



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CEILÂNDIA
CURSO DE FARMÁCIA

Giovanna França Alves

**Caracterização e Avaliação da Estabilidade de Compostos Bioativos de
Extrato de Umbuguela Microencapsulados (*Spondias* Sp.)**

BRASÍLIA, 2021

Giovanna França Alves

**Caracterização e Avaliação da Estabilidade de Compostos Bioativos em
Extrato de Umbuguela (*Spondias* Sp.)**

Monografia de Conclusão de Curso apresentada
como requisito parcial para obtenção do grau de Farmacêutico
na Universidade de Brasília, Faculdade de Ceilândia.

Orientador (a): Prof(a). Eliana Fortes Gris

BRASÍLIA, 2021

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

FF814 França Alves, Giovanna
Caracterização e Avaliação da Estabilidade de Compostos
Bioativos de Extrato de Ubuguela Microencapsulados
(Spondias Sp.) / Giovanna França Alves; orientador Eliana
Fortes Gris. -- Brasília, 2021.
55 p.

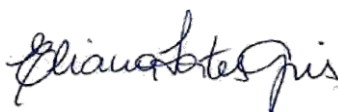
Monografia (Graduação - Farmácia) -- Universidade de
Brasília, 2021.

1. Compostos fenólicos. 2. Polifenóis. 3.
Microencapsulação. 4. Estabilidade. 5. Spondias Sp. I.
Fortes Gris, Eliana , orient. II. Título.

Giovanna França Alves

**Avaliação da Estabilidade de Compostos Bioativos em Extrato de
Umbuguela (*Spondias sp.*)**

BANCA EXAMINADORA



Orientador(a): Prof(a). Dra. Eliana Fortes Gris
Faculdade de Ceilândia – Universidade de Brasília – UnB

Prof(a) . Dra. Daniela Castilho Orsi
Faculdade de Ceilândia – Universidade de Brasília - UnB

Prof(a). Dra. Lívia Cristina de Sá Barreto
Faculdade de Ceilândia – Universidade de Brasília - UnB

BRASÍLIA, 2021

*“Procuro semear otimismo
e plantar sementes de paz e justiça.
Digo o que penso com esperança.
Penso no que faço com fé.
Faço o que devo fazer com amor.
Eu me esforço para ser cada dia melhor,
pois bondade também se aprende.
Mesmo quando tudo parece desabar,
cabe a mim decidir entre rir ou chorar,
ir ou ficar, desistir ou lutar;
porque descobri, no caminho incerto da vida,
que o mais importante é o decidir.”*

Cora Coralina

*Dedico este trabalho a Deus, ao meu pai,
Cassimiro e a minha mãe de coração, Maria Vani.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por sempre dirigir meus passos e por cuidar tão bem de mim. Por colocar na minha vida pessoas tão maravilhosas. Por estar comigo mesmo nos momentos mais difíceis. Por me fazer chegar aonde nunca imaginei. Por me fazer quem eu sou.

Agradeço a meu pai Cassimiro pelos ensinamentos, pelo suporte, pelo cuidado, por abdicar de tudo para cuidar de mim, pelas madrugadas em claro para me levar a faculdade, pelos pequenos gestos de amor e afeto com um enorme significado e por tudo mais que nem tenho palavras para expressar.

Agradeço a minha mãe Maria Vani e a toda família. Um dos maiores presentes que Deus me deu, pelo qual eu sempre serei extremamente grata. Obrigada por cuidar de mim mesmo quando não precisava, pelos conselhos, pelas aulas de matemática e pela companhia. Com você aprendi que laços de coração podem ser tão grandes quanto os de sangue. Muito obrigada!

Agradeço também aos meus amigos/família que contrui na faculdade e estágio. Gabi, Bia, João, Lucas, Juliana, Patrícia, Mariana, Emília e tantos outros. Obrigada pelas risadas, pela amizade e pelas brincadeiras. Pelo suporte. Vocês não têm ideia do quão importante são para mim. Com toda certeza quero levar vocês para a vida toda.

Agradeço a todos os docentes e demais funcionários da escola Santa Rita de Cássia por me concederem aprendizados e valores que carrego até hoje.

Agradeço aos docentes da Unb, em especial a professora Eliana Fortes, pela disposição em ajudar, em passar adiante o conhecimento e em ser uma orientadora exemplar. Por me dar a oportunidade que deu vida a este trabalho e por fazer acontecer, mesmo em meio ao caos da pandemia.

Agradeço também a todas as outras pessoas que me auxiliaram nessa jornada. Que estiveram comigo no laboratório, como a Giovanna Brito, e que contribuíram para que este trabalho se tornasse realidade.

A todos vocês , muito obrigada!

RESUMO

O Cerrado brasileiro é detentor de 24 % do território nacional e é considerado um dos 'hotspots' mundiais de biodiversidade. Este bioma destaca-se não só pela sua grande superfície, mas também pela sua diversidade de plantas com enorme potencial terapêutico e alimentício, muitas vezes inexplorados. Dentre as frutas desse bioma, pode-se citar a umbuguela (*Spondias sp.*), um possível híbrido entre a cajazeira (*S. mombin*) e o umbuzeiro (*S. tuberosa* Arr. Cam) ou resultante do cruzamento entre a cirigueleira (*S. purpurea L.*) e o umbuzeiro. Assim, o presente estudo objetivou caracterizar os principais compostos fenólicos (polifenóis totais, polimerizados e não-polimerizados e ortodifenóis) bem como a atividade antioxidante (DPPH e ABTS) do extrato etanólico da casca de umbuguela (*Spondias sp.*), além de elaborar e avaliar a estabilidade química de micropartículas confeccionadas com o extrato etanólico da casca de umbuguela e polímero de quitosana através da utilização de *Spray drying*. A avaliação da estabilidade química foi realizada em condições de temperatura ambiente ($25^{\circ} \pm 3^{\circ}\text{C}$) e refrigerada ($4^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$) durante 0, 7, 14 e 30 dias após a microencapsulação. Os resultados demonstraram que o extrato etanólico da casca de umbuguela possui teores elevados de polifenóis totais, polifenóis polimerizados e não-polimerizados, valores menores de ortodifenóis e alta atividade antioxidante. Na morfologia das micropartículas observou-se microesferas com superfície rugosa e presença de rachaduras, além de alguns orifícios. No teste de estabilidade química das micropartículas confeccionadas com o extrato etanólico de umbuguela observou-se que ao final dos 30 dias, as micropartículas (em temperatura refrigerada e ambiente) conseguiram reter aproximadamente 60% de seu conteúdo fenólico.

Palavras-chave: Compostos fenólicos. Polifenóis. Ortodifenóis. Microencapsulação. DPPH. ABTS. Estabilidade. *Spondias sp.*

ABSTRACT

The Brazilian Cerrado covers 24% of the national territory and is considered one of the world's biodiversity hotspots. This biome stands out not only for its large surface area, but also for its diversity of plants with enormous therapeutic and food potential, often unexplored. Among the fruits of this biome, one can mention the umbuguela (*Spondias* sp.), a possible hybrid between the cajazeira (*S. mombin*) and umbuzeiro (*S. tuberosa* Arr. Cam) or resulting from the crossing between the cirigueleira (*S. purpurea* L.) and umbuzeiro. Thus, this study aimed to characterize the main phenolic compounds (total polyphenols, polymerized and non-polymerized and orthodiphenols) and antioxidant activity (DPPH and ABTS) of the ethanolic extract of the umbuguela bark (*Spondias* sp.), and to prepare and evaluate the chemical stability of microparticles made with the ethanolic extract of the umbuguela bark and chitosan polymer through the use of spray drying. The evaluation of chemical stability was performed at room temperature ($25^{\circ} \pm 3^{\circ}\text{C}$) and refrigerated conditions ($4^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$) for 0, 7, 14 and 30 days after microencapsulation. The results showed that the ethanolic extract of umbuguela bark has high contents of total polyphenols, polymerized and non-polymerized polyphenols, lower values of orthodiphenols and high antioxidant activity. In the morphology of the microparticles, microspheres with rough surface and presence of cracks, and some holes were observed. In the chemical stability test of microparticles made with the ethanolic extract of umbuguela, it was observed that at the end of 30 days, the microparticles (at refrigerated and ambient temperature) were able to retain approximately 60% of their phenolic content.

Keywords: Phenolic compounds. Polyphenols. Orthodiphenols. Microencapsulation. DPPH. ABTS. Stability. *Spondias* sp.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Área territorial originalmente ocupada pelo bioma Cerrado.....	15
Figura 2. Drupa de <i>Spondias sp</i> popularmente conhecida como umbuguela.....	16
Figura 3. Estrutura básica do Fenol.....	17
Figura 4. Rotas para formação de compostos fenólicos.....	18
Figura 5. Esquema da representação do ensaio de DPPH.....	20
Figura 6. Reação química do ABTS (azinobis- 3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico).....	21
Figura 7. Estilos de micropartículas.....	22
Figura 8. Representação esquemática de um <i>Spray Drying</i>	23
Figura 9. Estrutura química da quitina e da quitosana.....	24
Figura 10. Processo de liberação do ativo em uma microesfera.....	25
Figura 11. Solução utilizada na análise após 24 horas.....	29
Figura 12. <i>Spray Drying</i> LABMAQ MSD 1,0 utilizado na atomização.....	30
Figura 13. Amostra das MP's com revestimento em ouro pronta para análise.....	32
Figura 14. Microscópio JSM – 7001 F (2007) da marca JEOL.....	32
Figura 15. Concentrações de polifenóis totais (mg GAE/100g), polifenóis polimerizados (mg catequina/100g) e polifenóis não polimerizados (mg catequina/100g) quantificados a partir do extrato etanólico de umbuguela (<i>Spondias sp</i>).....	33
Figura 16. Atividade antioxidante in vitro comparando-se DPPH e ABTS (μM TEAC) a partir de extratos de umbuguela (<i>Spondias sp</i>).....	36
Figura 17. Fotomicrografias por microscopia de varredura eletrônica (MEV) com aumento de 1000x (A), 4500 (B), 5000 (C) E 15000 (D) para microesferas contendo extrato etanólico da casca de umbuguela (imagens autorais).....	38
Figura 18. Fotomicrografia de micropartículas obtidas com isoniazida em <i>Spray Drying</i> utilizando quitosana como encapsulante.....	40
Figura 19. Teor de polifenóis totais (%) do extrato etanólico da casca de umbuguela microencapsulado submetido a duas condições diferentes de temperatura: ambiente ($\sim 25^\circ \text{C}$) e refrigerada ($\sim 2^\circ$ a 6°C) durante o período de 30 dias.....	42

LISTA DE ABREVIATÖES

ABTS - azinobis- 3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico

DPPH - radical 2-defenil-1-picrilhidrazil

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

GAE - Equivalentes de Ácido Gálico

g - Grama

L - Litro

MEV - Microscopia Eletrônica de Varredura

mg - Miligrama

mL - Mililitro

nm - nanômetro

PNP - Polifenóis não-polimerizados

PP - Polifenóis polimerizados

PT - Polifenóis totais

TEAC - Capacidade Antioxidante equivalente em TROLOX

SUMÁRIO

1. Introdução.....	14
2. Revisão de literatura.....	14
2.1. Cerrado e resíduos sólido.....	14
2.1.1. <i>Spondias</i> Sp.....	16
2.2. Compostos fenólicos.....	17
2.2.1. Ortodifenóis.....	18
2.2.2. Ações biológicas dos compostos fenólicos.....	19
2.3. Atividade antioxidante.....	20
2.3.1. DPPH.....	20
2.3.2. ABTS.....	21
2.4. Microencapsulação.....	21
2.4.1. <i>Spray Drying</i>	22
2.4.2. Quitosana.....	23
2.4.3. Microesferas de quitosana.....	24
3. Justificativa.....	25
4. Objetivos.....	26
4.1. Objetivos gerais.....	26
4.2. Objetivos específicos.....	26
5. Metodologia.....	27
5.1. Obtenção das amostras.....	27
5.2. Elaboração do extrato de umbuguela.....	27
5.3. Análise dos compostos bioativos.....	27
5.3.1. Polifenóis totais.....	28
5.3.2. Polifenóis não-polimerizados e polimerizados.....	28
5.3.3. Ortodifenóis.....	28
5.4. Atividade antioxidante.....	28
5.5. Microencapsulação do extrato etanólico das cascas de umbuguela com polímero de quitosana.....	29
5.6. Caracterização das microesferas confeccionadas com o extrato etanólico da casca de umbuguela.....	30
5.6.1. Rendimento da microencapsulação.....	30
5.6.2. Eficiência da microencapsulação.....	31

5.6.3. Morfologia das microesferas.....	31
5.7. Teste de estabilidade química das microesferas confeccionadas com extrato etanólico das cascas de umbuguela.....	32
5.8. Análise estatística.....	33
6. Resultados e discussões.....	33
6.1. Caracterização dos compostos fenólicos.....	33
6.1.1. Polifenóis totais, polimerizados e não-polimerizados.....	33
6.1.2. Ortodifenóis.....	35
6.2 Atividade antioxidante.....	35
6.3. Caracterização das microesferas confeccionadas com extrato etanólico das cascas de umbuguela.....	37
6.3.1. Rendimento e eficiência da microencapsulação.....	37
6.3.2. Morfologia das microesferas.....	38
6.3.3. Estudo de estabilidade química.....	41
7. Conclusão e considerações finais.....	44
8. Referências bibliográficas.....	46

1. Introdução

A extensão continental torna o Brasil possuidor de uma enorme diversidade de fauna e flora. Dentre os biomas nacionais, encontra-se o Cerrado, detentor de 24% do território nacional (PEIXOTO et al., 2019).

