



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
Programa de Pós-graduação em Ciência de Alimentos

**ANTOCIANINA OBTIDA DE FRUTO DE PALMEIRA JUÇARA (*Euterpe edulis* Mart.):
ESTABILIZAÇÃO COM MALTODEXTRINA E APLICAÇÃO EM ALIMENTOS**

ANA PAULA DA SILVA DOS PASSOS

Maringá
2011

ANA PAULA DA SILVA DOS PASSOS

**ANTOCIANINA OBTIDA DE FRUTO DE PALMEIRA JUÇARA (*Euterpe edulis* Mart.):
ESTABILIZAÇÃO COM APLICAÇÃO EM ALIMENTOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência de Alimentos da Universidade Estadual de Maringá, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência de Alimentos

Maringá

2011

Orientadora:
Prof^a Dr^a Graciete Matioli

BIOGRAFIA

Ana Paula da Silva dos Passos, nasceu em 30 de agosto de 1976, na cidade de Ubitatã – Paraná. Possui graduação em Tecnologia de Alimentos pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná, especialização em Biotecnologia Aplicada à Agroindústria - *Lato sensu* - pela Universidade Estadual de Maringá-PR; atuou como Técnico de Laboratório na Faculdade Integrado de Campo Mourão-PR (2006-2010). Tem experiência nas áreas de Química e Físico-química de Alimentos, Água e em Análises Agronômicas, atuando principalmente nos seguintes temas: Química de Alimentos, Tecnologia de Alimentos.

Aos meus amigos verdadeiros que nunca me deixaram desistir.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus.

À Professora Doutora Graciete Matioli, pela orientação, apoio e grande contribuição nessa importante trajetória da minha vida.

À minha família, por ter me incentivado em todos os momentos difíceis.

Ao meu marido, Gilmar, por ter sido companheiro e desde sempre ter acreditado em mim. Por todo o amor.

À Capes, pelo apoio financeiro.

A todas as pessoas que me auxiliaram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

APRESENTAÇÃO

Esta Dissertação está apresentada na forma de artigo científico.

1. Ana Paula da Silva dos Passos, Graciete Matioli, Antocianina obtida de fruto de palmeira juçara (*Euterpes edulis* Mart.): estabilização com maltodextrina e aplicação em alimentos, Food Technology and Biotechnology

RESUMO GERAL

As antocianinas são compostos fenólicos naturais presentes em plantas e possuem características funcionais que exercem efeitos benéficos à saúde. Elas podem ser empregadas como corantes naturais em alimentos, mas são instáveis frente a alguns processos tecnológicos. A técnica de microencapsulação é uma opção promissora para a estabilização de pigmentos, onde os compostos sensíveis são encapsulados por um material de revestimento ou parede protegendo de fatores que possam vir a causar sua deterioração pela luz, oxigênio entre outros. Esta pesquisa teve por objetivo a extração e quantificação de antocianinas totais, presentes na polpa dos frutos de *Euterpe edulis* Mart. (Palmeira Juçara) e sua posterior estabilização, por meio da técnica de microencapsulação com maltodextrina DE20 por liofilização. A extração das antocianinas foi realizada com solução de etanol/água na proporção de 7:3 e, posteriormente, o extrato obtido foi evaporado, congelado em nitrogênio líquido e liofilizado. O extrato foi quantificado pelo método de pH diferencial, que consiste no uso de dois sistemas de soluções tampão, sendo um com cloreto de potássio a pH 1,0 e 0,025 M e outro com acetato de sódio a pH 4,5 e 0,4 M. Procedeu-se a microencapsulação com 1 g de extrato liofilizado em 10 g de maltodextrina DE20 (1:10). O rendimento do processo, obtido pela diferença entre os compostos na superfície das cápsulas e os teoricamente encapsulados. Procedeu-se com os ensaios para verificar o efeito do tratamento térmico e do pH, respectivamente, em diferentes temperaturas/tempos e valores de pH/tempo. A avaliação morfológica dos compostos microencapsulados foi realizada em microscópio eletrônico de varredura. Foram feitas análises térmicas de calorimetria de varredura diferencial (DSC), termogravimetria (TG) e a análise de fotoacústica, respectivamente, para avaliar a interação da maltodextrina e com o extrato microencapsulado, a perda de massa e a intensidade da luz que foi absorvida pela amostra. Os pós obtidos foram adicionados em iogurtes e foram estudadas as características sensoriais e colorimétricas para comparação das formulações de iogurte natural e com corante puro e microencapsulado. O extrato liofilizado obtido apresentou coloração rósea intensa, teor de 14340,2 mg. L⁻¹ de antocianinas totais e 93,6% de rendimento na microencapsulação. O efeito da temperatura mostrou que a maltodextrina DE20 conferiu proteção até temperatura de 70°C durante 120 min. O pH em que a coloração vermelha predominou foi de 1,5-5,0, pois conforme o aumento do pH as antocianinas passam a ter outra conformação e, conseqüentemente, a perda da cor característica. A morfologia das partículas obtidas foi observada em microscópio eletrônico de varredura e apresentaram morfologia de flocos com superfície lisa. A conformação apresentada é característica do processo de liofilização e distinguiu-se de outros processos rotineiros, como o “spray dryer”, em que as partículas são relativamente uniformes e esféricas. Dentre as vantagens da liofilização, destaca-se o uso de temperatura baixa para a secagem e, resultando na, preservação de

compostos termossensíveis. Análises de DSC e TG demonstraram que houve interação fraca entre amostras e agente encapsulante e a fotoacústica mostrou a sensibilidade da matriz frente à luz. Os iogurtes adicionados de corante puro e encapsulados apresentaram coloração rosa, que tendeu ao vermelho pela análise instrumental realizada por colorímetro e as notas para os atributos aroma, cor, sabor e textura variam de “gostei ligeiramente” a “gostei muito” para a sensorial, bem como a intenção de compra para todas as formulações ficou acima de 50%. Portanto, foi possível realizar a extração, quantificação, microencapsulação, estabilização térmica e frente ao pH, bem como aplicação em alimentos das antocianinas presentes na polpa dos frutos de *Euterpe edulis* Mart. (Palmeira Juçara).

Palavras -chave: palmeira, antocianina, corante natural, liofilização, microencapsulação.

