



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
FACULDADE DE CEILÂNDIA

TATYANE DE SOUZA CARDOSO QUINTÃO

**MICROENCAPSULAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS DE CASCAS DE  
SERIGUELA CULTIVADAS NO CERRADO**

Brasília  
2016

TATYANE DE SOUZA CARDOSO QUINTÃO

**MICROENCAPSULAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS DE CASCAS DE  
SERIGUELA CULTIVADAS NO CERRADO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado  
à Universidade de Brasília, Faculdade de  
Ceilândia como requisito parcial para obtenção  
do título de Bacharel em Farmácia.

Orientadora: Prof(a). Dra Eliana Fortes Gris

BRASÍLIA

2016

Ficha catalográfica elaborada automaticamente,  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Qm Quintão, Tatyane de Souza Cardoso  
Microencapsulação de compostos bioativos de cascas  
de seriguela cultivadas no cerrado / Tatyane de  
Souza Cardoso Quintão; orientador Eliana Fortes  
Gris. -- Brasília, 2016.  
50 p.

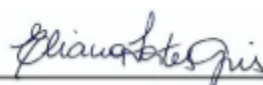
Monografia (Graduação - Farmácia) -- Universidade  
de Brasília, 2016.

1. Cerrado. 2. Microencapsulação. I. Gris, Eliana  
Fortes, orient. II. Título.

TATYANE DE SOUZA CARDOSO QUINTÃO

**MICROENCAPSULAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS DE CASCAS DE  
SERIGUELA CULTIVADAS NO CERRADO**

**BANCA EXAMINADORA**



---

Orientadora: Dra. Eliana Fortes Gris  
(Faculdade de Ceilândia - Universidade de Brasília)



---

Convidado: Dr. Eduardo Antônio Ferreira  
(Faculdade de Ceilândia - Universidade de Brasília)

---

Convidado: Ms. Bruna Cabral Reis  
(Faculdade de Ceilândia - Universidade de Brasília)

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, a Deus por permitir que essa etapa tão sonhada e esperada pudesse se concretizar e por todas as oportunidades que me foram dadas ao longo do caminho.

Aos meus pais, Fernando e Kelly, pelo amor e apoio incondicionais, pelos valores e ensinamentos sem os quais eu não teria chegado até aqui. Pelo amparo e preocupação nos momentos mais difíceis, não existem palavras que expressem minha gratidão. À minha irmã, Wanessa, minha eterna amiga e companheira, pelas incontáveis vezes que me estendeu a mão, me ensinou, me apoiou, e se fez presente em todos os momentos, de sol e tempestade. Aos meus avós pelo exemplo de vida. À toda a minha família, mestres e amigos que se fizeram presente e tornaram a jornada mais leve.

À professora Eliana, por ter me dado oportunidade na pesquisa, por todos esses anos de orientação e companheirismo, pela paciência, dedicação e disponibilidade em todos os momentos, com toda certeza levarei as experiências e aprendizados pra vida. Ao professor Eduardo, por toda a colaboração e prontidão em ajudar durante esse tempo, pelas conversas e orientações.

À Débora e Angeislenie pela ajuda, apoio e companhia durante as análises. À Bruna, pela parceria sem a qual a caminhada teria sido muito mais árdua, por todos os ensinamentos, companhia e disponibilidade.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Estrutura química dos principais tipos de flavonoides.....	15
<b>Figura 2.</b> Estrutura de uma microesfera e uma microcápsula .....	19
<b>Figura 3.</b> Estrutura química linear e tridimensional da quitosana .....	21
<b>Figura 4.</b> Esquema simplificado do processo de obtenção da quitina e quitosana .....	22
<b>Figura 5.</b> Fotomicrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura em aumentos de 1000 a 5.500 vezes para as micropartículas de seriguela .....	34
<b>Figura 6.</b> Teor de polifenóis totais (%) de micropartículas contendo extrato de seriguela submetidas à diferentes condições de temperatura durante 60 dias.....	37

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Quantidade de extrato de cascas de seriguela e polímero (quitosana), fluxo de secagem e volume utilizado da solução submetida ao <i>spray dryer</i> .....	27
<b>Tabela 2.</b> Rendimento e eficiência de encapsulação do processo de obtenção de micropartículas contendo extrato de seriguela.....	31
<b>Tabela 3.</b> Diâmetro médio e potencial zeta das micropartículas contendo extrato de seriguela.....	32
<b>Tabela 4.</b> Teor de polifenóis totais e atividade antioxidante sobre DPPH e ABTS das micropartículas de quitosana contendo extrato de seriguela.....	34

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABTS - 2,2'- azinobis 3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico

DPPH - 2,2-difenil-1-picrilhidrazil

µm - micromêtro

MP - micropartícula

DMAE - dimetilaminoetanol

P(3HB) - poli(3-hidroxi butirato)

P(3HV) - poli(3- hidroxi valerato)

PDLA - poli(D, L-ácido láctico)

PCL - poli(ε-caprolactona)



## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>13</b>
1.1 Cerrado .....	13
1.2 Spondias purpurea L. – Seriguela .....	13
1.3 Compostos bioativos .....	15
1.4 Avaliação da atividade antioxidante.....	17
1.4.1 Radical ABTS .....	17
1.4.2 Radical DPPH.....	18
1.5 Estabilidade dos compostos fenólicos .....	18
1.6 Microencapsulação.....	19
1.7 Quitosana.....	22
<b>2. JUSTIFICATIVA .....</b>	<b>25</b>
<b>3. OBJETIVOS .....</b>	<b>26</b>
3.1 Geral .....	26
3.2 Específicos.....	26
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>27</b>
4.1 Coleta.....	27
4.2 Reagentes.....	27
4.3 Elaboração do extrato de seriguela .....	27
4.4 Obtenção de micropartículas de quitosana contendo extrato de Seriguela (MP) .....	27
4.5 Caracterização das micropartículas.....	28
4.5.1 Rendimento do processo .....	28
4.5.2 Eficiência de encapsulação.....	29
4.5.3 Distribuição do tamanho das partículas .....	29
4.5.4 Morfologia .....	30
4.5.5 Potencial Zeta.....	30
4.6 Avaliação da estabilidade das micropartículas .....	30
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>31</b>
5.1 Caracterização das micropartículas.....	31
5.1.1 Rendimento do processo .....	31
5.1.2 Eficiência de encapsulação.....	32

5.1.3 Distribuição de tamanho das micropartículas .....	33
5.1.4 Morfologia das partículas .....	33
5.1.5 Potencial zeta .....	35
5.2 Avaliação da atividade antioxidante e teor de polifenóis totais das micropartículas .....	35
5.3 Estabilidade.....	36
<b>6. CONCLUSÃO.....</b>	<b>38</b>
<b>7. PERSPECTIVAS .....</b>	<b>38</b>
<b>8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>39</b>

## RESUMO

O cerrado é um bioma conhecido mundialmente por apresentar grande biodiversidade, o que inclui uma ampla gama de espécies frutíferas. A seriguela (*Spondias purpurea*) é uma fruta pertencente à família das *Anacardiaceae*, que apresenta em sua composição alto teor de compostos bioativos, que lhe conferem propriedades antioxidantes, e conseqüentemente benefícios à saúde, dentre esses compostos encontram-se os polifenóis totais. A aplicabilidade desses compostos encontra grande limitação, devido a sua instabilidade, uma solução para esse problema pode ser a utilização de técnicas como a microencapsulação. Diante disso, utilizou-se cascas de seriguela para elaboração de um extrato metanólico que foi microencapsulado utilizando quitosana como polímero, por técnica de *spray drying*. Após estudos de caracterização da morfologia, observou-se uma micropartícula de superfície esférica e lisa, com diâmetro de 4,28 µm e potencial zeta de + 27,84 mV. As micropartículas apresentaram teor de atividade antioxidante relevante, assim como de polifenóis totais. A avaliação da estabilidade foi feita em 60 dias, submetendo as micropartículas à duas diferentes condições (refrigerada e ambiente), ao final do estudo constatou-se que as micropartículas foram capazes de reter o teor de polifenóis após os 60 dias.

Palavras-chave: Seriguela, micropartícula, estabilidade, polifenóis.

## ABSTRACT

Cerrado is a biome known worldwide for its great biodiversity, which includes a wide range of fruit species. The seriguela (*Spondias purpurea*) is a fruit belonging to the *Anacardiaceae* family, which has in its composition a content of bioactive compounds, which confer antioxidant properties, and consequently health benefits. The applicability of these compounds is limited, due to their instability, this problem can be solved with a use of techniques such as microencapsulation. Seen it, seriguela shells were used to prepare a methanolic extract that was microencapsulated using chitosan as a polymer, by spray-drying technique. After characterization studies of the morphology, a spherical and smooth surface microparticle with a diameter of 4.28  $\mu\text{m}$  and a zeta potential of + 27.84 mV was observed. The microparticles presented relevant content of antioxidant activity, as well as total polyphenols. The stability evaluation was done in 60 days, subjecting the microparticles to two different conditions (refrigerated and ambient), at the end of the study it was verified that the microparticles were able to retain polyphenols content after 60 days.

Keywords: Seriguela, microparticle, stability, polyphenols.

## **1. INTRODUÇÃO**

### **1.1 Cerrado**

O cerrado brasileiro é considerado o segundo bioma mais extenso da América do Sul e tem sido apontado como um dos hotspots mundiais de biodiversidade, onde são encontrados diversos tipos de solo, geologia, geomorfologia e uma enorme variedade de plantas, frutas e vegetais. Abrange a região Centro-Oeste, e partes das regiões Sul, Sudeste, Norte e Nordeste. A fauna e flora do cerrado são consideradas extremamente diversificadas, apresentando cerca de 160.000 espécies de plantas, fungos e animais. Ratter et. al. (2000), atribui essa diversidade à grande idade do Cerrado e às recentes mudanças climáticas. (MYERS et al., 2000; SILVA et al., 2006; BEUCHLE et al., 2015).

A flora do cerrado é considerada uma das mais ricas do mundo. Estima-se um número de aproximadamente 7.000 espécies, podendo chegar até 10.000. Essa alta diversidade está diretamente relacionada à grande variedade de solos e climas associados. Dentre essa flora riquíssima, as frutas ocupam lugar de destaque, uma vez que, em sua grande maioria são consideradas exóticas e com interesse potencial para agroindústria e possível fonte de renda para população local (COUTINHO, 1977; DIAS, 1992; MENDONÇA et al., 1998; SOUZA et al. 2012).