O crescente aumento do consumo de alimentos funcionais e a busca por um estilo de vida mais saudável têm levado a procura por novas fontes de nutrientes, tais como aqueles com ação antioxidante. A umbuguela (*Spondias* sp.) pertencente à família Anacardeaceae demonstra potencial, haja vista que é rica nestes compostos (DANTAS, 2016) e possui um fruto saboroso e com ampla comercialização, entretanto seu potencial não é suficientemente explorado.

Dentre os compostos bioativos que podem ser analisados, encontram-se os compostos fenólicos, que se destacam pela capacidade antioxidante, quelante (BRAVO, 1998) e possuem diversas aplicações na indústria cosmética e alimentícia (BRAVO, 1998).

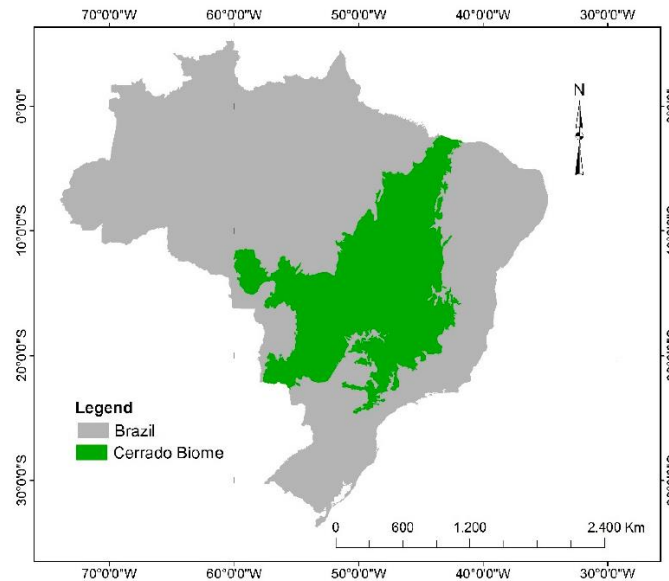
Os compostos fenólicos são caracterizados por serem moléculas instáveis, que tendem a se degradar com o tempo e a depender das condições de armazenamento e processamento, além das variáveis como exposição à luz. Desta forma, é possível aplicar medidas tais como a microencapsulação, que aumenta a estabilidade e protege esses componentes (BALDIN et al, 2016; DE BEER et al, 2018).

2. Revisão de Literatura

2.1. Cerrado e resíduos sólidos

Considerado o segundo maior bioma brasileiro, atrás apenas da Amazônia, o cerrado (Figura 1) destaca-se pela sua diversidade em se tratando de espécies animais e plantas vasculares, o que torna este bioma uma das maiores savanas existentes (KLINK; MACHADO, 2005), ocupando mais de dois milhões de km², aproximadamente 24% do território nacional (PEIXOTO et al, 2019).

Figura 1. Área territorial originalmente ocupada pelo bioma Cerrado.



Fonte: PEIXOTO et al., 2019.

O Cerrado é hoje considerado um dos *'hotspots'* mundiais, ou seja, é uma reserva de biodiversidade ameaçada de extinção, já que a expansão territorial tem levado a maior exploração deste território. Uma das explicações para a exploração encontra-se no próprio solo, haja vista que a pobreza natural do mesmo pode ser compensada facilmente com fertilizantes e outros meios que o tornam apropriado para o desenvolvimento agrícola de extrema importância para a economia nacional (MACHADO et al., 2004).

Um aspecto a ser considerado é a produção de resíduos sólidos diante do crescimento do processamento dos alimentos principalmente ao tentar equilibrar fatores como produção, crescimento econômico e sustentabilidade (Souza et al., 2019). Entretanto, estes materiais, tais como a casca, mostram-se promissores em termos de nutrientes que podem ser explorados e transformados em novos produtos que agregam valor ao comércio (Souza et al., 2019; CARILLO-NIEVES et al., 2019) além de levar a um maior aproveitamento dos produtos que seriam destinados ao despojo.

2.1.1 *Spondias sp.*

A umbuguela (Figura 2), fruto do cerrado e integrante da família *Anacardeaceae* não possui uma origem bem esclarecida. Algumas narrativas apontam o fruto como sendo resultado do cruzamento natural entre a cajazeira (*S.mombin*) e o umbuzeiro (*S. tuberosa* Arr. Cam), devido a sua similaridade genética com ambas as espécies (SANTOS E OLIVEIRA, 2008). Outras apontam que este híbrido se originou da combinação entre a cirigueleira (*S. purpurea* L.) e o umbuzeiro (SILVA et al, 2004).

Os frutos da umbugueleira são caracterizados por uma drupa com boa aparência e sabor saboroso. São consumidos na forma fresca, mas também podem ser processados na forma de polpas, picolés e sorvetes. Seu ciclo de desenvolvimento dura aproximadamente 157 dias (DANTAS et al., 2016) e sua maturação é evidenciada pela coloração característica da casca.

Figura 2. Drupa de *Spondias sp.* popularmente conhecida como umbuguela.



Fonte: Jardim exótico¹

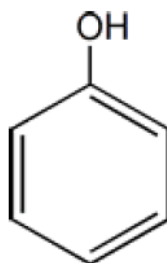
¹ Disponível em <https://www.jardimexotico.com.br/umbuguela-enxertada-hibrido-do-umbu-com-a-ciruguela>. Acesso em abril de 2021.

Estudos anteriores já demonstraram que outros frutos representantes da *Spondias*, como o umbu (*S. tuberosa* Arr. Cam) e cajá (*S. mombin*) tem um teor significativo de compostos nutritivos como antocianinas e flavonóides que possuem habilidade antioxidante capaz de auxiliar na prevenção de diversas enfermidades (SANTOS et al., 2018). Desta forma, o estudo da *Spondias* sp. pode elucidar e agregar dados que influenciem em uma melhor dieta.

2.2 Compostos fenólicos

Compostos fenólicos (Figura 3) podem ser descritos como moléculas que possuem um anel aromático com suas hidroxilas substituintes. Desta forma, observa-se que estes compostos variam em grau de complexidade, podendo ser simples tais como os ácidos fenólicos ou mais intrincadas chegando a ultrapassar 30,000 DA (BRAVO, 2018; CHEYNIER, 2017).

Figura 3. Estrutura básica do Fenol



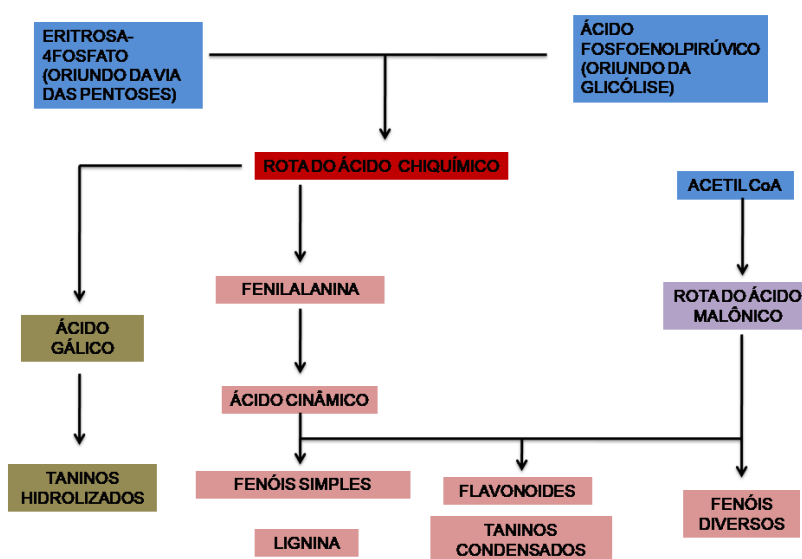
Fonte: GARCÍA et al., 2009.

Estes compostos se desenvolvem em condições adversas, tais como estresse hídrico, infecção fúngica, radiação e pragas (BAILÃO et al., 2015), contribuindo para defesa e reprodução das plantas (GARCÍA et al, 2009). No Cerrado, onde a floresta é seca, os polifenóis podem substituir a lignina, daí conclui-se que as plantas destes biomas são ricas nessas moléculas, em especial flavonóides, compostos fenólicos simples, antocianinas e principalmente os taninos (BAILÃO et al., 2015).

A produção dos compostos fenólicos pode vir de duas rotas diferentes: a do ácido malônico e a do ácido chiquímico. A rota do ácido malônico é pouco utilizada por plantas superiores, estando mais restrita a produção de compostos fenólicos por bactérias e fungos.

A maioria destes compostos origina-se pela via do ácido chiquímico, sendo este sintetizado a partir de fosfoenolpiruvato proveniente da glicólise, e da eritrosa-4-fosfato oriundo da via das pentoses. A partir deste ponto são sintetizados aminoácidos aromáticos como a fenilalanina que com o auxílio da fenilalanina amônio liase (PAL) são convertidos em ácido cinâmico com posteriores adições de grupos hidroxilas e outros substituintes formando precursores para moléculas mais complexas tais como taninos, flavonóides e cumarinas (Figura 4) (GARCÍA et al., 2009).

Figura 4. Rotas para formação de compostos fenólicos



Fonte: adaptado de GARCÍA et al., 2009.

2.2.1 Ortodifenóis

Os ortodifenóis representam os polifenóis com hidroxilas em posição *orto* e *para* que propicia a estas moléculas maiores facilidade para adentrar reações de

oxirredução. Desta forma, tornam-se moléculas atrativas para o combate aos radicais livres (SROKA e CISOWSKI, 2003).

2.2.2 Ações biológicas dos compostos fenólicos

A classe de compostos fenólicos contempla vários subtipos. Os flavonóides, por exemplo, são compostos fenólicos que auxiliam na defesa e crescimento das plantas (DORNAS et al., 2007) e podem ser encontrados em hortaliças e frutas. Dentre os flavonóides podem-se citar as antocianinas, que são responsáveis pelas colorações em tons de vermelho, violeta, azul e roxo de diversas plantas (ANDERSEN, JORDHEIM, 2006) e são caracterizadas por serem instáveis em temperaturas elevadas e insolúveis em água (SHAHIDI, NACZK, 1995).

As proantocianidinas demonstram capacidade de conter danos causados por radicais livres (DORNAS et al., 2007) e os flavonóis são derivados das flavonas podendo ser encontrados na forma de quercetina e miricetina nos vegetais (DORNAS et al., 2007).

O organismo humano conta com um sistema antioxidante natural, entretanto por vezes este sistema não atende a demanda, e então, os radicais ficam viáveis e podem reagir com o DNA, proteínas e outras moléculas, gerando enfermidade. Portanto, faz-se necessária a ingestão de alimentos que contenham antioxidantes, como os polifenóis, que auxiliem na homeostase do organismo (EFRAIM, 2011).

Polifenóis como as proantocianidinas também possuem atividade cardioprotetora devido à capacidade de diminuir a junção plaquetária que possivelmente acarretariam em coágulos (KWIK-URIBE, 2005). Estudos já demonstraram que a administração de antioxidantes em conjunto com o ácido acetilsalicílico (AAS) gera um sinergismo na ação cardioprotetora (EFRAIM et al., 2011).

Segundo Efraim et al. (2011), essas substâncias possuem a capacidade de aumentar a produção de moléculas anti-inflamatórias e reduzir as substâncias pró-inflamatórias, o que se mostra útil quando é desejável evitar o processo inflamatório.