SUMMARY

Anthocyanins are naturally phenolic compounds occurring in plants and have functional characteristics that exert beneficial health effects. They can be used as natural food colorants, but are unstable in some technological processes. The microencapsulation technique is a promising option for the stabilization of pigments, in which the sensitive compounds are encapsulated by a coating material or wall protecting them from factors that may cause their deterioration by light, oxygen and others. This study was aimed at the extraction and quantification of total anthocyanins found in fruit pulp of *Euterpe edulis* Mart. (Palm Juçara) and its subsequent stabilization by the microencapsulation technique with maltodextrin DE20 by lyophilization. The extraction of anthocyanins was carried out with a solution of ethanol / water ratio of 7:3 and subsequently the extract was evaporated, frozen in liquid nitrogen and lyophilized. The extract was quantified by the pH differential method, which consists of using two buffer systems, one with potassium chloride at pH 1.0 and 0.025 M and the other with sodium acetate at pH 4.5 and 0.4 M. The microencapsulation with 1 g of freeze-dried extract in 10 DE20 g of maltodextrin (1:10) was performed. The process yield, calculated as the difference between the compounds on the surface of the capsules and the encapsulated theoretically. The tests to verify the effect of heat treatment and pH, respectively, were made at different time / temperature and pH / time. The morphological evaluation of microencapsulated compounds was performed using a scanning electron microscope. Thermal analysis of differential scanning calorimetry (DSC), thermogravimetry (TG) and photoacoustic analysis, respectively, were made to evaluate the interaction of maltodextrin and microencapsulated extract, mass loss and the intensity of light that was absorbed by the sample. The powders were added in yogurts and the sensory and colorimetric characteristics were studied in order to compare the plain yogurt formulations with pure and microencapsulated colorant. The

resulting lyophilized extract showed intense pink color, and content of 14340.2 mg. L⁻¹ of total anthocyanins and 93.6% of microencapsulation yield. The effect of temperature has shown that the maltodextrin DE20 gave protection to 70 ° C for 120 min. The pH in which the red color predominated was 1.5 to 5.0, because as PH increases the anthocyanins change their conformation and, consequently, lose their particular color. The morphology of particles were observed using a scanning electron microscope and showed morphology with smooth surface flakes. The conformation shown is a feature of the lyophilization process and distinguish itself from other routine processes, such as "spray dryer" in which the particles are relatively uniform and spherical. Among the advantages of freeze drying, is the use of low temperature for drying and resulting in the preservation of thermosensitive compounds. DSC and TG analysis showed that there was weak interaction between the samples and the encapsulating agent and photoacoustic has shown the sensitivity of the array facing the light. The yogurts added of pure and encapsulated anthocyanin had a pink color, which approached the red for the instrumental analysis. The notes on sensory analysis ranged from "slightly liked" to "liked very much", and purchase intent for all formulations was above 50%. Therefore, it was possible to perform the extraction, quantification, microencapsulation, thermal stabilization and pH and food application of anthocyanins found within the pulp of the fruits of *Euterpe edulis* Mart. (Palm Juçara).

Key words: palm, anthocyanin, natural colorant, microencapsulation, lyophilization.

Antocianina obtida de fruto de palmeira juçara (*Euterpe edulis* Mart.) estabilização com maltodextrina e aplicação em alimentos

Ana Paula da Silva¹ e Graciete Matioli^{1*}

¹*Programa de Pós-graduação em Ciências de Alimentos da Universidade Estadual de Maringá (UEM), Avenida Colombo, 5790, CEP 87020-900, Maringá-PR, Brasil.*

*Autor correspondente: 44-3261 4301; fax 44 3261 4119

e-mail: gmatioli@uem.br (G. Matioli)

RESUMO

As antocianinas são flavonoides presentes em plantas que possuem características funcionais exercendo efeitos benéficos à saúde. Elas podem ser empregadas como corantes naturais em alimentos. A técnica de microencapsulamento é uma opção promissora para a estabilização de pigmentos. A extração das antocianinas totais, presentes na polpa dos frutos de *Euterpe edulis* Mart., foi realizada com solução de etanol/água e o extrato foi liofilizado. O extrato foi quantificado pelo método de pH diferencial e a microencapsulação foi realizada com maltodextrina. A avaliação morfológica das microcápsulas obtidas foi realizada por MEV. O efeito da microencapsulação da antocianina frente a temperatura e pH foi avaliado. Foram feitas análises térmicas DSC e TG e também espectroscopia fotoacústica. O material microencapsulado foi adicionado a iogurtes e estudado as características sensoriais e colorimétricas. O extrato liofilizado obteve teor de 14340,2 mg/L de antocianinas totais e 93,6% de rendimento na microencapsulação. O efeito da temperatura mostrou que a maltodextrina conferiu proteção até temperatura de 70°C durante 120 min. A coloração vermelha, presentes na antocianina quando adicionada no iogurte, predominou em valores de pH de 1,5-5,0, pois conforme o aumento do pH as antocianinas perdem a cor característica. As partículas formadas apresentaram morfologia de flocos com superfície lisa, característica do processo de liofilização. As análises térmicas demonstraram que houve interação fraca entre as amostras e o agente encapsulante e a fotoacústica mostrou a sensibilidade da matriz frente à luz. Os iogurtes adicionados de corante puro e corante encapsulado apresentaram coloração rosa, que tendeu para o vermelho pela análise instrumental realizada por meio de colorímetro. As notas na análise sensorial variaram de “gostei ligeiramente” a “gostei muito”, e a intenção de

compra para todas as formulações ficou acima de 50%. Portanto, a microencapsulação com a maltodextrina promoveu a estabilização de antocianina do fruto da palmeira Juçara e viabilizou a aplicação inovadora deste corante em iogurte.

Palavras-chave: palmeira, antocianina, corante natural, liofilização, microencapsulação.

SUMMARY

Anthocyanins are natural compounds found in plants and have functional characteristics by the presence of phenolic compounds that exert beneficial health effects. They can be used as natural colorants in foods. The microencapsulation technique is a promising option for stabilizing pigments. The total anthocyanins extraction present in the fruit pulp of *Euterpe edulis* Martius was performed with a solution of ethanol/water and lyophilized. The extract was measured by pH differential method and microencapsulation was carried out with maltodextrin. The microcapsules morphological evaluation was performed in an electron microscope. The anthocyanin microencapsulation effect in the face of temperature and pH was evaluated. DSC and TG thermal analysis were made, as well as photoacoustic spectroscopy. The microencapsulated material was applied to yogurt and was studied sensory and colorimetric characteristics. The lyophilized extract obtained showed contents of 14340.2 mg/L of total anthocyanins and 93.6% yield in microencapsulation. The temperature effect showed that maltodextrin gave protection to 70 ° C for 120 min. The predominant red color at pH of 1.5-5.0, because as pH increases anthocyanins lose their characteristic color. The capsules had formed morphology of flakes with a smooth surface characteristic of the lyophilization process. Thermal analysis showed that there was weak interaction between the samples and the encapsulating agent and photoacoustic showed the sensitivity of the array opposite the light. The yogurts added of anthocyanin pure and anthocyanin encapsulated had a pink color, which approached the red for the instrumental analysis. The notes on sensory analysis ranged from "like slightly" to "liked very much", and purchase intent for all formulations was above 50%. Therefore, microencapsulation with maltodextrin promoted the stabilization of anthocyanins from palm Juçara fruit and enabled the innovative application of this colorant in the food system. This research contributes to the current need for stable natural dyes for industrial use and the development of foods enriched with compounds "functional."

Key words: palm, anthocyanin, natural colorant, microencapsulation, lyophilization.

