 0,956 para 0,970 g mL⁻¹. Também observou-se uma redução do pH de 2,10 para 1,79, por causa do aumento da concentração da espécie H⁺.

Tabela 8 – Sólidos solúveis, densidade aparente, pH, teor de compostos fenólicos, teor de antocianinas, atividade antioxidante e rendimento de secagem dos extratos obtidos da safra 01.

	Extrato Bruto	Extrato Concentrado	Extrato Liofilizado
Sólidos solúveis (%)	0,82±0,16 [#]	2,08±0,15	-
Densidade aparente (g mL ⁻¹)	0,956±0,003 [#]	0,970±0,003	-
pH	2,10±0,01 [#]	1,79±0,03	-
Compostos fenólicos (mgGAE g ⁻¹)	56,74±0,25 ^a	35,18±0,42 ^b	14,04±0,24 ^c
Teor de antocianinas (mg L ⁻¹)	6,31±0,12 ^a	8,02±0,24 ^b	5,46±0,93 ^a
Atividade antioxidante (µg mL ⁻¹)*	738,326±1,94 ^a	699,093±3,26 ^a	2602,290±33,18 ^b
Rendimento de secagem (%)	-	-	97,38

As letras diferentes representam diferença estatística $p < 0,05$ entre as amostras (comparação múltipla) e o sinal # representa a diferença estatística $p < 0,05$ entre as amostras pelo teste t de Student, e os resultados foram expressos como média ± desvio padrão de triplicatas reais.

*valores de IC₅₀

Fonte: o próprio autor.

O teor de compostos fenólicos totais diminuiu 21,56 mgGAE g⁻¹ após o processo de concentração e 21,14 mgGAE g⁻¹ após a liofilização, o que sugere, pela metodologia utilizada, volatilização (concentração) e fotodegradação (liofilização por tempo prolongado) destes compostos.

Com a remoção do solvente, o teor de antocianinas aumentou de

6,31 para 8,02 mg L⁻¹, indicando que estas moléculas não degradam no processo de concentração, apesar da temperatura utilizada ser considerada elevada para as antocianinas. No entanto, no processo de secagem de liofilização elas degradam por causa do longo tempo de exposição à luz, evidenciado pela redução de 2,56 mg L⁻¹ de antocianinas, esses resultados sugerem que essas moléculas são mais sensíveis a luz do que a temperatura.

Foi observado que após o processo de concentração do extrato não houve perda significativa da atividade antioxidante, uma vez que o valor de IC₅₀ diminuiu de 738,326 para 699,093 µg mL⁻¹. Contudo, após o processo de liofilização, o IC₅₀ aumentou cerca de 3,7 vezes. Esse resultado demonstra que o processo de liofilização empregado, com elevado tempo de exposição à luz, pode ter degradado os compostos extraídos, corroborando com os resultados dos teores de compostos fenólicos e antocianinas.

O rendimento de secagem foi elevado para o extrato (97,38%), este resultado é característico de secagem por liofilização, pois não há perdas de amostras nesse processo, devido a remoção de água por sublimação que ocorre com o mínimo de deslocamento do material sólido (MARQUES, COSTA, 2015).

Em quatro meses, ocorreu perda de 81,29% e 74,57% para os extratos bruto e concentrado, respectivamente, do teor de antocianinas. O teor de compostos fenólicos reduziu 27,79 e 33,62% para os extratos bruto e concentrado, respectivamente. Esses resultados inferem que os compostos fenólicos presentes no extrato apresentam maior estabilidade em relação as antocianinas quando os extratos são expostos à luz.

5.2 SAFRA 02

Os resultados da safra 02 (2017), estão apresentados na Tabela 9. O teor de sólidos e a densidade aparente apresentaram o mesmo comportamento que a safra 01, aumentando os valores em 0,55% e 0,047 g mL⁻¹ ao remover o solvente, respectivamente. Com a remoção do etanol, observou-se novamente uma redução do pH de 2,05 para 1,75.

Os teores de compostos fenólicos totais e antocianinas também se comportaram como os resultados da safra 01. Os compostos fenólicos degradaram de 160,17 para 153,96 mgGAE g⁻¹ e as antocianinas apresentaram um aumento de

103,97 mg L⁻¹, evidenciando que a temperatura utilizada no processo de concentração pode estar degradando os compostos fenólicos presentes no extrato, contudo, essa perda não foi observada para o teor de antocianinas. A atividade antioxidante, por sua vez, apresentou um pequeno aumento de IC₅₀, mostrando que o processo de concentração não degrada significativamente os compostos antioxidantes.

Tabela 9 – Sólidos solúveis, densidade aparente, pH, teor de compostos fenólicos, teor de antocianinas e atividade antioxidante dos extratos obtidos da safra 02.

	Extrato Bruto	Extrato Concentrado
Sólidos solúveis (%)	0,86±0,09 [#]	1,41±0,12
Densidade aparente (g mL ⁻¹)	0,937±0,014 [#]	0,984±0,007
pH	2,05±0,01 [#]	1,75±0,02
Compostos fenólicos (mgGAE g ⁻¹)	160,17±1,02 [#]	153,96±0,57
Teor de antocianinas (mg L ⁻¹)	208,35±5,62 [#]	312,32±3,27
Atividade antioxidante (µg mL ⁻¹)*	255,111±4,29	258,626±1,09

O sinal # representa a diferença estatística $p < 0,05$ entre as amostras pelo teste t de Student, e os resultados foram expressos como média ± desvio padrão de triplicatas reais.

*Valores de IC₅₀

Fonte: o próprio autor.

A partir deste momento trabalhou-se somente com a safra 02, pela quantidade de amostra necessária para realizar os próximos experimentos.

5.3 IDENTIFICAÇÃO DE ANTOCIANINAS

A identificação das antocianinas está apresentada na Tabela 10 e na Figura 28.

Encontrou-se sete antocianinas no extrato bruto e nove no extrato concentrado, como visto no item 5.2 o teor de antocianinas aumentou com a remoção do solvente, possivelmente a concentração da malvidina-3-O-p-coumaroil-glicosídeo e da peonidina-3-O-p-coumaroil-glicosídeo era baixa no extrato bruto, não sendo detectada pelo equipamento.

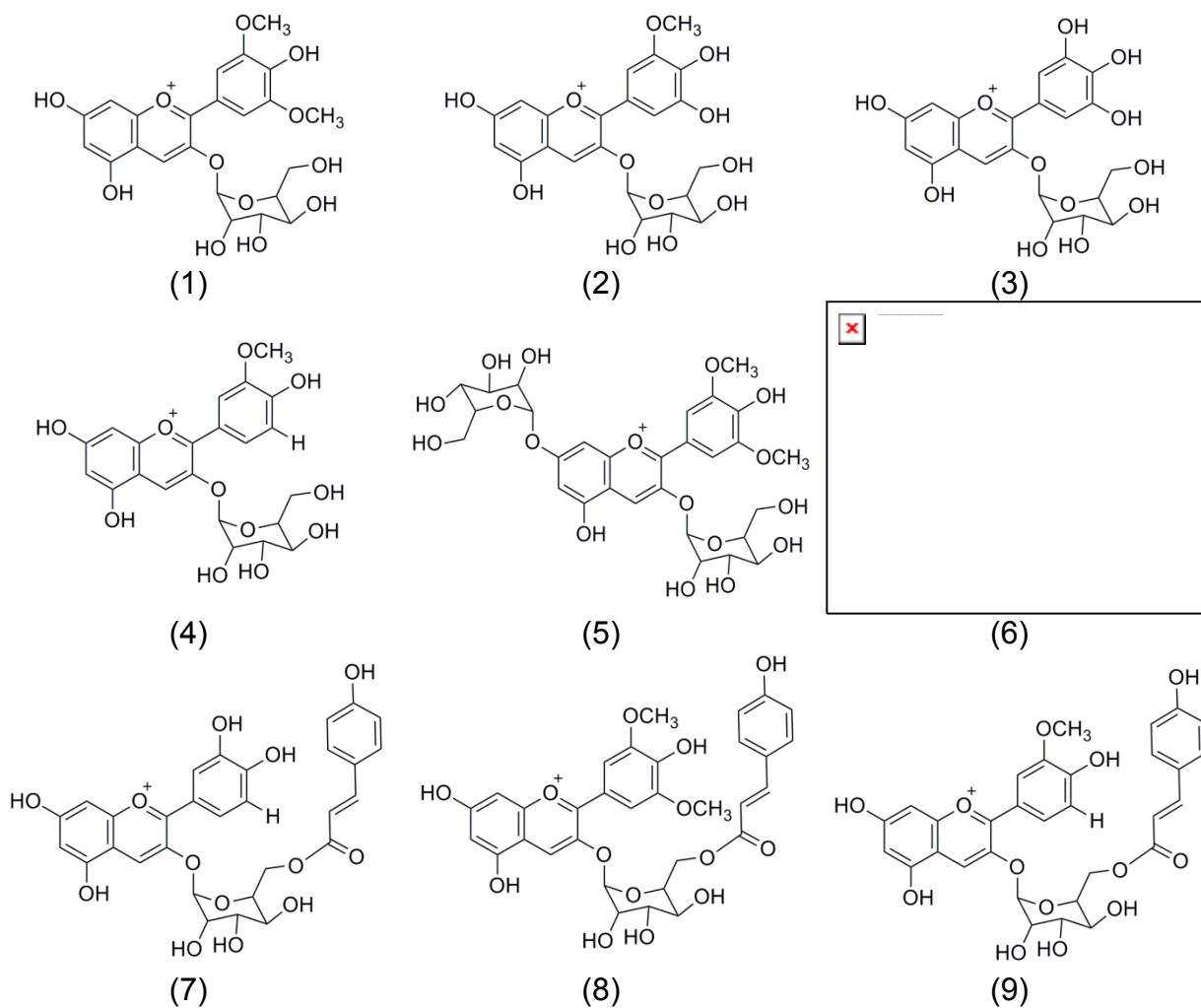
Estudos anteriores do nosso grupo de pesquisa encontram as mesmas antocianinas e alguns flavonóis como a quercetina-3-galactosídeo e a miricetina-3-rutinosídeo no resíduo da safra 01 (SILVA, 2017).

Tabela 10 - Dados de MRM para os extratos bruto e concentrado das antocianinas presentes na casca das uvas Bordô e Isabel.

	Compostos	[M-H] ⁺ m/z	Bruto	Concentrado
(1)	Malvidina-3-O-glicosídeo	493	X	X
(2)	Petunidina-3-O-glicosídeo	479	X	X
(3)	Delfinidina-3-O-glicosídeo	465	X	X
(4)	Peonidina-3-O-glicosídeo	463	X	X
(5)	Malvidina-3,7-O-diglicosídeo	655	X	X
(6)	Petunidina-3-O-p-coumaroil-glicosídeo	625	X	X
(7)	Cianidina-3-O-p-coumaroil-glicosídeo	595	X	X
(8)	Malvidina-3-O-p-coumaroil-glicosídeo	639		X
(9)	Peonidina-3-O-p-coumaroil-glicosídeo	609		X

Fonte: o próprio autor.

Figura 28 – Estruturas químicas das antocianinas encontradas no extrato da casca da uva.



Fonte: o próprio autor.

5.4 SELEÇÃO DO AGENTE CARREADOR

Após a remoção do solvente o teor de sólidos aumentou (Tabela 9), no entanto, este aumento (0,86 para 1,41%) não foi suficiente para realizar a secagem por *spray dryer* sendo necessário adicionar adjuvantes (maltodextrina 10DE, manitol, celulose microcristalina e amido de milho). Após a adição destes, os extratos apresentaram teor de sólidos de $11,66 \pm 0,12\%$, $12,74 \pm 0,05\%$, $12,15 \pm 0,61\%$ e $11,04 \pm 0,28\%$ para os extratos com maltodextrina 10DE, manitol, celulose microcristalina e amido de milho, respectivamente (Figura 29A).

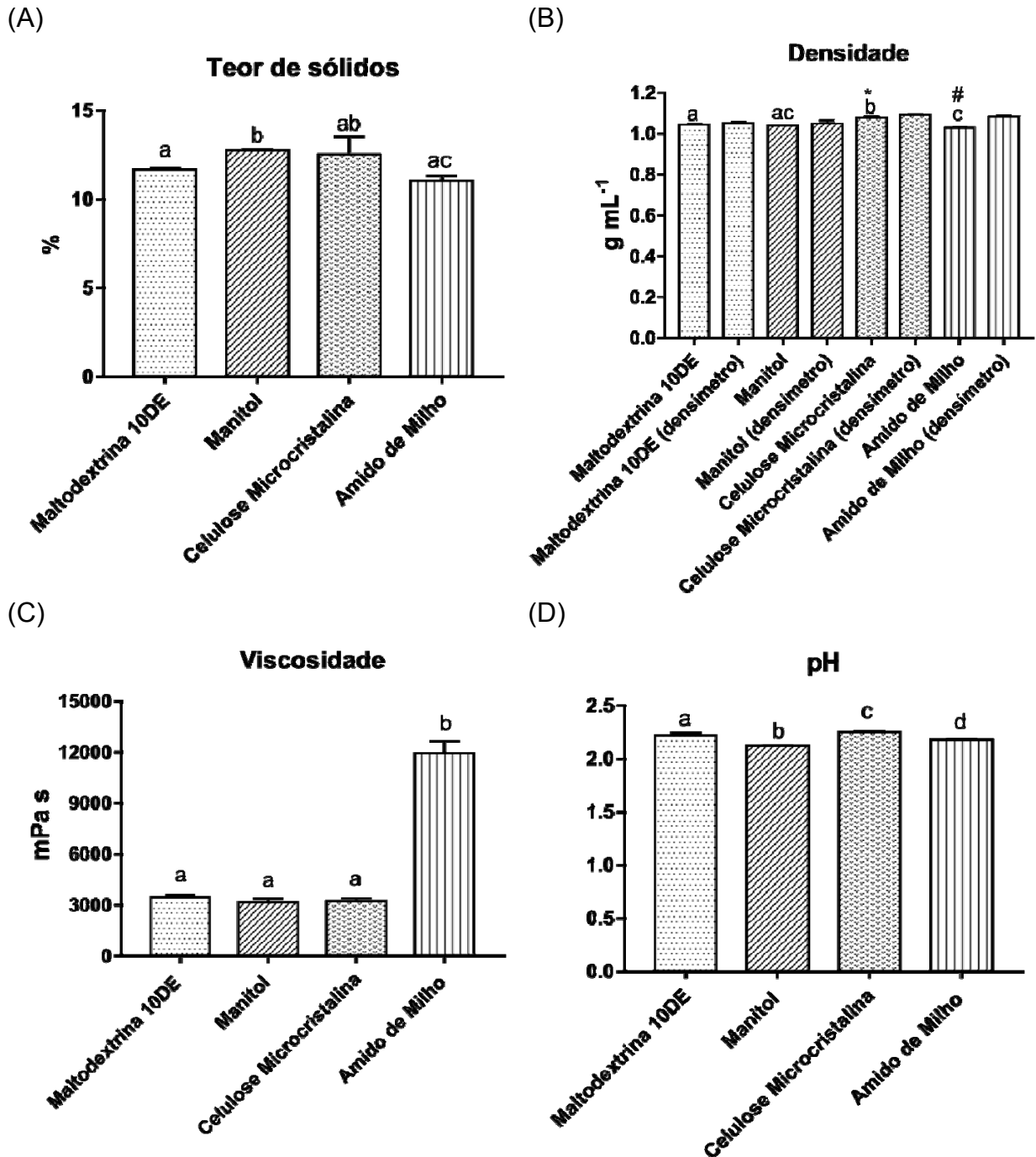
Os resultados adquiridos para a densidade aparente (Figura 29B) obtida pelo densímetro corroboram com os resultados da razão massa/volume para a maltodextrina 10DE ($1,043$ e $1,052 \text{ g mL}^{-1}$) e para o manitol ($1,038$ e $1,050 \text{ g mL}^{-1}$). Observa-se variação estatística entre as duas técnicas para os extratos com celulose microcristalina ($1,077$ e $1,092 \text{ g mL}^{-1}$) e amido de milho ($1,028$ e $1,083 \text{ g mL}^{-1}$), esses adjuvantes não são solúveis no extrato da casca da uva, o que pode causar heterogeneidade nessas amostras.

Os resultados de viscosidade (Figura 29C) mostram que os extratos da casca da uva com maltodextrina 10DE ($3462,23 \text{ mPa s}$), manitol ($3161,67 \text{ mPa s}$) e celulose microcristalina ($3219,87 \text{ mPa s}$), apresentam valores de resistência interna ao escoamento semelhantes, o que é evidenciado pela proximidade dos valores de viscosidade. Materiais de entrada que possuem viscosidade elevada (maior resistência ao escoamento), como o amido de milho ($11960,33 \text{ mPa s}$), geram partículas de maior diâmetro, não formam gotas esféricas e demandam mais energia para remover o solvente (OLIVEIRA; PETROVICK; 2010).

Na Figura 29D, é possível observar, que após a adição dos adjuvantes os valores de pH apresentaram diferenças significativas entre si. A variação dos valores pode ser explicada pela estrutura química destes compostos: o manitol, que apresentou pH de 2,12, é uma molécula pequena com seis grupamentos hidroxila (-OH) (Figura 20) e solúvel em água e no extrato; a maltodextrina 10DE (pH = 2,22), a celulose microcristalina (pH = 2,25) e o amido de milho (pH = 2,18) possuem cadeia carbônica extensa, sendo formados por unidades de açúcar (Figuras 21 a 23), destes somente a maltodextrina 10DE é solúvel em água à temperatura ambiente (ROWE, SHESKEY, QUINN, 2009). A diferença entre os valores de pH e a solubilidade destes compostos pode estar relacionada com a

posição dos grupamentos –OH.

Figura 29 – (A) Teor de sólidos, (B) densidade aparente, (C) viscosidade e (D) pH obtidos para os extratos após a adição do adjuvante.



As letras diferentes representam diferença estatística $p < 0,05$ entre as amostras (comparação múltipla) e os sinais * e # representam a diferença estatística $p < 0,05$ entre os métodos utilizados (teste t de Student), e os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão de triplicatas reais.

Fonte: o próprio autor.