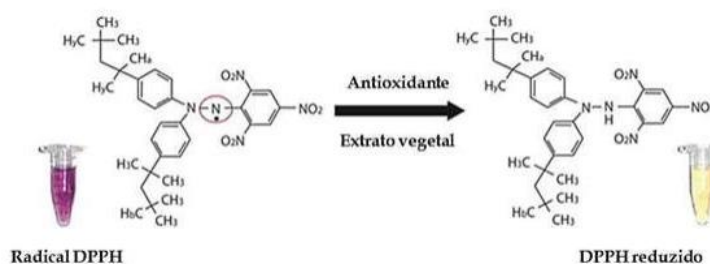
2.3 Atividade antioxidante

Os compostos fenólicos possuem ação antioxidante. Desta forma, sugere-se que estas moléculas sirvam como medida profilática para doenças cardiovasculares, diabetes, câncer, e outras enfermidades (HALBWIRTH, 2017). Esse efeito origina-se na eliminação de espécies reativas de oxigênio (ROS), como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), naturalmente formados em meio à transferência de elétrons nas células, como por exemplo, a cadeia transportadora de elétrons ou fosforilação oxidativa (HALLIWELL, 1990; EFRAIM, 2011).

2.3.1 DPPH

Dentre as diversas formas de avaliar a atividade antioxidante dos compostos, pode-se cita o ensaio com DPPH. Este teste baseia-se na redução do radical DPPH (2,2–difeníl–picril–hidrazil) por meio da transferência de elétrons que pode ser monitorada na redução da absorbância (na faixa de 515nm) (BRAND-WILLIAMS et al., 1995). (Figura 5).

Figura 5. Esquema da representação do ensaio de DPPH.



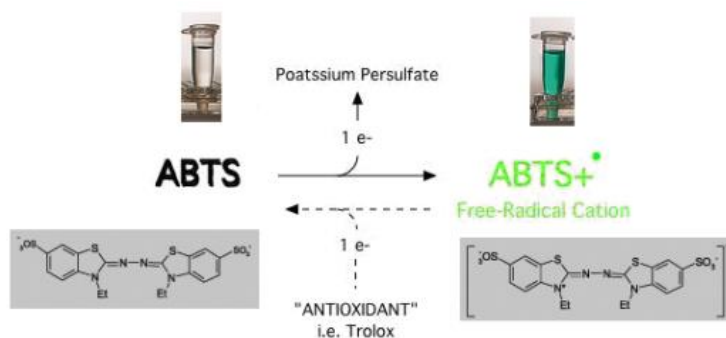
Fonte: PIRES et al., 2017

Como este ensaio baseia-se na transferência de elétrons, pode-se utilizá-lo para medir a capacidade antioxidante de compostos, onde a substância antioxidante doa elétrons, reduzindo o DPPH a hidrazina, gerando a alteração da cor violeta para a amarela. (PIRES et al, 2017).

2.3.2 ABTS

O ABTS (azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico) é empregado para analisar o potencial antioxidante de substâncias. Na reação, o ABTS, de cor verde claro, reage com o persulfato de potássio e forma o radical catiônico ABTS^{•+} de cor esverdeada. Avalia-se o grau de inibição do cátion radical ABTS. Quanto mais clara a coloração da reação, menor a absorbância (na faixa de 734nm), e conseqüentemente maior o potencial antioxidante da reação (Re et al., 1999; TORRES et al, 2017). (Figura 6).

Figura 6. Reação química do ABTS (azinobis- 3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico)



Fonte: adaptado de Pannala et al., 2001

2.4 Microencapsulação

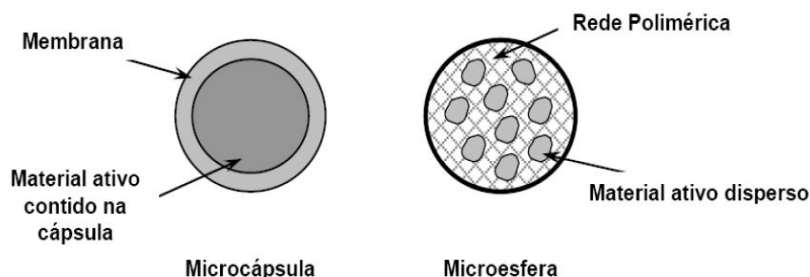
Os compostos fenólicos são naturalmente instáveis e sofrem degradação durante seu processo e armazenamento (BALDIN et al., 2016; DE BEER et al., 2018; HALBWIRTH., 2017). Para solucionar este problema, pode-se recorrer ao processo de microencapsulação, que vem ganhando mais espaço nos processos industriais desde a década de 1980.

O processo de microencapsulação visa o aprisionamento de materiais em polímeros de forma a gerar uma liberação controlada de seu ativo (PAULO e SANTOS et al., 2017) tal como a membrana celular aprisiona o citoplasma e gerencia a saída e entrada de substâncias. Outros estudos demonstram a eficiência do processo de microencapsulação em reter e proteger ativos (Cabral et al., 2018; Paini et al., 2015; Nunes et al., 2015)

As micropartículas podem ser divididas em dois grupos: microesferas e microcápsulas. Nas microesferas o material está disperso na matriz homogênea,

enquanto nas microcápsulas, o material está aprisionado no interior da matriz, e esta funciona como uma “casca”. (MATTÉ, ROSA, 2013). Entende-se por micropartículas, as partículas com mais de 100 nanômetros (nm). Abaixo disso, já são conhecidas como nanopartículas (LIANG et al, 2017). (Figura 7).

Figura 7. Estilos de micropartículas.



Fonte: MATTÉ, ROSA, 2013.

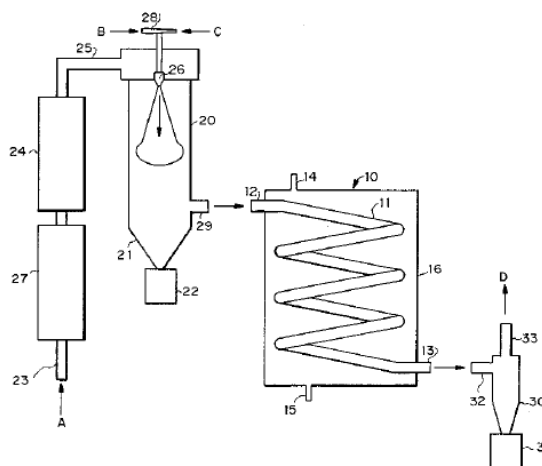
Dentre os métodos de encapsulação podem ser observados três modalidades diferentes: métodos químicos, que incluem polimerização interfacial e inclusão molecular, métodos físicos, tais como *spray-drying* (atomização), *spray chilling* (nebulização em corrente de ar frio), liofilização, co-cristalização e *Spray cooling* (resfriamento por spray), e os métodos físico-químicos que engloba coacervação e separação de fase orgânica em formação de lipossomas. (MATTÉ, ROSA 2013).

2.4.1. *Spray Drying*

Dentre os métodos de microencapsulação, o *Spray Drying* (Figura 8) destaca-se por um processo barato, com ampla disponibilidade do equipamento que pode ser utilizado para diversos polímeros diferentes, além de gerar produtos estáveis (MATTÉ, ROSA 2013). Este método consiste na atomização do líquido (substância encapsulante + substância ativa) em gás aquecido com posterior evaporação do solvente para formar as microesferas (ALVIM, 2016).

Conforme observado por CABRAL et al. (2018) a microencapsulação por *Spray Drying* mostrou-se eficiente em criar microesferas com extrato etanólico de jabuticaba (*Plinia Cauliflora*) mostrando a boa aplicabilidade da técnica.

Figura 8. Representação esquemática de um *Spray Drying*.



Fonte: CHICKERING et al., 2001.

2.4.2. Quitosana

Dentre os polímeros que podem ser utilizados para a microencapsulação, encontra-se a quitosana. Este material é obtido a partir da quitina, que provém de exoesqueletos de artrópodes (crustáceos, insetos) (LARANJEIRA et al., 2009) ou moluscos (cefalópodes, entre outros) após sofrer processos de retirada de proteínas e mineral. Também pode ser retirada de alguns microrganismos, como por exemplo, algumas espécies de fungos (HAMED et al., 2015).

É um copolímero linear, formado por unidades de D-glicosamina e resíduos de N-acetil – D-glicosamina distribuídos randomicamente e ligados por pontes glicosídicas (MATTÉ, ROSA, 2013).

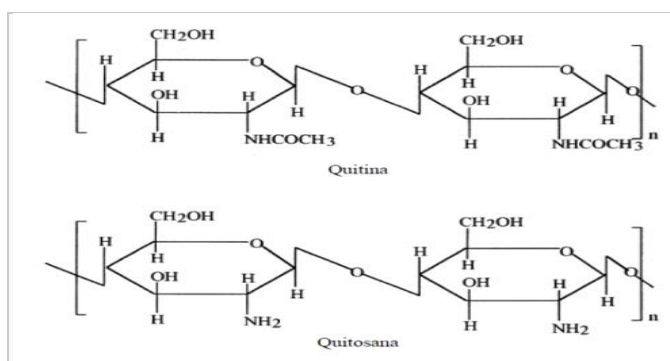
A quitina é o segundo polímero mais abundante do planeta, atrás somente da celulose. É um material biodegradável, não-tóxico e biocompatível (CABRAL et al., 2018). Além disso, possui propriedades anti-câncer, antimicrobiana, antioxidante, anticoagulante e também é utilizada na regeneração de pele e tecidos (HAMED et al., 2015). Além disso, é um polímero de baixo custo e natural, sendo utilizado para a microencapsulação de fármacos (Gelfuso et al., 2011). Embora não seja solúvel em água (LARANJEIRA et al., 2009), a quitina pode ser convertida em derivados solúveis, como a quitosana, que é solúvel em soluções ácidas como ácido clorídrico e acético e insolúvel em solventes orgânicos apolares.

A quitosana é um derivado N-desacetilado da quitina. (GONSALVES et al., 2011). Quando o percentual de N-acetil glucosamina é maior que a glucosamina, o polímero chama-se quitina. Quando esta proporção inverte, o polímero chama-se quitosana (HAMED et al., 2015). Sua solubilidade em água faz com que seja um bom polímero para trabalhar, sendo alvo de várias indústrias, como alimentícia, farmacêutica e agroindústria.

O processo de desacetilação pode ser efetuado com enzimas ou métodos alcalinos, para remover os grupamentos acetil (COCH_3). O método alcalino consiste em expor a quitina a hidróxido de sódio (NaOH), porém este processo gera muitos poluentes. A remoção enzimática consiste em utilizar as desacetilases de origem fúngica ou bacteriana para retirar os grupos acetil (HAMED et al., 2015).

A quitosana (Figura 9) destaca-se por ter caráter catiônico (HAMED et al., 2015; GONSALVES et al., 2011). Esta propriedade faz com que tenha ótima aplicação na indústria cosmética, alimentícia e farmacêutica (HAMED et al., 2015). A quitosana também se diferencia da quitina quanto à solubilidade e quantidade de grupamentos amino (figura 6), haja vista que a quitosana é solúvel em diversos ácidos, tais como ácido clorídrico e acético, enquanto a quitina não é solúvel nestes meios (BARROS et al., 2020).

Figura 9. Estrutura química da quitina e da quitosana.



Fonte: BARROS et al., 2020.

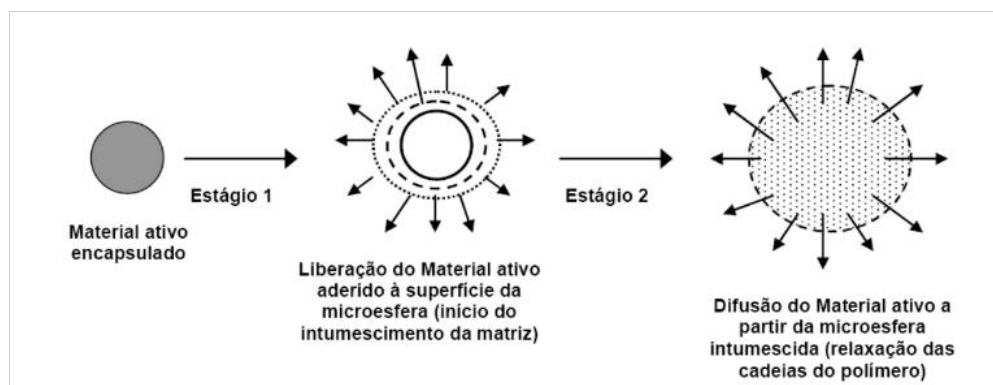
2.4.3. Microesferas de Quitosana

As microesferas são partículas onde o material ativo está disperso na matriz homogênea, ou seja, no polímero. As vantagens deste método de

microencapsulação incluem proteção ao ativo das diversas condições agressoras tais como luz, calor e pH, além de construir sistemas controlados de liberação do ativo (CABRAL et al., 2018; MATTÉ, ROSA, 2013). Por possuir um caráter semicristalino, ou seja, em estado sólido forma cadeias ordenadas, a utilização de quitosana na formação de microesferas se mostra vantajosa, já que nestas o caráter é amorfo, ou seja, seu arranjo é desordenado (MATTÉ, ROSA, 2013).