INTRODUÇÃO

A coloração é um dos atributos de qualidade mais importante para alimentos, afetando a sua aceitação por parte dos consumidores, os quais as correlacionam diretamente com sua qualidade (1, 2, 3). A utilização de corantes artificiais se deve a diversos fatores como a estabilidade, pureza, disponibilidade, poder de coloração, menor preço e uniformidade dos alimentos produzidos em larga escala, quando comparados aos corantes naturais (4). Contudo, pesquisas para o desenvolvimento de corantes naturais têm sido intensificadas com a finalidade de diminuir a utilização de corantes sintéticos em alimentos (5). O número de corantes naturais disponíveis no mercado é reduzido (3), pois a sua utilização requer o conhecimento de suas propriedades químicas para a adaptação de uso em processos, embalagem e distribuição, neste sentido, o setor alimentício tem incentivado o desenvolvimento de novas formas de conservação dos pigmentos, dentre elas pode-se citar o encapsulamento e a adição de antioxidantes como as mais importantes (6).

Em produtos naturais, a maioria das substâncias responsáveis pela coloração pertence à classe dos flavonoides, sendo estes os responsáveis pelo aspecto colorido das folhas e flores, podendo estar presentes em outras partes das plantas (7, 8). As antocianinas são compostos pertencentes ao grupo dos flavonoides responsáveis pela grande variedade de cores de frutas e flores que vão do vermelho-alaranjado, ao vermelho vivo, roxo e azul (9). A palmeira Juçara (*Euterpe edulis* Mart.) é uma planta nativa da Floresta Atlântica e seu consumo tem sido estimulado, conforme já vem sendo feito com outra palmeira do gênero *Euterpe*, o açaí (*Euterpe oleraceae* Mart.). Os frutos apresentam em seu conteúdo uma concentração de antocianinas superior a do açaizeiro (10). Sua polpa é aplicada na confecção de sucos, bombons, sorvetes, cremes, entre outros produtos.

As antocianinas são uma opção para substituição dos corantes artificiais, pois apresentam cores brilhantes e atrativas, alta solubilidade em água, além de várias propriedades funcionais reconhecidas, tais como redução de doença cardíaca coronária, redução do risco de acidente vascular cerebral, atividade anticarcinogênica, os efeitos anti-inflamatórios, melhora da acuidade visual e cognitivo-comportamental (11, 7, 12). Porém, as antocianinas, quando isoladas, são altamente instáveis e muito susceptivas à degradação (13). Dentre os fatores que causam a instabilidade e a degradação das antocianinas pode-se citar: pH, luz e calor (14, 15, 12, 16).

Alguns métodos podem ser utilizados para aumentar ou melhorar a estabilidade de corantes naturais, dentre estes podem ser citados as técnicas de microencapsulamento, por spray dryer, por liofilização, formação de complexos de inclusão, co-cristalização, entre outras (17). A secagem por spray dryer é a metodologia mais comumente aplicada pela indústria no processo de secagem para a obtenção de corantes naturais, no entanto essa técnica apresenta limitações como perda de

compostos voláteis e reações de oxidação (11).

O processo de microencapsulamento com maltodextrina apresenta-se como uma técnica em que compostos sensíveis são encapsulados por um material de revestimento ou parede, protegendo-os de fatores que possam causar a sua deterioração, tais como a luz e oxigênio. Também contribui para o aumento da vida útil dos compostos e controla sua liberação no meio (18, 19, 20, 21). Inúmeros materiais de parede podem ser utilizados no processo de microencapsulamento, porém os mais comumente utilizados são as maltodextrinas, as quais são provenientes de hidrolisados de amido, altamente solúveis em água, com baixa viscosidade, sabor agradável e apresentam soluções incolores (11, 19, 22).

Diversos pesquisadores têm usado técnicas de análises térmicas como a termogravimetria (TGA), calorimetria de varredura diferencial (DSC) (23, 24, 25) para verificação do comportamento de antocianinas em relação ao processo de microencapsulação. No mesmo segmento de análise térmica, a espectroscopia fotoacústica apresenta vantagens em relação a TGA e DSC ao ser empregada em avaliações de comportamentos, pois possibilita analisar amostras sem destruí-las (26) e sem a necessidade de preparação prévia. Atividades como processo de extração, tratamento químico, entre outras, na maioria das vezes não são requeridas (27).

Este trabalho teve por objetivo o emprego inovador de antocianinas obtidas do fruto da palmeira Juçara através do estudo da estabilização com microencapsulação com maltodextrina, visando à aplicação em sistema alimentício, considerando a atual necessidade de corantes naturais estáveis para o uso industrial, a importância de alimentos enriquecidos com compostos “funcionais”.

MATERIAIS E MÉTODOS

A polpa *in natura* de frutos de palmeira Juçara (*Euterpe edulis* Mart.), foi fornecida pela empresa Solabia Group – Maringá – PR - Brasil

Extração das antocianinas

A extração das antocianinas foi realizada de acordo com a metodologia proposta por Teixeira, Stringheta & Oliveira (28), com modificações. Na extração foi utilizada uma razão de 1:2 da polpa dos frutos de palmeira Juçara (*Euterpe edulis* Mart.) com uma solução de álcool etílico e água na proporção 7:3. A mistura foi deixada sob agitação em agitador magnético (Fisaton, 752, Brasil) por 40 min e protegidos da luz. Após a extração, a mistura foi filtrada e centrifugada a 4000 rpm por 10 min. (Centrífuga, Cientec, CT 5000, Brasil). Com o auxílio de funil de separação, a

clorofila presente no extrato foi retirada por extração com três alíquotas consecutivas de 150 mL de éter etílico:éter petróleo (1:1).

O extrato foi concentrado, a 30% do volume inicial, em evaporador rotativo (Tecnal, TE-211, Brasil) a 45°C, com bomba a vácuo acoplada (Tecnal, TE-058, Brasil) e protegido da luz, congelado em nitrogênio líquido e liofilizado a -50°C durante 24h em liofilizador de bancada (Christ Alfa, 1-4 LD, UK) e armazenado em freezer a -20°C (Consul, Slim 190, Brasil).

Determinação das antocianinas totais

O conteúdo de antocianinas totais foi determinado pelo método pH diferencial descrito por Lee, Durst & Wrolstad (29), no qual foram utilizados dois sistemas tampão, sendo um com cloreto de potássio a pH 1,0 e 0,025M e o segundo contendo acetato de sódio a pH 4,5 e 0,4M. Foram realizadas diluições, a fim de obter densidade óptica na faixa de 0,200 – 1,400 e mensuradas em espectrofotômetro (Thermo electron corporation, 4001/4, USA) a 520 nm e 700 nm. A absorbância final foi calculada a partir da Equação 01 e o teor de antocianinas totais pela Equação 02, na qual, MM = massa molecular, FD = fator de diluição, 1000 = conversão de gramas para miligramas, l = comprimento do caminho óptico em centímetro, ϵ = 26900, coeficiente de extinção molar em L/mol/cm para cianidina-3-glicosídeo e o resultado expresso em mg/L.

$$\text{Absorbância final} = (A_{520} - A_{700})_{\text{pH}1.0} - (A_{520} - A_{700})_{\text{pH}4.5} \quad /01/$$

$$\text{Teor de antocianinas} = \frac{(A \times MM \times FD \times 1000)}{(\epsilon \times l)} \quad /02/$$

Processamento das microcápsulas

A obtenção das microcápsulas seguiu a metodologia descrita por Selim *et al.*, (2), com modificações, utilizando-se maltodextrina DE 20 (dextrose equivalente ao número 20), como agente de encapsulamento (matriz) e a relação entre o extrato liofilizado de antocianina e a matriz foi de 1:10. Foram dissolvidos 10 g da matriz em 50 mL de água destilada e o pH foi ajustado para 2,0, com ácido clorídrico concentrado, em potenciômetro (Tecnal, TEC 2, Brasil) e, posteriormente, foi incorporado 1,0 g do extrato liofilizado de antocianina a solução. A mistura foi agitada por 15 min e transferida para o balão de vidro, sendo congelada em nitrogênio líquido, liofilizada e armazenadas em frascos de cor âmbar no freezer (Consul, Slim 190, Brasil) a -20°C.