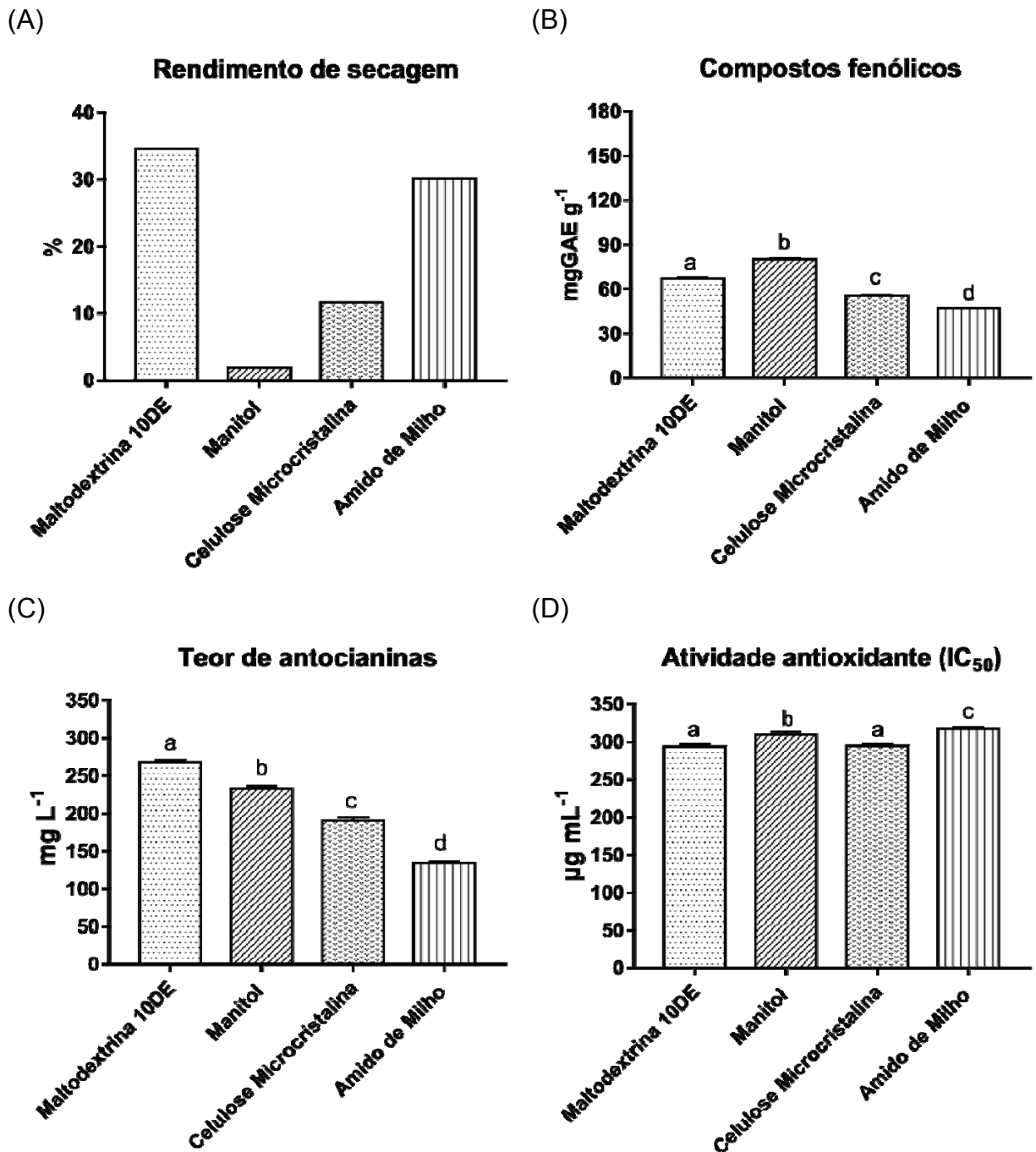
Os rendimentos de secagem (Figura 30A) estão relacionados ao peso molecular dos excipientes analisados. A celulose pode apresentar variação de peso molecular de 300.000 a 500.000 Da (LIMA NETO, PETROVICK, 1997), o amido que pode variar de 50.000 a 500.000 Da (ROWE, SHESKEY, QUINN, 2009), a maltodextrina possui peso molecular de 900-9.000 Da (ROWE, SHESKEY, QUINN, 2009) e o manitol possui $182,17 \text{ g mol}^{-1}$ (ROWE, SHESKEY, QUINN, 2009). Desta forma, a celulose seguida do amido deveriam possuir os maiores rendimentos de secagem, no entanto, como esses adjuvantes são insolúveis no extrato e decantam com facilidade, causam a obstrução do bico de aspersão e, conseqüentemente, perda de amostra. Portanto, os rendimentos de secagem encontrados foram 34,57; 30,13; 11,63; e 1,86% para a maltodextrina, o amido, a celulose e o manitol, respectivamente.

O teor de compostos fenólicos (Figura 30B) degradou com relação ao extrato concentrado em 47,88; 56,35; 63,87; 69,41% para os extratos contendo manitol, maltodextrina 10DE, celulose microcristalina e amido de milho, respectivamente. Alguns dos compostos fenólicos presentes no extrato apresentam termolábilidade (SOUZA et al., 2008; ANDREO, JORGE, 2006; BENNEMANN et al., 2018), sendo degradados quando utilizado o método de atomização em *spray dryer* (140 °C). Dos adjuvantes utilizados, o manitol foi o que apresentou menor degradação desses compostos.

Para o teor de antocianinas (Figura 30C) observou-se que o nível de degradação variou de acordo com o excipiente utilizado, sendo a menor perda dos compostos do extrato obtida para a maltodextrina 10DE (14,28%), seguida do manitol (25,40%), celulose microcristalina (38,96%) e, a maior degradação, observada para o amido de milho (57,11%). No entanto, mesmo com essas perdas, os pós obtidos mantiveram coloração intensa (Figura 31).

Houve redução da atividade antioxidante do extrato seco em relação ao extrato concentrado (Figura 30D), sendo a maltodextrina 10DE (13,41%) e a celulose microcristalina (13,80%) os adjuvantes que apresentaram menor perda desta atividade. O manitol perdeu 19,57%, seguido do amido de milho (22,70%).

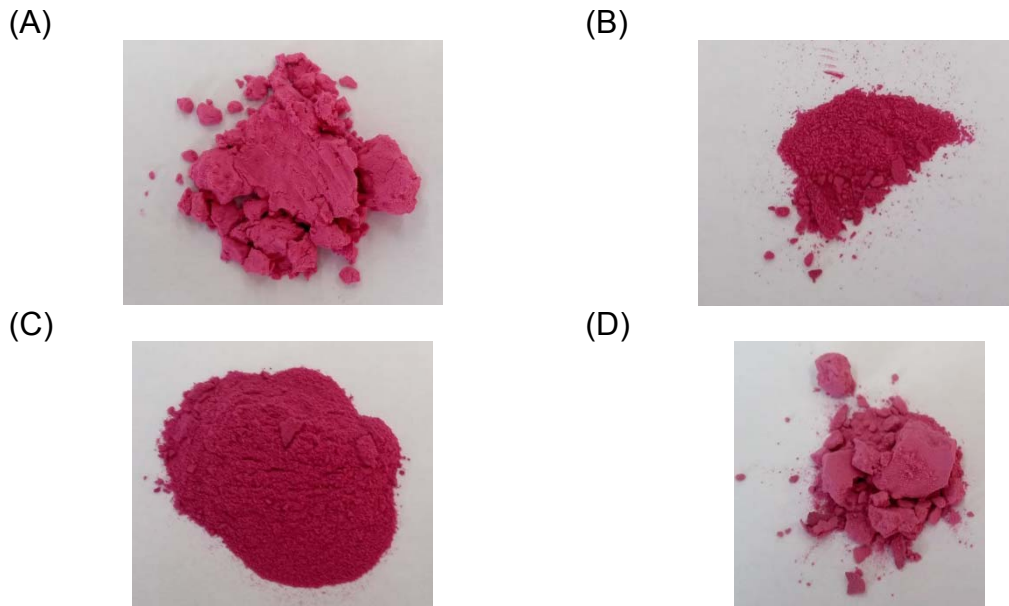
Figura 30 – (A) Rendimento de secagem, (B) teor de compostos fenólicos, (C) teor de antocianinas e (D) atividade antioxidante (IC_{50}) obtidos para os extratos após a secagem.



As letras diferentes representam diferença estatística $p < 0,05$, e os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão de triplicatas reais.

Fonte: o próprio autor.

Figura 31 – Extratos secos com (A) maltodextrina 10DE, (B) manitol, (C) celulose microcristalina e (D) amido de milho.

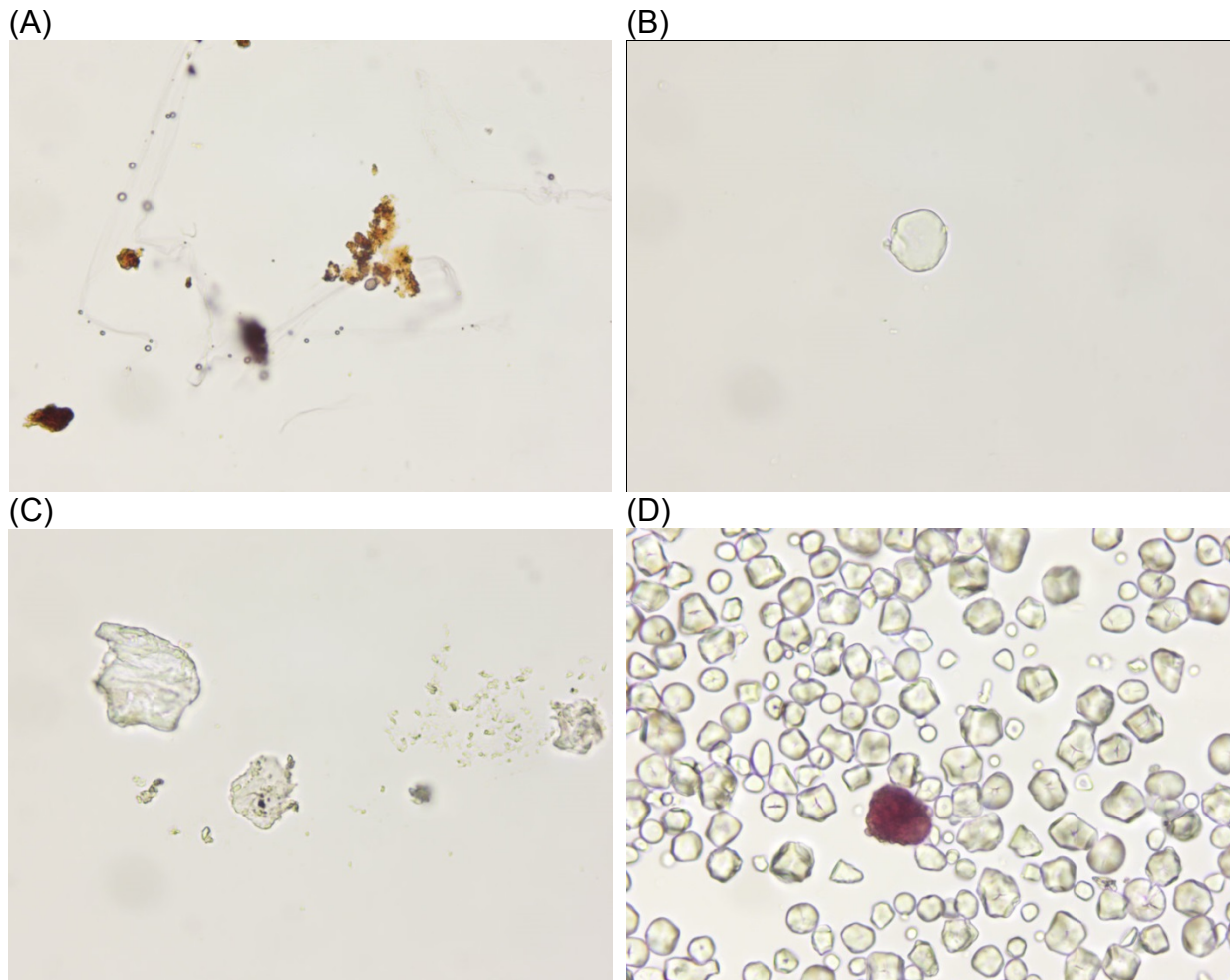


Fonte: o próprio autor.

Os teores de compostos fenólicos e de antocianinas e capacidade antioxidante (Figura 30) mostraram que o manitol e a maltodextrina 10DE apresentaram os melhores resultados como adjuvantes no processo de secagem, no entanto, como o rendimento de secagem do manitol foi muito baixo, a maltodextrina 10DE foi indicada como melhor agente carreador para a secagem do extrato obtido a partir da casca da uva.

Os resultados obtidos podem ser explicados pela morfologia dos extratos secos (Figura 32). A maltodextrina 10DE e o manitol microencapsulam o extrato, podendo auxiliar na proteção dos compostos bioativos; a celulose microcristalina forma uma micropartícula irregular; enquanto que o amido não forma micropartículas, permitindo que os compostos fiquem expostos a fatores adversos.

Figura 32 – Microscopia óptica dos extratos secos com (A) maltodextrina 10DE, (B) manitol, (C) celulose microcristalina e (D) amido de milho no aumento de 40x.



Fonte: o próprio autor.

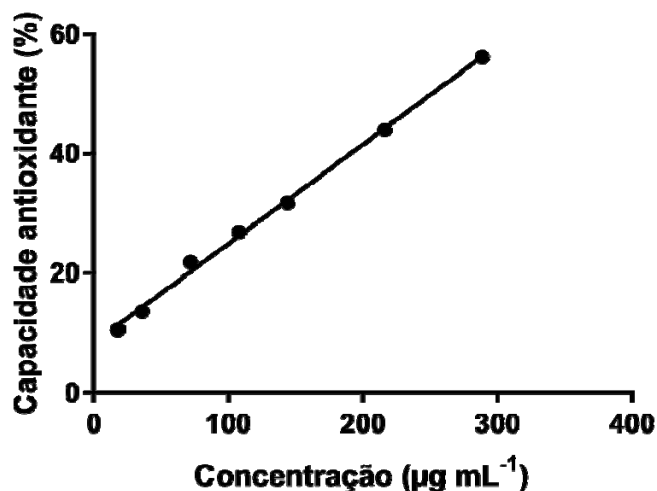
Fang e Bhandari (2011) avaliaram a estabilidade de antocianinas e compostos fenólicos totais do suco de *bayberry* seco por *spray dryer* utilizando maltodextrina como agente carreador, durante seis meses, em três temperaturas (5, 25 e 40 °C). Esses autores observaram que após o processo de secagem, 96% dos compostos fenólicos e 94% das antocianinas foram mantidas; o pó obtido foi armazenado em um ambiente com baixa atividade de água (0,11–0,44) e ao término de seis meses houve degradação de: 6–8% para compostos fenólicos e 7–27% para antocianinas, a 5°C; 6–9% para compostos fenólicos e 9–37% para antocianinas, a 25°C; e 7–37% para compostos fenólicos e 9–94% para antocianinas, a 40°C.

Vários trabalhos na literatura utilizam maltodextrina e goma arábica, associadas ou não, para secar extratos que possuem antocianinas provenientes de uva (KUCK, NOREÑA, 2016; SOUZA et al., 2014; SOUZA et al., 2015; VALDUGA et al., 2008), jabuticada (SILVA et al., 2010; SILVA et al., 2013), açaí (TONON,

BRABET, HUBINGER, 2008; TONON et al., 2009; TONON, BRABET, HUBINGER, 2010), juçara (BICUDO et al., 2015) e amora (DÍAZ et al., 2015; FERRARI et al., 2013), entre outras fontes destes compostos. Em virtude destes fatos, o trabalho buscou uma alternativa para maior proteção das substâncias bioativas e para aumentar o rendimento no processo de secagem. Desta maneira, propôs-se revestir o extrato da casca da uva e o extrato com maltodextrina 10DE incorporada, com os polímeros de caseína/pectina, obtendo as MC denominadas MC extrato e MC extrato + maltodextrina, respectivamente.

Para realizar a quantificação das MC utilizou-se a equação da reta da curva analítica (Figura 33) obtida nas concentrações de 289,00 à 18,05 $\mu\text{g mL}^{-1}$, conforme item 4.12. Os resultados (Tabela 11) mostraram degradação dos compostos bioativos da casca da uva para as duas MC sendo maior para a MC extrato + maltodextrina (72,69%) do que para a MC extrato (90,69%).

Figura 33 – Curva analítica porcentagem de ação antioxidante por $\mu\text{g mL}^{-1}$ de extrato.



Fonte: o próprio autor.

A EE (Tabela 11) apresentou valores altos para as MC extrato e MC extrato + maltodextrina, principalmente por se tratar de microencapsulação pelo método de coacervação complexa de compostos altamente hidrossolúveis. Essa técnica de microencapsulação utiliza soluções poliméricas aquosas e, por isso, é comum que o princípio ativo hidrossolúvel permaneça em solução e não seja microencapsulado (LAKKIS, 2007; YAN, 2016).

Tabela 11 – Eficiência de encapsulação e quantificação das MC extrato e MC extrato + maltodextrina.*

	MC extrato	MC extrato + maltodextrina
Quantificação (%)	90,69±1,20	72,69±1,69
EE (%)	73,08±0,09	68,50±0,35

*Resultados expressos como média ± desvio padrão de triplicatas reais.

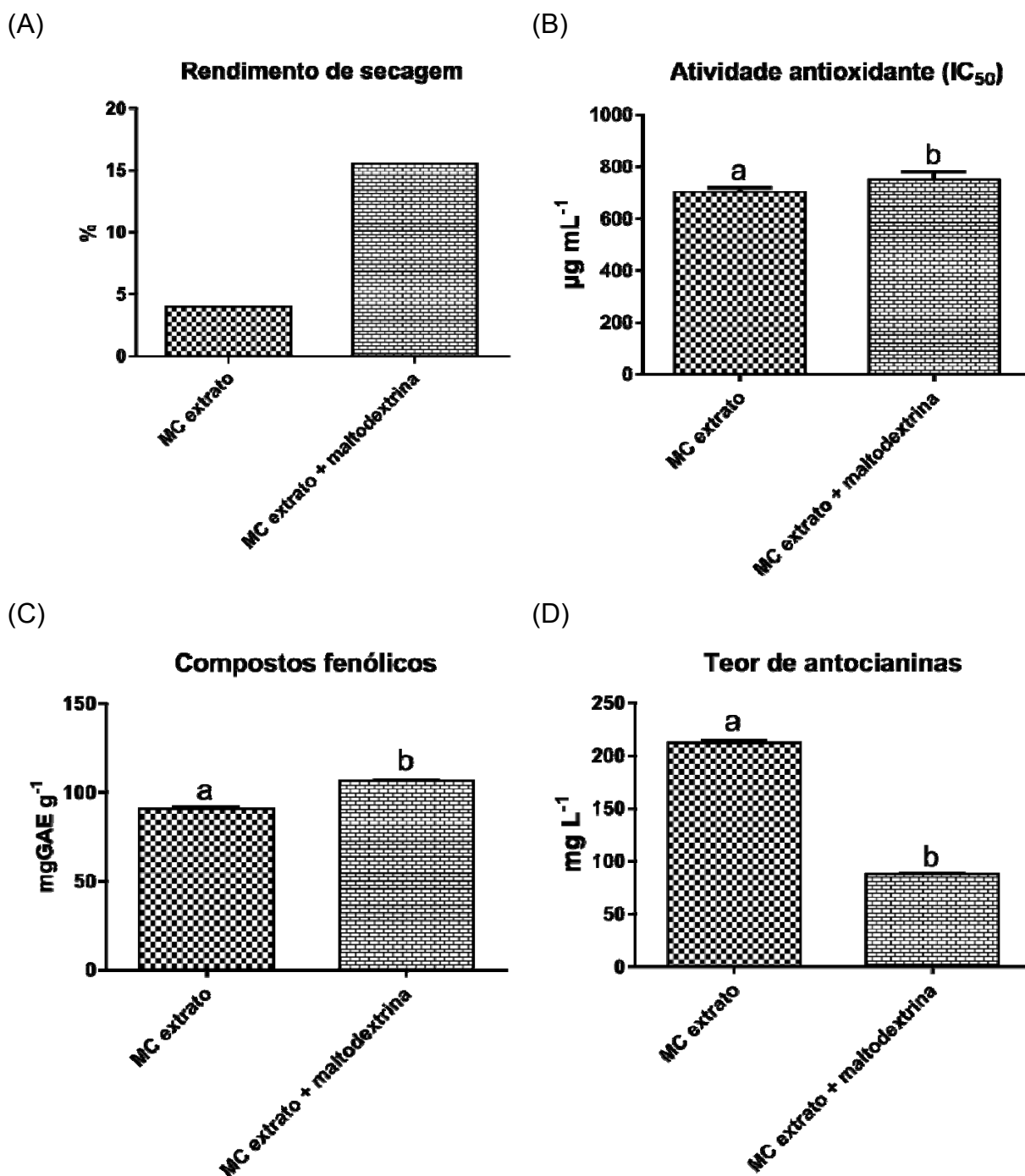
Fonte: o próprio autor.