A liberação do ativo depende da forma adquirida pela partícula e pelo polímero utilizado. Inicialmente observa-se a solubilização das camadas mais externas da microesfera com posterior hidratação do polímero, possibilitando assim o escape do ativo para o meio. (MATTÉ, ROSA, 2013). (Figura10).

Figura 10. Processo de liberação do ativo em uma microesfera.



Fonte: MATTÉ, ROSA, 2013.

A aplicabilidade das microesferas de quitosana é promissora. Pode ser utilizada em alimentos funcionais, em nutracêuticos, como forma de liberar corantes, funciona para manter estabilidade de polifenóis (HALBWIRTH, 2017), pode ser utilizada na microencapsulação de medicamentos como o minoxidil, para o tratamento tópico de alopecia (Gelfuso et al., 2011) além de possuir aplicação na microencapsulação de extrato de frutas, tais como a jabuticaba (*Plinia Cauliflora*) (CABRAL et al., 2018).

3. Justificativa

O cerrado encontra-se em uma situação delicada. Por ser considerado um 'hotspot' mundial para conservação da biodiversidade e estar em situação de

extinção, a valorização e pesquisa de seus recursos podem auxiliar na preservação deste rico bioma.

A umbuguela (*Spondias* sp.) é uma fruta promissora em termos de substâncias que podem ser exploradas, haja vista que é resultado da hibridização de frutos que sabidamente possuem compostos bioativos exploráveis, entretanto, é um fruto subexplorado que necessita de mais pesquisas acerca de seu potencial terapêutico.

A matéria prima deste trabalho, ou seja, a casca é um resíduo agroindustrial em sua maioria descartado pela indústria que pode ser reaproveitado contribuindo com a sustentabilidade e diminuindo encargos econômicos.

Os compostos fenólicos por sua vez, são moléculas de alto interesse medicinal e comercial pela sua capacidade como potente antioxidante, que pode auxiliar na prevenção de diversas doenças crônicas em voga atualmente como as cardiovasculares e o câncer. Todavia sua instabilidade gera problemas em sua administração por não conseguir alcançar quantidades viáveis em seu sítio farmacológico. Desta forma, a microencapsulação desses compostos pode resolver este problema, conservando a viabilidade da molécula.

4. Objetivos

4.1 Objetivos gerais

Caracterizar o extrato etanólico da casca de umbuguela (*Spondias* sp.) quanto aos seus principais compostos fenólicos e ação antioxidante bem como obter o sistema veiculador do extrato etanólico das cascas de umbuguela com quitosana para posterior caracterização das microesferas e avaliação de sua estabilidade química.

4.2 Objetivos específicos

- Caracterizar o extrato etanólico da casca de umbuguela (*Spondias* sp.) quanto aos seus principais compostos fenólicos.
- Avaliar a atividade antioxidante do extrato etanólico da casca de umbuguela (*Spondias* sp.)

- Obter o sistema veiculador do extrato etanólico das cascas de umbuguela com polímero de quitosana através da atomização com *Spray Drying*.
- Avaliar a morfologia das microesferas obtidas.
- Realizar teste de estabilidade química das microesferas confeccionadas com o extrato etanólico das cascas de umbuguela frente às diferentes condições de armazenamento (temperatura ambiente e refrigerado) do extrato microencapsulado.

5. Metodologia

5.1. Obtenção da amostra

Os frutos de umbuguela (*Spondias* sp.) foram coletados sob a orientação do Dr. Nilton Tadeu Vilela Junqueira (pesquisador em Fruticultura Tropical) na Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa Cerrados CPAC), localizada em Planaltina (DF). As amostras foram coletadas quando os frutos ficaram prontos para a colheita (maturação tecnológica). As frutas foram despulpadas e com as cascas foi elaborado o extrato de umbuguela.

5.2. Elaboração do extrato etanólico de umbuguela

Para avaliação da composição fenólica foi elaborado um extrato etanólico das cascas por maceração segundo a recomendação de Lees e Francis (1972) com adaptações (450 g de casca em 1L de etanol

5.3. Análise dos compostos bioativos

As análises dos principais bioativos do extrato etanólico de umbuguela foram realizadas através das análises de polifenóis totais, polifenóis não-polymerizados e polymerizados, ortodifenóis (Paronetto, 1977) e atividade antioxidante pela avaliação da captura dos radicais DPPH (Brand- Williams, 1995) e ABTS (Re et al., 1999). A quantificação de compostos fenólicos e dos antioxidantes foi realizada por meio do espectrofotômetro Hitachi U-3900H.

5.3.1 Polifenóis totais

A quantificação de polifenóis totais foi realizada através do método de FOLIN- CIOCALTEU (SINGLETON E ROSSI, 1965; CABRAL et al., 2018) por espectrofotometria no comprimento de 760 nm. Os valores foram expressos em miligramas equivalentes de ácido gálico (GAE) por 100 gramas (mg GAE/100g). Na metodologia de quantificação de polifenóis totais pelo reagente de Folin- Ciocalteau (SINGLETON et al., 1999), este reagente sofre redução ao oxidar compostos fenólicos, originando um composto de coloração azul que têm sua absorvância mensurada com o auxílio de espectrofotômetro.

5.3.2 Polifenóis não-polimerizados e polimerizados

A determinação de polifenóis não-polimerizados, ou índice de vanilina foi realizada de acordo com PARONETTO, 1977, onde a vanilina reage com a catequina (flava-3-ols) formando um complexo de coloração vermelha que pode ser mensurada em espectrofotometria. (PARONETTO, 1977). Os resultados foram expressos em mg de catequina/100g. A determinação de polifenóis polimerizados foi realizada subtraindo-se o teor de polifenóis totais com o teor de polifenóis não-polimerizados.

5.3.3. Ortodifenóis

A quantificação do teor de ortodifenóis foi realizada de acordo com PARONETTO, 1977, onde os orto, di e tri-fenóis formam compostos quelados com metais de transição ou com outros elementos como o boro ou o molibdeno. Somente os mono, meta e os para-fenóis não formam estes compostos quelados, e desta forma não interferem na reação. (PARONETTO, 1977).

5.4. Atividade antioxidante

Para avaliar a atividade antioxidante, foram realizados os ensaios com DPPH (Brand-Williams, 1995) e ABTS (Re et al, 1999). O DPPH é caracterizado como um radical estável e de coloração violeta. Ao entrar em contato com uma substância

antioxidante, o DPPH será reduzido a hidrazina (ALVES et al. 2010). É considerado fácil, preciso e reprodutível na avaliação da atividade antioxidante (ALVES et al, 2010), o que justifica sua quantificação.

O radical ABTS também pode ser capturado por antioxidantes gerando decréscimo na absorbância (SUCUPIRA et al, 2012). Este ensaio se mostra mais vantajoso quando comparado com outros métodos, pois pode ser utilizado tanto em amostras lipossolúveis quanto hidrossolúveis. Possui excelente estabilidade e reprodutibilidade, além de ser muito utilizado em análise de frutos (SUCUPIRA et al, 2012).

5.5. Microencapsulação do extrato etanólico das cascas de umbuguela com polímero de quitosana

O polímero de escolha para o processo de microencapsulação foi a quitosana da Sigma-Aldrich (Steinheim, Alemanha). A técnica de escolha foi a atomização por *Spray Drying* conforme Gelfuso et al. (2011) com adaptações de Cabral et al. (2018). A solução submetida a microencapsulação continha 8 g de quitosana, 800 ml de água, 8 ml de solução de ácido acético a 1% e 100 ml extrato etanólico de umbuguela (*Spondias* sp.). (Figura11).

Figura 11. Solução utilizada na microencapsulação.



Fonte: Do autor

Foi realizada uma diluição 1:1 (100 mL da solução de quitosana e extrato etanólico de umbuguela + 100 mL de água) para garantir melhor fluidez no equipamento. A solução foi então submetida a atomização com Spray Drying (Labmaq, modelo MSD 1,0) (Figura 12). A temperatura do ar de entrada foi de 140°C e a temperatura de saída foi de 90°C. A taxa de alimentação foi de 6,9 ml/min por meio de bico atomizador de 1,0 mm de diâmetro e vazão de 30 L/min (CABRAL et al., 2018).

Figura 12. *Spray Drying* LABMAQ MSD 1,0 utilizado na atomização



Fonte: Do autor

5.6. Caracterização das microesferas confeccionadas com o extrato etanólico da casca de umbuguela

5.6.1 Rendimento da microencapsulação

Após secagem em *Spray Drying*, as micropartículas foram pesadas para o cálculo de rendimento em porcentagem em função da quantidade de sólidos adicionados durante a preparação (GELFUSO et al.; 2011) conforme equação 1 abaixo:

Equação 1:

$$R\% = (Q_f / Q_i) \times 100$$

Sendo que R% é o rendimento do processo de microencapsulação, Q_f é a quantidade total de micropartículas obtidas e Q_i a quantidade de sólidos adicionados para o processo de microencapsulação.

5.6.2. Eficiência da microencapsulação

A fim de medir a eficiência do processo de encapsulação, determinou-se a quantidade de polifenóis totais nas micropartículas por meio da técnica de Folin-Ciocalteu (SINGLETON e ROSSI, 1965) com adaptações por CABRAL et al. (2018). Nesta técnica as micropartículas foram colocadas em contato com solução de ácido acético 1% em rotação constante em agitador magnético por 24 horas ao abrigo da luz. Para efetuar a leitura, as amostras foram submetidas por 10 minutos a 4000 rpm na centrífuga (Hettich Zentrifugrn, modelo EBA 20). Após isso efetuou-se a leitura em espectrofotômetro.

O cálculo de eficiência foi feito com base na equação 2 abaixo:

Equação 2

$$EE\% = (Q_{obtida} / Q_{teórica}) \times 100$$

Sendo que EE% representa a eficiência da encapsulação, Q_{obtida} é o quantitativo de polifenóis totais presente nas MPs e Q_{teórica} é o quantitativo de polifenóis adicionados na preparação das micropartículas.

5.6.3. Morfologia das microesferas

Para análise morfológica das partículas, foi realizada análise em microscópio eletrônico de varredura de modelo JSM – 7001 F (2007) da marca JEOL com revestimento em ouro prévio da amostra. A análise ocorreu no aumento de 1000 a 5500 vezes. (Figuras 13 e 14).

Figura 13. Amostra das MPs com revestimento em ouro pronta para análise



Fonte : Do autor

Figura 14. Microscópio JSM – 7001 F (2007) da marca JEOL



Fonte: Do autor

5.7. Teste de estabilidade química das microesferas confeccionadas com o extrato etanólico da casca de umbuguela

A análise de estabilidade foi realizada nos dias 0, 7, 14 e 30 após a microencapsulação por quantificação de polifenóis totais conforme CABRAL et al., (2018), na temperatura refrigerada ($4^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$) e temperatura ambiente ($25^{\circ} \pm 3^{\circ}\text{C}$). Vale lembrar que as amostras foram resguardadas ao abrigo de luz e separadas para os respectivos dias de análise.

5.8. Análise estatística

As análises foram realizadas com duas repetições em triplicata. As análises estatísticas realizadas foram ANOVA e teste de Tukey com nível de significância de 95% (STATISTICA, versão 12.0).