Apesar do destaque comercial desses frutos nativos do cerrado, poucos são os estudos que elucidam sua composição nutricional e particularidades, por essa razão, têm despertado grande interesse da comunidade científica. A presença de compostos bioativos como os polifenóis, confere às frutas alto potencial antioxidante, auxiliando em diversos processos no organismo, destacando-se o combate aos radicais livres e consequentemente prevenção de diversas doenças. Dentre esses frutos, destaca-se a seriguela, uma fruta pouco explorada e comercializada, no entanto muito apreciada por comunidades locais (MATTIETO, LOPES e MENEZES, 2010; ENGELS et al., 2012; MORAIS et al., 2013; QUINTÃO, 2015).

### **1.2 *Spondias purpurea* L. – Seriguela**

A seriguela (*Spondias purpurea* L.) é uma fruta nativa da América Central, distribuída pelo México, Caribe, Guatemala e em alguns países da América do Sul, no Brasil, é encontrada principalmente na região nordeste. A espécie é pertencente à família *Anacardiaceae*, caracterizada por distribuir-se em zonas tropicais, subtropicais e temperadas, além de possuir propriedades farmacêuticas, que incrementam sua importância econômica (WANNAN, 2006; SAMPAIO, BORA e HOLSCHUH, 2008).

A família *Anacardiaceae* constitui-se por aproximadamente 65-70 gêneros, sendo cerca de 600 espécies. *Spondias* é um dos gêneros que a compõem, apresentando 14-20 espécies amplamente distribuídas, 4-7 dessas espécies são encontradas nas américas. Alguns exemplos de espécies pertencentes a esse gênero são a *Spondias mombin* (cajá), *Spondias tuberosa* Arruda Camara (umbu) e a *Spondias purpurea* L. (seriguela), estas são consideradas as mais relevantes, em relação à agricultura e comercialização (WANNAN, 2006; BICAS et al., 2011).

A *S. purpurea* L. é conhecida por diversos nomes, que variam em função da região geográfica. No Brasil o nome mais comum é seriguela, no entanto, pode ser chamada também por ceriguela, siriguela, jocote, ameixa-da-espanha, cajá vermelho, red mombin, ciruela e ciruela mexicana (AUGUSTO, CRISTIANINI e IBARZ, 2012).

As características sensoriais da seriguela envolvem aroma agradável, a coloração variando desde o verde, amarelo, laranja, vermelho, podendo chegar até a cor roxa, que é influenciada pelo estágio da maturação e local de cultivo,. O tamanho pode variar de 3,5 a 5 cm, apresentando massa de 12 a 28 g, aproximadamente. O formato geralmente é redondo ou ovóide, os frutos são considerados lisos e brilhantes. A textura varia de cremosa a succulenta e o sabor pode ser doce, ácido ou amargo (MILLER e SCHAAL, 2005; ENGELS et al., 2012).

As frutas podem ser consumidas *in natura*, maduras ou verdes com sal, com ou sem a casca, secas ou processadas e utilizadas na produção de geléias, bebidas, sorvetes, conservas, doces, entre outros (ENGELS et al., 2012). Alguns fatores relacionados com o transporte e armazenamento interferem diretamente na comercialização da seriguela *in natura*, dificultando o processo. O transporte raramente é feito para locais muito distantes do local de cultivo, uma vez que, são altamente perecíveis, a perda pós colheita pode chegar a até 50% da produção total.

O tempo de armazenamento das frutas com coloração amarelo-avermelhada é considerado bastante curto, cerca de 3 dias, devido principalmente à suscetibilidade à temperatura (DIAZ PERES et al., 1998; MONTALVO-GONZÁLEZ et al., 2011).

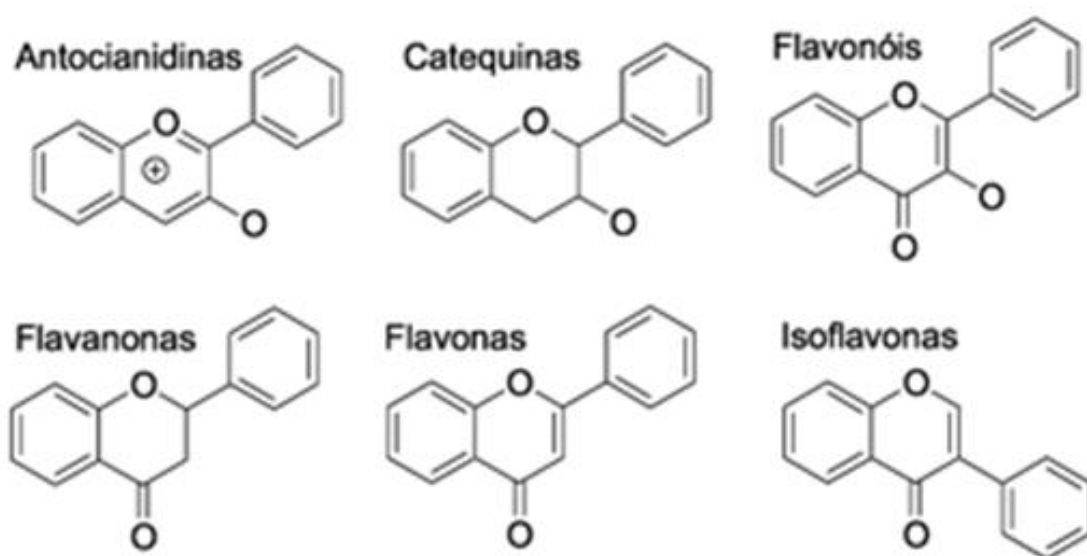
Espécies pertencentes ao gênero *Spondias* apresentam propriedades relatadas na literatura que possibilitam seu uso medicinal para tratamento de diversas doenças e transtornos menores, tais como, diarreia, úlcera e algumas doenças parasitárias. Além disso, testes feitos com extratos aquosos e metanólicos, produzidos a partir das folhas, demonstraram propriedades antibacterianas. Estudos realizados com a seriguela mostram o quanto seu consumo pode ser benéfico, uma vez que apresenta quantidade de polifenóis totais e atividade antioxidante bastante relevantes (GACHET et al., 2010; ENGELS et al., 2012; QUINTÃO, 2015; SILVA et al., 2016).

### **1.3 Compostos bioativos**

Os fitoquímicos alimentares são compostos biologicamente ativos, presentes em diversos alimentos, destacando-se frutas e vegetais. Estima-se que algumas frutas, hortaliças e cereais contenham cerca de 5.000 a 25.000 fitoquímicos, sendo que uma porção muito pequena destes foi identificada. Existe uma vasta diversidade na estrutura química desses compostos e devido a grande quantidade de fitoquímicos existentes, são classificados em diferentes grupos, sendo os principais os compostos fenólicos, alcaloides e outros compostos nitrogenados, terpenóides, hidratos de carbono e lipídeos (KATAN et al., 2003; LIU, 2004; MANACH et al., 2009).

O grupo dos compostos fenólicos refere-se a principal classe de metabólitos secundários nas plantas. Comumente chamados por polifenóis, estão amplamente distribuídos em diversas partes das plantas, sua presença destaca-se principalmente em frutas, hortaliças e em seus derivados como vinho tinto, azeite de oliva, chás, entre outros. Apresentam-se em quantidades significantes também em leguminosas e alguns cereais, sendo que em alguns frutos a maior quantidade encontra-se nas cascas e sementes (KARAKAYAS, 2004; SUCUPIRA et al., 2012; OMENA et al., 2012).

Estruturalmente, os fenólicos são compostos cíclicos derivados do benzeno, apresentando pelo menos um anel aromático com um ou mais substituintes hidroxílicos, incluindo seus grupos funcionais. Por possuírem essa estrutura química variável, são considerados multifuncionais (ANGELO e JORGE, 2007). São divididos em duas classes principais, flavonóides e não-flavonóides. Dentre os principais flavonóides encontram-se as antocianinas, os flavonóis e os flavan-3-óis; e os principais não-flavonóides incluem os ácidos fenólicos, como os ácidos hidroxibenzóicos, estilbenos, tirosol e ácidos hidroxicinâmicos (BATISTA, 2010; SUCUPIRA et al., 2012;).



**Figura 1.** Estrutura química dos principais tipos de flavonoides

Os compostos bioativos, presentes em frutas e hortaliças, são responsáveis por agregar diversos benefícios a esses alimentos, entre esses benefícios encontra-se a prevenção de doenças crônicas, incluindo hipercolesterolemia, diabetes e câncer. Os flavonóides são exemplos desses compostos, possuem capacidade de inibir e reduzir lesões celulares causadas pelos radicais livres. Os radicais livres, por sua vez, desempenham diversos papéis no organismo, entre eles, regulação do crescimento celular, estão envolvidos na síntese de energia, processos de fagocitose e síntese de outros produtos biológicos. No entanto, quando produzidos em quantidades excessivas, ocasionam efeitos chamados deletérios, provocando danos ao DNA, organelas celulares, proteínas, causam alteração de função e



estrutura das células, estando assim, envolvidos no desencadeamento de processos nocivos ao organismo, como envelhecimento precoce, origem de doenças degenerativas, neurológicas, câncer, doenças cardiovasculares e até disfunções cognitivas (HALLIWELL, GUTTERIDGE e CROSS, 1992; LIMA e GUERRA, 2003 MEHTA, 2010).

#### **1.4 Avaliação da atividade antioxidante**

Diversos estudos evidenciam as frutas do cerrado como fontes de compostos com relevante atividade antioxidante e conseqüentemente promotores de diversos benefícios à saúde. A seriguela destaca-se como um desses frutos, em estudos feitos Quintão (2015), a fruta apresentou potente capacidade antioxidante, se revelando como um alimento que deve ter seu consumo estimulado e reforçando a importância de se avaliar a atividade antioxidante dessas frutas. (BARREIROS, 2006)

Avaliar a atividade antioxidante dos alimentos permite maior conhecimento a cerca do potencial antioxidante que eles apresentam, e é considerado de grande importância para avaliar a proteção contra a oxidação e deterioração do alimento, interferindo assim em suas propriedades benéficas ao organismo (LIMA, 2008).

Existem diversos métodos já descritos, no entanto, todos eles apresentam um denominador comum, que é a presença de um substrato, um agente oxidante e uma estratégia de medida de ponto final (LIMA, 2008; SUCUPIRA, 2012).

##### **1.4.1 Radical ABTS**

O método do radical ABTS, envolve a produção deste a partir de um precursor, o ácido 2,2-azino-bis(3-etilbenzotiazolin)-6-sulfônico. A geração do radical ocorre devido a uma reação entre o sal ABTS e um composto chamado persulfato de potássio (MILLER et al., 1993).