Na Figura 34A observa-se que a maltodextrina presente na MC extrato + maltodextrina não perdeu a função de adjuvante, apresentando um rendimento de secagem de 15,50% superior ao obtido para a MC extrato (3,98%).

Os resultados de atividade antioxidante (Figura 34B) foram de 701,783 e 737,937 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para as MC extrato e MC extrato + maltodextrina, respectivamente, esses valores são elevados quando comparados com o IC_{50} do extrato concentrado (258,626 $\mu\text{g mL}^{-1}$). Como as microcápsulas são sistemas de liberação prolongada, acredita-se que isso ocorreu por causa do curto tempo de extração dos compostos. Deste modo, após estes resultados o tempo do processo de extração foi alterado para 24 horas.

Os resultados do teor de compostos fenólicos (Figura 34C) mostraram degradação em relação ao extrato concentrado de 41,13 e 30,95% para as MC extrato e MC extrato + maltodextrina, respectivamente. Quanto ao teor de antocianinas (Figura 34D), observou-se degradação em relação ao extrato concentrado de 32,05 e 71,74% para as MC extrato e MC extrato + maltodextrina, respectivamente. A diferença no teor de antocianinas das MC é percebida pela coloração dos pós obtidos (Figura 35).

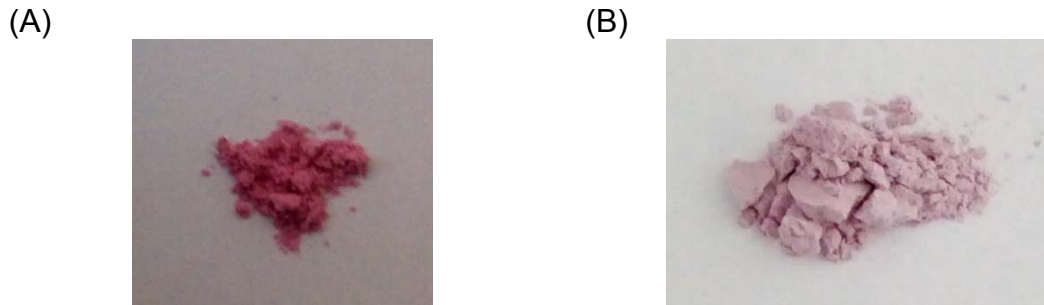
Figura 34 – (A) Rendimento de secagem, (B) atividade antioxidante (IC_{50}), (C) teor de compostos fenólicos e (D) teor de antocianinas obtidos para as MC após a secagem.



As letras diferentes representam diferença estatística $p < 0,05$, e os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão de triplicatas reais.

Fonte: o próprio autor.

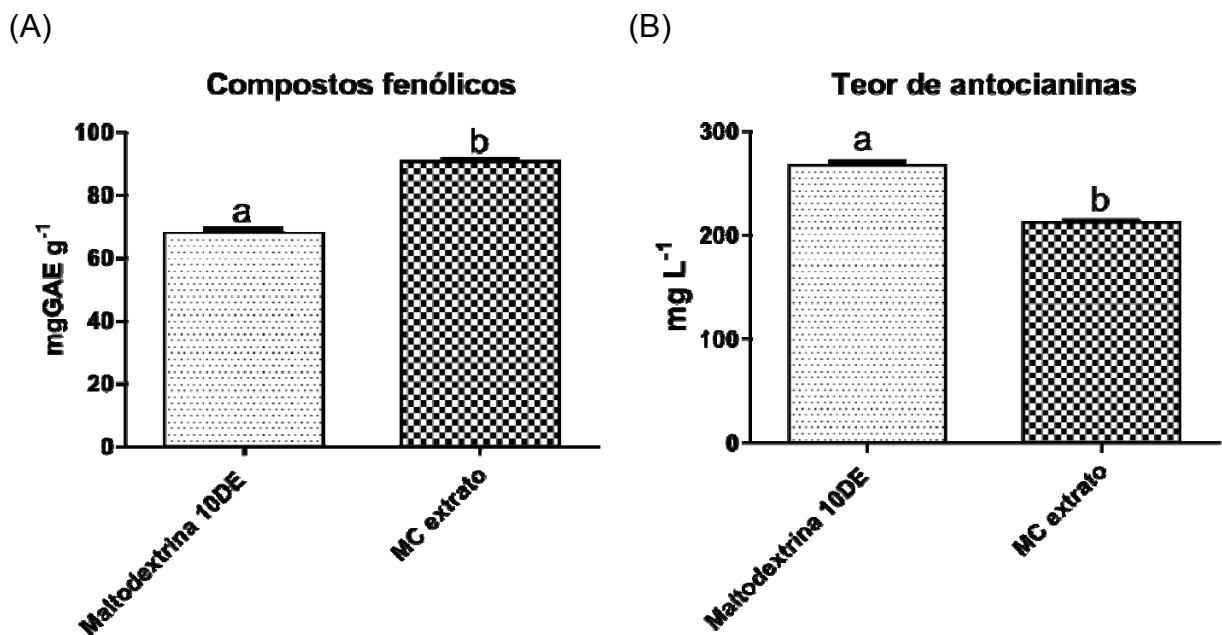
Figura 35 – (A) MC extrato e (B) MC extrato + maltodextrina.



Fonte: o próprio autor.

Com base nos resultados da Tabela 11 e da Figura 34, observa-se que a MC extrato apresentou melhores resultados do que a MC extrato + maltodextrina. Constatou-se também que os resultados dos teores de compostos fenólicos e antocianinas obtidos para MC extrato foram próximos aos resultados do extrato seco com maltodextrina 10DE (Figura 36).

Figura 36 – (A) Teor de compostos fenólicos e (B) teor de antocianinas obtidos para o extrato com maltodextrina 10DE e MC extrato.



As letras diferentes representam diferença estatística $p < 0,05$, e os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão de triplicatas reais.

Fonte: o próprio autor.

Os resultados obtidos indicaram a maltodextrina 10DE como o melhor adjuvante para secagem do extrato da uva, no entanto, observou-se um antagonismo entre esse agente carreador e o conjugado pectina/caseína. Esse

conjugado se mostrou promissor na proteção dos compostos bioativos presentes na casca da uva.

Com base em todos os resultados, escolheu-se a microcápsula de caseína/pectina/extrato como formulação para a execução do planejamento experimental.

5.5 ANÁLISES DOS MÉTODOS DE SECAGEM PARA A MICROCÁPSULA (MC) EXTRATO

Escolhida a formulação, comparou-se a MC extrato pelos dois métodos de secagem (atomização e liofilização) e os resultados mostraram que mesmo apresentando alta eficiência de encapsulação (Tabela 12), a liofilização degrada mais os compostos bioativos do que o *spray dryer*, apresentando resultados de quantificação de 85,30 e 90,69%, respectivamente.

Tabela 12 – Eficiência de encapsulação e quantificação das MC *spray dryer* e MC liofilizada.*

	MC <i>spray dryer</i>	MC liofilizada
EE (%)	73,08±0,09	84,36±0,29
Quantificação (%)	90,69±1,20	85,30±1,84

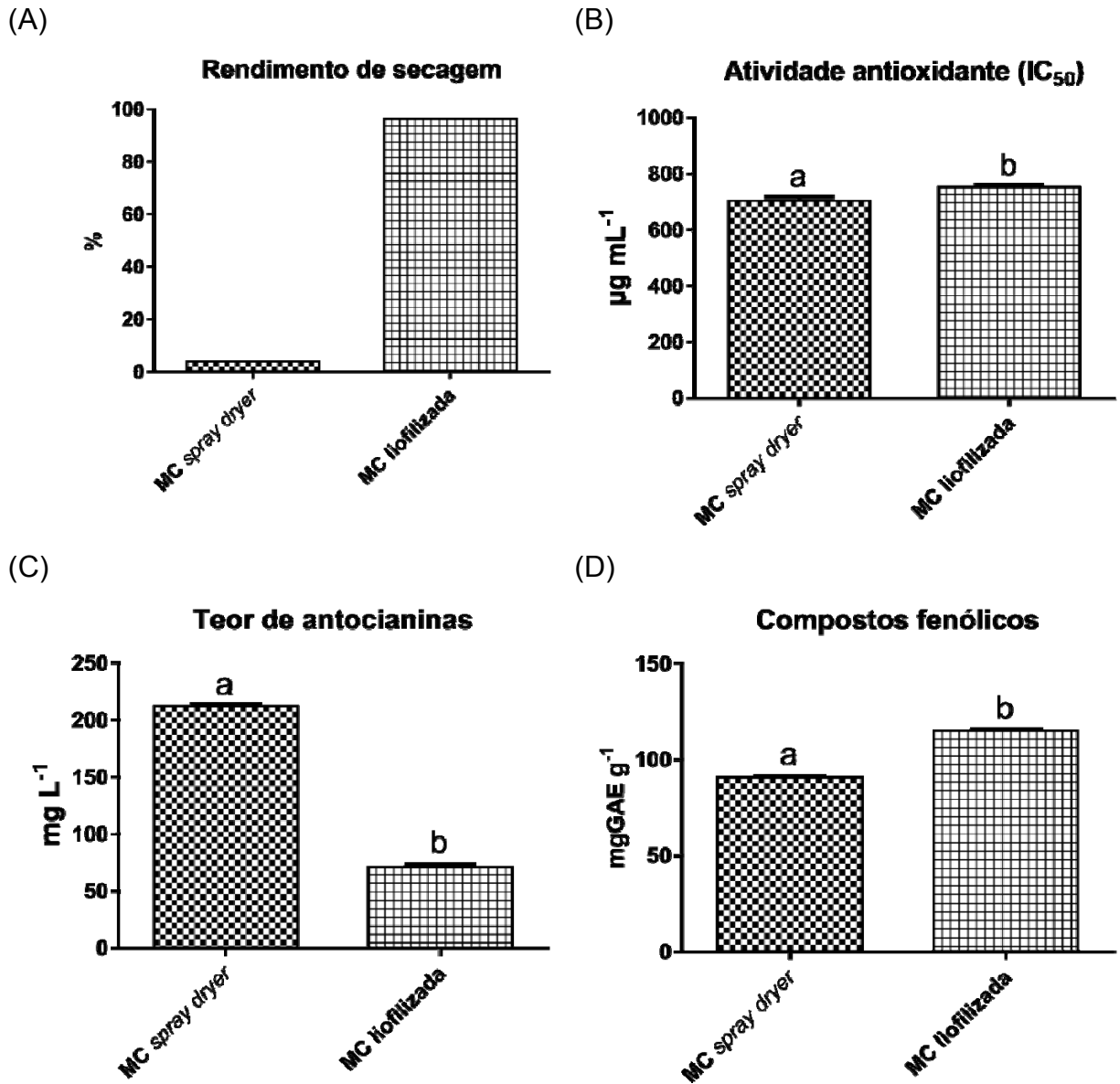
*Resultados expressos como média ± desvio padrão de triplicatas reais.

Fonte: o próprio autor.

Os resultados referentes ao rendimento de secagem (Figura 37A) são característicos dos métodos de secagem: na liofilização não há perda de amostra (96,27%) (MARQUES, COSTA, 2015) enquanto que no processo de *spray drying* há perda de amostra (3,98%), principalmente de materiais com alto teores de açúcares como o extrato da casca da uva (TONON, BRABET, HUBINGER, 2008; SOUZA, 2013). No entanto, mesmo não perdendo amostra, a técnica de liofilização é dispendiosa para a indústria por causa do alto consumo de energia necessária no processo de desidratação (MARQUES, COSTA, 2015).

A MC liofilizada apresentou IC₅₀ de 753,750 µg mL⁻¹, esse valor é maior do que o obtido para a MC seca por *spray dryer* (701,783 µg mL⁻¹), esses resultados indicam maior degradação dos compostos antioxidantes pelo método de liofilização (Figura 37B).

Figura 37 – (A) Rendimento de secagem, (B) atividade antioxidante (IC_{50}), (C) teor de antocianinas e (D) teor de compostos fenólicos obtidos para os processos de secagem.



As letras diferentes representam diferença estatística $p < 0,05$, e os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão de triplicatas reais.

Fonte: o próprio autor.

O teor de antocianinas foi mais baixo para a MC liofilizada ($71,31 \text{ mg L}^{-1}$) do que para a MC *spray dryer* ($212,23 \text{ mg L}^{-1}$), esses resultados mostram que o curto tempo que estes compostos são expostos à temperaturas elevadas no *spray dryer*, os degrada menos do que a liofilização, que utiliza temperaturas baixas, mas que expôs por 15 dias a MC à luz (Figura 37C).

Os compostos fenólicos presentes no extrato da casca de uva demonstraram ser mais estáveis que as antocianinas quanto expostos à luz pelo

período de 15 dias, apresentando maior quantidade destes compostos para a MC liofilizada (114,95 mgGAE g⁻¹), do que para a MC *spray dryer* (90,63 mgGAE g⁻¹) (Figura 37D).

Mediante os resultados obtidos e devido a técnica de *spray drying* ser mais viável para a indústria, executou-se o planejamento fatorial com o extrato microencapsulado.

5.6 CONDIÇÕES DE SECAGEM

A matriz do planejamento fatorial 3³ Box-Behnken e os resultados das variáveis dependentes: atividade antioxidante (IC₅₀), teor de compostos fenólicos (TF), teor de antocianinas (TA), rendimento de secagem (RS), eficiência de encapsulação (EE) e temperatura de saída (TS), são mostrados na Tabela 13.

Tabela 13 – Matriz do planejamento fatorial 3³ Box-Behnken com resultados das variáveis dependentes expressos como média de triplicatas reais.

Exp.	Variáveis independentes			Variáveis dependentes					
	E _F (mL min ⁻¹)	I _T (°C)	V _S (m ³ h ⁻¹)	IC ₅₀ (µg mL ⁻¹)	TF (mgGAE g ⁻¹)	TA (mg L ⁻¹)	RS (%)	EE (%)	TS (°C)
1	-1(10)	-1(120)	0(54)	560,3	118,2	151,6	18,8	71,7	75
2	+1(14)	-1(120)	0(54)	532,1	132,6	156,8	9,2	66,5	68
3	-1(10)	+1(160)	0(54)	626,5	128,2	147,9	14,2	68,2	98
4	+1(14)	+1(160)	0(54)	487,3	126,5	205,0	12,4	68,6	93
5	-1(10)	0(140)	-1(51)	417,3	116,5	208,3	15,3	73,7	82
6	+1(14)	0(140)	-1(51)	496,3	130,4	236,8	6,3	68,6	89
7	-1(10)	0(140)	+1(57)	514,1	118,0	242,9	7,5	71,8	88
8	+1(14)	0(140)	+1(57)	625,0	131,9	248,3	12,3	76,1	81
9	0(12)	-1(120)	-1(51)	672,0	122,6	171,5	17,0	70,5	69
10	0(12)	+1(160)	-1(51)	580,7	125,3	147,6	14,4	82,3	95
11	0(12)	-1(120)	+1(57)	519,1	133,1	167,9	10,6	83,2	74
12	0(12)	+1(160)	+1(57)	431,8	136,7	164,5	14,0	80,1	98
13	0(12)	0(140)	0(54)	422,9	106,8	175,5	5,4	62,8	90
14	0(12)	0(140)	0(54)	416,8	107,4	189,6	5,1	60,1	90
15	0(12)	0(140)	0(54)	472,3	112,1	183,4	3,5	63,1	90

E_F = vazão de alimentação; I_T = temperatura de entrada; V_S = vazão do ar de secagem; IC₅₀ = atividade antioxidante; TF = compostos fenólicos; TA = teor de antocianinas; RS = rendimento de secagem; EE = eficiência de encapsulação; TS = temperatura de saída.

*valores de IC₅₀

Fonte: o próprio autor.

Os resultados da atividade antioxidante mostraram que o processo

de secagem pelo *spray dryer* reduz a atividade antioxidante, e que os valores de IC₅₀ apresentaram variações, sendo o menor valor (416,769 µg mL⁻¹) obtido para o experimento 14 (12 mL min⁻¹, 140 °C e 54 m³ h⁻¹), no entanto, a repetição deste ponto (ponto central) apresentou valores de IC₅₀ um pouco mais elevados, deste modo o experimento 5 (10 mL min⁻¹, 140 °C e 51 m³ h⁻¹) foi considerado como o menor valor de IC₅₀ (417,312 µg mL⁻¹). A maior perda da atividade antioxidante (671,987 µg mL⁻¹) foi observada para o experimento 9 (12 mL min⁻¹, 120 °C e 51 m³ h⁻¹), esta perda é elevada quando comparada ao extrato concentrado que apresentava IC₅₀ de 258,626 µg mL⁻¹. Couto et al. (2012) observaram menores perdas de atividade antioxidante (1,68 a 41,30%) após o processo de *spray drying*, analisando extrato de alecrim.