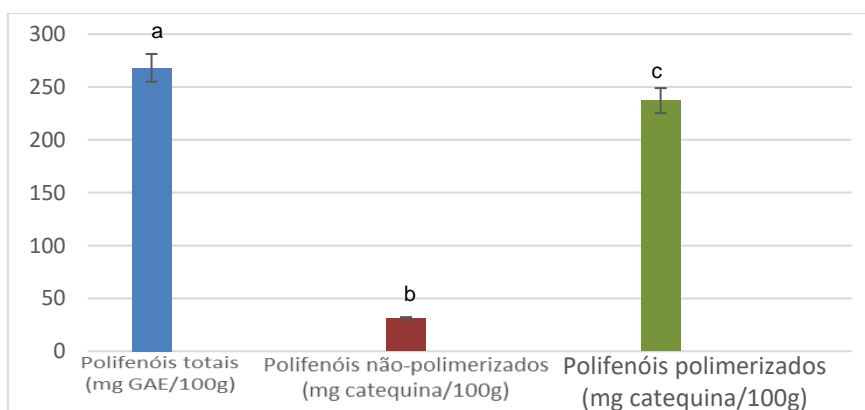
6. Resultados e discussões

6.1. Caracterização dos compostos fenólicos

6.1.1 Polifenóis totais, polimerizados e não-polimerizados

Na figura 15 encontram-se os resultados para polifenóis totais, polifenóis polimerizados e polifenóis não-polimerizados do extrato etanólico de umbuguela (*Spondias sp.*).

Figura 15. Concentrações de polifenóis totais (mg GAE/100g), polifenóis polimerizados (mg catequina/100g) e polifenóis não polimerizados (mg catequina /100g) quantificados a partir do extrato etanólico de Umbuguela (*Spondias Sp.*)



* Letras diferentes representam diferença estatística significativa com nível de significância de 5% (Teste de Tukey).

Obteve-se um valor de 268,10 mg GAE/100g de de polifenóis totais no extrato de umbuguela analisado. No estudo realizado por Rodrigues e colaboradores (2020) obteve-se de 83,63 mg GAE/100g de polifenóis totais em extrato etanólico do cálice da vinagreira (*Hibiscus sabdariffa* L.) que é um arbusto perene de interesse culinário e medicinal. Em outro estudo realizado por Oliveira e colaboradores (2020) observou-se o valor de 165,169 GAE/100g de polifenóis totais em extrato etanólico da polpa de jervá (*Siagrus romanzoffiana*). Estes resultados demonstram que a umbuguela detém maiores níveis de polifenóis quando comparados com outros exemplares da flora brasileira.

Por sua vez, o teor de polifenóis não-polimerizados encontrado foi de 30,95 mg catequina/100 g de casca. No estudo realizado por Quintão (2015) ao analisar cascas de seriguelas (um dos precursores da umbuguela), observou-se o teor de $138,32 \pm 3,52$ mg de catequina/100g de PNP's, sendo possível observar que a umbuguela é detentora de níveis menores de PNP's quando comparada a outro fruto do cerrado do gênero *Spondias*.

A quantidade de polifenóis polimerizados (polifenóis polimerizados = polifenóis totais – polifenóis não-polimerizados) encontrada no nosso estudo para o extrato de casca de umbuguela foi de $237,15 \pm 11,82$ mg catequina 100/g de casca. No mesmo estudo de Quintão (2015) obteve-se um teor de $246,72 \pm 18,66$ mg catequina 100/g de casca em extrato metanólico de seriguela. Este resultado demonstra a similitude de teor de PP's ao comparar a umbuguela com a seriguela.

Assim, observa-se que a umbuguela possui maior nível de polifenóis totais quando comparada com o jervá e o cálice de vinagreira. Além disso, os valores encontrados para polifenóis não-polimerizados foi menor ao comparar com a seriguela que também é do gênero *Spondias*. Quanto ao teor de polifenóis polimerizados observou-se valores semelhantes na literatura ao comparar a umbuguela com a seriguela.

Desta forma, conclui-se que os os valores encontrados permitem inferir que a umbuguela é detentota de quantidades interessantes de polifenóis que podem trazer benefícios a saúde. Até mesmo o valor menor encontrado para polifenóis não-polimerizados é um bom preditor, haja vista que os polifenóis polimerizados

possuem maior atividade antioxidante quando comparados ao não-polimerizados (OLIVEIRA et al., 2008) e a umbuguela possui níveis maiores de polifenóis polimerizados.

6.1.2 Ortodifenóis

Os ortodifenóis são moléculas que adentram com maior facilidade as reações de oxirredução (SROKA e CISOWSKI, 2003), desta forma, tornam-se mais atraentes para a mensuração da atividade antioxidante dos compostos.

Os resultados demonstraram que o teor médio de ortodifenóis encontrado no extrato etanólico de umbuguela foi de $50,20 \pm 2,29$ mg catequina/100g casca. Ao analisar o extrato etanólico de seriguela, Quintão (2015) obteve o teor de $223,28 \pm 7,99$ mg catequina/100g de casca.

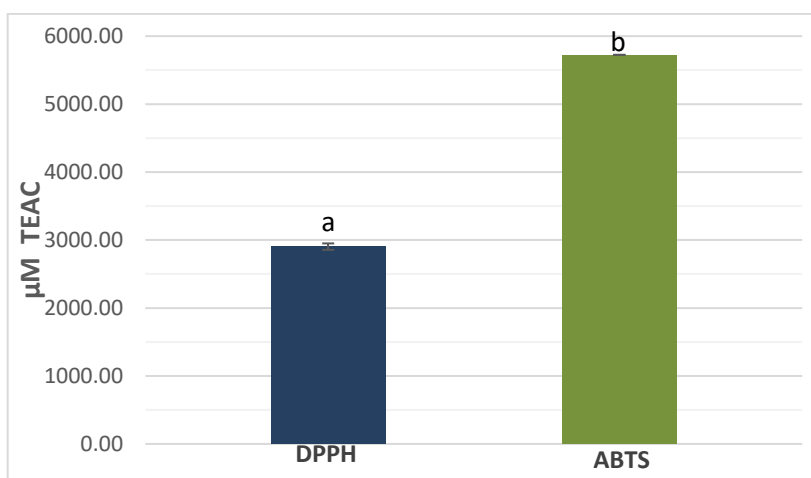
No mesmo estudo, o extrato metanólico de seriguela obteve um teor de ortodifenóis de $140,52 \pm 4,36$ mg de catequina/100g de casca, demonstrando que o etanol possui melhor capacidade para extrair ortodifenóis. Sendo assim, observa-se que a umbuguela possui de fato um teor menor de ortodifenóis ao ser comparada com Seriguela, outro fruto do gênero *Spondias*, mesmo em solvente etanólico, que tem melhor capacidade extratora.

Os ortodifenóis são moléculas que adentram com maior facilidade as reações de oxirredução (SROKA e CISOWSKI, 2003), desta forma, tornam-se mais atraentes para a mensuração da atividade antioxidante dos compostos.

6.2 Atividade antioxidante

Na figura 16 observa-se os resultados encontrados pelos métodos ABTS e DPPH no extrato etanólico de umbuguela (*Spondias* Sp.). Os resultados são expressos em equivalente de Trolox ($\mu\text{M TEAC}$).

Figura 16. Atividade antioxidante *in vitro* comparando-se DPPH e ABTS ($\mu\text{M TEAC}$) a partir de extratos de Umbuguela (*Spondias Sp.*)



* Letras diferentes representam diferença estatística significativa com nível de significância de 5% (Teste de Tukey).

Conforme a Figura 16, observa-se que o extrato de umbuguela (*Spondias Sp.*) mostrou capacidade significativa na captura do DPPH. Os valores encontrados neste ensaio foram de 2902,92 ($\mu\text{M TEAC}$). Em trabalho realizado por Quintão (2015) o teor encontrado para DPPH em extrato etanólico de seriguela foi de $7,55 \pm 0,47 \mu\text{M TEAC}$. Este resultado demonstra que a umbuguela possui valores bem superiores quando comparada com a seriguela, outro fruto do gênero *Spondias*.

Almeida e colaboradores (2011) ao analisar o potencial antioxidante por meio do DPPH em polpa de abacaxi obtiveram o valor de $33 \mu\text{M TEAC}$. Tal resultado permite inferir que o valor encontrado para o extrato etanólico de umbuguela é bem superior ao da polpa de abacaxi.

Para o ABTS, obtiveram-se valores ainda maiores de captura, de $5724,08 \pm 185,65 \mu\text{M TEAC}$. Em estudo conduzido por Rodrigues et al (2020) ao analisarem o extrato etanólico da vinagreira (*Hibiscus sabdariffa L.*) obteve-se o valor de $10.1425 \mu\text{M TEAC}$. Quintão (2015), ao analisar o extrato etanólico de seriguela, encontrou o teor de $6,82 \pm 0,27 \mu\text{M TEAC}$ no ensaio com ABTS, sendo que esses resultados tornam explícito o teor superior encontrado no extrato etanólico de umbuguela. Assim, pode-se inferir que a umbuguela (*Spondias sp.*) obteve valores altos nos

ensaios de ABTS e DPPH, demonstrando assim grande capacidade em ser utilizada como alimento funcional, podendo auxiliar no combate aos radicais livres.

6.3 Caracterização das microesferas confeccionadas com o extrato etanólico da casca de umbuguela

6.3.1 Rendimento e eficiência de encapsulação

A eficiência da microencapsulação com extrato etanólico de umbuguela foi de $36,7 \pm 0,9\%$ com rendimento de 30,4%. Em estudo realizado por Cabral et al (2018) com microesferas de quitosana contendo extrato de casca de jabuticaba (*Plinia cauliflora*) o rendimento observado foi de 29,63% a 37,65% e a eficiência variou de 52,71% a 89,74%, resultados estes maiores do que os encontrados no presente trabalho.

No estudo realizado por De Brito (2020), ao microencapsular o extrato etanólico de cajá (*Spondias mombin L.*) observou-se o rendimento de 19,5% e eficiência de 55,4%. Nesse caso é possível observar que o rendimento do nosso estudo foi maior e a eficiência encontrada foi menor. Quintão (2016) ao analisar o rendimento de micropartículas com extrato etanólico de seriguela feitas com polímero de quitosana, obteve o valor de 16,99%, sendo este valor inferior ao encontrado em nosso estudo. E Gelfuso et al.(2011), ao analisarem a eficiência de encapsulação do minoxidil com quitosana, obtiveram uma faixa de valor que vai de 45 a 82%, sendo este um valor superior ao encontrado nas nossas microesferas.

A chave para entender esses resultados de rendimento e eficiência de encapsulação pode estar no fato de que a quitosana forma um filme em superfícies lisas que foi evidenciado ao realizar o processo de limpeza do *Spray Drying* após a microencapsulação (houve perda de quitosana que ficou aderida no equipamento) e também foi descrito no trabalho de Cabral et al. (2018) e Gelfuso et al. (2011).

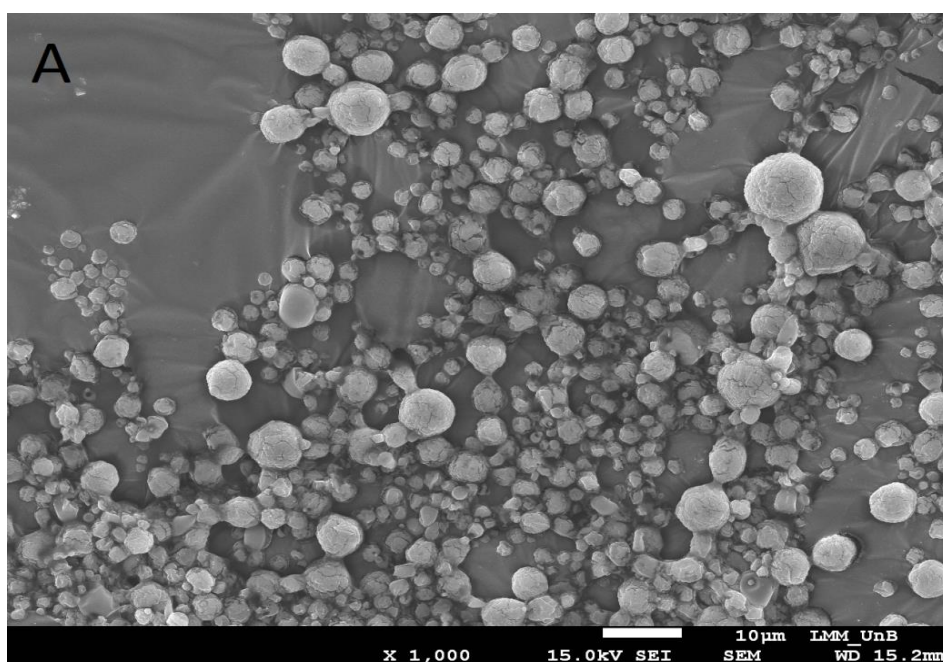
Assim, conclui-se que o baixo rendimento de microencapsulação encontrado esta dentro dos valores descritos em literatura e pode ser atrelado as características próprias do polímero de quitosana. A eficiência de encapsulação, por sua vez, obteve um valor inferior ao encontrado na literatura e pode ser explicado pela proporção de polímero utilizada, pois quanto maior a proporção de polímero na encapsulação, menor as partículas formadas que conseguem encapsular pequenas