O método baseia-se na capacidade dos antioxidantes em capturar o cátion  $ABTS^+$ . O radical apresenta uma cor azul esverdeada, com absorção máxima em 645, 734 e 815 nm. Quando se adiciona um composto antioxidante ocorre a redução do cátion  $ABTS^+$  a ABTS, ocasionando a perda da coloração. A partir desta perda,

calcula-se a porcentagem de inibição em função de um Trolox, padrão submetido às mesmas condições de análise do antioxidante (SUCUPIRA, 2012).

É considerado um método vantajoso em relação a outros, uma vez que, pode ser aplicado tanto para amostras hidrossolúveis, quanto para amostras lipossolúveis, é um dos testes mais rápidos utilizados e oferece boas condições de estabilidade (KUSKOSKI, 2005).

#### **1.4.2 Radical DPPH**

O DPPH (2,2-difenil-1-picrilidrazil) é um radical livre de nitrogênio orgânico, considerado estável, apresentando cor violeta e absorvância máxima em 515 nm, o método que utiliza o DPPH é considerado um método químico, utilizado para avaliar a habilidade antioxidante de uma substância em sequestrar radicais livres (PRADO, 2009).

O método foi proposto inicialmente por Brand-Williams e colaboradores (1995), e fornece uma maneira fácil e rápida de avaliar a atividade antiradicalar dos antioxidantes. A eficiência antioxidante é medida à temperatura ambiente, eliminando assim, o risco de degradação térmica das moléculas testadas. O método tem como base a transferência de elétrons, uma vez que, na presença de um composto doador de hidrogênio ou elétron, o radical DPPH é reduzido, ocasionando a perda da coloração violeta. Assim como no método ABTS, a redução do radical é avaliada pelo decréscimo da absorvância (BONDET, BRAND-WILLIAMS e BERSSET, 1997; MOLYNEUX, 2004; PRADO, 2009; SUCUPIRA, 2012).

#### **1.5 Estabilidade dos compostos fenólicos**

Os compostos fenólicos, largamente distribuídos na natureza, constituem um grupo de extrema importância dentro da categoria de interruptores de radicais livres, auxiliando de forma muito eficiente nos processos de oxidação que ocorrem no organismo, conseqüentemente, atuam na inibição de mutagênese e carcinogênese, prevenindo diversas doenças crônicas e degenerativas (NICHENAMETLA et al., 2006; ANGELO e JORGE, 2007).

Os compostos fenólicos , quando presentes em plantas, frutas e vegetais são considerados estáveis e bioativos, no entanto após sofrerem processo de extração estão propensos à degradação, o que torna sua utilização um desafio (JIA, DUMONT E ORSAT, 2016).

Os flavonóides, constituintes do maior grupo de compostos fenólicos, são responsáveis pela coloração das flores e frutos, principalmente nas tonalidades de amarelo. A quercetina, composto pertencente à classe dos flavonóides, é sensível a degradação quando submetida a tratamentos térmicos, exposição à luz e oxigênio (ZUANAZZI e MONTANHA, 2003; ROCKENBACH, 2008, ACEITUNO-MEDINA et al., 2015).

As antocianinas, flavonóides responsáveis pela coloração azul, violeta e tonalidades de vermelho que aparecem em flores, frutos, algumas folhas, caules e raízes de plantas, uma vez extraídas são instáveis quando expostas a condições de pH elevado, presença de oxigênio, tratamento térmico, exposição à luz ultravioleta, presença de íons metálicos ou enzimas específicas (VINSON et al., 1999; BETZ e KULOZIK, 2011; FLORES, SINGH e KONG, 2014).

O processamento e aplicação dos compostos fenólicos se torna uma tarefa difícil, uma vez que, não somente os compostos já citados, mas a classe em sua grande maioria é altamente suscetível à degradação quando submetida a condições como calor, pH extremo, presença de oxigênio, exposição a luz, enzimas e íons metálicos. Vários estudos são realizados visando aumentar a estabilidade desses compostos, propiciando sua aplicação muitos autores utilizam da técnica de encapsulação dos compostos para evitar sua degradação, JIA, DUMONT E ORSAT (2016) utilizaram de matriz proteica proveniente de plantas para encapsular esses compostos. Dentro da técnica de encapsulação destaca-se a microencapsulação, também muito utilizada atualmente por permitir ampla aplicação (CAMPOS et. al. 2008; BARRETO, 2008).

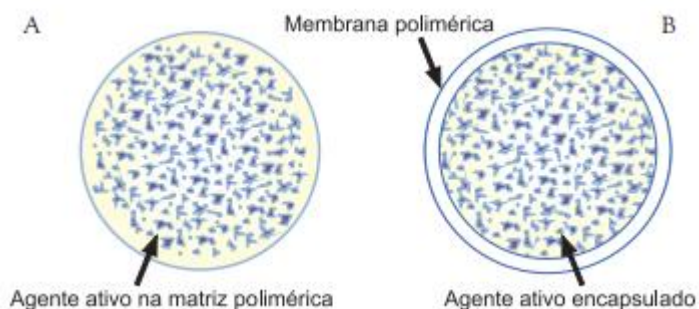
## **1.6 Microencapsulação**

A técnica de microencapsulação surgiu há algumas décadas, sua aplicação data de 1930, no entanto somente em 1954 uma empresa norte-americana foi capaz de produzir o primeiro material microencapsulado, um papel de cópia sem carbono.

A técnica apresenta relevante aplicação, sendo utilizada em diversas pesquisas, e amplamente estudada e modificada, sua aplicação é feita em áreas como farmacêutica, cosmética, alimentar e de agro-químicos (RÉ, 2000; BRASILEIRO, 2011).

O conceito de microcápsula surgiu a partir da idealização do modelo celular, nesse modelo, ao mesmo tempo em que a membrana protege o citoplasma e outros constituintes, é capaz de exercer outras funções como regulação da entrada e saída de material da célula. Na microcápsula o processo é semelhante, uma vez que, consiste em um camada de um agente encapsulante, normalmente utiliza-se um material polimérico, que isola a substância ativa, evitando assim sua exposição. Quando submetida a condições específicas, a membrana se desfaz liberando seu conteúdo no momento, na velocidade e no local adequado (RÉ, 2000; SUAVE et al., 2006).

O termo microencapsulação é considerado abrangente, uma vez que, propicia a obtenção de diferentes produtos, como micropartículas, microesferas, microcápsulas e aprisionamento de substâncias ativas, estas diferem entre si quanto à distribuição do ativo na matriz encapsulante. Nas microcápsulas o ativo se encontra concentrado próximo ao centro, envolvido por filme contínuo e definido do material da parede; na microesfera o ativo se encontra distribuído de forma uniforme na matriz; o termo micropartícula pode ser aplicado em ambas as situações, quando se trata somente das partículas sem o princípio ativo a ser englobado. O tipo de distribuição do núcleo também pode variar dependendo da técnica de microencapsulação utilizada (POTHAKAMURY e BARBOSA-CÁNOVAS, 1995; ZELLER, SALEEB e LUDESCHER, 1999; BARRETO, 2008).



**Figura 2.** (A) Microesfera – o agente ativo está distribuído em uma matriz polimérica; (B) Microcápsula – o agente ativo está envolvido pelo agente encapsulante (polímero) (SUAVE et al., 2006).

O tamanho e a forma das micropartículas pode variar de 1 - 1.000  $\mu\text{m}$ , dependendo do método e agente encapsulante utilizado para produzi-las. A técnica pode ser aplicada nos mais variados setores, com diversos propósitos, entre eles, estabilizar a substância a ser encapsulada, evitando assim degradação por fatores externos; otimizar formulações no que se refere à modulação da liberação da substância; diminuição da toxicidade do composto bioativo; aumentar o tempo de conservação; controlar a biodisponibilidade; entre outros. Vale ressaltar que a técnica apresenta também limitações, como por exemplo, dificuldade na escolha do método e do material encapsulante a ser utilizado, uma vez que, não existe um método e uma agente encapsulante que se adapte a todas as substâncias (DEPYPERE et al., 2003; FÁVARO-TRINDADE, PINHO e ROCHA, 2008; VENKATESAN et al., 2009).

Diversos métodos podem ser utilizados para microencapsulação, sendo que, a escolha varia em função da aplicação a qual será destinada, do mecanismo de liberação, tamanho desejado e das propriedades físico-químicas do agente encapsulante e da substância ativa. Os métodos subdividem-se em químicos, físicos e físico-químicos. Como exemplos de métodos químicos encontram-se: inclusão molecular e polimerização interfacial; métodos físicos: spray drying, spray cooling, pulverização em banho térmico, leiteo fluidizado, extrusão centrífuga com múltiplos orifícios, cocristalização e liofilização; métodos físico-químicos: coacervação ou separação de fases, emulsificação seguida de evaporação do solvente, pulverização em agente formador de reticulação e envolvimento lipossômico (JACKSON e LEE, 1991; SANTOS et al., 2000; SUAVE et al., 2006; BANSODE et al., 2010; BRASILEIRO, 2011).

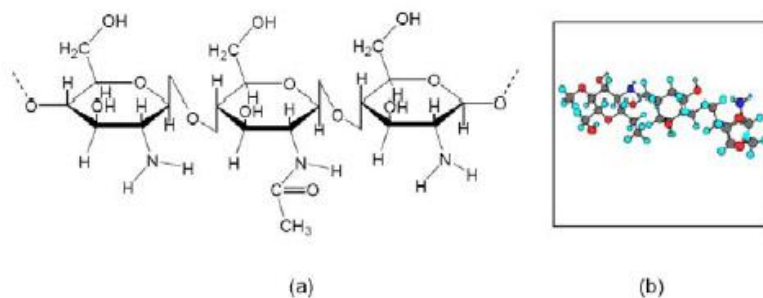
A escolha correta do material encapsulante é de extrema importância, pois influencia na eficiência de encapsulação e na estabilidade da microcápsula. O material ideal deve apresentar as seguintes características: não interagir com a substância a ser encapsulada; ser capaz de selar e mantê-la no interior da microcápsula; possuir a habilidade de proporcionar o máximo de proteção frente a condições adversas, como luz, oxigênio, pH; apresentar baixa viscosidade em concentrações elevadas; ser de fácil manipulação durante o processo; liberar completamente o solvente ou outros materiais utilizados para a encapsulação;

apresentar solubilidade mediante os solventes mais utilizados; possuir baixa higroscopicidade, no intuito de evitar aglomerações e facilitar a manipulação; em caso de aplicação em alimentos, não apresentar sabor desagradável e ser viável economicamente (SANTOS et al., 2000; GHARSALLAOUI et al., 2007; NAZZARO et al., 2012; SILVA et al., 2014).