Eficiência do processo de microencapsulação

A determinação da eficiência do processo de microencapsulação envolveu a análise do teor de antocianinas presentes no interior e exterior do complexo formado. Para análise do teor de antocianinas microencapsuladas, a estrutura de revestimento da microcápsula foi desfeita, conforme o procedimento proposto por Robert *et al.*, (30), em que 200 mg das microcápsulas foram colocadas em tubos de ensaio, com 2 mL da mistura de metanol:ácido acético:água na proporção de 50:8:42. A mistura foi agitada em vórtex (Phonex, AP 56, Brasil) por 1 min e homogeneizada em ultrassom com aquecimento (Unique Ultra Cleaner, USC-1400 A, Brasil), em dois tempos de 20 min. As antocianinas foram quantificadas conforme descrito anteriormente.

Para a quantificação das antocianinas presentes no exterior do complexo formado foram obtidas pelo tratamento de 200 mg das microcápsulas foram adicionadas a 2 mL de uma solução de etanol e metanol na proporção de 1:1, posteriormente, a mistura foi agitada em vórtex à temperatura ambiente durante 1 min e filtrada em filtro Millipore 45µm 13mm (Millipore Corporation, Swinney Stainless, Bedford, MA 01730, U.S.A.). As antocianinas foram determinadas, conforme descrito anteriormente. A porcentagem de compostos de superfície (CS) e a eficiência do processo de microencapsulamento (EM) foram calculadas de acordo com as Equações 03 e 04, descritas abaixo.

$$CS(\%) = \frac{(\text{Compostos de superfície})}{(\text{Total teórico de compostos})} \times 100 \quad /03/$$

$$EM(\%) = 100 - CS(\%) \quad /04/$$

Efeito do tratamento térmico

A estabilidade térmica do extrato e das microcápsulas de antocianinas foram determinadas, segundo metodologia proposta por Selim *et al.*, (2). Com modificações, uma quantidade adequada de antocianinas totais de *Euterpes edulis* Mart. foram diluídas com solução de citrato fosfato em pH 2,0 e o total de antocianinas foi determinado conforme descrito anteriormente. Para a estabilidade ao aquecimento 10 mL do extrato foram colocados em tubos de vidro com tampas rosqueáveis e aquecidos em banho termostatizado (Tecnal, modelo TE 184, Brasil) com temperaturas controladas a 60, 70, 80 e 90°C por 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110 e 120 min. Transcorridos os tratamentos, os tubos foram imediatamente resfriados em água gelada para determinação dos teores de antocianinas. Os valores de antocianinas presentes na amostra foram estimados de acordo com a Equação 05.

$$\text{Retenção de antocianinas (\%)} = \frac{(\text{Teor de antocianina após aquecimento})}{(\text{Teor de antocianina antes do aquecimento})} \times 100 \quad /05/$$

Efeito do pH

A estabilidade das antocianinas e das microcápsulas frente as variações de pH foram estudadas em valores de pH: 1,5; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0; 6,0; 7,0; 8,0 e 9,0. As análises foram realizadas conforme descrito por Wang *et al.*, (31). Neste ensaio, 2 mL de cada extrato foram misturados a 5 mL de solução tampão McIlvaine. As amostras foram colocadas em tubos de vidro com tampa rosqueável, fechados, embalados com papel alumínio e acondicionados em refrigerador (Electrolux, RDV 48, Brasil) a temperatura de 8°C. As absorbâncias das amostras foram periodicamente avaliadas por meio de leitura em espectrofotômetro (Thermo electron corporation, 4001/4, USA) em 520 nm nos diferentes extratos de antocianinas e microcápsulas com solução tampão.

Morfologia dos complexos

A morfologia das partículas obtidas contendo maltodextrina DE20, extrato liofilizado de antocianina e antocianinas microencapsuladas foram avaliados por MEV, (Microscópio eletrônico, Shimadzu, SS-550 SuperScan Scanning Electron Microscop, Thailand) e seguiu a metodologia descrita por Laine *et al.*, (22), onde as amostras foram revestidas em ouro e colocadas sobre um suporte, cujas imagens foram obtidas com ampliação de 200 vezes.

Calorimetria de varredura diferencial (DSC) e Termogravimetria (TG)

5 mg de amostras de antocianinas, maltodextrina DE20 e antocianinas microencapsuladas foram pesadas e colocadas em cadinho de platina e submetidas às análises de DSC e TG. Foi utilizado um sistema de análise térmica simultânea e dilatômetro (NETZSCH, STA 409 PG/4/C Luxx e DIL 402 PC/4, Germany), nas temperaturas de 20 e 500°C, inicial e final, respectivamente. A taxa de aquecimento foi de 10°C por minuto e sob atmosfera de nitrogênio, com fluxo de 20 mL por minuto.

Avaliação dos espectros de absorção óptica

As amostras de antocianinas liofilizadas, maltodextrina DE20 e antocianinas microencapsuladas foram avaliadas por meio da espectroscopia fotoacústica (EFA). Esta técnica dispensa o pré preparo das amostras, onde as amostras em pó, após o processo a liofilização, foram colocadas diretamente no porta amostra do equipamento. Inicialmente, foram obtidos os espectros de absorção das amostras na região do ultravioleta e do visível, entre 200 e 800 nm e, posteriormente, as amostras foram iluminadas com uma luz branca por um período de 2h e novamente obtidos os espectros de absorção das amostras na região do ultravioleta e do visível, entre 200 e 800 nm. Foram obtidos os espectros de absorção na região espectral do ultravioleta e do visível com frequência de modulação da luz de 25 Hz (Figura 1).

Figura 1.