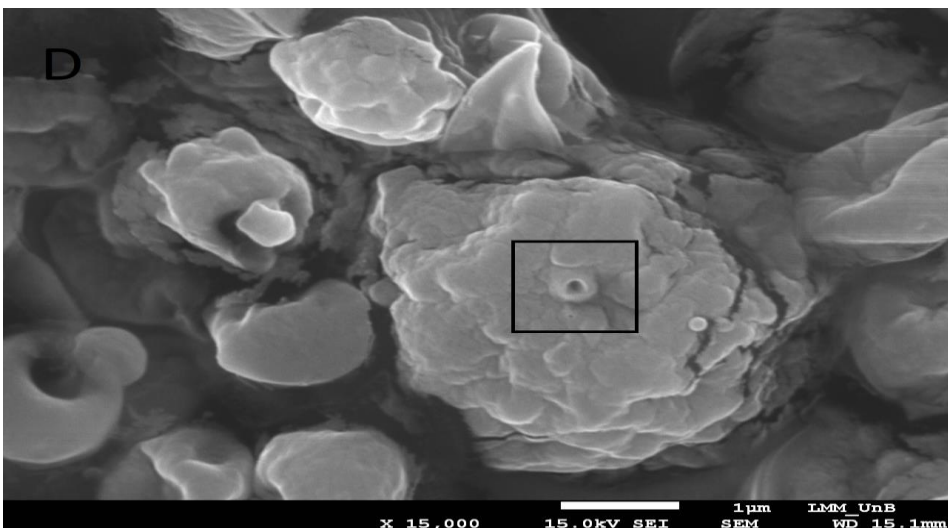
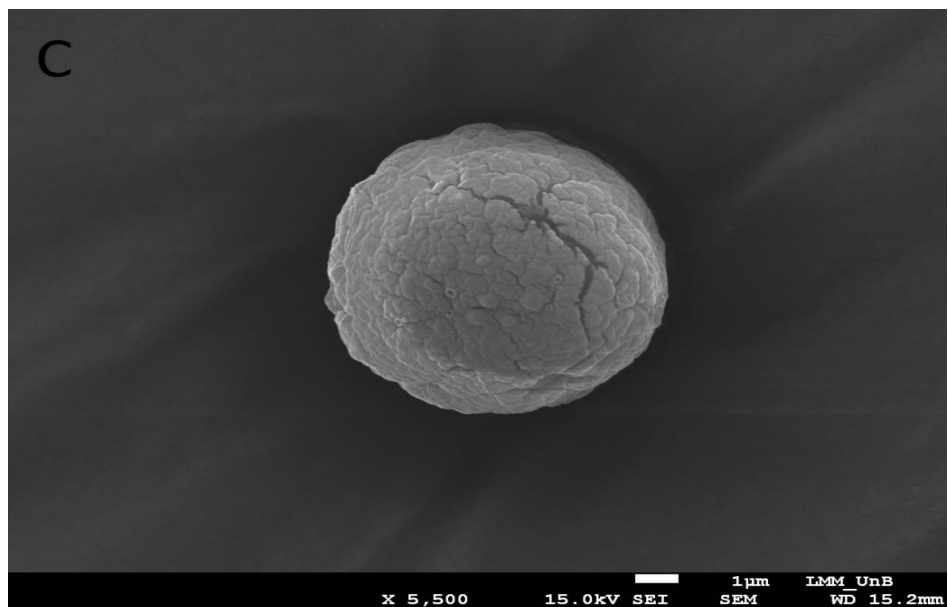
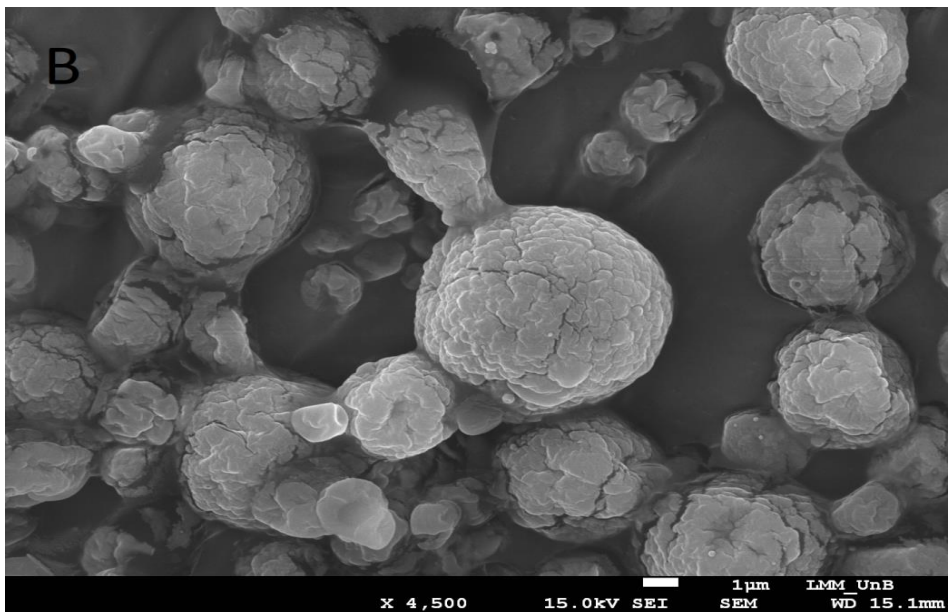
proporções do ativo, gerando uma baixa eficiência de microencapsulação (GELFUSO et al., 2011), conforme o valor encontrado em nosso trabalho.

6.3.2 Morfologia das microesferas

A análise da morfologia das microesferas foi possível com o auxílio da microscopia de varredura eletrônica. Os resultados são demonstrados na Figura 17.

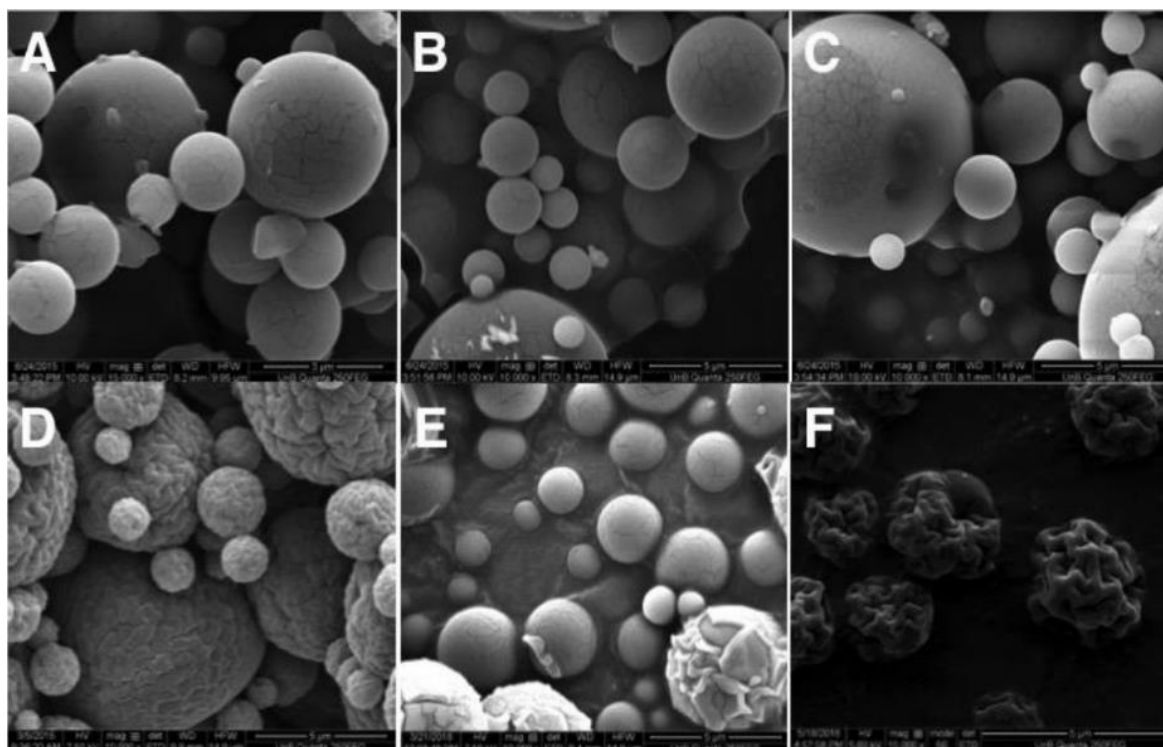
Figura 17. Fotomicrografias por microscopia de varredura eletrônica (MEV) com aumento de 1000x (A), 4500 (B), 5500 (C) e 15000 (D) para microesferas contendo extrato etanólico da casca de umbiguela (imagens autorais).





É possível observar o aglomerado de micropartículas esféricas (figura 17A), bem como sua superfície enrugada, com cavidades (figura 17D) e rachaduras. Em estudo realizado por Oliveira et al (2017) com micropartículas de quitosana preenchidas com isoniazida, obteve-se microesferas esféricas e com superfície lisa (figura 18). Neste mesmo trabalho as micropartículas do grupo controle, ou seja, sem a isoniazida obteve um formato irregular (figura 18F) já evidenciado por Gelfuso et al (2011). Estes achados demonstram a interação entre o polímero de quitosana e a molécula usada para preencher as microesferas, como mostra Cabral et al (2018).

Figura 18. Fotomicrografia de micropartículas obtidas com isoniazida em *spray drying* utilizando quitosana como encapsulante. (figura 13F: CH-MP0, sem isoniazida).



Fonte : OLIVEIRA et al., 2017.

Em estudo com α - tocoferol em micropartículas de quitosana, Pereira e colaboradores (2015) obtiveram microesferas com morfologia semelhante ao presente trabalho: formato esférico e superfície rugosa. Este tipo de superfície irregular já foi descrito por He et al (1999) em moléculas de quitosana e corrobora com a morfologia encontrada nas micropartículas com extrato etanólico de umbuguela.

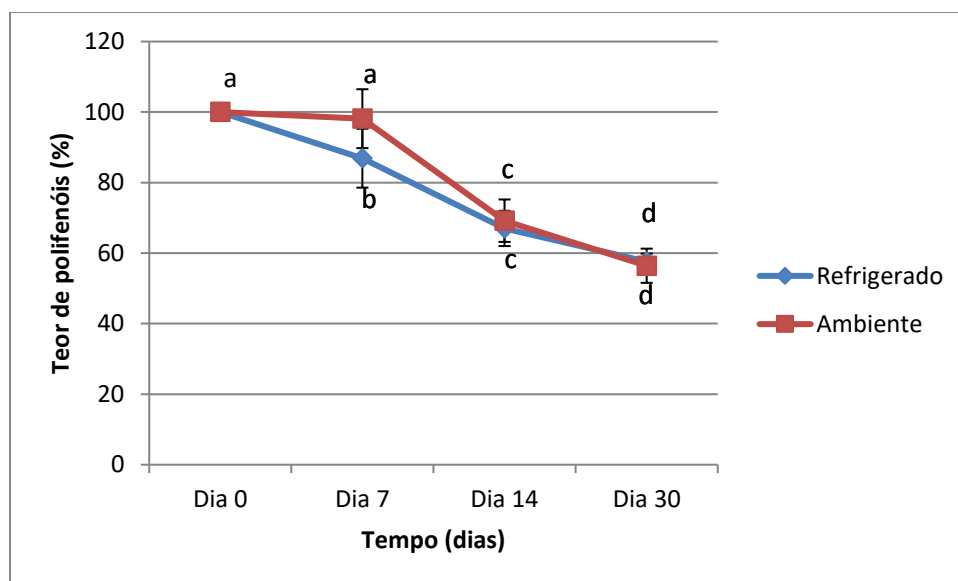
Serfert et al (2011) também obtiveram micropartículas com rachaduras e poros como as partículas do presente estudo (figura 17C e 17D). Estas características parecem estar relacionadas a maior entrada de ar, prejudicando a proteção do ativo (SERFERT et al, 2011).