Para o teor de compostos fenólicos totais, obteve-se 106,80 mgGAE g⁻¹ (menor valor) para o experimento 13 (12 mL min⁻¹, 140 °C e 54 m³ h⁻¹) e 136,68 mgGAE g⁻¹ (maior valor) para o experimento 12 (12 mL min⁻¹, 160 °C e 57 m³ h⁻¹) o que representa uma degradação de 11,22 a 30,63% destes compostos em comparação ao extrato concentrado (153,96 mgGAE g⁻¹). Estes resultados são próximos ao encontrado por Kuck e Noreña (2016), esses autores obtiveram valores de 4,70 a 18,60% de degradação de polifenóis quando secaram extrato de uva (*Vitis labrusca* var. Bordo) com diferentes adjuvantes. Como mostrado nos resultados anteriores, os compostos fenólicos degradam quando se utilizam processos térmicos, no entanto, esta degradação foi pequena quando comparada com Couto et al. (2012), que relataram a degradação de 42,50 a 57,30% dos compostos fenólicos presentes no extrato de alecrim.

O teor de antocianinas apresentou variação entre 147,65 e 248,30 mg L⁻¹, esses valores foram obtidos para os experimentos 10 (12 mL min⁻¹, 160 °C e 51 m³ h⁻¹) e 8 (14 mL min⁻¹, 140 °C e 57 m³ h⁻¹), respectivamente, e equivale a uma degradação de 20,50 a 52,72% destes compostos quando comparado com o extrato concentrado (312,32 mg L⁻¹). Tonon, Brabet e Hubinger (2008) obtiveram maior retenção destas substâncias utilizando maltodextrina como agente carreador na secagem de extrato de açaí, assim como Silva et al. (2013) que encontrou retenção de antocianinas de aproximadamente 80,00% para extrato de jabuticaba seco utilizando maltodextrina e misturas de adjuvantes (maltodextrina/goma arábica e maltodextrina/Capsul[®]).

O rendimento de secagem apresentou valores entre 3,49 e 18,82%,

obtidos para os experimentos 15 (12 mL min^{-1} , $140 \text{ }^\circ\text{C}$ e $54 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$) e 1 (10 mL min^{-1} , $120 \text{ }^\circ\text{C}$ e $54 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$), respectivamente, esses valores são baixos quando comparados com os encontrados por Tonon, Brabet e Hubinger (2008), estes autores encontraram valores entre 34,39 a 55,66% usando um equipamento de mesma marca e modelo que o utilizado neste trabalho, no entanto, esses autores utilizaram maltodextrina como adjuvante.

A eficiência de encapsulação apresentou resultados satisfatórios, sendo o menor valor (60,09%) obtido para o experimento 14 (12 mL min^{-1} , $140 \text{ }^\circ\text{C}$ e $54 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$) e o maior (83,22%) obtido para o experimento 11 (12 mL min^{-1} , $120 \text{ }^\circ\text{C}$ e $57 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$). Compostos hidrossolúveis normalmente apresentam EE baixa quando utilizado o método de coacervação complexa. Baracat et al. (2012) microencapsularam acetaminofeno e obtiveram valores de EE de 32,90 a 57,00%; e Guazelli (2017) obteve EE de 39,00 a 46,00% na microencapsulação de Hesperidina Metil Chalcona.

Esses resultados permitiram inferir que a melhor condição de secagem foi a que utilizou vazão de alimentação de 10 mL min^{-1} , temperatura de entrada de $140 \text{ }^\circ\text{C}$ e vazão do ar de secagem de $51 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$ (experimento número 5). Esta apresentou o melhor resultado de atividade antioxidante, valores intermediários para os teores de compostos fenólicos e antocianinas, o terceiro maior rendimento de secagem e eficiência de encapsulação intermediária quando comparada com os demais experimentos analisados.

5.6.1 Avaliação das Interações das Variáveis Estudadas

Foram realizadas as análises de ANOVA e análises de correlação com o intuito de estudar os complexos resultados apresentados na Tabela 13. A Tabela 14 apresenta um resumo dos principais fatores e suas significâncias.

A MSR possibilitou plotar equações das variáveis dependentes em função dos fatores que se mostraram significantes (Tabela 14). As superfícies de resposta e os gráficos de Pareto dos parâmetros estudados em função dos fatores significantes são mostrados nas Figuras 38 a 43.

Tabela 14 – Resumo dos resultados da MSR.

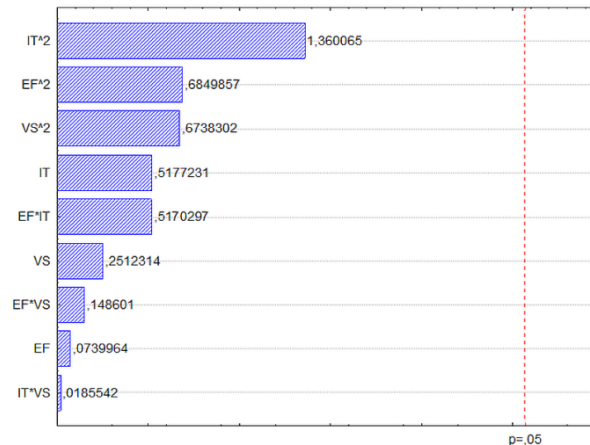
Fator	IC ₅₀	TF	TA	RS	EE	TS
Intercepto	437,32^c	11,21^a	0,019^c	4,66^c	62,00^c	90,00^c
EF	2,81	0,51	0,001	-1,94^a	-0,69	-1,50
EF ²	38,25	0,45	0,003^a	2,67^a	0,11	-2,75
IT	-19,64	0,13	0,0002	-0,08	0,91	12,25^c
IT ²	75,95	0,98^a	-0,005^b	6,32^c	6,62^b	-3,75^a
VS	-9,53	0,31	0,0008	-1,07	2,01^a	0,75
VS ²	37,63	0,76	0,003^a	3,01^a	10,42^c	-2,25
EF x IT	-27,74	-0,40	0,001	1,98	1,40	0,50
EF x VS	7,97	-0,0005	-0,0006	3,47^b	2,35	-3,50^a
IT x VS	0,99	0,02	0,0005	1,52	-3,71^a	-0,50
Modelo*	0,92	0,02^a	0,01^b	0,01^b	0,004^c	0,0013^c
R ²	0,38	0,81	0,94	0,96	0,97	0,9819
Falta de ajuste*	0,05^a	0,81	0,16	0,24	0,33	1,00

E_F = vazão de alimentação; I_T = temperatura de entrada; V_S = vazão do ar de secagem; IC₅₀ = atividade antioxidante; TF = compostos fenólicos; TA = teor de antocianinas; RS = rendimento de secagem; EE = eficiência de encapsulação; TS = temperatura de saída.

* valor de p; valores em negrito são significantes a ^a5%, ^b1% e ^c0,1%.

Fonte: o próprio autor.

Nenhum dos fatores estudados exerceu efeitos significantes sobre atividade antioxidante (IC₅₀) (Figura 38 e Tabela 14).

Figura 38 – Gráfico de Pareto para a atividade antioxidante.

E_F = vazão de alimentação; I_T = temperatura de entrada; V_S = vazão do ar de secagem; E_F² = termo quadrático da vazão de alimentação; I_T² = termo quadrático da temperatura de entrada; V_S² = termo quadrático da vazão do ar de secagem; E_F*I_T = interação da vazão de alimentação com a temperatura de entrada; E_F*V_S = interação da vazão de alimentação com a vazão do ar de secagem; I_T*V_S = interação da temperatura de entrada com a vazão do ar de secagem.

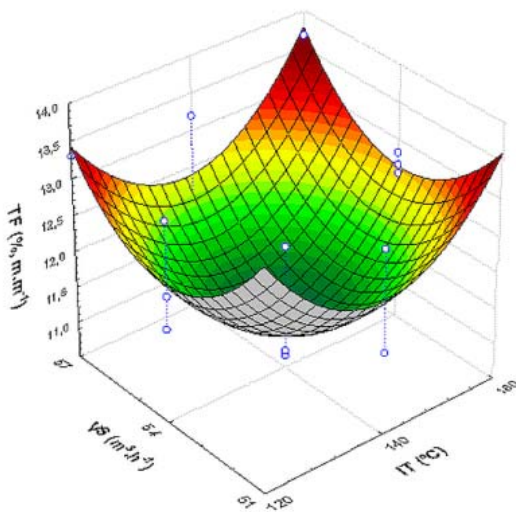
Fonte: o próprio autor.

O teor de compostos fenólicos (Figura 39) dependeu de I_T^2 , com 5% de significância (Tabela 14), apresentando efeito significativo positivo. A Equação (7) plotada ($R^2 = 0,81$), é dada por:

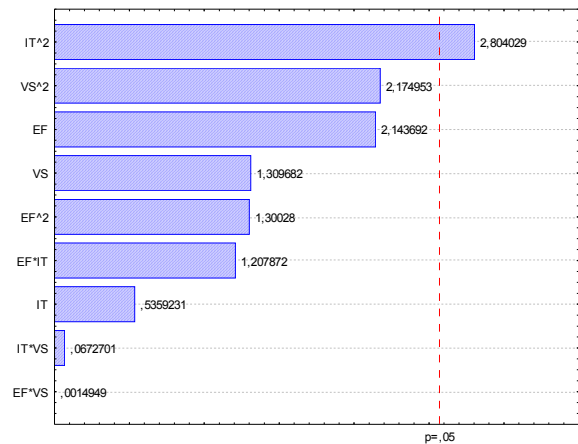
$$TF (\%, m. m^{-1}) = 11,21 + 0,98 \left(\frac{I_T^2 - 140}{20} \right) + 0,76 \left(\frac{V_S^2 - 54}{3} \right) \quad (7)$$

Figura 39 – Superfície de resposta do teor de compostos fenólicos em função da: (A) temperatura de entrada e vazão do ar de secagem; e (B) gráfico de Pareto para o teor de compostos fenólicos.

(A)



(B)



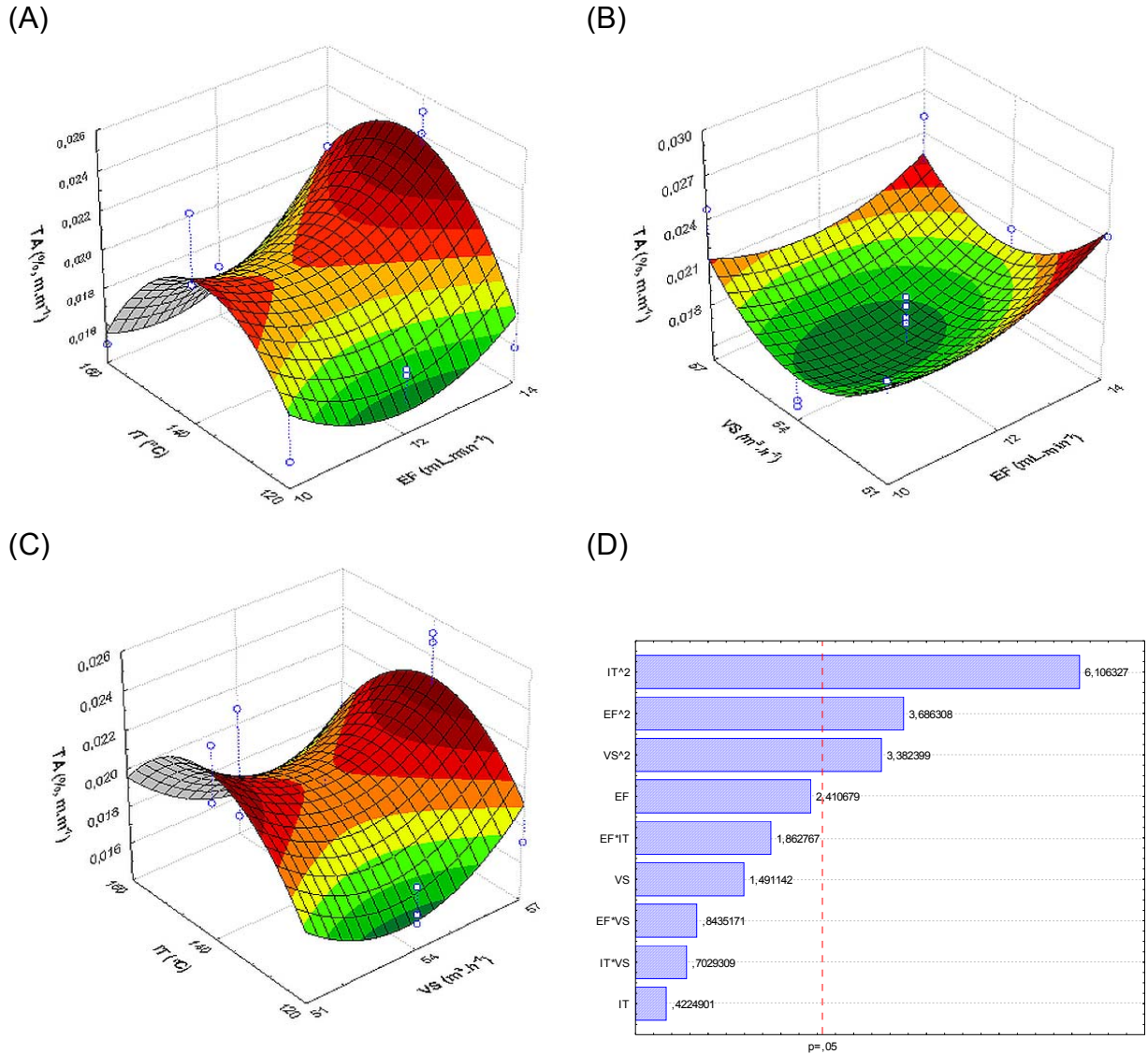
E_F = vazão de alimentação; I_T = temperatura de entrada; V_S = vazão do ar de secagem; E_F^2 = termo quadrático da vazão de alimentação; I_T^2 = termo quadrático da temperatura de entrada; V_S^2 = termo quadrático da vazão do ar de secagem; $E_F * I_T$ = interação da vazão de alimentação com a temperatura de entrada; $E_F * V_S$ = interação da vazão de alimentação com a vazão do ar de secagem; $I_T * V_S$ = interação da temperatura de entrada com a vazão do ar de secagem.

Fonte: o próprio autor.

Para o teor de antocianinas (Figura 40), observa-se que E_F^2 e V_S^2 exerceram efeito positivo, ambos com 5% de significância (Tabela 14). O teor de antocianinas também dependeu de I_T^2 a 1% (Tabela 14). A Equação (8) plotada ($R^2 = 0,94$), é dada por:

$$TA (\%, m. m^{-1}) = 0,019 + 0,003 \left(\frac{E_F^2 - 12}{2} \right) - 0,005 \left(\frac{I_T^2 - 140}{20} \right) + 0,003 \left(\frac{V_S^2 - 54}{3} \right) \quad (8)$$

Figura 40 – Superfície de resposta do teor de antocianinas em função da: (A) vazão de alimentação e temperatura de entrada; (B) vazão de alimentação e vazão do ar de secagem; (C) vazão do ar de secagem e temperatura de entrada; e (D) gráfico de Pareto para o teor de antocianinas.

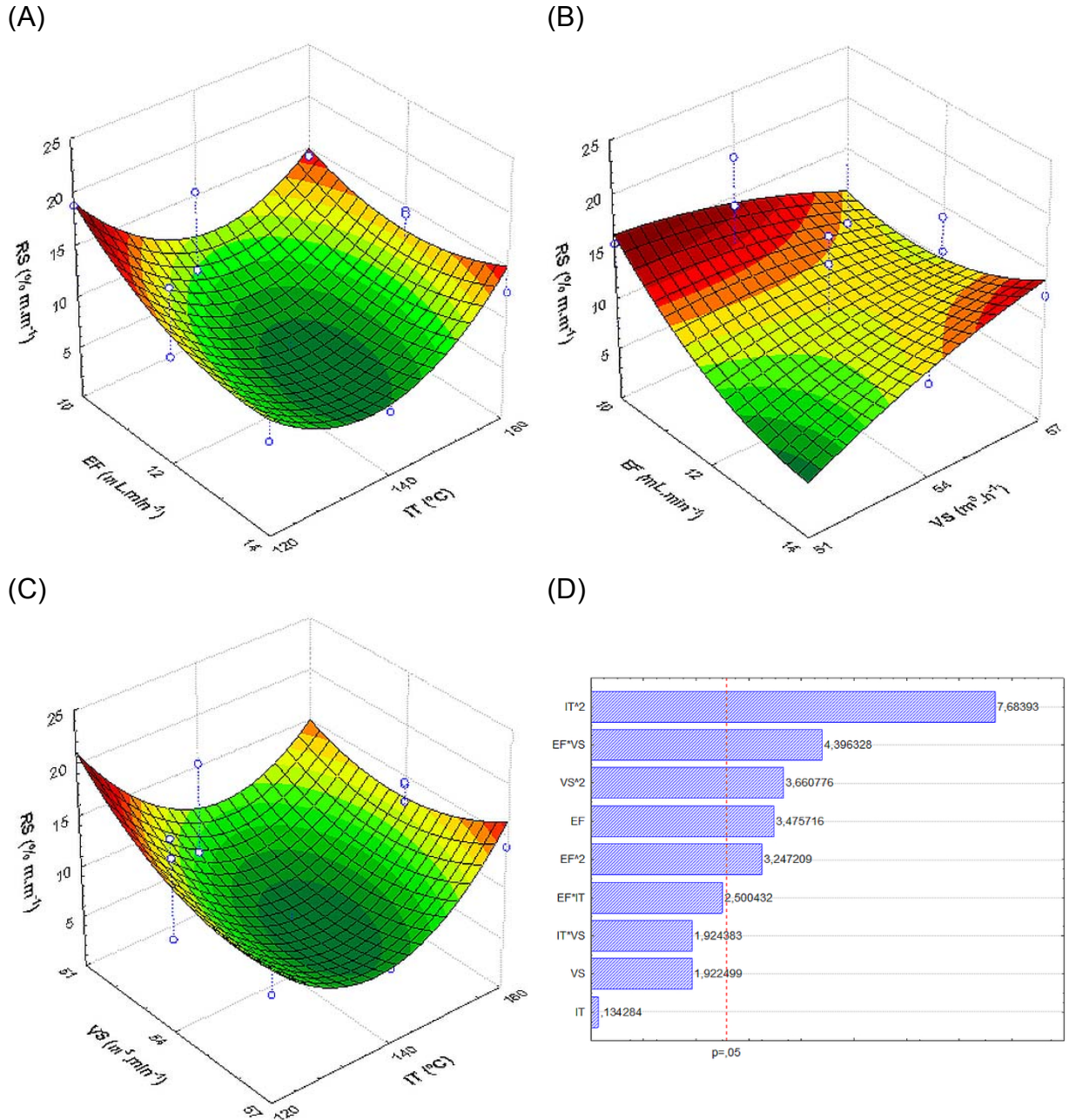


E_F = vazão de alimentação; I_T = temperatura de entrada; V_S = vazão do ar de secagem; E_F^2 = termo quadrático da vazão de alimentação; I_T^2 = termo quadrático da temperatura de entrada; V_S^2 = termo quadrático da vazão do ar de secagem; $E_F \cdot I_T$ = interação da vazão de alimentação com a temperatura de entrada; $E_F \cdot V_S$ = interação da vazão de alimentação com a vazão do ar de secagem; $I_T \cdot V_S$ = interação da temperatura de entrada com a vazão do ar de secagem.