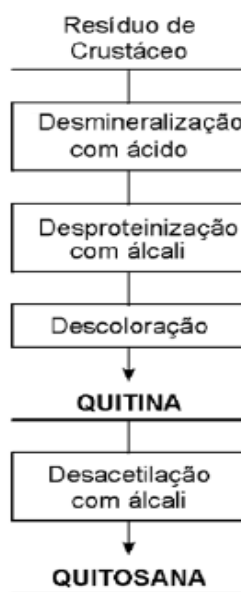
Diversos materiais podem ser utilizados como agentes encapsulantes, destacam-se, gomas: carragena, alginato de sódio, goma arábica; carboidratos: açúcar, xarope de milho, celuloses, amido, dextrinas; quitosana: fonte alternativa extraída da casca de crustáceos; poliésteres naturais: poli(hidroxicanoatos), tais como poli(3-hidroxi butirato) P(3HB), poli(3-hidroxi valerato) P(3HV) e seus copolímeros; polímeros sintéticos: poli(D, L-ácido láctico) (PDLA), poliacrilatos, copolímeros de polietilenoco-propileno, poli( $\epsilon$ -caprolactona) (PCL); lipídeos: cera, parafina, triestearina, ácido esteárico, monoglicerídeos e diglicerídeos, óleos e gorduras hidrogenadas; proteínas: glúten, caseína, gelatina, albumina. Ressalta-se a quitosana como material de revestimento polimérico (SUAVE et al., 2006).

### 1.7 Quitosana

A quitosana é obtida pela reação de desacetilação da quitina em meio alcalino. A quitina por sua vez, é o segundo polissacarídeo mais abundante na natureza, consiste em um polímero natural extraído do exoesqueleto de crustáceos, podendo ser encontrado também na parede celular de alguns fungos e cutículas de insetos. Apresenta uma estrutura altamente organizada e baixa reatividade química, é um polímero insolúvel em meio aquoso e na maioria dos solventes orgânicos, sendo este último um fator limitante para sua utilização (MUZZARELLI, 1975; LARANJEIRA e FÁVERE, 2009).



**Figura 3.** Estrutura linear (a) e tridimensional da quitosana (b) (TORRES, 2006)



**Figura 4.** Esquema simplificado do processo de obtenção da quitina e quitosana (Braek et al., 1989)

O grau de desacetilação e conteúdo de impurezas da quitosana dependem diretamente das fontes naturais da matéria-prima e dos métodos de preparação, logo a extração deve ser feita de modo adequado, a fim de garantir alto grau de pureza e isenção da presença de contaminantes como metais tóxicos, endotoxinas e proteínas (KHOR, 2002).

A principal limitação da aplicação da quitosana é a baixa hidrossolubilidade, no entanto, alterações podem ser feitas a fim de melhorar sua solubilidade em água, melhorando assim sua aplicação. Inclusive, uma de suas vantagens é poder ser fisicamente modificada, podendo ser preparada de variadas formas como pós, membranas, microesferas, fibras, colméias, esponjas e nanopartículas. Vale ressaltar que a quitosana, diferentemente da quitina, apresenta solubilidade em soluções ácidas (LARANJEIRA e FÁVERE, 2009).

A utilização da quitosana como matriz de micropartículas deve-se também ao fato de não apresentar toxicidade e ser biodegradável. Sua aplicação em microcápsulas atende aos mais variados setores, como, setor alimentício, no intuito de reter compostos voláteis, proteger ingredientes de perdas nutricionais, preservar ou mascarar sabores; no setor agropecuário, utiliza-se no envolvimento de pesticidas químicos, reduzindo a toxicidade e contaminação ambiental; no setor médico-farmacêutico, com objetivo de mascarar sabor e odor de medicamentos e aumentar a resistência de materiais sensíveis a condições adversas; no setor

cosmético, com a finalidade preservar e proteger substâncias suscetíveis a degradação por fatores externos para aplicação em formulações; no setor têxtil, podem ser usadas para aplicação de fragrâncias duráveis e conferir maciez (FREDERIKSEN, KRISTENSEN e PEDERSEN, 2003; GOUIN, 2004; BARRETO, 2008).



## 2. JUSTIFICATIVA

O cerrado é um bioma brasileiro considerado um dos mais extensos e diversificados, apresenta ampla variedade de frutas nativas e exóticas consideradas inexploradas, que possuem características sensoriais únicas e concentrações elevadas de nutrientes. Dentre essas frutas, destaca-se a seriguela (*Spondias purpurea L*) (ALMEIDA et al., 2011). Além da importância nutricional e comercial, muitas dessas frutas apresentam em sua composição compostos chamados bioativos, que por sua vez, são capazes de auxiliar em processos no organismo, atuando como antioxidantes e conseqüentemente na prevenção de diversas doenças (ALVES, BRITO, RUFINO e SAMPAIO, 2008). Diante disso, visa-se a necessidade e importância da realização de estudos com objetivo de se conhecer melhor sua composição e benefícios.

Uma vez avaliada a composição e constatada a presença dos compostos fenólicos na seriguela, encontra-se dificuldade na utilização e aplicação desses compostos devido à sua instabilidade frente a condições de processamento como presença de luz, oxigênio, íons metálicos, entre outras (CAMPOS et. al. 2008). Por essa razão, destaca-se a relevância da utilização de técnicas, como a microencapsulação. Com o objetivo de promover proteção a esses compostos, possibilitando assim aumento da estabilidade e conseqüentemente possibilitando sua aplicação em formulações.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 Geral**

Microencapsular, caracterizar e avaliar a atividade antioxidante de compostos bioativos provenientes de cascas de seriguela (*Spondias purpurea L.*).

#### **3.2 Específicos**

- Elaborar o extrato a partir da casca da seriguela (*Spondias purpurea L.*);
- Microencapsular o extrato obtido a partir das cascas de seriguela;
- Avaliar as características físico-químicas das micropartículas;
- Avaliar a eficiência da encapsulação;
- Avaliar o conteúdo de polifenóis totais, bem como da atividade antioxidante dos compostos presentes nas microcápsulas;
- Avaliar a estabilidade das microcápsulas nos períodos de 1, 7, 14, 30 e 60 dias após a elaboração, quanto ao conteúdo de polifenóis totais.

## **4. MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1 Coleta**

A coleta foi conduzida em uma propriedade situada na unidade distrital de Planaltina. A área enquadra-se no bioma Cerrado, com solo caracterizado como Latossolo Vermelho-Escuro, textura muito argilosa, em relevo praticamente plano, sob Cerrado Ralo. As amostras de seriguela foram coletadas quando os frutos estavam prontos para a colheita, respeitando os períodos de maturação.

### **4.2 Reagentes**

Os reagentes utilizados foram de padrão analítico: metanol, etanol absoluto, ácido acético, carbonato de sódio, reagente de Folin Ciocalteau, ABTS e DPPH.

### **4.3 Elaboração do extrato de seriguela**

Para elaboração do extrato foram utilizadas cascas de seriguela, baseado em metodologia descrita por Lees e Francis (1972), com adaptações. Foi adicionada solução extratora de metanol (500 ml) às cascas de seriguela (200 g) e colocados para maceração durante 7 dias sob refrigeração e ao abrigo da luz. Após este período a solução foi filtrada e armazenada em frasco âmbar, sob refrigeração.

Para análises de estabilidade, o extrato inicial foi liofilizado (Liofilizador Liotop, modelo L101).

### **4.4 Obtenção de micropartículas de quitosana contendo extrato de Seriguela (MP)**

Segundo método de Gelfuso (2009) com adaptações, foram obtidas micropartículas de quitosana de médio peso molecular (Aldrich) contendo extrato metanólico de seriguela, as micropartículas foram produzidas por meio de *spray drying*. A quitosana foi dissolvida em solução aquosa com 1 % (v / v) de ácido acético e deixada sob agitação em agitador magnético (Logen Scientific, modelo LS

61-220) pelo período de 24 horas, para abrir a micropartícula. O extrato foi incorporado na proporção apresentada na Tabela 1, e a solução final foi submetida ao *spray dryer* (Labmaq, modelo MSD 1.0) em um fluxo de 6 ml / minuto, ajustado de acordo com a viscosidade de cada solução, por um bico atomizador pressurizado de 1,0 mm de diâmetro, com ar de atomização a 30 L / minuto. O fluxo de ar quente de secagem foi utilizado nas taxas descritas na Tabela 1 e a temperatura de entrada do ar foi de 140 °C e de saída do ar foi de ~ 98 °C.

**Tabela 1.** Quantidade de extrato de cascas de seriguela e polímero (quitosana), fluxo de secagem e volume utilizado da solução submetida ao *spray dryer*.

	Quantidade de quitosana (g)	Quantidade de extrato (g/200 ml de extrato)	Proporção extrato/polímero (m/m)	Fluxo de secagem	Volume de solução utilizado (ml)
MP	1	2,77	1:2,77	4,5m <sup>3</sup> /min	800

As partículas foram caracterizadas quanto ao rendimento, eficiência de encapsulação de polifenóis totais e morfologia.

## 4.5 Caracterização das micropartículas

### 4.5.1 Rendimento do processo

Após a obtenção das micropartículas por *spray drying*, as mesmas foram pesadas e o rendimento do processo foi calculado como porcentagem em função da quantidade de sólidos adicionados durante o processo de preparação (PARIKH et al., 2003), segundo a Equação I:

$$R\% = (Q_f \div Q_i) \times 100 \quad \text{(Equação I)}$$

Onde: R% é o rendimento do processo; Q<sub>f</sub> é a quantidade de micropartículas obtidas

no final do processo; e  $Q_i$  é a quantidade de sólidos adicionados durante o processo de preparação.