Conforme a Figura 1, a fonte de luz monocromática foi a partir de uma lâmpada de arco de xenônio, com potência de 700 W (68820, Oriel® Instruments, USA), e um monocromador (77250; Oriel® Instruments, USA). O feixe de luz foi controlado por um modulador mecânico (SR540, Stanford Research Systems USA). A célula fotoacústica possuiu modelo padrão, projetado para ter um volume mínimo. Esse dispositivo foi construído de bloco de alumínio usinado para conter amostras com dimensões máximas em torno de 5 mm de diâmetro e 1 mm de espessura. A luz incidiu do interior da célula fotoacústica após ser transmitida através de uma janela de quartzo. O microfone foi acoplado à célula fotoacústica (BK 2669, Brüel & Kjaer, Dinamarca) por meio de um duto de 1 mm de diâmetro e conectado a uma fonte de alimentação e um pré-amplificador. O sinal do microfone foi transferido para o Lock-in (amplificador sincronizado, 5110, EG & G Instruments, USA), que forneceu a intensidade e a fase do sinal fotoacústico, os quais foram transferidos para um microcomputador via interface GPIB. Os sinais dos espectros fotoacústicos das amostras foram normalizados com os encontrados para o pó de carvão ultrapuro (32).

Aplicação em alimento e análise da cor

O pó do extrato de antocianina obtido após o processo de liofilização, as microcápsulas de antocianinas com maltodextrina DE20, foram utilizados na elaboração de iogurte. Foram elaborados três tipos de iogurte conforme metodologia descrita por Rensis & Souza (33), com algumas modificações: com leite UHT integral (Padrão) sem adição de corante, com adição de corante natural de antocianina, extraída de frutos de palmeira Juçara e com adição de microcápsulas de

antocianina e maltodextrina DE20.

O iogurte desenvolvido consistiu de leite previamente pasteurizado, A cultura láctica utilizada foi de *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus bulgaricus* (Bio Rich®, Christian Hansen) e 10% (m/v) de açúcar refinado. Os ingredientes foram misturados até completa dissolução e incubados a 42°C durante 5h (formação do coágulo), em reator para iogurte e bebidas lácteas (Mec Milk, Brasil), em sistema encamisado e termostatizado, com capacidade para 50 L. Ao término do processo, o produto foi resfriado a 4°C e armazenado em refrigerador para completa maturação da massa. O iogurte pós-processamento foi dividido em três lotes, sendo adicionados 0.05% do extrato liofilizado de antocianinas com e sem maltodextrina DE 20, em dois lotes distintos e o último sem adição do corante.

A análise de cor foi realizada por meio do colorímetro Minolta (Konica Minolta, modelo CR 400, China), com leitura por reflectância das coordenadas L* (luminosidade), a* (intensidade de + vermelho e – verde) e b* (intensidade de + amarelo e – azul), e os valores para cada amostra foram obtidos por meio da média de dez leituras. A cor foi mensurada a cada três dias, durante um intervalo de 1 a 23 dias de estocagem a 4°C para os três lotes do iogurte.

Análise sensorial

A análise sensorial foi realizada por meio do Teste de Aceitação, considerando-se os atributos cor, sabor, textura e aroma. Com uma equipe de 80 provadores voluntários, não-treinados e possíveis consumidores potenciais do produto, que avaliaram as amostras por meio da escala hedônica mista estruturada de 9 pontos (1 = desgostei muitíssimo e 9 = gostei muitíssimo). Essas amostras foram apresentadas monadicamente, seguindo-se delineamento de blocos completos casualizados (34). Ao final do teste sensorial, foi realizado um teste de intenção de compra, utilizando-se uma escala de 5 pontos (1 = certamente não compraria e 5 = certamente compraria).

Análise estatística

Os resultados encontrados na análise sensorial foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas utilizando o “pós-hoc” teste de Tukey, com o auxílio do programa STATISTICA® versão 8.0 (StatSoft, Inc., Tulsa, OK, USA). Adotou-se o nível de significância para rejeição da hipótese de nulidade de 5% ($p < 0.05$) (1).

Aspectos éticos

Para a realização dos testes sensoriais, o presente trabalho foi aprovado pelo Comitê Permanente de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Universidade Estadual de Maringá, cujo número de protocolo CAAE 0275.0.093.000-11. Todos os provadores assinaram o Termo de Consentimento Livre Esclarecido.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Teores de antocianinas no extrato

O teor de antocianinas totais verificado no presente estudo foi de 14340,20 mg/L. O conteúdo de antocianinas pode variar entre os diferentes tipos de vegetais, estações do ano, clima, solo entre outros fatores (5). Em estudos realizados (9, 35, 36, 30), foram encontrados teores de antocianinas na ordem de 2100,00; 39461,40; 480,60 e 882,00 mg/L, respectivamente, presentes em sucos de uva (*Vitis labrusca* L.), polpa de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.), jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*), romã (*Punica granatum*). Nesses trabalhos as antocianinas foram extraídas para a utilização como corantes naturais e sendo que neste estudo foi observado elevada concentração de antocianinas totais na polpa dos frutos de palmeira Juçara, demonstrando assim seu uso potencial como agente corante, podendo ser empregada na elaboração de diferentes produtos alimentícios.

Microencapsulamento das antocianinas

A eficiência do processo de microencapsulação foi de 93,6%, apresentando um valor superior ao encontrado por Laine *et al.*, (22), que utilizaram extrato antocianinas a partir de amora silvestre (*Rubus chamaemorus*) e maltodextrinas com DE 5-8 e 18.5 como matriz na proporção de 1:9, utilizando o método de liofilização, estes autores encontraram valores de 79 e 48%, respectivamente para a eficiência do processo. A utilização do processo de liofilização como um método de encapsulamento é recomendado para compostos sensíveis à degradação pelo calor. Robert *et al.*, (30), trabalharam com a técnica de microencapsulação por spray dryer, utilizando suco e extrato etanólico de romã e agente encapsulante proteína isolada de soja e maltodextrina (DE 12-20), estes autores, encontraram uma porcentagem de eficiência de microencapsulação de 35,8–100%, 89,4–100%, 73–98,9% e 96,7–100%, respectivamente (suco de romã – proteína isolada de soja, suco de romã – maltodextrina, extrato etanólico – proteína isolada de soja e extrato etanólico - maltodextrina). Os valores encontrados demonstram a habilidade da maltodextrina em

ligar-se as antocianinas, formando uma interação com cátion flavílio (30), atuando, assim, como bom agente encapsulante para pigmentos.

Efeito do Tratamento Térmico

A Figura 2A, 2B, 2C e 2D, demonstram o efeito do tratamento térmico. Pode-se observar de acordo com a Figura 2A e 2B a manutenção nos teores de antocianinas para os tratamentos com maltodextrina DE20, demonstrando que a maltodextrina possivelmente atuou como barreira física para evitar a degradação das amostras e a mudança na coloração. As alterações ocorridas na coloração ocorrem pela formação de compostos incolores e/ou indesejáveis para os produtos, aos quais são vinculados (14, 37).

Dentre os fatores que degradam as antocianinas, a temperatura empregada durante o processamento dos alimentos tem grande influência sobre a destruição das antocianinas (38).

Figura 2.

Para os tratamentos com temperaturas de 80 e 90°C, Figuras 2C e 2D, respectivamente, foi verificada diferença quantitativa nos percentuais de retenção das antocianinas, em ambos os ensaios, com e sem maltodextrina, demonstrando que as antocianinas são sensíveis a temperaturas elevadas ($\geq 80^\circ\text{C}$). Os resultados obtidos demonstraram que temperaturas elevadas servem como catalisadores nas reações de oxidação, e conforme ocorre o aumento da temperatura, maior será a degradação que leva à perda da configuração das antocianinas e também favorece a hidrólise das ligações glicosídicas presentes nas moléculas, com a formação de chalconas e reações de oxidação e perda da coloração, reduzindo seu poder corante (38, 16).