Fonte: o próprio autor.

As superfícies de resposta e o gráfico de Pareto para o rendimento de secagem (Figura 41), mostram que E_F , I_T e V_S exerceram efeitos não-lineares, confirmados pela ANOVA (Tabela 14), a qual demonstrou nível de significância de 5% para E_F , E_F^2 e V_S^2 , e 0,1% para I_T^2 .

Figura 41 – Superfície de resposta do rendimento de secagem em função da: (A) temperatura de entrada e vazão de alimentação; (B) vazão do ar de secagem e vazão de alimentação; (C) temperatura de entrada e vazão do ar de secagem; e (D) gráfico de Pareto para o rendimento de secagem.



E_F = vazão de alimentação; I_T = temperatura de entrada; V_S = vazão do ar de secagem; E_F^2 = termo quadrático da vazão de alimentação; I_T^2 = termo quadrático da temperatura de entrada; V_S^2 = termo quadrático da vazão do ar de secagem; $E_F \cdot I_T$ = interação da vazão de alimentação com a temperatura de entrada; $E_F \cdot V_S$ = interação da vazão de alimentação com a vazão do ar de secagem; $I_T \cdot V_S$ = interação da temperatura de entrada com a vazão do ar de secagem.

Fonte: o próprio autor.

A vazão de alimentação apresentou efeito negativo, indicando que quando se aumenta E_F , diminui-se o rendimento de secagem. A ANOVA ainda

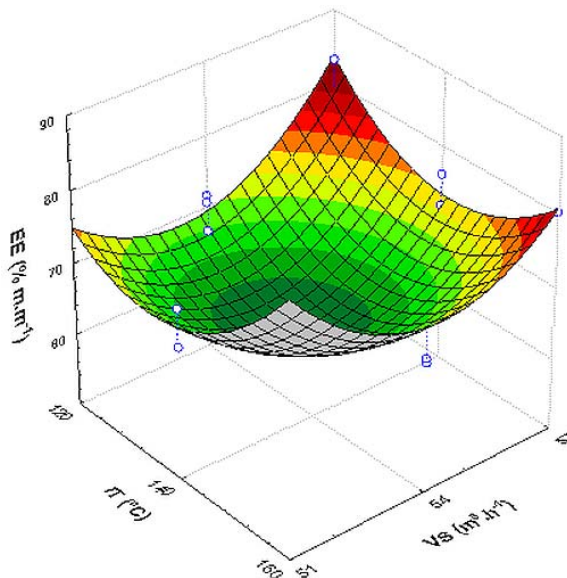
mostrou um efeito interativo entre E_F e V_S com nível de significância de 1%, que pode ser observado na Figura 41B. A Equação (9) do modelo empírico ($R^2 = 0,96$) é dada por:

$$RS (\% \text{ m. m}^{-2}) = 4,66 - 1,94 \left(\frac{EF-12}{2} \right) + 2,67 \left(\frac{EF-12}{2} \right)^2 + 6,32 \left(\frac{IT-140}{20} \right) + 3,01 \left(\frac{VS-84}{8} \right) + 3,47 \left(\frac{EF-12}{2} \right) \left(\frac{VS-84}{8} \right) \quad (9)$$

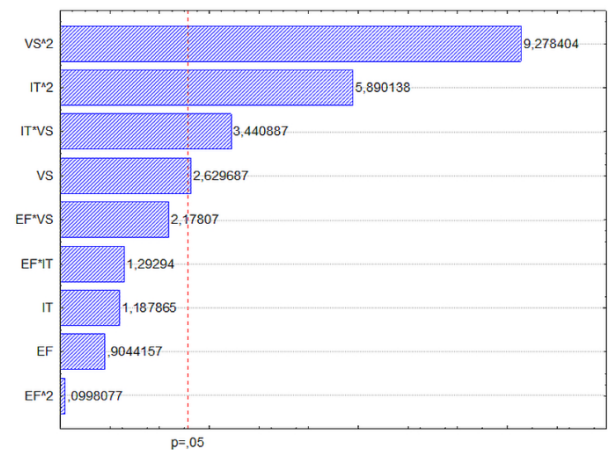
A superfície de resposta da eficiência de encapsulação, em função de V_S e I_T é mostrada na Figura 42A.

Figura 42 – Superfície de resposta da eficiência de encapsulação em função da: (A) vazão do ar de secagem e temperatura de entrada; e (B) gráfico de Pareto para a eficiência de encapsulação.

(A)



(B)



E_F = vazão de alimentação; I_T = temperatura de entrada; V_S = vazão do ar de secagem; E_F^2 = termo quadrático da vazão de alimentação; I_T^2 = termo quadrático da temperatura de entrada; V_S^2 = termo quadrático da vazão do ar de secagem; $E_F * I_T$ = interação da vazão de alimentação com a temperatura de entrada; $E_F * V_S$ = interação da vazão de alimentação com a vazão do ar de secagem; $I_T * V_S$ = interação da temperatura de entrada com a vazão do ar de secagem.

Fonte: o próprio autor.

O gráfico de Pareto (Figura 42B) mostra que V_S , V_S^2 , I_T^2 e a interação $I_T * V_S$ apresentaram efeitos significativos na eficiência de encapsulação; esses efeitos foram positivos para V_S , V_S^2 , I_T^2 , com nível de significância de 5, 0,1 e 1%, respectivamente (Tabela 14). O efeito positivo de V_S indica que quando se aumenta a vazão do ar de secagem, aumenta-se a eficiência de encapsulação. A

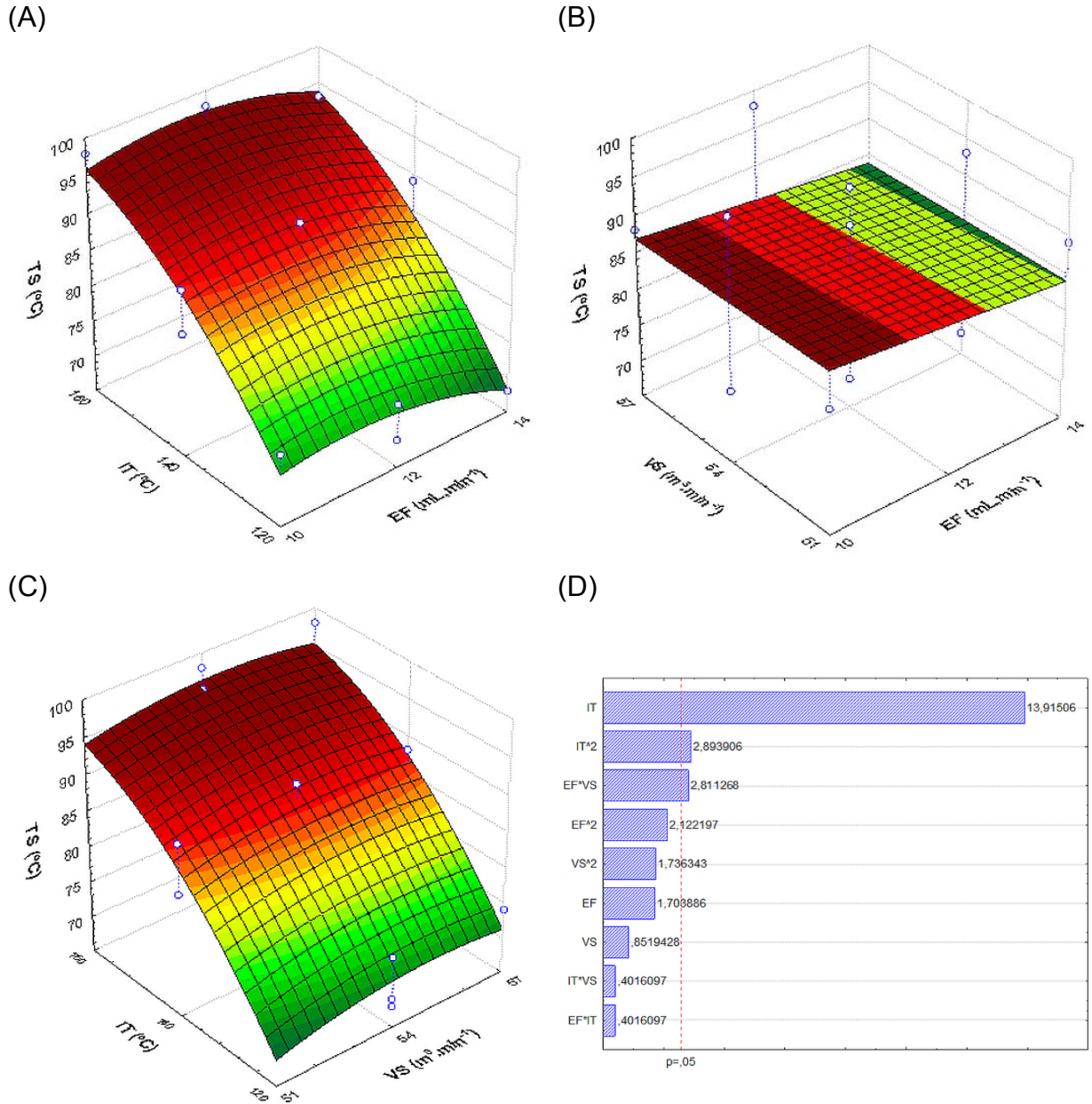
interação $I_T \cdot V_S$, por sua vez, demonstrou correlação negativa com significância de 5% (Tabela 14). A Equação (10) plotada ($R^2 = 0,97$), é dada por:

$$EE (\%, \text{m. m}^{-1}) = 62,00 + 6,62 \left(\frac{IT^2 - 140^2}{20} \right) + 2,01 \left(\frac{VS - 84}{3} \right) + 10,42 \left(\frac{VS^2 - 84^2}{3} \right) - 3,71 \left(\frac{IT - 140}{20} \right) \left(\frac{VS - 84}{3} \right) \quad (10)$$

A Figura 43 mostra as superfícies de resposta da temperatura de saída em função de E_F , I_T e V_S e o gráfico de Pareto (Figura 43D), que indica que I_T , I_T^2 e a interação $E_F \cdot V_S$ foram significativas para a temperatura de saída. A ANOVA (Tabela 14) demonstra que I_T exerce efeito positivo a 0,1%, enquanto que I_T^2 e a interação $E_F \cdot V_S$ apresentaram efeito negativo, com significância de 5%. A Equação (11) do modelo empírico ($R^2 = 0,98$) é dada por:

$$TS (^\circ\text{C}) = 90,00 + 12,25 \left(\frac{IT - 140}{20} \right) - 3,75 \left(\frac{IT^2 - 140^2}{20} \right) - 3,50 \left(\frac{EF - 12}{2} \right) \left(\frac{VS - 84}{3} \right) \quad (11)$$

Figura 43 – Superfície de resposta da temperatura de saída em função da: (A) vazão de alimentação e temperatura de entrada; (B) vazão de alimentação e vazão do ar de secagem; (C) vazão do ar de secagem e temperatura de entrada; e (D) gráfico de Pareto para a temperatura de saída.



E_F = vazão de alimentação; I_T = temperatura de entrada; V_S = vazão do ar de secagem; E_F^2 = termo quadrático da vazão de alimentação; I_T^2 = termo quadrático da temperatura de entrada; V_S^2 = termo quadrático da vazão do ar de secagem; $E_F \cdot I_T$ = interação da vazão de alimentação com a temperatura de entrada; $E_F \cdot V_S$ = interação da vazão de alimentação com a vazão do ar de secagem; $I_T \cdot V_S$ = interação da temperatura de entrada com a vazão do ar de secagem.

Fonte: o próprio autor.

Com o intuito de facilitar a interpretação da relação entre os fatores estudados, construiu-se uma matriz de correlação entre as variáveis dependentes (Tabela 15).

Tabela 15 – Matriz de correlação entre as variáveis dependentes.

	IC ₅₀	TF	TA	RS	EE	TS
IC ₅₀	1,00	0,38	-0,14	0,52	0,27	-0,34
TF	0,38	1,00	-0,05	0,27	0,59	-0,037
TA	-0,14	-0,05	1,00	-0,36	-0,09	0,06
RS	0,52	0,27	-0,35	1,00	0,55	-0,24
EE	0,27	0,59	-0,09	0,55	1,00	-0,05
TS	-0,34	-0,07	0,06	-0,24	-0,05	1,00

IC₅₀ = atividade antioxidante; TF = compostos fenólicos; TA = teor de antocianinas; RS = rendimento de secagem; EE = eficiência de encapsulação; TS = temperatura de saída. Interações de maior relevância são destacadas em negrito.

Fonte: o próprio autor.

O coeficientes de correlação entre IC₅₀ e TF e TA foram 0,38 e -0,14, respectivamente. A correlação pequena do IC₅₀ com esses fatores demonstram que pode haver um sinergismo, em relação à capacidade antioxidante, entre os compostos bioativos presentes na casca da uva, de modo que essa capacidade antioxidante não depende exclusivamente dos teores de polifenóis e antocianinas. Ainda para a atividade antioxidante, verificou-se uma correlação entre IC₅₀ e RS de 0,52.

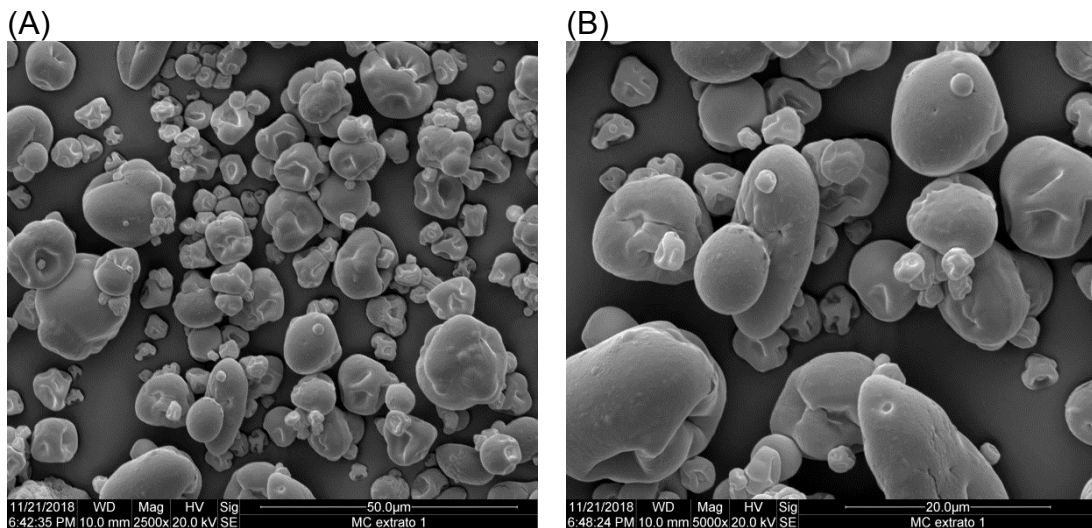
A EE apresentou coeficientes de correlação de 0,59 e 0,55 com o TF e o RS, respectivamente, demonstrando que quando a eficiência de encapsulação aumenta, aumenta o teor de compostos fenólicos e o rendimento de secagem por *spray dryer*. Por fim, a umidade relativa e a temperatura ambiente (parâmetros de monitoramento) não influenciaram significativamente na qualidade do produto obtido (dados não mostrados). Nenhuma outra correlação significativa foi observada.

5.7 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)

Foram obtidas micropartículas esféricas e de tamanhos variados, típicas de secagem por *spray dryer* (TONON, BRABET E HUBINGER, 2008) para as MC extrato (nas quatro condições) (Figuras 44 a 47) e MC inerte (Figura 48). Observa-se nas Figuras 44 a 47, que não houve correlação entre a vazão do ar de secagem e a morfologia, no entanto, a vazão de alimentação e temperatura de

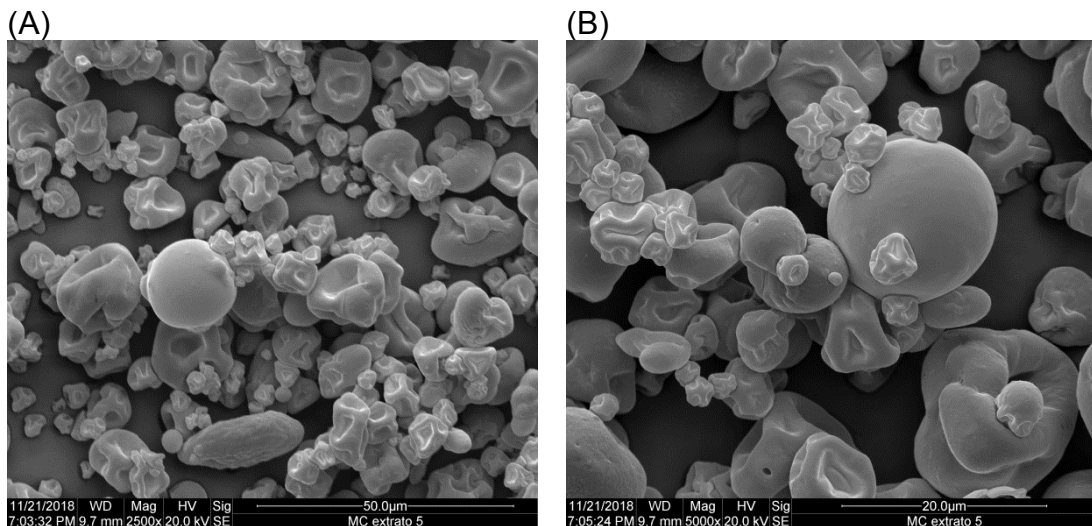
entrada interferiram na morfologia: quando utilizadas os níveis baixos (-1) ou intermediários (0) destas variáveis (condições 1, 5 e 14), as MC apresentaram parede lisa com algumas depressões na superfície (Figuras 44 a 46). No entanto, quando utilizados os níveis altos (+1) (condição 4) a rugosidade da parede polimérica aumentou (Figura 47).

Figura 44 – Fotomicrografias por MEV da MC extrato obtida por meio do experimento 1 do planejamento fatorial, nos aumentos de (A) 2500x e (B) 5000x.