#### 4.5.2 Eficiência de encapsulação

Para determinação da eficiência de encapsulação avaliou-se a quantidade de polifenóis totais encapsulados nas micropartículas de quitosana. Desta forma, o teor de polifenóis totais nas micropartículas foi obtido por meio do método de Folin-Ciocalteu (SINGLETON e ROSSI, 1965), com adaptações. O teor dos polifenóis totais foi calculado de acordo com uma curva padrão de ácido gálico e os resultados foram expressos em mg de equivalentes de ácido gálico (GAE) por g de MP. As micropartículas foram dispersas em solução aquosa de ácido acético 1% (m/m) sob agitação a 500 rpm durante 24 horas. Alíquotas de 0,2 ml dessa solução foram adicionadas à 3,8 ml de água destilada e em seguida à 0,25 ml de reagente Folin-Ciocalteu. Após 3 minutos, foi adicionado 0,75 ml de solução de carbonato de sódio a 20%. A solução foi agitada em agitador de tubos (Logen Scientific, modelo LSM 56-III) e após 120 minutos sob o abrigo de luz, foram realizadas as leituras das amostras em espectrofotômetro (Hitachi, modelo U-3900H) a 760 nm. Para leitura das amostras, essas foram submetidas a centrifugação durante 10 minutos por 4.000 rpm em uma centrífuga (Hettich Zentrifugen, modelo EBA 20). O sobrenadante foi recolhido para leitura espectrofotométrica, obtendo-se a quantidade encapsulada de polifenóis totais expressa em mg de equivalentes de ácido gálico (GAE) por g de MP ( $Q_{obtida}$ ). A eficiência de encapsulação foi calculada a partir da Equação II:

$$EE\% = (Q_{obtida} \div Q_{teórica}) \times 100 \quad (\text{Equação II})$$

Onde: EE% é a eficiência de encapsulação de polifenóis totais na micropartícula;  $Q_{obtida}$  é a quantidade de polifenóis totais extraídos das micropartículas de quitosana; e  $Q_{teórica}$  é a quantidade de polifenóis totais teoricamente estaria presente nas micropartículas, de acordo com a quantidade de extrato utilizada.

#### 4.5.3 Distribuição do tamanho das partículas

A distribuição de tamanho das micropartículas foi determinada por espalhamento de luz dinâmico. Para isso, utilizou-se aproximadamente 5 mg das micropartículas suspensas em 2 ml de etanol e estas suspensões foram levadas ao aparelho Zetasizer Nano (Modelo ZS, Marca: Malvern Co.) para análise.

#### **4.5.4 Morfologia**

Para análise da morfologia das micropartículas foi utilizado microscópio eletrônico de varredura (MEV). A amostra foi previamente metalizada com ouro e analisada no MEV (modelo MEV JOEL, JSM-7000 IF).

#### **4.5.5 Potencial Zeta**

Aproximadamente 5 mg de micropartículas foi suspenso em solvente etanol e o potencial zeta foi determinado com o auxílio de um Zetasizer Nano (Modelo ZS, Marca: Malvern Co.).

#### **4.6 Avaliação da estabilidade das micropartículas**

As micropartículas foram avaliadas em relação à sua estabilidade nos períodos de 1, 7, 15, 30 e 60 dias após a elaboração, quanto ao conteúdo de polifenóis totais (PARONETTO, 1977).

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Caracterização das micropartículas

#### 5.1.1 Rendimento do processo

O rendimento do processo de obtenção das micropartículas foi calculado segundo a equação I e está representado na Tabela 2. O processo resultou em rendimento igual a 16,99%. Sendo que, durante o processo de secagem da solução final de quitosana com o extrato de seriguela no *spray drying*, observou-se que parte da solução permaneceu aderida ao longo do equipamento. Uma possível explicação segundo Ji, Ding, Yang (2009) é embasada em uma das propriedades da quitosana, que é sua capacidade de formar um filme com muita facilidade, quando seca em superfície lisa. O rendimento do processo de secagem obtido se encontra inferior aos valores de rendimento já descritos na literatura. Estevinho, Ramos e Rocha (2015) avaliaram o efeito do pH em micropartículas de quitosana para encapsulação de  $\beta$ -galactosidase produzidas por *spray drying* e obtiveram média de rendimento de 30%, segundo os autores esse baixo rendimento pode ser atribuído à baixa temperatura de entrada utilizada (115 °C). Erdinc e Neufeld (2011) desenvolveram micro e nanopartículas de proteína utilizando matriz de glicol-quitosana, cálcio e alginato, neste trabalho eles avaliaram a influência de diferentes temperaturas de entrada (125, 150, 175 °C) no rendimento do processo e na porcentagem de resíduos final, e observaram que quanto menor a temperatura utilizada, menor o rendimento e maior a porcentagem de resíduos. Sendo assim, a temperatura de entrada utilizada neste trabalho de 140 °C pode ter influenciado também no baixo rendimento. Em baixas temperaturas observou-se deposição de partículas em partes do equipamento (cilindro e ciclone), ocasionando diminuição do rendimento. Além disso, como as partículas formadas são muito pequenas, a eficiência do ciclone em separá-las decresce, causando a aspiração de algumas delas que deixam o *spray drying* pela saída de ar. Pereira et al. (2015) produziram micropartículas de quitosana contendo acetato de  $\alpha$ -tocoferol por método *spray drying* e obtiveram rendimento global de cerca de 50%, esse valor foi atribuído também à adesão da amostra à câmara de secagem. Reis (2016) elaborou micropartículas a partir do

extrato de jabuticaba utilizando quitosana, em diferentes proporções, e obteve rendimento de aproximadamente 30 a 40%. Em produção industrial, a utilização de volumes de sólidos maiores tem a capacidade de proporcionar melhor rendimento (GELFUSO, 2011).

**Tabela 2.** Rendimento e eficiência de encapsulação do processo de obtenção de micropartículas contendo extrato de seriguela

	Proporção Polímero:Extrato	Rendimento (%)	EE (%)
MP	1:2,77	16,99	5,78 ± 0,23

### 5.1.2 Eficiência de encapsulação

A eficiência de encapsulação é representada pela porcentagem do agente que a micropartícula é capaz de encapsular. Neste trabalho, a eficiência da microencapsulação foi avaliada através da quantificação do teor de polifenóis totais, haja visto que, uma das características da seriguela é a presença desses compostos em quantidade elevada. Assim sendo, considerou-se a quantidade de extrato encapsulado equivalente a quantidade de polifenóis totais encapsulados. Obteve-se a eficiência de encapsulação através da razão entre o teor de polifenóis totais encontrado nas micropartículas poliméricas e o teor de polifenóis totais teóricos presentes na mesma quantidade de micropartículas. O resultado obtido encontra-se representado na Tabela 2. A eficiência de encapsulação foi igual a 5,78%. O baixo valor obtido é coerente, uma vez que, o rendimento também foi baixo e o extrato contém alto teor de polifenóis. Ozório (2007) e Higuera et al. (2004) elaboraram e caracterizaram micropartículas de astaxantina com quitosana e obtiveram eficiência de encapsulação de 14,49% e 11,25%, respectivamente. A baixa eficiência, em ambos os casos, foi atribuída à concentração de quitosana na solução aquosa utilizada. Concentrações superiores a 1,6% aumentam a resistência da membrana polimérica aumentando a estabilidade da emulsão, por outro lado, dificulta o processo de encapsulação (FÉLIX, 2009).



### 5.1.3 Distribuição de tamanho das micropartículas

O diâmetro médio obtido para as micropartículas de quitosana contendo extrato de seriguela foi feito em equipamento Zetasizer Nano e está representado na Tabela 3.

O valor obtido de  $4,28 \pm 0,51$ , condiz com os valores já relatados na literatura. Gelfuso (2009) produziu micropartículas de quitosana contendo minoxidil e obteve valores entre 2,51 a 4,34.

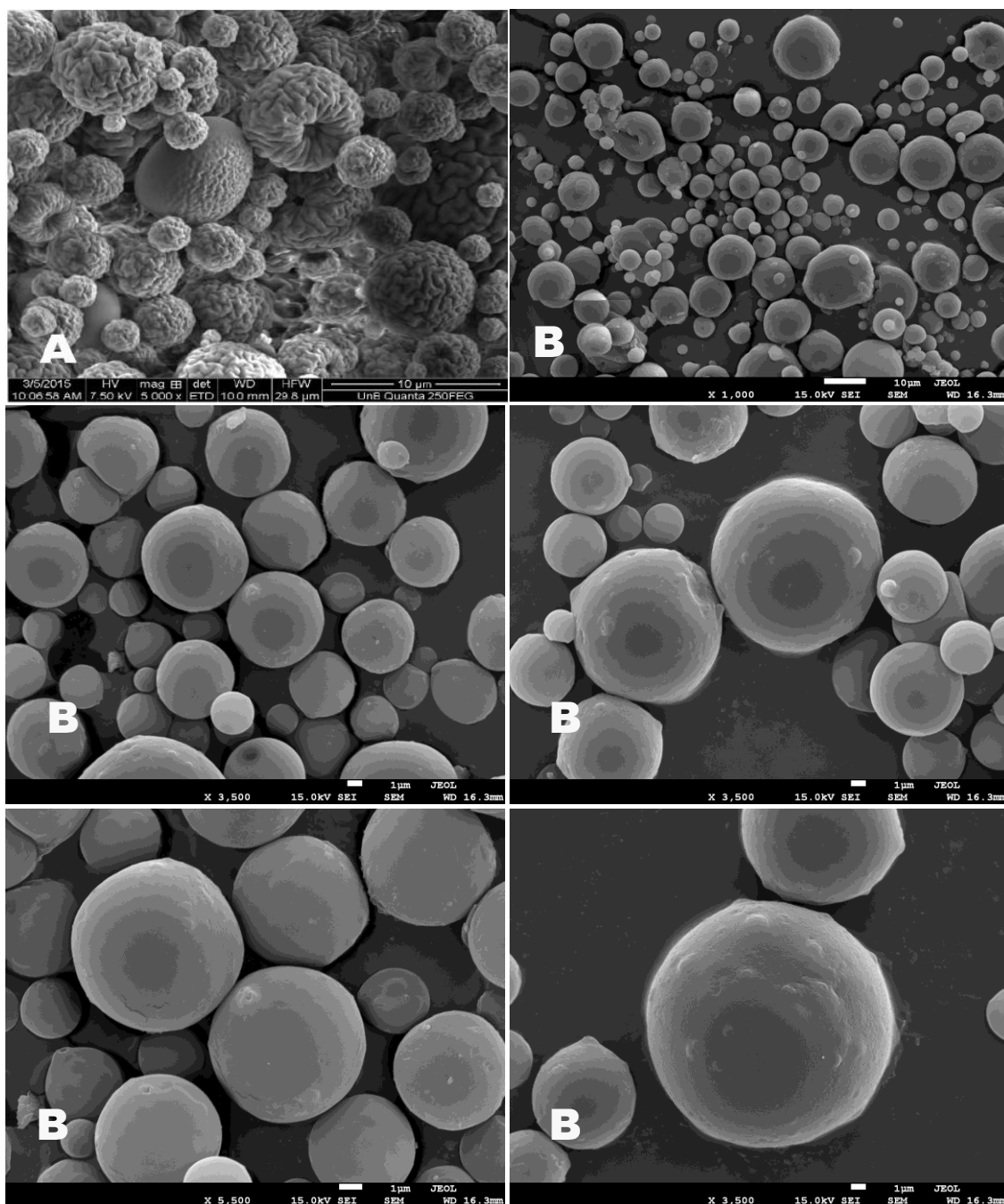
**Tabela 3.** Diâmetro médio e potencial zeta das micropartículas contendo extrato de seriguela

	Proporção Quitosana:Extrato líquido (m/m)	Quantidade de Quitosana (g)	Diâmetro médio de partícula ( $\mu\text{m}$ )	Potencial Zeta (mV)
MP	1:2,77	1	$4,28 \pm 0,51$	$+27,84 \pm 5,26$

### 5.1.4 Morfologia das partículas

A Figura 4 apresenta as micrografias das micropartículas de quitosana vazia (A) e contendo o extrato de seriguela (B). A partir das fotos, é possível observar que a micropartícula de quitosana vazia apresenta formato esférico e superfície bastante rugosa, enquanto que, as micropartículas contendo extrato apresentaram forma esférica bem definida, não há presença de poros ou falhas, sendo sua superfície lisa, sugerindo boa interação entre o extrato e a quitosana. Lourenço (2006) produziu micropartículas de quitosana para veiculação de dimetilaminoetanol (DMAE) na pele, e ao observar as micropartículas por microscopia eletrônica de varredura, obteve partículas de forma esférica, superfície lisa e ausência de agregados, Pereira et al. (2015) prepararam micropartículas de quitosana contendo  $\alpha$ -tocoferol e observaram também formato esférico, porém superfície rugosa.