Burin *et al.*, (1) estudaram a otimização de extração de antocianinas de suco de uvas Cabernt Sauvignon e microencapsulação com maltodextrina e relataram baixos valores de preservação quando se utilizou apenas a maltodextrina no processo de microencapsulação, pois a matriz apresentou baixa formação de filme, afetando a formação das microcápsulas e conseqüentemente sua proteção ao aquecimento. Amr & Al-Tamimi, (39) trabalharam com extrato de *Ranunculus asiaticus* e reportaram uma porcentagem de antocianinas que permaneceram após o aquecimento em temperaturas de 50°C e 80°C em pH 3,5 de 58% e 52% respectivamente e Wang & Li (31) encontraram uma porcentagem de 82,7 e 76,7 % após a exposição em temperaturas de 80 e 100 °C. Confirmando que, a degradação das antocianinas está diretamente relacionada com o tempo e temperatura de aquecimento (14).

Efeito do pH

A sensibilidade em relação às variações de pH é um dos fatores limitantes na utilização das antocianinas em alimentos, pois pode ocasionar mudança na coloração e descaracterizar o produto (5). Os extratos e as microcápsulas produzidas foram submetidas a diferentes valores de pH, para verificar a mudança na estrutura e correlacionar as leituras na absorvância nos tratamentos.

A coloração apresentou um decaimento do pH 1,5 até 5,0 e depois se manteve praticamente estável até pH 9,0, isto ocorreu para todas as amostras. A utilização das microcápsulas intensificou a coloração das antocianinas em relação ao extrato não microencapsulado em diferentes valores de pH (Figura 3A), provavelmente pela interação entre as moléculas de maltodextrina com a estrutura das antocianinas.

Figura 3.

Na Figura 3B são apresentados os valores de pH 1,5; 3,0 e 5,0 após dez dias de estocagem. As absorvâncias nos valores de pH estudados apresentaram-se próximos no período analisado. Wang et al., (31) avaliaram o comportamento do extrato de antocianinas do mirtilo (*Vaccinium corymbosum*) em diferentes pH abaixo de 5,0 esses compostos tiveram absorvâncias semelhantes ao encontrado no presente trabalho. Em soluções ácidas, as estruturas das antocianinas apresentam-se na forma de cátion flavílio (AH^+), predominando a coloração vermelha. Conforme o valor de pH aumenta, a estrutura ganha outra conformação, pois o cátion perde um próton e sofre hidratação, passando para pseudobase ou carbinol e quando atinge o equilíbrio adquire a forma incolor. As quantidades relativas de cada estrutura, presentes nas antocianinas, que se encontram na condição de equilíbrio variam de acordo com o pH (17).

Microscopia eletrônica de varredura

A caracterização morfológica das amostras foi realizada por meio de microscopia eletrônica de varredura. As Figuras 4A e 4B apresentam as imagens do extrato liofilizado de antocianinas, Figuras 4C e 4D as da maltodextrina DE20 e as Figuras 4E e 4F são imagens do complexo microencapsulado. O método de liofilização utilizado tem grande influência na estrutura formada após a secagem. As microcápsulas apresentaram-se lisas e com flocos semelhantes ao observado por Laine *et al.*, (22); o formato encontrado é comum, quando se emprega a liofilização para a obtenção das microcápsulas (40), e foi verificada a formação de um filme que envolveu as antocianinas. A morfologia se distingue, quando são utilizados diferentes métodos de microencapsulação (41). As imagens obtidas demonstraram que as antocianinas passaram de uma morfologia amorfa para um produto de aspecto cristalino com forma mais definida. A mudança na

morfologia apresentada, fez com que ocorresse uma melhora na dispersão da antocianina após microencapsulação com maltodextrina, conforme observado na incorporação em alimento elaborado (iogurte).

Figura 4.

Análises térmicas DSC-TG

Os termogramas de DSC mostrados na Figura 5A relacionam as análises realizadas nas amostras de antocianinas, maltodextrina DE20 e microcápsulas. O termograma relacionado com a maltodextrina apresenta picos entre 30-80°C indicando provavelmente a perda de água e evaporação dos compostos voláteis. O pico endotérmico mais pronunciado a 245°C, detectado para a maltodextrina, se relaciona ao ponto de fusão desta molécula, e um terceiro pico é observado próximo a 300°C (24, 42). Para a antocianina observa-se também a presença de três picos endotérmicos, o primeiro e mais intenso em 120°C, e dois picos menores próximos a 400°C e 450°C. Para a amostra microencapsulada o termograma apresenta tanto os picos observados para a maltodextrina, quanto para a antocianina, no entanto fica evidente a ocorrência de um alargamento destes picos, indicando a formação de interação fraca, possivelmente devido às moléculas de maltodextrina não formarem um complexo efetivo com as antocianinas.

Figura 5.

A Figura 5B apresenta os termogramas de TG para as mesmas amostras citadas acima. As curvas de TG para maltodextrina e antocianina apresentaram semelhança entre si. Inicialmente, as duas amostras demonstraram pequeno valor de perda de massa, próximos de 7% entre 20°C e 115°C, esse valor pode estar relacionado à perda de água. No intervalo entre 115°C e 220°C a maltodextrina apresentou um decréscimo pouco pronunciado de aproximadamente 3%, enquanto para a antocianina a variação de massa nesse intervalo foi de 18%, a qual está associada ao primeiro pico endotérmico observado no DSC (120°C). Entre 220°C e 270°C a queda foi de 4% para maltodextrina e 13% para antocianina, a pequena variação de massa para a maltodextrina nesta região de temperatura confirma que o pico observado em 245°C na curva de DSC é decorrente do processo de fusão e não da degradação deste material. Após 270°C houve uma perda de massa bastante significativa para a amostra de maltodextrina, que pode ser associado ao pico observado próximo a 300°C na curva de DSC, e associado a degradação térmica da maltodextrina, indicando ser instável em temperaturas superiores a 100°C e degradada após 200°C, conforme observado por

Osório *et al.*, (42). Para a amostra de antocianina microencapsulada e nos mesmos valores de temperatura, a amostra apresentou diferenças no decréscimo de porcentagem de perda de massa, no primeiro estágio houve um decréscimo de 8%, seguido novamente de uma perda de 8%, entre 220°C e 270°C o decréscimo foi de 13% e com perda acentuada acima de 270°C, a qual está relacionada a degradação da maltodextrina, como discutido acima. Em temperaturas próximas a 115°C a microcápsulas apresentaram mais estáveis termicamente que as antocianinas, fato relevante, pois nesta faixa de temperatura que grande parte dos alimentos são elaborados.