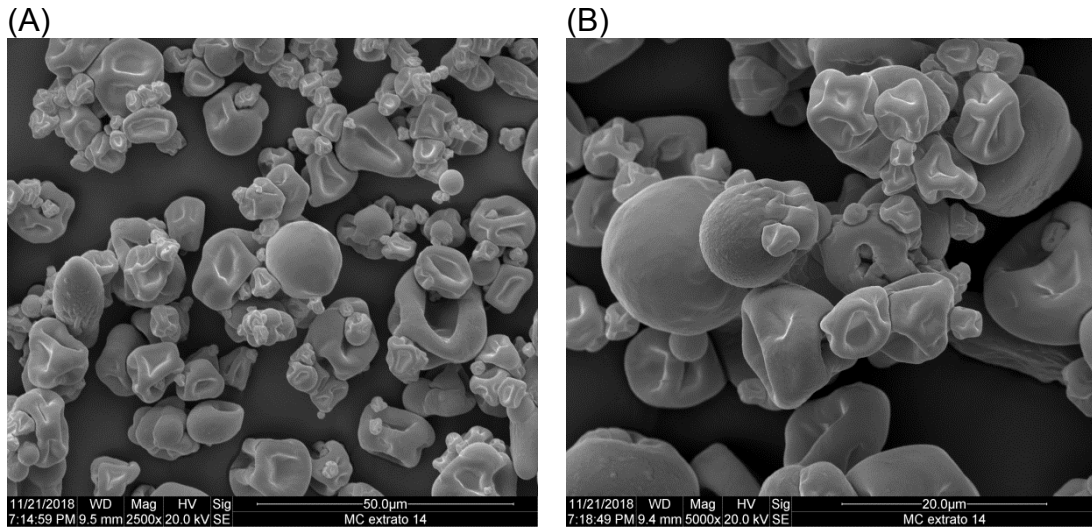
Fonte: o próprio autor.

Figura 45 – Fotomicrografias por MEV da MC extrato obtida por meio do experimento 5 do planejamento fatorial, nos aumentos de (A) 2500x e (B) 5000x.



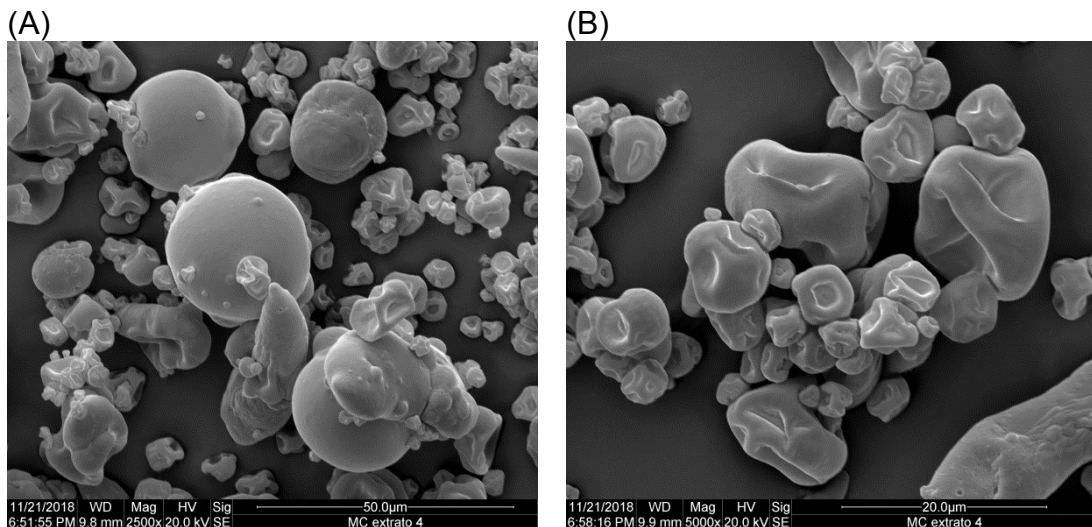
Fonte: o próprio autor.

Figura 46 – Fotomicrografias por MEV da MC extrato obtida por meio do experimento 14 do planejamento fatorial, nos aumentos de (A) 2500x e (B) 5000x.



Fonte: o próprio autor.

Figura 47 – Fotomicrografias por MEV da MC extrato obtida por meio do experimento 4 do planejamento fatorial, nos aumentos de (A) 2500x e (B) 5000x.



Fonte: o próprio autor.

Kurozawa et al. (2009) avaliaram como a vazão de alimentação influencia na morfologia de micropartículas de maltodextrina, e verificaram que o aumento da vazão de alimentação gera mais depressões na superfície das partículas. Estes autores explicaram que quanto menor for a vazão, mais rápida é a evaporação da água, devido ao material ficar mais tempo em contato com o ar de secagem, o que gera micropartículas com a superfície lisa.

Alamilla-Beltrán et al. (2005), Tonon, Brabet e Hubinger (2008) e Tonon, Freitas e Hubinger (2011) utilizaram maltodextrina como material de parede e

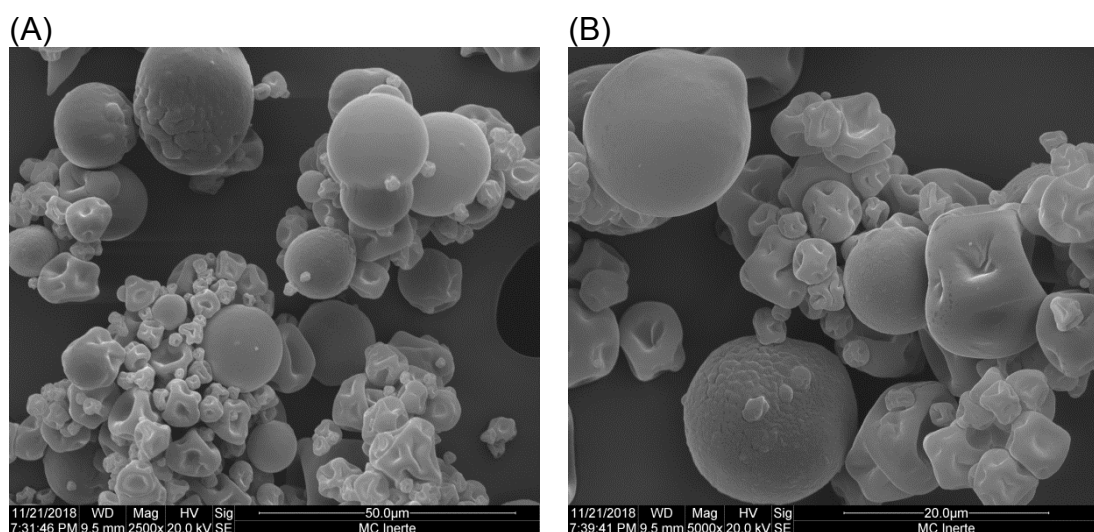
verificaram que em temperaturas baixas ou intermediárias a parede polimérica encontra-se rugosa; e lisa quando utilizadas temperaturas altas. Esses autores atribuíram estes resultados a taxa de secagem, salientando que quanto mais rápido o solvente é evaporado, mais lisa se torna a parede da micropartícula.

Os resultados obtidos por Maas et al. (2011) corroboraram com os deste trabalho. Estes autores utilizaram manitol como material de parede e esperavam obter micropartículas lisas em temperaturas elevadas por causa da rápida evaporação do solvente, o que deveria favorecer a formação de cristais pequenos.

Com base nos resultados e na literatura (KUROZAWA et al., 2009; ALAMILLA-BELTRÁN et al., 2005; TONON, BRABET, HUBINGER, 2008; TONON, FREITAS, HUBINGER, 2011) sugere-se que a vazão de alimentação tem maior influência na morfologia do material de parede do que a temperatura de entrada.

Existem vários compostos bioativos que compõe o extrato da casca da uva, alguns destes compostos como as antocianinas, podem apresentar cargas (positivas ou negativas) em suas estruturas, estas cargas geram atrações ou repulsões iônicas, que fazem com que as MC extrato estejam mais dispersas do que as MC inerte (Figuras 44 a 48).

Figura 48 – Fotomicrografias por MEV da MC inerte, nos aumentos de (A) 2500x e (B) 5000x.

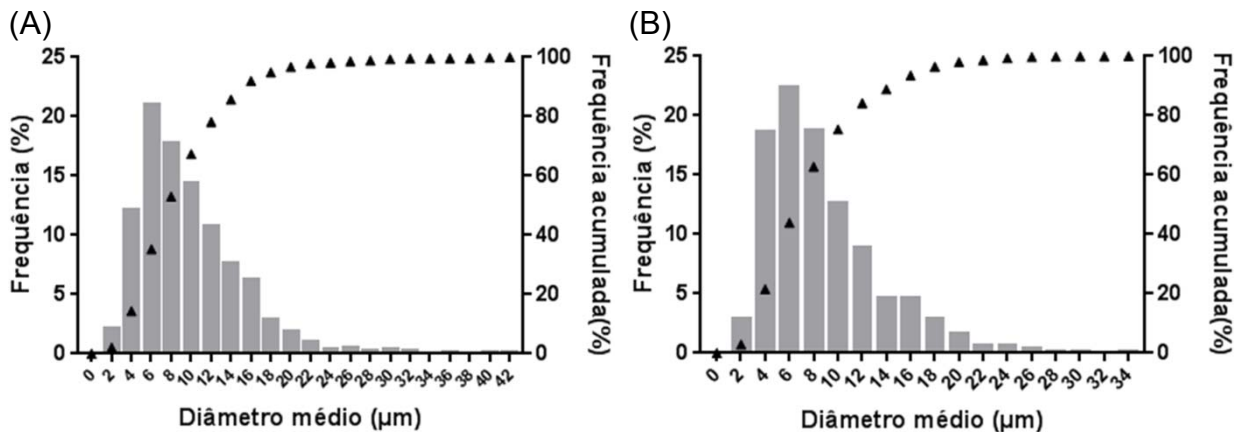


Fonte: o próprio autor.

5.8 DISTRIBUIÇÃO DO TAMANHO DAS PARTÍCULAS

A distribuição do tamanho das partículas para a MC inerte (Figura 49A) e MC extrato (Figura 49B) foram representadas em histogramas de frequência (%) e de frequência acumulada (%).

Figura 49 – Histogramas de frequência (%) e de frequência acumulada (%) para (A) MC inerte e (B) MC extrato.



Fonte: o próprio autor.

A MC inerte (Figura 49A) apresentou variação de diâmetro de 1,54 a 41,75 μm , sendo que 50,87% estão entre 4,00 e 8,00 μm , com 25% das partículas menores que 5,98 μm , 50% menores que 8,67 μm e 75% menores que 12,75 μm . Para a MC extrato (Figura 49B), o diâmetro variou de 1,28 a 33,78 μm , sendo que 59,89% das partículas estão entre 4,00 e 8,00 μm , com 25% das partículas menores que 5,21 μm , 50% menores que 7,66 μm e 75% menores que 10,97 μm . Deste modo, observou-se maior uniformidade na distribuição de partículas para a MC extrato do que para a MC inerte.

Além disso, em média as partículas da MC inerte ($9,80 \pm 0,19 \mu\text{m}$) foram maiores que as da MC extrato ($8,69 \pm 0,13 \mu\text{m}$), este resultado sugere que o extrato da uva favorece uma melhor organização do sistema polimérico.

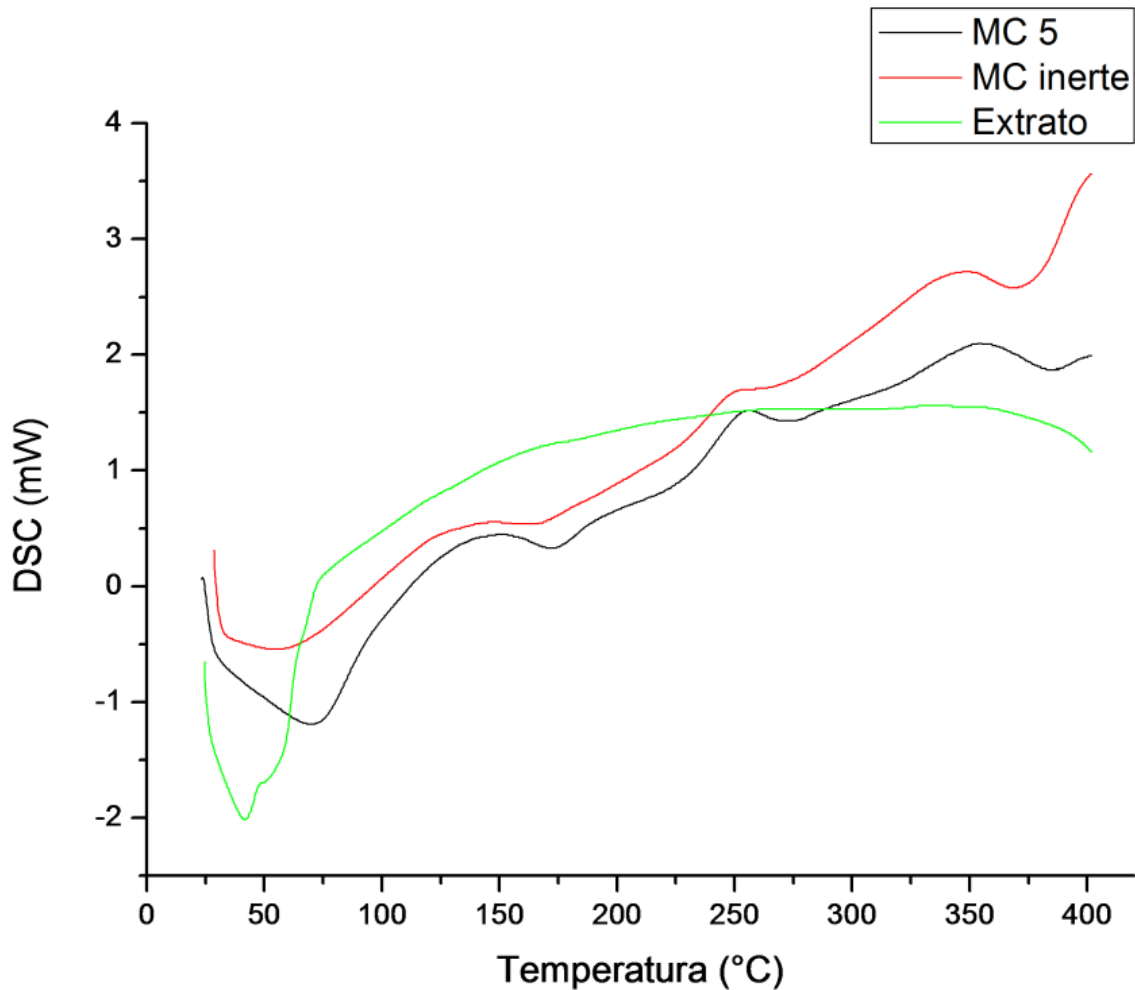
Baracat (2004) encontrou valores médios de 4,929 μm de tamanho de partícula, com variação de 2,0 a 9,0 μm , para MC produzidas com pectina GENU[®] 8003 e caseína, utilizando ácido cítrico para reduzir o pH.

Ravanfar, Comunian e Abbaspourrad (2018) encapsularam antocianinas pelo método de diluição em microemulsão e encontraram valores médios de $1,1 \pm 0,1 \mu\text{m}$ de tamanho de partícula.

5.9 CALORIMETRIA DIFERENCIAL DE VARREDURA (DSC)

Na Figura 50 observa-se o perfil de decomposição térmica da MC extrato, MC inerte e extrato da casca da uva.

Figura 50 – Curvas de DSC da (—) MC 5, (—) MC inerte e (—) extrato da casca da uva.



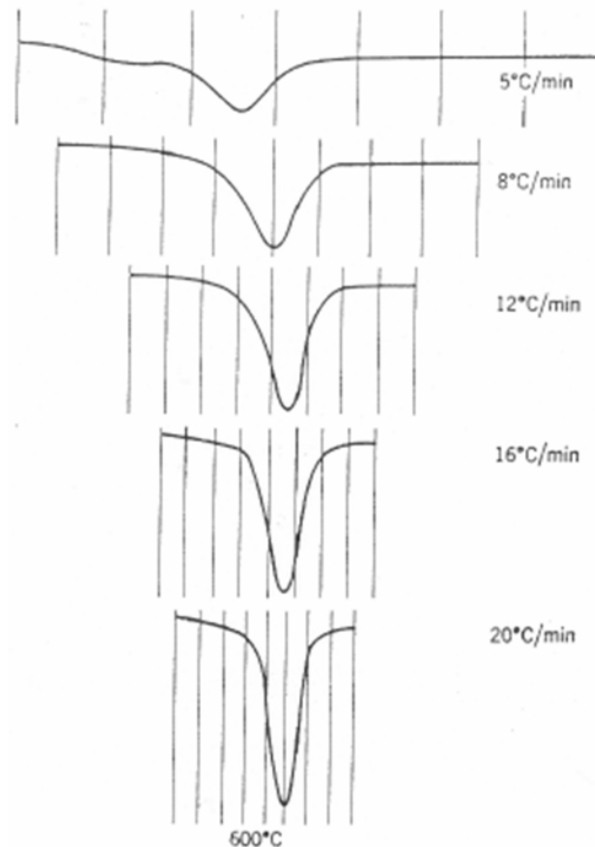
Fonte: o próprio autor.

A curva de DSC das MC (extrato e inerte) apresentaram quatro eventos térmicos. O primeiro, representado pelo pico endotérmico em 50-70 °C, pode ser caracterizado por desidratação. Os demais eventos, processo endotérmico em aproximadamente 170 °C e exotérmicos em aproximadamente 255 e 350 °C, indicam perdas de componentes e degradação do conjugado polimérico (GORDON, 1963; BERNAL et al., 2002).

Baracat (2004) apresentou resultados similares, diferindo apenas no

pico endotérmico em aproximadamente 170 °C, utilizando taxa de aquecimento de 5 °C min⁻¹, enquanto que neste trabalho foi utilizada taxa de 10 °C min⁻¹. Wendlandt (1986) explica que quanto mais alta for a taxa de aquecimento, maior é a altura do pico na curva de DSC, devido à ocorrência de mais reações no mesmo intervalo de tempo (Figura 51).

Figura 51 – Representação da interferência da taxa de aquecimento nas curvas de DSC.