Estevinho, Ramos e Rocha (2015) produziram micropartículas de quitosana contendo  $\beta$ -galactosidase e obtiveram partículas de superfície lisa e formato regular.



**Figura 5.** Fotomicrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura em aumentos de 1.000 a 5.500 vezes para as micropartículas de seriguela.

### 5.1.5 Potencial zeta

O valor de potencial zeta obtido para as micropartículas, representado na tabela 3, foi de + 27,84 ( $\pm 5,26$ ) mV. A carga positiva observada é coerente com as características da quitosana, um polímero catiônico natural. A presença destas cargas positivas conferem algumas propriedades e agregam vantagens na utilização de micropartículas feitas à partir de quitosana. Dentre estas vantagens ressalta-se a capacidade de evitar aglomeração das micropartículas, o que pode dificultar penetração na pele. Outra propriedade pode ainda ser destacada, que é o uso da quitosana como auxiliar na redução de peso e tratamento de obesidade, uma vez que, devido à alta densidade de cargas positivas do polímero, a quitosana se liga aos ânions dos ácidos graxos impedindo sua absorção pelo organismo (FELT et al., 2001; GELFUSO, 2009; BEZERRA, 2011).

### 5.2 Avaliação da atividade antioxidante e teor de polifenóis totais das micropartículas

**Tabela 4.** Teor de polifenóis totais e atividade antioxidante sobre DPPH e ABTS das micropartículas de quitosana contendo extrato de seriguela

	Proporção polímero/ extrato (m/m)	Atividade antioxidante sobre DPPH Eq em trolox/100 g MP	Atividade antioxidante sobre ABTS Eq em trolox ( $\mu$ M)/ g MP	Teor de Polifenóis Totais mg GAE/mg MP
MP	1:2,77	616,61 $\pm$ 7,20	120,81 $\pm$ 0,59	11,99 $\pm$ 0,52

A Tabela 4 representa os valores obtidos para caracterização das micropartículas. A partir dos resultados observa-se que as micropartículas analisadas apresentaram atividade antioxidante tanto para o método DPPH, quanto para o ABTS, sendo o método DPPH o que apresentou melhor resposta para avaliação da atividade antioxidante. O teor de polifenóis totais foi satisfatório. Reis (2016) avaliou teor de polifenóis totais para micropartículas contendo extrato de

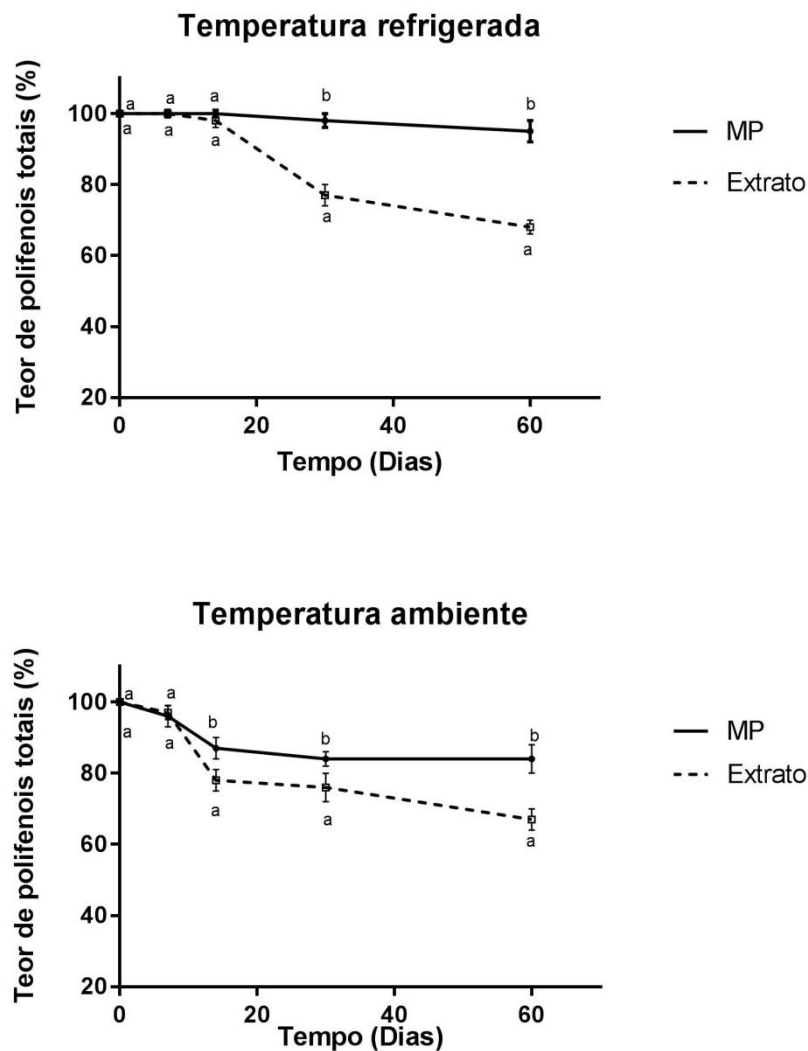
jabuticaba e obteve teores de 13,82 e 14,71 mg GAE/mg MP. Lima (2014) produziu micropartículas contendo óleo de bacuri e em sua caracterização obteve valor para atividade antioxidante de 114,84  $\mu$ M trolox/g microcápsula, utilizando método ABTS, valor este próximo ao encontrado para as micropartículas contendo extrato de seriguela.

### **5.3 Estabilidade**

Estudos de estabilidade são realizados, de forma geral, com o objetivo de garantir a integridade do composto de interesse, frente à fatores ambientais em função do tempo. As micropartículas elaboradas contendo o extrato de seriguela foram submetidas à três condições distintas e tiveram seu teor de polifenóis avaliado no dia 0, 7, 14, 30 e 60, a partir da data de elaboração. Os resultados obtidos estão representados na Figura 5.

No período mencionado, avaliou-se a estabilidade das micropartículas e do extrato de seriguela liofilizado, frente à temperatura ambiente ( $\sim 25$  °C), temperatura refrigerada ( $\sim 2$  a  $6$  °C).

Durante o período de 60 dias, em temperatura refrigerada, as micropartículas só iniciaram a perda de polifenóis totais após 30 dias, em aproximadamente 2%, e ao final do período apresentaram 95% do teor inicial, enquanto o extrato liofilizado iniciou a perda em 14 dias, totalizando ao final do período redução de aproximadamente 30% do teor inicial. Reis (2016) produziu micropartículas a partir de extrato etanólico de cascas de jabuticaba e obteve resultados semelhantes apresentando 97% do teor de polifenóis inicial, com início da redução em 30 dias.



**Figura 6.** Teor de polifenóis totais (%) de micropartículas contendo extrato de seriguela submetidas à diferentes condições de temperatura durante 60 dias.

\* a, b, e - Letras diferentes entre as mesmas análises representam diferença estatística significativa com nível de significância de 5% (Teste de Tukey)

Em temperatura ambiente, observou-se maior degradação dos polifenóis em relação à temperatura refrigerada, mas ainda assim, as micropartículas foram capazes de reter maior teor de polifenóis. Em 60 dias a capacidade de retenção dos compostos foi de cerca de 85%, enquanto para o extrato liofilizado foi de cerca de 60%. Nas temperaturas refrigerada e ambiente, observa-se que após o período de 60 dias não foram observadas diferenças estatisticamente significativas de acordo com o teste de Tukey ( $p > 0,05$ ) para o teor de polifenóis totais.

Silva (2013) microencapsulou extrato aquoso de pequi por método *spray drying* e avaliou a estabilidade da retenção de polifenóis por 49 dias, ao término do

período observou retenção dos compostos na ordem de 67 a 72%, valores semelhantes aos encontrados neste estudo.

Ao término do estudo de estabilidade, observou-se que as micropartículas submetidas à temperatura refrigerada e ambiente preservaram de forma mais eficiente o conteúdo de polifenóis totais, quando comparadas ao extrato liofilizado. Evidenciando assim que, o uso dessas micropartículas é uma ferramenta eficiente como proteção aos compostos fenólicos, possibilitando sua aplicação nas mais diversas áreas.

## **6. CONCLUSÃO**

As micropartículas contendo extrato metanólico de seriguela obtidas por método *spray drying* utilizando quitosana como polímero, apresentaram rendimento equivalente a 16,99% e eficiência de encapsulação de 5,78%. O diâmetro médio encontrado foi de 4,28  $\mu\text{m}$  e o potencial zeta foi igual + 27,84 mV. A morfologia obtida foi de uma partícula lisa, com formato esférico definido. Através dos estudos de estabilidade feitos, com o objetivo de avaliar o teor de polifenóis em função do tempo, foi possível observar que a temperatura refrigerada (~2 a 4 °C) e ambiente (25 °C) preservaram o teor de polifenóis de forma significativa durante o período de 60 dias, conseqüentemente melhorando a estabilidade desses compostos, possibilitando assim sua aplicação.

## **7. PERSPECTIVAS**

Uma vez que o objetivo proposto de produzir micropartículas contendo extrato de seriguela que fossem capazes de garantir a estabilidade dos polifenóis no período de 60 dias, foi alcançado. Espera-se que, este trabalho contribua em estudos que visem sua aplicação.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACEITUNO-MEDINA, M., MENDOZA, S., RODRIGUEZ, B. A., LAGARON, J. M., & LOPEZ-RUBIO, A. Improved antioxidant capacity of quercetin and ferulic acid during in-vitro digestion through encapsulation within food-grade electrospun fibers. **Journal of Functional Foods**, 12, 332-341, 2015.