Desta forma, é possível concluir que o processo de microencapsulação obteve microesferas esféricas e de superfície enrugada, já descritas e em consonância com a literatura. As rachaduras e cavidades podem diminuir a qualidade da proteção do material ativo, entretanto Ahmadian et al (2019) já demonstrou que micropartículas com integridade completa podem ser um empecilho para a liberação do ativo, entretanto, se for necessário resolver este paradigma pode-se adicionar açúcar de pequena massa como a maltodextrina, na solução de preparo das partículas, como demonstrado por Gharsallaoui et al (2012) haja vista que estes açúcares conseguem agir como plastificantes, melhorando o fator de encolhimento das micropartículas.

6.3.3 Estudo de estabilidade química

O estudo de estabilidade química foi realizado no dia 0,7,14 e 30 a partir do dia do processo de microencapsulação. As microesferas foram submetidas a temperatura refrigerada ($4^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$) e temperatura ambiente ($25^{\circ} \pm 3^{\circ}\text{C}$). A avaliação ocorreu através da quantificação do teor de polifenóis totais contidos nas micropartículas. Na figura 22 é possível o resultado da análise de estabilidade em porcentagem.

Figura 19. Teor de polifenóis totais (%) do extrato etanólico da casa de umbuguela microencapsulado submetido a duas condições diferentes de temperatura: temperatura ambiente e refrigerada durante o período de 30 dias.



*Letras diferentes representam diferença estatística significativa entre as análises, nível de significância de 5% (Teste de Tukey).

Como demonstrado na figura 19, as micropartículas submetidas a temperatura ambiente mantiveram-se estáveis até o sétimo dia de encapsulação, ao passo que as microesferas submetidas a refrigeração sofreram cerca de 20% de perda de seu conteúdo entre o dia zero e sete. É possível observar diferença estatística ($p \leq 0,05$) entre as duas condições climáticas.

Nos valores encontrados no dia 14 observamos que não houve diferença estatística entre as amostras mantidas à temperatura ambiente e de refrigeração ($p > 0,05$), onde observou-se um perda de aproximadamente 35% do conteúdo fenólico nas micropartículas.

No intervalo entre os dias 14 e 30 foi verificado uma perda de aproximadamente 15% do teor de PT das micropartículas. Além disso, no trigésimo dia de teste, observou-se que as micropartículas em ambas as temperaturas conseguiram reter aproximadamente 60% de seu conteúdo fenólico. Este resultado demonstra que em ambas as condições, a conservação foi equivalente ao final do estudo ($p > 0,05$).

Este comportamento similar e curioso entre as micropartículas observados entre os dias 14 e 30 podem demonstrar que a microencapsulação protegeu bem o ativo de forma que a temperatura não influenciou na conservação do extrato. Em termos práticos, isso pode demonstrar que esse processo de microencapsulação possibilita condições mais versáteis de armazenamento das micropartículas, haja vista que não seria necessário maiores preocupações em manter as micropartículas em ambiente refrigerado.

Em estudo de estabilidade conduzido com extrato da casca de jabuticaba (*Plinia Cauliflora*) em quitosana, Cabral et al. (2018) observou que ao final do trigésimo dia, as micropartículas submetidas a temperatura refrigerada (~ 2 a 6 °C) e ambiente (~ 25 °C) reteram aproximadamente 90% do conteúdo fenólico, percentual muito maior do que o observado neste estudo.

Outro estudo, realizado por De Brito (2019), ao analisar a estabilidade do extrato etanólico de cajá (*Spondias Mombin* L.) observou que ao final de 30 dias, as micropartículas em temperatura ambiente (~ 25 °C) e refrigerada (~ 2 a 6 °C) conservaram ~ 80 % dos compostos fenólicos em seu interior.

Por sua vez, Silva (2013) ao analisar a estabilidade do extrato de Pequi encapsulado com maltodextrina observou que ao término de 49 dias, a retenção dos compostos fenólicos foi de aproximadamente 70%. Esses resultados foram superiores aos encontrados neste estudo e demonstra que frutos e polímeros diferentes geram comportamentos diversos nos testes.

Assim, quando comparado com outros estudos, verificamos que a retenção dos PT esteve abaixo do esperado. Mas verificamos que o processo foi capaz de reter PT, o que é um importante resultado preliminar desse estudo. Talvez essa menor retenção ao longo do tempo possa ser devido pela configuração demonstrada pelas micrografias das partículas (figura 17), que demonstram rachaduras e orifícios na superfície das esferas, podendo resultar em maior entrada de ar e menor proteção do ativo. (SERFERT et al, 2011).

Vale ressaltar que o comportamento observado pode estar atrelado a própria umbuguela, já que como demonstrado acima, frutos diferentes geram resultados diferentes. Desta forma, é necessário a realização de mais estudos que possam demonstrar melhor o comportamento da umbuguela (*Spondias* Sp.) frente as diferentes condições de armazenamento, até mesmo do extrato não encapsulado

para verificar a importância da tecnologia de microencapsulação na conservação de compostos fenólicos.

Além disso, os resultados demonstram que não houve grandes diferenças entre as amostras submetidas à refrigeração e à temperatura ambiente, o que pode expressar que a temperatura não influencia grandemente na estabilidade dos compostos microencapsulados, sendo possível um armazenamento mais flexível da amostra, no que diz respeito a temperatura.

7. Conclusão e considerações finais

Os resultados das análises demonstram que o extrato etanólico de umbuguela (*Spondias* Sp.) é detentor de altos níveis de polifenóis totais, sendo a maior parte de polifenóis polimerizados e um teor menor de ortodifenóis. Além disso possui boa capacidade antioxidante conforme observado nos ensaios de DPPH e ABTS.

A observação das microesferas do extrato etanólico de umbuguela por meio da microscopia eletrônica de varredura (MEV) mostrou microesferas de formato esférico, com superfície rugosa e presença de orifícios.

O rendimento da microencapsulação foi de 30,4% e eficiência foi de 36,7%, sendo estes valores inferiores aos descritos na literatura, podendo estar atrelados a proporção de polímero utilizado no processo de microencapsulação e a perda de quitosana resultante da aderência desta nas paredes do equipamento.

O estudo de estabilidade química das microesferas do extrato etanólico de umbuguela demonstrou que após 30 dias as micropartículas em temperatura refrigerada ($4^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$) e temperatura ambiente ($25^{\circ} \pm 3^{\circ}\text{C}$) conseguiram reter aproximadamente 60% do seu conteúdo fenólico, resultado este que pode demonstrar que a temperatura não influenciou significativamente na conservação dos compostos fenólicos.

Observamos que a casca da umbuguela (*Spondias* sp.) é detentora de compostos bioativos relevantes para o mercado alimentício e farmacêutico, onde pode-se explorar a implementação do processo de microencapsulação para melhorar a estabilidade dos compostos fenólicos a fim de inseri-los em alimentos tais como preparados de sucos, suplementos e outras medicações, além das preparações farmacotécnicas utilizadas na indústria cosmética.

Assim, entende-se que é necessário estudos mais aprofundados que levem a maior compreensão em termo das condições de armazenamento das micropartículas, haja vista que este trabalho possui caráter preliminar.

No demais, espera-se que este trabalho possa fomentar maiores pesquisas na área que promovam a busca pelo conhecimento e valorização da flora local do cerrado brasileiro.

8. Referências Bibliográficas

AHMADIAN, Z.; NIAZMAND, R.; POURFARZAD, A. Microencapsulation of Saffron Petal Phenolic Extract: Their Characterization, In Vitro Gastrointestinal Digestion, and Storage Stability. **Journal of Food Science**. v. 84, n. 10, p.2745-2757, 23 set. 2019. Wiley.

ALMEIDA, M. M. B.; SOUSA, P. H. M.; ARRIAGA, A. M. C.; PRADO, G. M.; MAGALHÃES, C. E. C.; MAIA, G. A. Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh exotic fruits from northeastern Brazil. **Food Research International**, v. 44, p. 2155–2159, 2011.

ALVIM, I.D.; STEIN, M.A.; KOURY, I.P.; DANTAS, F.B.H.; CRUZ, C.L.C.V. Comparison between the spray drying and spray chilling microparticles contain ascorbic acid in a baked product application. **Food Science and Technology**. v. 65, p.689-694, 2016.

ANDERSEN, O.M.; JORDHEIM, M. The anthocyanins. In: Andersen OM, Markham KR Flavonoids: chemistry, biochemistry and applications. **Boca Raton: CRC Press**. p.471-553, 2006.

ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. **Rev.Inst.Adolfo Lutz**. v.66 p.1-9, 2007.

BAILÃO, E. et al. Bioactive compounds found in Brazilian Cerrado fruits. **International journal of molecular sciences**. v. 16, n. 10, p. 23760-23783, 2015.

BALDIN, J.C.; MICHELIN E.C.; POLIZER, Y.J.; RODRIGUES, I.; DE GODOY, S.H.; FREGONESI, R.P.; PIRES,M.A.; CARVALHO, L.T.; FÁVARO-TRINDADE, C.S.; DE LIMA, C.G.; FERNANDES, A.M.; TRINDADE, M.A. Microencapsulated jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) extract added to fresh sausage as natural dye with antioxidant and antimicrobial activity. **Meat Science**. v. 118, p. 15-21, 2016.

BAUTISTA-ORTÍN, A. B.; FERNÁNDEZ-FERNÁNDEZ, J.I.; LÓPEZ-ROCA, J. M.; GÓMEZ-PLAZA, E. The effects of enological practices in anthocyanins, phenolic compounds and wine colour and their dependence on grape characteristics. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 20, p. 546–552, 2007.

BARROS, D. M.; SILVA, A.P.F.; et al. Utilização de quitosana na conservação dos alimentos. **Brasilian Journal of development**, [s.l.], v.6, n.4, p.17717-17731, 2020.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensm-Wiss.u-Technol.** v. 28. p. 25-30, 1995.

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

CABRAL, B.R.P.; et al. Improving stability of antioxidant compounds from *Pliniacauliflora* (jaboticaba) fruit peel extract by encapsulation in chitosan microparticles. **Journal of food engineering**, v. 238, p. 195-201, 2018.

CARILLO-NIEVES, D. et al. **Current status and future trends of bioethanol production from agro-industrial wastes in Mexico**. Renewable and Sustainable Energy Reviews. v. 102, p. 63-74, 2019.

CHEYNIER, V.; HALBWIRTH, H. Polyphenols: Physicochemical and Biological Properties and Perspectives of Their Use in a Zero-Waste Society. 2017.

CHICKERING, et al. **Spray drying method**. United States Patent. Oct, 30, 2001.

COTRAN, R.S.; KUMAR, V.; ROBBINS, S.L. **Patologia estrutural e funcional**. 6.ed. Rio de Janeiro : Guanabara Koogan, 2000. 1400p.

DANTAS, A.L.; SILVA S.M., et al. Desenvolvimento, fisiologia da maturação e indicadores do ponto de colheita de frutos da umbugueleira (*Spondias* sp.). **Rev.Bras.Frutic.v.** 38.p.33-42, 2016.

DE BEER, D.; PAUCK, C.E.; AUCAMP, M.; LIEBENBERG, W.; STIEGER, N.; VAN DER RIJST, M.; JOUBERT, E. Phenolic and physicochemical stability of a functional beverage powder mixture during storage: effect of the microencapsulant inulin and food ingredients. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. v. 98, n.8, p.2925-2934, 2018.

DE BRITO, G. O. Microencapsulação de Compostos Bioativos Extraídos de Cajá (*Spondias mombin* L.). Monografia de conclusão de curso. Universidade de Brasília. Faculdade de Farmácia, 2019.

DORNAS, W.C., OLIVEIRA T.T.; RODRIGUES-DAS-DORES, R.G.; SANTOS, A.F.; NAGEM, T.J. Flavonóides: potencial terapêutico no estresse oxidativo. **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.** v. 28, n.3, p.214-249, 2007.

EFRAIM, P.; ALVES, A.B.; JARDIM, D.C.P. Revisão: Polifenóis em cacau e derivados : teores, fatores de variação e efeitos na saúde. **Braz.j.Food.Technol.** v.14, n.3, p.181-201. 2011.

GARCÍA, Á.A.; CARRIL, E.P. Metabolismo secundario de plantas. **Reduca (biología). Serie Fisiología vegetal.**v.2, p.119-145,2009.

GHARSALLAOUI, A.; SAUREL, R.; CHAMBIN, O.; VOILLEY, A. Pea (*Pisum sativum*, L.) Protein Isolate Stabilized Emulsions: A Novel System for Microencapsulation of Lipophilic Ingredients by Spray Drying. **Food and Bioprocess Technology**, v. 5, p. 2211- 2221, 2012.