Fonte: Wendlandt (1986)

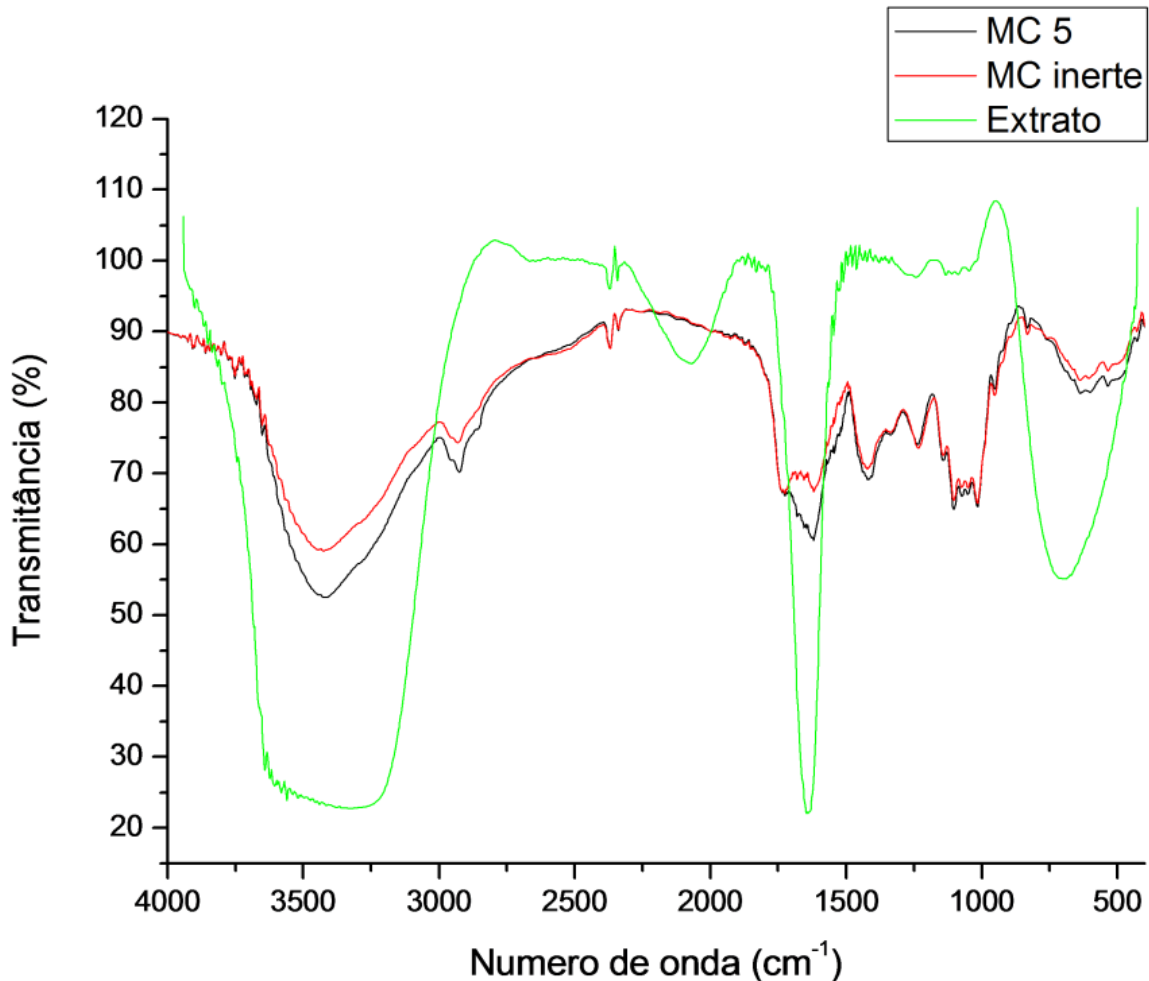
O extrato da casca da uva apresentou um pico endotérmico em 41-53 °C, que pode ser caracterizado pelo ponto de fusão dos compostos fenólicos. O fenol possui ponto de fusão de 40,89 °C e derivados deste composto com cadeias carbônicas curtas apresentam valores próximos (LIDE, 2005).

Observa-se na Figura 50, que o pico de fusão dos compostos fenólicos não aparece na curva de DSC da MC extrato, o que indica que o extrato da casca da uva encontra-se no interior da MC.

5.10 INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (IV-TF)

A sobreposição dos espectros de IV-TF também mostrou que o extrato da casca da uva encontra-se no interior da MC (Figura 52).

Figura 52 – Espectros de IV-TF da (—) MC 5, (—) MC inerte e (—) extrato da casca da uva.



Fonte: o próprio autor.

Os espectros das MC (extrato e inerte) apresentam bandas largas e intensas centradas em 3400-2400 cm^{-1} , atribuídas ao estiramento O-H de ácido carboxílico e N-H de amina e amida primária e secundária. Em ambos espectros pode-se observar uma banda em 2920 cm^{-1} característico de estiramento $\text{Csp}^3\text{-H}$; uma banda em 1650 cm^{-1} , correspondente ao estiramento C=O da carbonila, que sugere a presença do grupo funcional amida; uma banda em 1421 cm^{-1} , atribuída ao dobramento da ligação C-H de grupos metileno; o sinal em 1336 cm^{-1} , decorrente do

estiramento C-N presente no grupo amida e amina; e as bandas em 1234 e 1103-1016 cm^{-1} , que representam a vibração de estiramento C-O do grupo ácido carboxílico (PAVIA et al., 2010).

Abdelkader et al. (2018) utilizaram a técnica de IV-TF para comprovar a encapsulação de nerolina utilizando poliuretano como material de parede. Estes autores verificaram que os principais picos de vibração do material do núcleo não aparecem no espectro da microcápsula carregada, o que indica que a nerolina encontra-se no interior da partícula. Resultado similar foi encontrado por Huo et al. (2018) quando estes microencapsularam poli (octadecil acrilato) utilizando um compósito de quitosana.

O extrato da casca da uva apresentou banda larga e intensa centrada em 3400-3200 cm^{-1} , atribuída ao estiramento O-H de alcoóis e fenóis; e uma banda em 1645 cm^{-1} , correspondente ao estiramento C=O da carbonila (cetona) conjugada com grupo arílico ou ligação dupla. O sinal observado em 715 cm^{-1} é decorrente do dobramento =C-H, característico de dobramento fora do plano do anel aromático. A absorção fraca em aproximadamente 2000 cm^{-1} pode ser atribuída a bandas de harmônica/cominação, características de anel aromático (PAVIA et al., 2010).

Bicas et al. (2017) utilizaram a espectroscopia de infravermelho médio com Transformada de Fourier para classificar vinhos e sucos de uva de cidades do sudoeste do Paraná, Brasil. Esses autores encontraram as mesmas bandas que este trabalho, tanto nos espectros de vinhos quanto nos de sucos de uva, isso comprova a permanência dos compostos bioativos no resíduo agroindustrial.

6 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos mostraram que o tempo de exposição à luz no processo de liofilização degradou os compostos fenólicos e as antocianinas, além de reduzir a atividade antioxidante. A secagem por *spray dryer*, no entanto, mostrou menor degradação em relação a liofilização, dos compostos bioativos presentes na casca da uva. Pode ser observado que a variação nos parâmetros de secagem como a temperatura de entrada, a vazão de alimentação e a vazão do ar de secagem interferiram na morfologia das microcápsulas obtidas.

Utilizando a ferramenta de planejamento fatorial, verificou-se que o experimento número 5 (vazão de alimentação de 10 mL min^{-1} , temperatura de entrada de $140 \text{ }^\circ\text{C}$ e vazão do ar de secagem de $51 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$) apresentou os melhores resultados de atividade antioxidante, valores intermediários para os teores de compostos fenólicos e antocianinas, o terceiro maior rendimento de secagem e boa eficiência de encapsulação.

A maltodextrina 10DE se destacou como melhor adjuvante para a secagem do extrato obtido a partir da casca da uva. No entanto, a microcápsula de caseína/pectina/extrato se revelou uma alternativa promissora para proteger as substâncias bioativas e para aumentar o rendimento no processo de secagem, além de apresentar elevada EE para compostos hidrossolúveis.

Desta maneira, este projeto tem como perspectivas, realizar testes de perfil de dissolução, estabilidade acelerada e pré-clínicos, para que as MC contendo o extrato da casca da uva possam ser utilizadas no desenvolvimento de formas farmacêuticas com atividades anti-inflamatória e antioxidante.

REFERÊNCIAS

- ABDELKADER, M. B.; AZIZI, N.; BAFFOUN, A.; CHEVALIER, Y.; MAJDOUB, M. New microcapsules based on isosorbide for cosmetotextile: Preparation and characterization. **Industrial Crops & Products**, v. 123, p. 591–599, 2018.
- ABE, L. T.; MOTA, R. V.; LAJOLO, F. M. GENOVESE, M. I. Compostos fenólicos e capacidade antioxidante de cultivares de uvas *Vitis labrusca L.* e *Vitis vinifera L.* **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, p. 394–400, 2007.
- ADAMS, J. B. Thermal degradation of anthocyanins with particular reference to the 3-glycosides of cyanidin i. in acidified aqueous solution at 100 °C. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 24, p. 747-762, 1973.
- AJAZUDDIN, S. S. Applications of novel drug delivery system for herbal formulations. **Fitoterapia**, v.81, p. 680–689, 2010.
- ALAMILLA-BELTRÁN, L.; CHANONA-PÉREZ, J.J.; JIMÉNEZ-APARICIO, A.R.; GUTIÉRREZ-LÓPEZ, G.F. Description of morphological changes of particles along spray drying. **Journal of Food Engineering**, v. 67, p. 179–184, 2005.
- ALOYS, H.; KORMA, S. A.; ALICE, T. M.; CHANTAL, N.; ALI, A. H.; ABED, S. M.; ILDEPHONSE, H. Microencapsulation by complex coacervation: methods, techniques, benefits, and applications - a review. **American Journal of Food Science and Nutrition Research**, v. 3, n. 6, p. 188-192, 2016.
- ALUYEN, J. K.; TON, Q. N.; TRAN, T.; YANG, A. E.; GOTTLIEB, H. B.; BELLANGER, R. A. Resveratrol: Potential as Anticancer Agent. **Journal of Dietary Supplements**, v. 9, n. 1, p. 45–56, 2012.
- ANDREO, D.; JORGE, N. Antioxidantes naturais: técnicas de extração. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 24, n. 2, p. 319-336, jul./dez. 2006.
- ANVISA. **Farmacopeia Brasileira**. 5 ed. Brasília, 2010.
- AQUINO, J. S.; SILVA, J. A.; PRADO, J. P.; CAVALHEIRO, J. M. O. Análise dos constituintes de gema de ovo de avestruz desidratada por meio de duas metodologias de secagem. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.67, n.3, dez. 2008.
- BARACAT, M. M. **Preparação e avaliação de microcápsulas à base de pectina**. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, p. 134, 2004.
- BARACAT, M. M.; NAKAGAWA, A. M.; FREITAS, L. A. P.; FREITAS, O. Microcapsule Processing in a Spouted Bed. **The Canadian Journal of Chemical Engineering**, v. 82, p. 134-141, 2004.

BARACAT, M. M.; NAKAGAWA, A. M.; CASAGRANDE, R.; GEORGETTI, S. R.; VERRI, W. A.; FREITAS, O. Preparation and Characterization of Microcapsules Based on Biodegradable Polymers: Pectin/Casein Complex for Controlled Drug Release Systems. **AAPS PharmSciTech**, v. 13, n. 2, p. 364–372, 2012.

BARBOSA-CÁNOVAS, G. V.; ORTEGA-RIVAS, E.; JULIANO, P.; YAN, H. **Food Powders: Physical Properties, Processing, and Functionality**. New York, Boston, Dordrecht, London, Moscow: Kluwer Academic/Plenum Publishers, 2005.

BARROS, F. A. R. D.; STRINGHETA, P. C. Microencapsulamento de antocianinas: uma alternativa para o aumento de sua aplicabilidade como ingrediente alimentício. **Biotecnologia ciência & desenvolvimento**, p. 1-7, 2006.

BECKMAN, C. H. Phenolic-storing cells: keys to programmed cell death and periderm formation in wilt disease resistance and in general defence responses in plants? **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 57, p. 101-110, 2000.

BENNEMANN, G. D.; BOTELHO, R. V.; TORRES, Y. R.; CAMARGO, L. A.; KHALIL, N. M.; OLDONI, T. L. C.; SILVA, D. H. Compostos bioativos e atividade antirradicalar em farinhas de bagaço de uvas de diferentes cultivares desidratadas em liofilizador e em estufa. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 21, e2017205, 2018.

BERNAL, C.; COUTO, A. B.; BREVIGLIERI, S. T.; CAVALHEIRO, É. T. G. Influência de alguns parâmetros experimentais nos resultados de análises calorimétricas diferenciais – DSC. **Química Nova**, v. 25, n. 5, p. 849-855, 2002.

BHAT, T. K.; SINGH, B.; SHARMA, O. P. Microbial degradation of tannins – A current perspective. **Biodegradation**, v. 9, p. 343-357, 1998.

BICAS, T. C.; FERNANDES, A.; PRASNIEWSKI, A.; CALEGARI, M. A.; LIMA, V. A.; OLDONI, T. L. C. Uso da espectroscopia de infravermelho médio com transformada de Fourier (IV-TF) e quimiometria para classificação de vinhos e suco de uva. **Brazilian Journal of Food Research**, Campo Mourão, v. 8, n. 2, p. 89-97, abr./jun. 2017.

BICUDO, M. O. P.; JÓ, J.; OLIVEIRA, G.; CHAIMSOHN, F. P.; SIERAKOWSKI, M. R.; FREITAS, R. A.; RIBANI, R. H. Microencapsulation of juçara (*Euterpe edulis* M.) pulp by *spray drying* using different carriers and drying temperatures. **Drying Technology**, v. 33, p. 153–161, 2015.

BLOIS, M. S. Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical. **Nature**, v. 181, p. 1199–1200, 1958.

BRANDÃO, E. M.; ANDRADE, C. T. Influência de Fatores Estruturais no Processo de Gelificação de Pectinas de Alto Grau de Metoxilação. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, p. 38-44, jul./set. 1999.

BROWN, D. M.; **Drug Delivery Systems in Cancer Therapy**. Totowa: Humana Press, 2004.

CAMARGO, U. A.; MAIA, J. D. G.; NACHTIGAL, J. C. **BRS VIOLETA Nova Cultivar de Uva para Suco e Vinho de Mesa**. Bento Gonçalves: EMBRAPA, 2005.

CAMARGO, U. A.; NACHTIGAL, J. C. **Cultivares**. Bento Gonçalves: EMBRAPA, 2007.

CAMARGO, U. A.; TONIETTO, J.; HOFFMANN, A. Progressos na viticultura brasileira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. especial, p. 144-149, out. 2011.

CAMILO, K. F. B. **Complexo pectina/caseína: aspectos básicos e aplicados**. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, p. 147, 2007.

CANTERI, M. H. G.; MORENO, L.; WOSIACKI, G.; SCHEER, A. P. Pectina: da matéria-prima ao produto final. **Polímeros**, v. 22, n. 2, p. 149-157, 2012.

CARLSEN, C.; STAPELFELDT, H. Light sensitivity of elderberry extract. Quantum yields for photodegradation in aqueous solution. **Food Chemistry**, v. 60, n. 3, p. 383-387, 1997.

CASAZZA, A. A.; ALIAKBARIAN, B.; SANNITA, E.; PEREGO, P. High-pressure high-temperature extraction of phenolic compounds from grape skins. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 47, p. 399-405, 2012.

CASTAÑEDA-OVANDO, A.; PACHECO-HERNÁNDEZ, M. DE L.; PÁEZ-HERNÁNDEZ, M. E.; RODRÍGUEZ, J. A.; GALÁN-VIDAL, C. A. Chemical studies of anthocyanins: A review. **Food Chemistry**, v. 113, n. 4, p. 859-871, 2009.

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**, Londrina, v. 29, n. 1, p. 93-102, 2008.

CHIARADIA, M. C.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F. O estado da arte da cromatografia associada à espectrometria de massas acoplada à espectrometria de massas na análise de compostos tóxicos em alimentos. **Química Nova**, v. 31, n. 3, p. 623-636, 2008.

CHRONAKIS, I. S. On the molecular characteristics, compositional properties, and structural-functional mechanisms of maltodextrins: a review. **Critical Reviews in Food Science**, v. 38, n. 7, p. 599-637, 1998.

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

CORRADINI, E.; LOTTI, C.; MEDEIROS, E. S.; CARVALHO, A. J. F.; CURVELO, A. A. S.; MATTOSO, L. H. C. Estudo Comparativo de Amidos Termoplásticos Derivados do Milho com Diferentes Teores de Amilose. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 15, n. 4, p. 268-273, 2005.

COUTO, R. O.; ARAÚJO, R. R.; TACON, L. A.; CONCEIÇÃO, E. C.; BARA, M. T. F.; PAULA, J. R.; FREITAS, L. A. P. Development of a phytopharmaceutical intermediate product via spray drying. **Drying Technology**, v. 29, p. 709-718, 2011.

COUTO, R. O.; CONCEIÇÃO, E. C.; CHAUL, L. T.; OLIVEIRA, E. M. S.; MARTINS, F. S.; BARA, M. T. F.; REZENDE, K. R.; ALVES, S. F.; PAULA, J. R. Spray-dried rosemary extracts: physicochemical and antioxidant properties. **Food Chemistry**, v. 131, p. 99–105, 2012.

D'ARCHIVIO, M.; FILESI, C.; BENEDETTO, R.; GARGIULO, R.; GIOVANNINI, C.; MASELLA, R. Polyphenols, dietary sources and bioavailability. **Ann Ist Super Sanità**, v. 43, n. 4, p. 348-361, 2007.

DANGLES, O.; BROUILLARD, R. Polyphenol interactions. The copigmentation case: thermodynamic data from temperature variation and relaxation kinetics. Medium effect. **Canadian Journal of Chemistry**, v. 70, 1992.

DEZARN, T. J. Food ingredient encapsulation: an overview. In: RISH, S. J.; REINECCIUS, G. A. **Encapsulation and Controlled Release of Food Ingredients**. Washington: American Chemical Society, 1995. p. 74-86.

DÍAZ, D. I.; BERISTAIN, C. I.; AZUARA, E.; LUNA, G.; JIMENEZ, M. Effect of wall material on the antioxidant activity and physicochemical properties of *Rubus fruticosus* juice microcapsules. **Journal of Microencapsulation**, v. 32, n. 3, p. 247-254, 2015.

DO NASCIMENTO FILHO, W. B.; FRANCO, C. R. Avaliação do Potencial dos Resíduos Produzidos Através do Processamento Agroindustrial no Brasil. **Revista Virtual de Química**, v. 7, n. 6, p. 1968-1987, 2015.

EMBRAPA. **Uva Isabel**. 2016. Disponível em: <https://www.embrapa.br/uva-e-vinho/cultivares-e-porta-enxertos/cultivares-de-dominio-publico/-/asset_publisher/rE0HjHq6jP8J/content/cultivar-isabel/1355300>. Acesso: 12 out. 2018.

FANG, Z.; BHANDARI, B. Effect of spray drying and storage on the stability of bayberry polyphenols. **Food Chemistry**, v. 129, p. 1139–1147, 2011.

FERRARI, C. C.; GERMER, S. P. M.; ALVIM, I. D.; AGUIRRE, J. M. Storage stability of spray-dried blackberry powder produced with maltodextrin or gum Arabic. **Drying Technology**, v. 31, p. 470–478, 2013.

FRANCIS, F. J.; MARKAKIS, P. C. Food colorants : Anthocyanins. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 28, n. 4, p. 273–314, 1989.

FURTADO, P.; FIGUEIREDO, P.; NEVES, H. C.; PINA, F. Photochemical and thermal degradation of anthocyanidins. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 75, p. 113-118, 1993.

GAONKAR, A. G.; VASISHT, N.; KHARE, A. R.; SOBEL, R. **Microencapsulation in the food industry: a practical implementation guide**. San Diego: Elsevier, 2014.