ALMEIDA, M. M. B., SOUZA, P. H. M., ARRIAGA, A. M. C., PRADO, G. M. P., MAGALHÃES, C. E. C., MAIS, G. A. M., ET AL. (2011). Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh exotic fruits from northeastern Brazil. **Food Research International**, vol. 44, p. 2155–2159, 2011.

ALVES, R. E., BRITO, E. A., RUFINO, M. S. M., & SAMPAIO, C. G. Antioxidant activity measurement in tropical fruits: A case study with acerola. **Acta Horticulturae**, vol. 773, p. 299–305, 2008.

ANGELO, P.M, JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, vol. 66, n.1, p. 232-240, 2007.

AUGUSTO, P. E. D.; CRISTIANINI, M.; IBARZ, A. Effect of temperature on dynamic and steady-state shear rheological properties of siriguela (*Spondias purpurea* L.) pulp. **Journal of Food Engineering**, v. 108, p. 283–289, 2012.

BANSODE, S.S.;BANARJEE, S. K.; GAIKWAD, D. D.; JADHAV, S. L.; THORAT, R. M. Microencapsulation: a review. **International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research**, v. 1, n. 2, p. 28-43, 2010.

BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. P.; DAVID, J. M. **Química Nova**, v. 29, n. 1, p. 113-123, 2006.

BATISTA, M. S. H.; O Papel dos Fitoquímicos na Quimioprevenção do Cancro. Monografia. **Faculdade de Ciências da nutrição e alimentação**. Universidade do Porto, 2010.

BETZ, M., & KULOZIK, U. Microencapsulation of bioactive bilberry anthocyanins by means of whey protein gels. **11th International Congress on Engineering and Food**, v. 1, p. 2047-2056, 2011.

BEUCHLE, R.; GRECCHI, R. C.; SHIMABUKURO, Y. E.; ROMAN SELIGER, R.; EVA, H. D.; SANO, E.; ACHARD, F. Land cover changes in the Brazilian Cerrado and Caatinga biomes from 1990 to 2010 based on a systematic remote sensing sampling approach. **Applied Geography**. v. 58, p. 116-127, 2015.

BEZERRA, A. M. Síntese e avaliações físico-químicas e biológicas de derivados de quitosana de alta e baixa massa molecular. São Paulo, 2011. (Tese de Mestrado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas, USP.

BICAS, J. L.; MOLINA, G.; DIONISIO, A. P.; BARROS, F. F. C.; WAGNER, R.; MAROSTICA JR. M. R.; PASTORE, G. M. Volatile constituents of exotic fruits from Brazil. **Food Research International**, v. 44, p. 1843–1855, 2011.

BONDET, V.; BRAND-WILLIAMS W.; BERSET C. Kinetics and Mechanisms of Antioxidant Activity using the DPPH<sup>•</sup> Free Radical Method. **Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie**, v. 30, n. 6, p. 609–615, 1997.

BRAEK, S., ANTHONSEN, T., SANDFORD, P. Chitin and Chitosan. **Elsevier: London**, 835p, 1989.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie**, v. 28, p. 25-30, 1995.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie**, v. 28, p. 25-30, 1995.



BRASILEIRO, J. S. L.; **Microencapsulação de compostos bioativos: inovação em diferentes áreas.** 71 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas, Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2011.

CAMPOS, F. M.; MARTINO, H. S. D.; SABARENSE, C. M.; PINHEIRO-SANT'ANA, H. M. **Estabilidade de compostos antioxidantes em hortaliças processadas: uma revisão.** Alim. Nutr. v.19, n.4, p. 481-490, out./dez. Araraquara, 2008.

COUTINHO, L. M. Aspectos ecológicos do fogo no cerrado. As queimadas e a dispersão de sementes em algumas espécies anemocóricas do estrato herbáceo subarbustivo. **Bol. Botânica Univ. S. Paulo S**, p. 57 – 64, 1977.

DEGÁSPARI, C.H.; WASZCZYNSKYJ, N. Propriedades antioxidantes de compostos fenólicos. **Visão Acadêmica**, v.5, n.1, p.33-40, 2004.

DEPYPERE, F. DEWQTTINCK, K.; RONSSE, F. PIETERS, J. G. Food powder microencapsulation: principles, problems and opportunities. **Applied Biotechnology Food Science and Policy**, v. 1, n. 2, p. 75 - 94, 2003.

DIAS, L.E.; VENEGAS, V.H.A. Introdução à fertilidade do solo. Apostila da disciplina SOL 375-Fertilidade do Solo, **Departamento de Solos da UFV**, v. 1, p.10-28., 1996.

DIAZ-PEREZ J. C.; ZAVALETE R.; BAUTISTA S.; SEBASTIAN V.; Cambios fisico-químicos de ciruela mexicana (*Spondias purpurea* L.) cosechada en los diferentes estados de madurez. **Revista Iberoamericana de Tecnología Poscosecha**, v. 1, p. 22-25, 1998.

ENGELS, C.; GRÄTER, D.; ESQUIVEL, P.; JIMÉNEZ, V. M.; GÄNZLE, M. G.; SCHIEBER, A. Characterization of phenolic compounds in jocote (*Spondias purpurea* L.) peels by ultra high-performance liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry. **Food Research International**, v. 46, p. 557–562, 2012.

ERDINC, B.; NEUFELD, R. J. Protein micro and nanoencapsulation within glycol-chitosan/  $\text{Ca}^{2+}$ /alginate matrix by spray drying. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 37, n. 6, p. 619-27, 2011.

ESTEVINHO, B. N.; RAMOS, I.; ROCHA, F. Effect of the pH in the formation of  $\beta$  - galactosidase microparticles produced by a spray-drying process. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 78, p. 238-42, 2015.

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

FELIX, V. L. Extracción supercrítica de astaxantina de biodesechos de jaiba (*Callinectes sapidus*) con  $\text{CO}_2$ /etanol y su microencapsulado con quitosano. Tesis de maestría. Centro de investigación em alimentación y desarrollo, A. C. Hermosillo, Sonora, México, 1999.

FELT, O.; R. GURNEY, R.; BURI, P.; BAEYENS, V. Delivery of Antibiotics to the Eye Using a Positively Charged Polysaccharide as Vehicle, **AAPS PharmSci**. v. 3, n. 4, p. 87–93, 2001.

FLORES, F. P., SINGH, R. K., & KONG, F. B. Physical and storage properties of spray-dried blueberry pomace extract with whey protein isolate as wall material. **Journal of Food Engineering**, v. 137, p. 1-6, 2014.

FREDERIKSEN, H.K., KRISTENSEN, G.H., PEDERSEN, M. Solid lipid microparticle formulations of the pyrethroid gamma-cyhalothrin - Incompatibility of the lipid and the pyrethroid and biological properties of the formulations. **Journal of Controlled Release**, v. 86, p. 243-252, 2003

GACHET, M. S., LECARO, J. S., KAISER, M., BRUN, R., NAVARRETE, H., MUÑOZ, R. A., ET AL.; Assessment of anti-protozoal activity of plants traditionally

used in Ecuador in the treatment of leishmaniasis. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 128, p. 184–197, 2010.

GELFUSO, G. M. Desenvolvimento de sistemas de liberação para a administração tópica passiva e iontoforética do minoxidil no tratamento da alopecia androgênica. Ribeirão Preto, 2009. (Tese de Doutorado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, USP.

GELFUSO, G. M., GRATIERI, T., SIMAO, P. S., DE FREITAS, L. A. P., LOPEZ, R. F. V. Chitosan microparticles for sustaining the topical delivery of minoxidil sulphate. **Journal Microencapsulation**, v. 28, n. 7, p. 650-658, 2011.

GHARSALLAOUI, A. et al. Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: an overview. **Food Research International**, v.40, n.9, p.1107-1121, 2007.

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

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C.; CROSS, C. E. Free radicals, antioxidants, and human disease: where are we now? **J Lab Clin Med.**, v. 119, n. 6, p. 598-620, 1992.

HIGUERA, C.; FELIX, L.; ARGUELLES-MONAL, W. M.; GOYCOOLEA, F. M.; Microencapsulation of astaxanthin in a chitosan matrix. **Carbohydrate Polymers**, v. 56, n. 1, p. 41-45, 2004.

JACKSON, L. S.; LEE, K. Microencapsulation and Food Industry. **LWT - Food Science and Technology**, London, v. 24, n. 4, p. 289-297, 1991.

JI, J. J.; DING, Z. J.; YANG, X. L. Preparation and properties of chitosan film as a drug sustained-release system. **West China Journal of Stomatology**, v. 27, n. 3, p. 248-251, 2009.

JIA, Z.; DUMONT, M. J.; ORSAT, V. Encapsulation of phenolic compounds present in plants using protein matrices. **Food Bioscience**, v. 15, n. 1, p. 87 – 104, 2016.

KARAKAYA S. Bioavailability of phenolic compounds. **Crit Rev Food Sci Nutr**, v. 44, n. 6, p. 453-464, 2004.

KATAN, M. B., GRUNDY, S. M., JONES, P., LAW, M., ET AL., Efficacy and safety of plant stanols and sterols in the management of blood cholesterol levels, **Mayo Clinic Proc.**, v. 78, p. 965–978, 2003.

KHOR, E.; Chitin: A biomaterial in waiting. **Current Opinion in Solid State and Materials Science**, v. 6, n. 4, p. 313 - 317, 2002.

KUSKOSKI E. M.; ASUERO A. G.; TRONCOSO A. M.; MANCINI F. J.; FETT R. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante em pulpa de frutos. **Cien Tecnol Aliment.**, Campinas, v. 25, n. 4, p. 726-32, 2005.

LARANJEIRA, M. C. M.; FÁVERE, V. T. **Quitosana: biopolímero funcional com potencial industrial biomédico**. Quím. Nova vol.32 nº3. São Paulo, 2009.

LEE, D. H.; FRANCIS, F. J. Standardization of pigment analyses in cranberries. **HortScience, Stanford**, v.7, n. 1, p.83-84, 1972.

LIMA, A. Caracterização química, avaliação da atividade antioxidante in vitro e in vivo, e identificação dos compostos fenólicos presentes no pequi (caryocar brasiliense, camb.). Tese [Doutorado em Bromatologia] - Universidade de São Paulo; 2008.

LIMA, F. F. Microencapsulação do óleo de bacuri por coacervação complexa: Obtenção, caracterização e avaliação biológica. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental) – Universidade Federal da Grande Dourados. Dourados, MS, 2014.