Espectroscopia Fotoacústica

Na Figura 6, encontram-se os sinais fotoacústicos das amostras de extrato liofilizado de antocianina, extrato liofilizado de antocianina microencapsulado com maltodextrina e maltodextrina. Observou-se que houve variação na intensidade do sinal fotoacústico para as amostras de extrato liofilizado de antocianina e para o extrato liofilizado microencapsulado com maltodextrina, após a exposição à luz branca por 2h em todos os comprimentos de onda analisados, indicando aumento na absorção da luz pela amostra. A utilização da maltodextrina com o objetivo de proteger a amostra de antocianina de ser degradada pela ação da luz não se apresentou eficiente, pois houve aumento no sinal fotoacústico, indicando que a luz conseguiu atravessar a película formada pela maltodextrina, sendo evidenciada pela diferença dos sinais fotoacústicos obtidos na amostra. A luz é um fator de grande importância na alteração da cor das antocianinas (7). A transformação é mais intensa quando o fator luz é combinado com o efeito do oxigênio. Os espectros obtidos indicam que a antocianina sofreu degradação quando exposta à luz, mesmo quando microencapsulada com maltodextrina.

O aumento do sinal fotoacústico para as amostras de maltodextrina foi observado para a amostra não-liofilizada após permanecer sob iluminação por 2h. Esse aumento pode ser observado até aproximadamente 340 nm, indicando que a luz influenciou em alguma mudança na estrutura da maltodextrina que absorve luz nesta região. Porém, para a amostra de maltodextrina que foi liofilizada o comportamento no sinal gerado não se repetiu, provavelmente, devido processo de secagem, o qual de alguma forma modificou a estrutura da amostra de maltodextrina.

Análise colorimétrica do iogurte com antocianina

Os extratos de antocianinas liofilizados com e sem maltodextrina foram incorporados ao iogurte, sendo que o microencapsulado de antocianina com maltodextrina foi mais facilmente incorporado. Conforme observado na coordenada a^* no sistema CIELab, a amostra em que foi adicionado o pó microencapsulado apresentou coloração com maior tendência para o vermelho a

partir do primeiro dia de leitura e foi estável durante o tempo analisado (Tabela 1). Inicialmente, o pH do iogurte foi de 4,3 para as formulações de iogurte sem adição de antocianina, iogurte com adição de antocianina e iogurte com adição das microcápsulas e ao final o pH foi de 4,2 para todas as formulações de iogurtes estudadas.

O pH é um dos fatores mais importante em relação à manutenção da cor das antocianinas quando aplicadas em alimentos (6, 43). Uma vez que a antocianina é afetada pelo pH, quando em meio ácido a cor vermelha predomina. A mudança na coloração pode estar relacionada à complexação do cátion flavílio, com a maltodextrina, a qual retarda a transformação em outras formas menos estáveis (44). Produtos ácidos, como o iogurte, tornam-se promissores à incorporação de corantes naturais, como as antocianinas pelas suas características intrínsecas e a necessidade de estocagem deste tipo de produto em refrigeração até o consumo.

Tabela 1.

Análise Sensorial

Os resultados do teste de aceitação obtidos para as formulações dos iogurtes estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2.

De acordo com as comparações entre as médias obtidas na avaliação sensorial pode-se observar que não houve diferença significativa ($p > 0,05$) em relação à aceitação de todos os atributos apresentados entre os iogurtes formulados. Estes valores indicam que a adição de extrato de antocianina liofilizado e microencapsulado, utilizado com o intuito de conferir cor vermelha não influenciou os julgadores, ao menos na concentração empregada (0,05%). As notas encontradas para todos os atributos variaram entre 6,35 e 7,29, isso corresponde na escala hedônica a “gostei ligeiramente e gostei muito”. E observa-se que as amostras foram bem aceitas pelos provadores. Karaaslan *et al.*, (45) trabalharam com adição de extrato de diferentes variedades de uvas em iogurte e encontraram notas semelhantes para os atributos analisados, onde somente uma variedade diferiu significativamente em relação a textura e aparência.

Pode-se observar que os três iogurtes elaborados conseguiram porcentagem maior que 50% para intenção de compra, valores semelhantes foram encontrados por Oliveira *et al.*, (46), estudando a aceitação sensorial e intenção de compra para iogurtes elaborados com polpa de frutos de araticum (*Annona crassiflora* Mart.). Os resultados demonstraram que no mercado os iogurtes com

adição de extrato liofilizado de antocianina e extrato liofilizado de antocianinas microencapsulados com maltodextrina seriam bem aceitos.

Conclusão

Os resultados obtidos neste trabalho demonstraram a possibilidade de extração, quantificação e microencapsulação de antocianinas presentes na polpa de frutos de palmeira Juçara. No efeito do tratamento térmico, a maltodextrina DE20 demonstrou atribuir proteção até temperatura de 70°C durante 120 min. A instabilidade das antocianinas frente a mudanças de pH, foi confirmada por meio das análises de pH. Por meio da técnica de microscopia eletrônica de varredura observou-se a formação de flocos finos e lisos, entre as antocianinas e a maltodextrina DE20 utilizada como agente encapsulante. As técnicas de análises térmicas (DSC e TG) apresentaram-se como ferramentas que podem ser empregadas na determinação do comportamento de alguns compostos e que a fotoacústica tem potencialidade de utilização na área de alimentos. O teste de análise sensorial demonstrou a viabilidade do uso de antocianinas como corantes naturais em alimentos.

O processo de microencapsulamento apresentou-se como uma técnica, a qual pode ser utilizada em pigmentos naturais com a finalidade de conferir proteção e tornando-os mais estáveis melhorando desta forma sua utilização como ingrediente alimentício.

Agradecimentos

À empresa de biotecnologia Solabia Group – Maringá – PR, pela doação da amostra de polpa de frutos de *Euterpes edulis* Mart., à Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (Capes), pela concessão da bolsa e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

REFERÊNCIAS

1. V. M. Burin, P. N. Rossa, N. E. Ferreira-lima, M. C. R. Hillmann, M. T. Boirdignon-luiz, Anthocyanins: optimisation of extraction from Cabernet Sauvignon grapes, microcapsulation and stability in soft drink, *Int. J. Food Sci. Technol.* 46 (2011) 186–193.
2. K. A. Selim, K. E. Khalil, M. S. Abdel-bary, N. A. Abdel-azeim, Extraction, Encapsulation and Utilization of red pigments from roselle (*Hibiscus sabdariffa L.*) as natural food colourants, *Alex. J. Food Sci. Technol.* (2008) 7-20.
3. F. A. R. Barros, P. C. Stringheta, Microencapsulamento de antocianinas, *Rev. Biotec. Ciênc. Desen.* 10 (2006) 18-24.
4. M. A. Prado, H. T. Godoy Determinação de corantes artificiais por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) em Pó para Gelatina, *Quim. Nova*, 27, (1) (2004) 22-26.
5. T. J. Lopes, M. F. Xavier, M.G. N. Quadri, M. B. Quadri, Anthocyanins: a brief review of structural characteristics and stability, *Rev. Bras. Agroci.* 13 3 (2007) 291-297.
6. E. Valduga, L. Lima, R. Prado, F. F. Padilha, H. Treichel, Extração, secagem por atomização e microencapsulamento de antocianinas do bagaço da uva isabel (*Vitis labrusca L.*), *Ciênc. Agrotec.* 32 5 (2008) 1568-1574.
7. P. H. Março, R. J. Poppi, Procedimentos analíticos para identificação de antocianinas presentes em extratos naturais. Revisão, *Quim. Nova* 31 (5) (2008) 1218-1223.
8. A C. P. Volp, I. R. T. Renhe, K. Barra, P. C. Stringheta, Flavonóides antocianinas: características e propriedades na nutrição e saúde, *Rev. Bras. Nutr. Clín.* 23 (2) (2008) 141-149.
9. M. T. Bordignon-luiz, C. Gauche, E. F. Gris, L. D. Falcão, Colour stability of anthocyanins from Isabel grapes (*Vitis labrusca L.*) in model systems, *LWT. Food Sci. Technol.* 40 (2007) 594–599.
10. M. Iaderoza, V. L. S. Baldini, S. E. Draetta, M. L. A. Bovi, Anthocyanins from fruits of açai (*Euterpe oleracea, Mart*) and juçara (*Euterpe edulis Mart*), *Trop. Sci.* 32 (1999) 41-46.