GELFUSO, G.M. *et al.* Chitosan microparticles for sustaining the topical delivery of minoxidil sulphate. **Journal of Microencapsulation**, [s.l.], v. 28, n. 7, p.650-658, 9 ago. 2011. Informa UK Limited.

GONSALVES, A.A.; ARAÚJO, C.R.M.; SOARES, N.A; GOULART, M.O.F.; DE ABREU, F.C. Diferentes estratégias para a reticulação da quitosana. **Química Nova**. n. 7, v.34, p.1215-1223, 2011.

GRIS, E.F. Perfil fenólico e atividades antioxidante e hipolipemiante de vinhos de variedades *Vitis vinifera* cultivadas em São Joaquim - SC - Brasil. 179f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, 2010.

HALBWIRTH, H. Polyphenols: Physicochemical and Biological Properties and Perspectives of Their Use in a Zero-Waste Society. **Journal of agricultural and food chemistry**. v.65, p. 6343-6345, 2017.

HALLIWELL, B. How to characterize a biological antioxidant. **Free Radical Research Communications**. v. 9, p.1-32, 1990.

HAMED, I.; ÖZOGUL, F.; REGENSTEIN, J.M. Industrial applications of crustacean by-products (chitin, chitosan, and chitooligosaccharides): A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 48, p. 40-50, 2016.

HE, P.; DAVIS, S.S.; ILLUM, L. Chitosan Microspheres prepared by spray drying. **International Journal of Pharmaceutics**. V. 187, p. 53-65. 1999.

JOYE, I.J.; MCCLEMENTS, D.J. Biopolymer-based nanoparticles and microparticles: Fabrication, characterization, and application. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 19, n. 5, p. 417-427, 2014.

KLINK, C.A.; MACHADO Ricardo B. A conservação do Cerrado brasileiro. **Megadiversidade** v. 1, p. 147- 155, 2005.

KWIK-URIBE, C. Potential Health Benefits of Cocoa Flavanols. **The Manufacturing Confectioner**, Princeton, v. 85, n. 10, p. 43-49, 2005.

LACHANCE, J.C.; RADHAKRISHNAN, S.; MADIWALE, G.; GUERRIER, S.V., Jairam K.P. Targeting hallmarks of cancer with a food-system-based approach. **Nutrition**, v.69, 110563, 2020.

LARANJEIRA, M. M.C.; DE FÁVERE, V. T. Quitosana: biopolímero funcional com potencial industrial biomédico. **Química Nova**. n. 3, v.32, p. 672-678, 2009.

LIANG, J. et al. Applications of chitosan nanoparticles to enhance absorption and bioavailability of tea polyphenols: A review. **Food Hydrocolloids**, v. 69, p. 286-292, 2017.

LIMA, N. E. F. Perfil fenólico e atividade antioxidante de vinhos Goethecaracterização e evolução durante o armazenamento em garrafa. 136f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, Universidade federal de Santa Catarina, 2012.

LIZARDI-MENDOZA, J.; MONAL, W. M.; Argüelles; V.; Francisco M.G. Chemical characteristics and functional properties of chitosan. In: Chitosan in the preservation of agricultural commodities. **Academic Press**, p.3-31, 2016.

MARUCA, A.; CATALANO, R.; BAGETTA, D.; MESITI, Fr.; AMBROSIO, F. A.; ROMEO, I.; MORACA, F.; ROCCA, R.; ORTUSO, F.; ARTESE, A.; COSTA G.; ALCARO, S.; LUPIA, A. The Mediterranean diet as source of bioactive compounds with multi-targeting anti-cancer profile. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v.181, 111579, 2019.

MATTIVI, F.; GUZZON, R.; VRHOVSEK, U.; STEFANINI, M.; VELASCO, R. Metabolite profiling of grape: flavonols and anthocyanins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 7692-7702, 2006.

MATTÉ, G. M.; ROSA S. A tecnologia da microencapsulação através das microesferas de quitosana. **Revista Iberoamericana de polímeros**.v.14, n.5, p.206-218,2013.

MONAGAS, M.; BARTOLOMÉ, B.; GÓMEZ-CORDOVÉS, C. Evolution of polyphenols in red wines from *Vitis vinifera* L. during aging in the bottle II. Non-anthocyanin phenolic compounds. **European Food Research and Technology**, v. 220, p. 331-340, 2005.

MOREIRA-ARAÚJO, R. S.D.; BARROS N.V.D.; PORTO, R.G.C.L.; BRANDÃO A. D. A.S.; LIMA A.; FETT, R. Bioactive compounds and antioxidant activity three fruit species from the Brazilian Cerrado. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 41, n.3, 2019.

MOO-HUCHIN, V. M.; ESTRADA-MOTA, I.; ESTRADA-LEON, R.; CUEVAS-GLORY, L.; ORTIZ-VAZQUEZ, E.; VARGAS, M. L. V.; BETANCUR-ANCONA, D.; SAURIDUCH, E. Determination of some physicochemical characteristics, bioactive compounds and antioxidant activity of tropical fruits from Yucatan, Mexico. **Food Chemistry**, v. 152, p. 508-515, 2014.

NUNES, G. L., BOAVENTURA, B. C. B., PINTO, S. S., VERRUCK, S., MURAKAMI, F. S., PRUDÊNCIO, E. S., DE MELO CASTANHO AMBONI, R. D. Microencapsulation of freeze concentrated *Ilex paraguariensis* extract by spray drying. *Journal of Food Engineering*. n. 151, p.60-68, 2015.

OLIVEIRA, C.M.; FERREIRA, A.C.S.; PINHO, P.G.; SILVA, A. M. S. New Qualitative Approach in the Characterization of Antioxidants in White Wines by Antioxidant Free Radical Scavenging and NMR Techniques. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 10326-10331, 2008.

OLIVEIRA, P.M.; MATOS, B.N.; PEREIRA, T.G.; FACCIOLI, L.H.; CUNHA-FILHO, M.S.S.; GELFUSO, G.M. Microparticles prepared with 50–190kDa chitosan as promising non-toxic carriers for pulmonary delivery of isoniazid. **Carbohydrate Polymers**. 2017.

OLIVEIRA, V.M.; BONFIM, F.P.G.; APARECIDA, D.T.; FRITZ, G.F. Frutos nativos associados aos quintais de propriedades rurais de Botucatu: atividade antioxidante pelo método DPPH e teor de polifenóis totais. **Cadernos de agrologia**. v.15, n. 2, 2020.

PANNALA, S. A.; CHAN, T.S., O'BRIEN P.J; RICE-EVANS C.A. Flavonoid B-ring chemistry and antioxidant activity: fast reaction kinetics. **Biochem Biophys Res Commun.** v. 282, p. 1161-1168, 2001.

PAINI, M., ALIAKBARIAN, B., CASAZZA, A.A., LAGAZZO, A., BOTTER, R., PEREGO, P. Microencapsulation of phenolic compounds from olive pomace using spray drying: A study of operative parameters. **LWT-Food Science and Technology.** n. 62, p. 177-186. 2015.

PAULO, F.; SANTOS, L. Design of experiments for microencapsulation applications: A review. **Materials Science and engineering.** 2017.

PEIXOTO, J.C. et al. Flavonoids from Brazilian Cerrado: Biosynthesis, Chemical and Biological Profile. **Molecules.** v.24, 2019.

PEREIRA, G.G.; DETONI, C.B.; DA SILVA, T.L.; COLOMÉ, L.M.; POHLMANN, A.R.; GUTERRES, S.S. a-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.

PIRES, J.; TORRES, P. B.; DOS SANTOS, D.Y.A.C.; CHOW, F. Ensaio em microplaca do potencial antioxidante através do método de sequestro do radical livre DPPH para extratos de algas. **USP - Instituto de biociências.** p. 1-6, 2017.

QUINTÃO, WANESSA DE SOUZA CARDOSO. Maturação, compostos fenólicos e atividade antioxidantes de seriguelas(Spondias purpúrea L.) cultivadas no cerrado. Dissertação de conclusão de curso – Universidade de Brasília. Brasília, 2015.

RAHAIEE, S.; ASSADPOUR, E.; ESFANJANI, A.F. et al. Application of nano/microencapsulated phenolic compounds against cancer. **Advances in Colloid and Interface Science.** 30, março de 2020.

RAO, S.; CHINKWO, K.A.; SANTHAKUMAR, A.B.;
BLANCHARD, C.L. Inhibitory Effects of Pulse Bioactive Compounds on Cancer Development Pathways. **Diseases.** v.6, n. 72. 2018

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Elsevier**. v. 26, n. 9/10, p. 1231-1237, 1999.

REIS, P.B.C; DE SOUZA C.Q., T, C., JÁ; D., P.M.; GELFUSO, G.M.; DE OLIVEIRA KARNIKOWSKI, M.Go.; GRIS; E.F. Melhorando a estabilidade de compostos antioxidantes de *Plinia cauliflora* (jabuticaba) extrato de casca de frutas por encapsulação em micropartículas de quitosana, **Journal of Food Engineering** (2018).

RODRIGUES, L.L.; DE SOUSA, M.M.D.; SILVA, J.D.; VIANA, L.T.M.; GOMES, F.D. **Brazilian Journal of Development**. v.6, n.11, p.89305 – 89312, nov.2020.

SANTOS, E. F.; ARAÚJO R.R. et al. Quantificação de compostos bioativos em frutas de UMBU (*Spondias tuberosa* Arr. Câm.) e CAJÁ (*Spondias mombin* L.) NATIVOS DE ALAGOAS. **Ciência agrícola**.v.16. n.1,p.21-29, 2018.

SOUZA, A.F.; DA SILVA, G.V.; TORMEN, S.H.; TAMURA, C.; DE JESUS, B.V.; KOESTER, D.L.; BITENCOURT, T.B. Utilização de resíduos agroindustriais para produção de lipídios microbianos por *Yarrowia lipolytica* qu69. **Brazilian Journal of development**. v. 5, n.7, p.8801-8810, 2019.

RUFINO, M.S.M.; ALVES, R.E.; FERANDES, F.A.N.; BRITO, E.S. Free radical scavenging behavior of ten exotic tropical fruits extracts. **Food Research International, Barking**. v.44, p.2072–2075, 2011.

SERFERT, Y.; SCHROEDER, J.; MESCHER, A.; LAACKMANN, J.; DRUSCH, S.; SCHWARZ, K. Characterization of spray-dried layer-by-layer emulsions. In: ICEF. 2011

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.

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.

SHALABY, E.A.; SHANAB, S.M.M. Comparison of DPPH and ABTS assays for determination antioxidant potencial of water and methanol extracts of *Spirulina platensis*. **Indian Journal of Geo-Marine Sciences**. v.42, n.5, p.556-564, 2013.

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

SOUZA, F.X. *Spondias* agroindustriais e os seus métodos de propagação. **Embrapa-CNPAT**.n.27, 1998.

SOMERS, T. C.; VÉRETTE, E.; POCOCK, K. F. Hydroxycinnamate esters of *Vitis vinifera*: changes during white vinification and effects of exogenous enzymic hydrolysis. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 40, p. 67-78, 1987.

SROKA, Z., & CISOWSKI, W. Hydrogen peroxide scavenging, antioxidant and antiradical activity of some phenolic acids. **Food and Chemical Toxicology**, v. 41, p. 753–758, 2003.

TORRES, P.B.; PIRES, J.S.; DOS SANTOS, D.Y.A.C.; CHOW, Fungyi. Ensaio do potencial antioxidante de extratos de algas através do sequestro do ABTS^{•+} em microplaca. **USP – Instituto de biociências**. p. 1-4, 2017.

VIDAL-GUTIÉRREZ, M.; ROBLES-ZEPEDA, R.E.; VILEGAS, W.; GONZALEZ-AGUILAR,G.A.; TORRES-MORENO, H.; LÓPEZ-ROMERO, J.C. Phenolic composition and antioxidant activity of *Bursera microphylla* A. Gray. **Industrial Crops and Products**. v. 152, n. 15. 2020

VIGNOLI, A.J.; BASSOLI, D.G; BENASSI , M.T. Atividade antioxidante de cafés torrado e solúvel: padronização e validação de métodos. **Coffee Science, Lavras**. v. 7, n.1, p. 68-75, 2012.

VITRAC, X.; BORNET, A.; VANDERLINDE, R.; VALLS, J.; RICHARD, T.; DELAUNAY, J-C.; MRILLON, J-M.; TEISSEDRE, P-L. Determination of stilbenes (δ -viniferin, *trans*-astringin, *trans*-piceid, *cis*- and *trans*-resveratrol, ϵ -viniferin) in Brazilian wines. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 5664–5669, 2005.