LIMA, V. L. A. G. DE; GUERRA, N. B. Antocianinas: atividade antioxidante e biodisponibilidade. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 37, p. 121-128, 2003.

LIU, R. H., Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: Mechanism of action, **J. Nutr.**, 134, 3479S– 3485S, 2004.

LOURENÇO, V. A. Desenvolvimento e avaliação de micropartículas de quitosana para a veiculação de dimetilaminoetanol (DMAE) na pele. Ribeirão Preto, 2006. (Tese de Mestrado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, USP.

MANACH C.; HUBERT J.; LLORACH R.; SCALBERT A. The complex links between dietary phytochemicals and human health deciphered by metabolomics. **Mol Nutr Food Res.**; v. 53, n. 10, p. 1303-15, 2009.

MARÇO, P. H.; POPPI, R. J.; SCARMINIO, I. S.; Procedimentos analíticos para identificação de antocianinas presentes em extratos naturais. **Quím. Nova**, v.31, n.5, São Paulo, 2008.

MATTIETTO, R. A., LOPES, A. S., & MENEZES, H. C. (2010). Caracterização física e físicoquímica dos frutos da cajazeira (*Spondias mombin* L.) e de duas polpas obtidas por dois tipos de extrator. **Brazilian Journal of Food Tchnology**, v. 13, p. 156–164, 2010.

MEHTA R. G.; MURILLO G.; NAITHANI R.; PENG X. Cancer chemoprevention by natural products: how far have we come? **Pharm Res.** v. 27, n. 6, p. 950-61, 2010.

MENDONÇA, R., FELFILI, J.M., WALTER, B.M., SILVA, M.C., REZENDE, A.V., FILGUEIRAS, T.S. & NOGUEIRA, P.E.N. Flora vascular do Cerrado. **Cerrado: ambiente e flora** (ed. by S. Sano and S. Almeida), pp. 289–556. EMBRAPA-CPAC, Planaltina, DF, Brazil, 1998.

MILLER N. J.; RICE-EVANS C. A.; DAVIES M. J.; GOPINATHANN V.; MILNER A.; A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. **Clin. Sci.**, v. 84, n. 4, p. 407-12, 1993.

MILLER, A.; SCHAAL, B.; Domestication of a Mesoamerican cultivated fruit tree, *Spondias purpurea*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 102, p. 12801–12806, 2005.

MOLYNEUX, P. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. **Songklanakarin J. Sci. Technol.**, v. 26, n. 2, p. 211-219, 2004.

MONTALVO-GONZÁLEZ, E.; GARCÍA, H. S.; MATA-MONTES DE OCA, M.; TOVAR-GÓMEZ, B. Efecto de la luz en ciruela mexicana manejada en diferentes condiciones de almacenamiento Effect of light on Mexican plum stored under different storage conditions. **CyTA - Journal of Food**, v. 9, n. 1, p. 65-70, 2011.

MORAIS, M. L.; SILVA, A. C. R.; ARAÚJO, C. R. R.; ESTEVES E. A.; DESSIMONI-PINTO, N. A. V. Determinação do potencial antioxidante in vitro de frutos do Cerrado brasileiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.35, n. 2, Jaboticabal, 2013.

MUZZARELLI, R. A. A.; Natural Chelating Polymers. **Pergamon: Oxford**, p. 1-254, 1973.

MYERS, N.; MITTERMEIER, R. A.; MITTERMEIER, C. G.; DA FONSECA, G. A.; KENT, J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, v. 403, p. 853-858, 2000.

NAZZARO, F. et al. Microencapsulation in food science and biotechnology. **Current Opinion in Biotechnology**, v.23, n.2, p.182-186, 2012.

NICHENAMETLA, S. N.; TODD G. TARUSCIO, T. G.; BARNEY, D. L.; EXON, J. H. A Review of the Effects and Mechanisms of Polyphenolics in Cancer. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 46, n. 2, p. 161-183, 2006.

OMENA, C. M. B.; VALENTIM, I. B.; GUEDES, G. da S.; RABELO, L. A.; MANO, C. M.; BECHARA, E. J. H.; SAWAYA, A. C. H. F.; TREVISAN, M. T. S.; COSTA, J. G. da; FERREIRA, R. C. S.; SANTANA, A. E. G.; GOULART, M. O. F. Antioxidant, anti-acetylcholinesterase and cytotoxic activities of ethanol extracts of peel, pulp and seeds of exotic Brazilian fruits Antioxidant, anti-acetylcholinesterase and cytotoxic activities in fruits. **Food Research International**, v. 40, p. 334-344, 2012.

OZÓRIO, R. A. Elaboração e caracterização de micropartículas de astaxantina com quitosana. micropartículas de astaxantina com quitosana. Florianópolis, 2007. (Dissertação de Mestrado). Centro de Ciências agrárias. Departamento de ciência e tecnologia de alimentos, UFSC.

PARIKH, R. H.; PARIKH, J. R.; DUBEY, R. R.; SONI, H. N.; KAPADIA, K. N. Poly(D,Llactide - co-glycolide) microspheres containing 5-fluorouracil: optimization of process parameters. **AAPS PharmSciTech**, v. 4, n. 2, E13, 2003.

PEREIRA, G. G.; DETONI, C. B.; SILVA, T. L.; COLOME, L. M.; ADRIANA RAFFIN POHLMANN, A. R.; GUTERRES, S. S.;  $\alpha$ -Tocopherol acetate-loaded chitosan microparticles: Stability during spray drying process, photostability and swelling evaluation. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 30, p. 220 - 224, 2015.

POTHAKAMURY, U. R & BARBOSA-CÁNOVAS, G. V. Fundamental aspects of controlled release in foods. **Trends in Food Science Technology**, v. 6, p. 397-406, 1995.

PRADO A. **Composição fenólica e atividade antioxidante de frutas tropicais**. Dissertação [Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos] - Universidade de São Paulo; 2009.

QUINTÃO, W. S. C. MATURAÇÃO, COMPOSTOS FENÓLICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE SERIGUELAS (*SPONDIAS PURPUREA* L.) CULTIVADAS NO CERRADO. Monografia (Graduação em farmácia). Universidade de Brasília, Faculdade de Ceilândia. 49 p. Brasília, 2015.

RATTER, J.A.; RIBEIRO, J.E. & BRIDGEWATER, S. Woody flora distribution of cerrado biome: phytogeography and conservation priorities. **EMBRAPA**. Brasília. 340- 342p. 2000.

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

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved abts radical Cation decolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 26, n. 9/10, p. 1231–1237, 1999.

REIS, B. C. Frutas exóticas cultivadas no cerrado do Distrito Federal: maturação, composição fenólica, atividade antioxidante, aplicação e estudo de estabilidade em micropartículas. Dissertação (Mestrado). Brasília, 2016. Mestrado em Ciências e Tecnologias em Saúde. Universidade de Brasília

ROCKENBACH, I. I. **Compostos fenólicos, ácidos graxos e capacidade antioxidante do bagaço da vinificação de uvas tintas (*Vitis vinifera* L. e *Vitis labrusca* L.)**. 112 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, 2008.

SAMPAIO, S. A.; BORA, P. S., HOLSCHUH, H. J.; 2008. Postharvest respiration and maturation of some lesser-known exotic fruits from Brazil–ciriguela (*Spondias purpurea* L.). **Revista Ceres**, v. 55 n. 2, p. 141–145, 2008.



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

SILVA, E. C. Microencapsulação de extrato de pequi rico em polifenóis e carotenóides: influência das variáveis do processo e do tipo de material de parede sobre a qualidade do produto em pó. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos, 2013.

SILVA, J.F.; FARINAS, M.R.; FELFILI, J.M.; KLINK, C.A. 2006. Spatial heterogeneity, land use and conservation in the cerrado region of Brazil. **Journal of Biogeography**, v. 33, p. 536–548, 2006.

SILVA, P. T.; FRIES, L. L. M.; MENEZES, C. R.; HOLKEM, A. T.; SCHWAN, C. L.; WIGMANN, E. F.; BASTOS, J. O.; SILVA, C. B. Microencapsulation: concepts, mechanisms, methods and some applications in food technology. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.44, n.7, p.1304-1311, jul, 2014.

SILVA, R. V.; COSTA, S. C. C.; BRANCO, C. R. C.; BRANCO, A.; In vitro photoprotective activity of the *Spondias purpurea* L. peel crude extract and its incorporation in a pharmaceutical formulation. **Industrial Crops and Products**, v. 83, p. 509–514, 2016.

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

SOUZA, V. R.; PEREIRA, P. A. P.; QUEIROZ, F.; BORGES, S. V.; CARNEIRO, J. D. S. Determination of bioactive compounds, antioxidant activity and chemical composition of Cerrado. **Food Chemistry**, v. 134, p. 381–386, 2012.

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

SUCUPIRA, N.R.; SILVA, A.B.; PEREIRA, G.; COSTA, J.N. Methods for Measuring Antioxidant Activity of Fruits. **Cient. Ciênc. Biol. Saúde**, v. 14, n. 4, p. 263-269, CE, Brasil, 2012.

TORRES, M.A. Produção e caracterização de microesferas de quitosana natural e modificada quimicamente e o seu uso na adsorção das proteínas bsa e lisozima. Tese de doutorado – UNICAMP. v. 19, p. 21-28, 2006.

VENKATESAN, P.; MURALIDHARAN, C.; MANAVALAN, R.; VALLIAPPAN, K. Selection of better method for the preparation of microspheres by applying Analytic Hierarchy Process. **Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 1, n. 3, p. 64-78, 2009.

VINSON, J. A.; JANG, J.; YANG, J.; DABBAGH, Y.; LIANG, X.; SERRY, M.; PROCH, J.; CAI, S. Vitamins and especially flavonoids in common beverages are powerful *in vitro* antioxidants which enrich lower density lipoproteins and increase their oxidative resistance after ex vivo spiking in human plasma. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, p. 2502-2504, 1999.

WANNAN, B. S. Analysis of generic relationships in *Anacardiaceae*. **Blumea**, v. 51, n. 1, p. 165–195, 2006.

ZELLER, B. L., SALEEB, F. Z., LUDESCHER, R. D. Trends in development of porous carbohydrate food ingredients for use in flavor encapsulation. **Trends in Food Science & Technology**, v. 9, p. 389-394, 1999.

ZUANAZZI, J. A. S.; MONTANHA, J. A. Flavonóides. In: SIMÕES, C.M.O., et al. (Orgs.) **Farmacognosia: da planta ao medicamento**, 5ª ed., Florianópolis: Ed. Universidade Federal de Santa Catarina, p. 577-614, 2003.