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, p. 1107–1121, 2007.

GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R. E. Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-visible Spectroscopy. **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**, p. F1.2.1-F1.2.13, 2001.

GIUSTI, M. M., WALLACE, T. C. Flavonoids as Natural Pigments. In: BECHTOLD, T.; MUSSAK, R. **Handbook of Natural Colorants**. Nova Jersey: Wiley, 2009. 257–276.

GORDON, S. Differential thermal analysis. **Journal of Chemical Education**, v. 40, n. 2, feb. 1963.

GUAZELLI, C. F. S.; FATTORI, V.; COLOMBO, B. B.; GEORGETTI, S. R.; VICENTINI, F. T. M. C.; CASAGRANDE, R.; BARACAT, M. M.; VERRI, W. A. Quercetin-Loaded Microcapsules Ameliorate Experimental Colitis in Mice by Anti-inflammatory and Antioxidant Mechanisms. **Journal of Natural Products**, v. 76, n. 2, p. 200-208, 2013.

GUAZELLI, C. F. S. **Efeito terapêutico e mecanismos de ação da hesperidina metil chalcona, trans-chalcona e suas formas microencapsuladas em modelo de colite ulcerativa em camundongos**. Tese (Doutorado em Ciências da Saúde) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, p. 123, 2017.

HUO, X.; LI, W.; WANG, Y.; HAN, N.; WANG, J.; WANG, N.; ZHANG, X. Chitosan composite microencapsulated comb-like polymeric phase change material via coacervation microencapsulation. **Carbohydrate Polymers**, v. 200, p. 602–610, 2018.

HUPPERTZ, T.; FOX, P. F.; KELLY, A. L. The caseins: Structure, stability, and functionality. In: YADA, R. Y. **Proteins in Food Processing**. 2 ed. Cambridge: Elsevier, 2018. p. 49-92.

INSTITUTO BRASILEIRO DO VINHO. **História do vinho no Brasil**. 2018a. Disponível em: <<http://www.ibravin.org.br/Historia-do-Vinho-no-Brasil>>. Acesso: 12 out. 2018.

INSTITUTO BRASILEIRO DO VINHO. **Panorama da Vitivinicultura Brasileira**. 2018b. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/camaras-setoriais-tematicas/documentos/camaras-setoriais/viticultura-vinhos-e-derivados/2018/47aro/2-5-comercializacao.pdf>>. Acesso: 12 out. 2018.

JACKMAN, R. L.; YADA, R. Y.; TUNG, M. A.; ALEX SPEERS, R. Anthocyanins as food colorants - a review. **Journal of Food Biochemistry**, v. 11, p. 201-247, 1987.

JACKMAN, R. L.; SMITH, J. L. Anthocyanins and betalains. In: HENDRY, G. A. F.; HOUGHTON, J. D. **Natural Food Colorants**. 2 ed. Londres: Chapman & Hall, 1996. p. 245-309.

JACKSON, R. S. **Wine Science**. 3 ed. San Diego: Elsevier, 2008.

JOYE, I. J.; MCCLEMENTS, D. J. Biopolymer-based nanoparticles and microparticles: fabrication, characterization, and application. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 19, p. 417–427, 2014.

KAMMERER, D.; CLAUS, A.; CARLE, R.; SCHIEBER, A. Polyphenol Screening of Pomace from Red and White Grape Varieties (*Vitis vinifera* L.) by HPLC-DAD-MS/MS. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 4360-4367, 2004.

KARONEN, M.; LOPONEN, J.; OSSIPOV, V.; PIHLAJA, K. Analysis of procyanidins in pine bark with reversed-phase and normal-phase high-performance liquid chromatography–electrospray ionization mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 522, p. 105–112, 2004.

KAUSHIK, P.; DOWLING, K.; BARROW, C. J.; ADHIKARI, B. Microencapsulation of omega-3 fatty acids: a review of microencapsulation and characterization methods. **Journal of Functional Foods**, v. 19, p. 868–881, 2015.

KIST, B. B.; CARVALHO, C.; TREICHEL, M.; SANTOS, C. E. **Anuário Brasileiro da Fruticultura 2018**. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, 2018.

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

KUROZAWA, L. E.; MORASSI, A. G.; VANZO, A. A.; PARK, K. J.; HUBINGER, M. D. Influence of spray drying conditions on physicochemical properties of chicken meat powder. **Drying Technology**, v. 27, p. 1248–1257, 2009.

LAKKIS, J. M. **encapsulation and controlled release technologies in food systems**. 1 ed. Oxford: Blackwell Publishing, 2007.

LIDE, D. R. **Handbook of Chemistry and Physics**. Boca Raton: CRC Press, 2005.

LIMA, A. J. B.; CORRÊA, A. D.; SACZK, A. A.; MARTINS, M. P.; CASTILHO, R. O. Anthocyanins, pigment stability and antioxidant activity in jaboticaba. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 33, n. 3, p. 877-887, set. 2011.

LIMA NETO, S. A.; PETROVICK, P. R. A celulose na farmácia. **Caderno de Farmácia**, v. 13, n. 1, p. 19-23, 1997.

LOPES DA SILVA, J. A.; RAO, M. A. Pectins: structure, functionality, and uses. In: STEPHEN, A. M.; PHILLIPS, G. O.; WILLIAMS, P. A. **Food Polysaccharides and Their Applications**. 2 ed. Abingdon: Taylor & Francis, 2006. p. 352-411.

LOPES, T. J.; XAVIER, M. F.; QUADRI, M. G. N.; QUADRI, M. B. Antocianinas: uma breve revisão das características. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 13, p. 291–297, 2007.

MAAS, S. G.; SCHALDACH, G.; LITTRINGER, E. M.; MESCHER, A.; GRIESSER, U. J.; BRAUN, D. E.; WALZEL, P. E.; URBANETZ, N. A. The impact of spray drying outlet temperature on the particle morphology of mannitol. **Powder Technology**, v. 213, p. 27–35, 2011.

MAIA, J. D. G.; CAMARGO, U. A. **Sistema de Produção de Uvas Rústicas para Processamento em Regiões Tropicais do Brasil**. 2005. Disponível em: <<https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Uva/UvasRusticasParaProcessamento/cultivares.htm>>. Acesso: 12 out. 2018.

MALACRIDA, C. R.; MOTTA, S. Antocianinas em suco de uva: composição e estabilidade. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos, Curitiba**, v. 24, n. 1, p. 59-82, jan./jun. 2006.

MARÇO, P. H.; POPPI, R. J.; SCARMINIO, I. S. Procedimentos analíticos para identificação de antocianinas presentes em extratos naturais. **Química Nova**, v. 31, n. 5, p. 1218-1223, 2008.

MARQUES, E. C.; COSTA, S. S. R. Estudo da liofilização pela engenharia de produto no processamento industrial de alimentos. **Acta Tecnológica**, v. 10, n. 1, p. 44–52, 2015.

MARTÍNEZ-FLÓREZ, S.; GONZÁLEZ-GALLEGO, J.; CULEBRAS, J. M.; TUÑÓN, M. J. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. **Nutrición Hospitalaria**, v. 17, n. 6, p.271-278, 2002.

MAZZA, G.; BROUILLARD, R. Recent developments in the stabilization of anthocyanins in food-products. **Food Chemistry**, v. 25, n. 3, p. 207–225, 1987.

MELLO, L. M. R.; SILVA, G. A. **Disponibilidade e Características de Resíduos Provenientes da Agroindústria de Processamento de Uva do Rio Grande do Sul**. Bento Gonçalves: Embrapa, 2014.

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

MONAGAS, M.; BARTOLOMÉ, B.; GÓMEZ-CORDOVÉS, C. Updated knowledge about the presence of phenolic compounds in wine. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 45, p. 85–118, 2005.

MYERS, R. H.; MONTGOMERY, D. C.; ANDERSON-COOK, C. M. **Response surface methodology: process and product optimization using designed experiments**. 3 ed. Hoboken: John Wiley & Sons, 2009.

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

NEIDLEMAN, S. L.; LASKIN, A. I. **Advances in Applied Microbiology**. New York: Academic Press, 1997.

OBREQUE-SLIER, E.; PEÑA-NEIRA, Á.; LÓPEZ-SOLÍS, R.; ZAMORA-MARÍN, F.; RICARDO-DA SILVA, J. M.; LAUREANO, O. Comparative study of the phenolic composition of seeds and skins from carménère and cabernet sauvignon grape varieties (*Vitis vinifera* L.) during ripening. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, p. 3591–3599, 2010.

OLIVEIRA, A. C.; MORETTI, T. S.; BOSCHINI, C.; BALIERO, J. C. C.; FREITAS, O.; FAVARO-TRINDADE, C. S. Stability of microencapsulated *B. lactis* (BI 01) and *L. acidophilus* (LAC 4) by complex coacervation followed by spray drying. **Journal of Microencapsulation**, v. 24, n. 7, p. 685–693, 2007.

OLIVEIRA, O. W.; PETROVICK, P. R. Secagem por aspersão (*spray drying*) de extratos vegetais: bases e aplicações. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 20, n. 4, p. 641-650, ago./set. 2010.

OLIVEIRA, D. D. S. **Nova metodologia para extração de compostos fenólicos de vinho tinto e avaliação da estabilidade dos extratos obtidos**. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Viçosa, 2014.

OLIVEIRA, G. L. S. Determinação da capacidade antioxidante de produtos naturais in vitro pelo método do DPPH[•]: estudo de revisão. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v.17, n.1, p.36-44, 2015.

PAIVA, E. P.; LIMA, M. S.; PAIXÃO, J. A. Pectina: propriedades químicas e importância sobre a estrutura da parede celular de frutos durante o processo de maturação. **Revista Iberoamericana de Polímero**, v. 10, n. 4, p. 196-211, jul. 2009.

PATRAS, A.; BRUNTON, N. P.; O'DONNELL, C.; TIWARI, B.K. Effect of thermal processing on anthocyanin stability in foods; mechanisms and kinetics of degradation. **Trends in Food Science & Technology**, v. 21, p. 3-11, 2010.

PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S.; VYVYAN, J. R. **Introdução à espectroscopia**. 4 ed. Bellingham: Cengage Learning, 2010.

PIETTA, P. G. Flavonoids as Antioxidants. **Journal of Natural Products**, v. 63, p. 1035-1042, 2000.

PINELO, M.; ARNOUS, A.; MEYER, A. S. Upgrading of grape skins: Significance of plant cell-wall structural components and extraction techniques for phenol release. **Trends in Food Science & Technology**, v. 17, 579-590, 2006.

RATTI, C. Hot air and freeze-drying of high-value foods: A review. **Journal of Food Engineering**, v. 49, n. 4, p. 311–319, 2001.

RAVANFAR, R.; COMUNIAN, T. A.; ABBASPOURRAD, A. Thermoresponsive, water-dispersible microcapsules with a lipidpolysaccharide shell to protect heat-sensitive colorants. **Food Hydrocolloids**, v. 81, p. 419-428, 2018.

RAY, S.; RAYCHAUDHURI, U.; CHAKRABORTY, R. An over view of encapsulation of active compounds used in food products by drying technology. **Food Bioscience**, v. 13, p. 76–83, 2016.

REVILLA, E.; RYAN, J. M.; MARTIN-ORTEGA, G. Comparison of Several Procedures Used for the Extraction of Anthocyanins from Red Grapes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, p. 4592-4597, 1998.

ROCKENBACH, I. I.; SILVA, G. L.; RODRIGUES, E.; GONZAGA, L. V.; FETT, R. F. Atividade antioxidante de extratos de bagaço de uva das variedades Regente e Pinot Noir (*Vitis vinifera*). **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, n. 2, p. 158–163, 2007.

ROCKENBACH, I. I.; RODRIGUES, E.; GONZAGA, L. V.; CALIARI, V.; GENOVESE, M. I.; GONÇALVES, A. E. S. S.; FETT, R. Phenolic compounds content and antioxidant activity in pomace from selected red grapes (*Vitis vinifera* L. and *Vitis labrusca* L.) widely produced in Brazil. **Food Chemistry**, v. 127, n. 1, p. 174–179, 2011.

ROWE, R. C.; SHESKEY, P. J.; QUINN, M. E. **Handbook of Pharmaceutical Excipients**. 6 ed. Washington: Pharmaceutical Press and American Pharmacists Association, 2009.

SEBRAE. **O cultivo e o mercado da uva**. 2018. Disponível em: <<http://www.sebrae.com.br/sites/PortalSebrae/artigos/o-cultivo-e-o-mercado-da-uva,ae8da5d3902e2410VgnVCM100000b272010aRCRD>>. Acesso: 12 out. 2018.

SEVERINO, P.; SANTANA, M. H. A.; PINHO, S. C.; SOUTO, E. B. Polímeros sintéticos biodegradáveis: matérias-primas e métodos de produção de micropartículas para uso em *drug delivery* e Liberação Controlada. **Polímeros**, v. 21, n. 4, p. 286-292, 2011.

SGARBIERI, V. C. Revisão: Propriedades Estruturais e Físico-Químicas das Proteínas do Leite. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.8, n.1, p. 43-56, jan./mar. 2005.

SHISHIR, M. R. I.; CHEN, W. Trends of spray drying: A critical review on drying of fruit and vegetable juices. **Trends in Food Science & Technology**, v. 65, p. 49-67, 2017.

SILVA, C.; RIBEIRO, A.; FERREIRA, D.; VEIGA, F.L. Administração oral de peptídeos e proteínas : II . Aplicação de métodos de microencapsulação. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 39, p. 1–20, 2003.

SILVA, G. J. F.; CONSTANT, P. B. L.; FIGUEIREDO, R. W. DE; MOURA, S. M. Formulação e estabilidade de corantes de antocianinas extraídas das cascas de jaboticaba (*Myrciaria ssp.*). **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 21, p. 429–436, 2010.

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

SILVA, C. F. G. **Potencial anti-inflamatório e antioxidante dos compostos bioativos presente no subproduto da uva (*Vitis labrusca*)**. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, p. 97, 2017.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; MELLO, J. C. P. DE; MENTZ, L. A. **Farmacognosia - do produto natural ao medicamento**. 1 ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTÓS, 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, 1999.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 15, n. 1, p. 71-81, jan./abr. 2002.

SOUZA, C. R. F.; SCHIAVETTO, I. A.; THOMAZINI, F. C. F.; OLIVEIRA, W. P. Processing of *Rosmarinus officinalis* linne extract on spray and spouted bed dryers. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 25, n. 01, p. 59 - 69, jan./mar., 2008.

SOUZA, V. B. **Aproveitamento dos subprodutos de vinificação da uva Bordô (*Vitis labrusca*) para obtenção de pigmentos com propriedades funcionais.** Dissertação (Mestrado em Ciências da Engenharia de Alimentos) - Universidade de São Paulo, Pirassununga, p. 122, 2013.

SOUZA, V. B.; FUJITA, A.; THOMAZINI, M.; SILVA, E. R.; LUCON, J. F.; GENOVESE, M. I.; FAVARO-TRINDADE, C. S. Functional properties and stability of spray-dried pigments from Bordo grape (*Vitis labrusca*) winemaking pomace. **Food Chemistry**, v. 164, p. 380–386, 2014.

SOUZA, V. B.; THOMAZINI, M.; BALIEIRO, J. C. D. C.; FÁVARO-TRINDADE, C. S. Effect of spray drying on the physicochemical properties and color stability of the powdered pigment obtained from vinification byproducts of the Bordo grape (*Vitis labrusca*). **Food and Bioproducts Processing**, v. 93, p. 39–50, 2015.

SOUZA, A. **Desenvolvimento de sistemas microencapsulados multicamadas para veiculação da hesperidina metil chalcona utilizando biopolímeros.** Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, p. 76, 2018.

SRI.S, J.; SEETHADEVI, A.; PRABHA, K. S.; MUTHUPRASANNA, P.; PAVITRA, P. Microencapsulation: a review. **International Journal of Pharma and Bio Sciences**, v. 3, p. P509 - P-531, jan./mar. 2012.

SUAVE, J.; DALL'AGNOL, E. C.; PEZZIN, A. P. T.; SILVA, D. A. K.; MEIER, M. M.; SOLDI, V.L. Microencapsulação : Inovação em diferentes áreas. **Revista Saúde e Ambiente / Health and Environment Journal**, v. 7, n. 2, p. 12–20, 2006.

SUI, X. **Impact of Food Processing on Anthocyanins.** Singapore: Springer, 2017.

TEIXEIRA, L. N.; STRINGHETA, P. C.; OLIVEIRA, F. A. Comparação de métodos para quantificação de antocianinas. **Ceres**, v. 55, n. 4, p. 297-304, 2008.

TEIXEIRA, A.; BAENAS, N.; DOMINGUEZ-PERLES, R.; BARROS, A.; ROSA, E.; MORENO, D. A.; GARCIA-VIGUERA, C. Natural Bioactive Compounds from Winery By-Products as Health Promoters: A Review. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 15, p. 15638-15678, 2014.

THAKUR, B. R.; SINGH, R. K.; HANDA, A. K.; RAO, M. A. Chemistry and uses of pectin — A review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 37, n.1, p.47-73, 1997.

TONON, R. V.; BRABET, C.; HUBINGER, M. D. Influence of process conditions on the physicochemical properties of açai (*Euterpe oleraceae* Mart.) powder produced by spray drying. **Journal of Food Engineering**, v. 88, n. 3, p. 411–418, 2008.

TONON, R. V.; BARONI, A. F.; BRABET, C.; GIBERT, O.; PALLET, D.; HUBINGER, M. D. Water sorption and glass transition temperature of spray dried açai (*Euterpe oleracea* Mart.) juice. **Journal of Food Engineering**, v. 94, p. 215–221, 2009.

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

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

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

VARONI, E. M.; LO FARO, A. F.; SHARIFI-RAD, J.; IRITI, M. Anticancer Molecular Mechanisms of Resveratrol. **Frontiers in Nutrition**, v. 3, p. 1–15, 2016.

VICKERY, M. L.; VICKERY, B. **Secondary plant metabolism**. Londres: The Macmillan Press, 1981.

VINICOLA LUCANO. **Sucos**. 2018. Disponível em: <<http://www.lucano.com.br/sucos/>>. Acesso: 12 out. 2018.

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

WALSTRA, P. Casein sub-micelles: do they exist? **International Dairy Journal**, v. 9, p. 189-192, 1999.

WANG, Y.; WANG, L. Structures and properties of commercial maltodextrins from corn, potato, and rice starches. **Starch/Stärke**, v. 52, p. 296–304, 2000.

WENDLANDT, W. W. **Thermal Analysis**. 3 ed., Nova Iorque: Wiley: 1985.

YAN, M. Microencapsulation with Coacervation. In: MISHRA, M. **Handbook of encapsulation and controlled release**. Boca Raton: Taylor & Francis, 2016. p. 235-245.