11. D. C. Estupiñan, S. J. Schwartz, G. A. Garzón, Antioxidant activity, total phenolics content, anthocyanin, and color stability of isotonic model beverages colored with andes berry (*Rubus glaucus benth*) anthocyanin powder, *J. Food Sci.* 76 (2011) 26-34.
12. E. F. Ozela, P. C. Stringheta, M. C. Chauca, Stability of anthocyanin in spinach vine (*Basella rubra*) fruits, *Cien. Inv. Agr.* 34 (2) (2007) 115-120.
13. A. Castañeda-ovando, M. L. Pacheco-hernández, M. E. Páez-hernández, J. A. Rodríguez, C. Galán-vidal, Chemical studies of anthocyanins: A review, *Food Chem.* 113 (2009) 859–871.
14. A. Patras, N. P. Brunton, C. O'donnell, B. K. Tiwari, Effect of thermal processing on anthocyanin stability in foods; mechanisms and kinetics of degradation, *Trends. Food Sci. Technol.* 21 (2010) 3-11.
15. I. Mourtzinou, D. P. Makris, K. Yannakopoulou, N. Kalogeropoulos, I. Michali, V. T. Karathanos, Thermal Stability of Anthocyanin Extract of *Hibiscus sabdariffa L.* in the Presence of beta-Cyclodextrin, *J. Agric. Food Chem.* 56 (2008) 10303–10310.
16. C. R. Malacrida, S. Motta, Antocianinas em suco de uva: composição e estabilidade, *B.CEPPA.* 24 (1) (2006) 59-82.
17. R. N. Cavalcanti, D. T. Santos, M. A. Meireles, Non-thermal stabilization mechanisms of anthocyanins in model and food systems – An overview, *Food Res. Int.* 2010. (In Press).
18. M. Ahmed, M. S. Akter, J. Lee, J. Eun, Encapsulation by spray drying of bioactive components, physicochemical and morphological properties from purple sweet potato, *LWT - Food Sci. Technol.* 43 (2010) 1307 - 1312.
19. A. Bakowska-barczak, Acylated anthocyanins as stable, natural food colorants – a review, *Pol. J. Food Nutr. Sci.* 14/55 (2005) 107–116.
20. Z. Fang, B. Bhandari, Encapsulation of polyphenols - a review, *Trends Food Sci. Technol.* 21 (2010) 510-523.

21. R. V. Tonon, A. F. Baroni, C. Brabet, O. Gibert, D. Pallet, M. D. Hubinger, Water sorption and glass transition temperature of spray dried açai (*Euterpe oleracea Mart.*) juice, *J. Food Eng.* 94 (2009) 215–221.
22. P. Laine, P. Kylli, M. Heinonen, K. Jouppila, Storage stability of microencapsulated cloudberry (*Rubus chamaemorus*) phenolics, *J. Agr. Food Chem.* 56 (2008) 11251–11261.
23. Z. Fang B. Bhandari, Effect of spray drying and storage on the stability of bayberry polyphenols, *Food Chem.* 129 (2011) 1139–1147.
24. C. Osorio, D. P. Forero, J. G. Carriazo, Characterisation and performance assessment of guava (*Psidium guajava L.*) microencapsulates obtained by spray-drying, *Food Res. Int.* 2010 (In Press).
25. C. A. Nayak, N. K. Rastogi, Effect of selected additives on microencapsulation of anthocyanin by spray drying, *Drying Technol.* 28 (2010) 1396–1404.
26. T. M. Coelho, E. C. Vidotti, M. C. Rollemberg, A. N. Medina, M. L. Baesso, N. Cella, A. C. Bento, Photoacoustic spectroscopy as a tool for determination of food dyes: Comparison with first derivative spectrophotometry, *Talan.* 81 (2010) 202–207.
27. W. S. Costa, J. S. Filho, M. E. R. M. C. Mata, A. J. M. Queiroz, Influência da concentração de sólidos solúveis totais no sinal fotoacústico de polpa de manga, *Rev. Bras. Prod. Agroic.* 6, (2) (2004) 141-147.
28. L. N. Teixeira, P. C. Stringheta, F. A Oliveira, Comparação de métodos para quantificação de antocianinas, *Rev. Ceres.* 55 (4) (2008) 297-304
29. J. Lee, R. W. Durst, R. E. Wrolstad, Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorantes, and wines by the pH Differential Method: Collaborative Study, *J. AOAC Int.* 88 (5) (2005) 1269-1278
30. P. Robert, T. Gorena, N. Romero, E. Sepulveda, J. Chavez, C. Saenz, Encapsulation of polyphenols and anthocyanins from pomegranate (*Punica granatum*) by spray drying, *Int. J. Food Sci. Technol.* 45 (2010) 1386–1394.

31. B. C. Wang, R. He, Z. M. Li, The Stability and Antioxidant Activity of Anthocyanins from *Blueberry*, *Food Technol. Biotech.* 48 (1) 2010 42-49.
32. H. M. A. M. Dias, F. Berbicz, F. Pedrochi, M. L. Baesso, G. Matioli, Butter cholesterol removal using different complexation methods with beta-cyclodextrin, and the contribution of photoacoustic spectroscopy to the evaluation of the complex, *Food Res. Int.* 43 (2010) 1104–1110.
33. C. M. V. B. Rensis, P. F. F Souza, Análise sensorial de iogurtes *light* elaborados com adição de fibras de inulina e oligofrutose, *FAZU, Eng. Alim./Food Eng*, n. 5,(2008) 68-72.
34. H. T. Lawless, H. Heymann, Sensory evaluation of food – Principles and practices. 2. ed., *Springer*, New York (2004) p. 235-378.
35. R. V. Tonon, C. Brabet, M. D. Hubinger, Anthocyanin stability and antioxidant activity of spray-dried açai (*Euterpe oleracea Mart.*) juice produced with different carrier agents, *Food Res. Int.* 43 (2010) 907–914.
36. M. A. Silva, P. J. A. Sobral, T. G. Kieckbusch, State diagrams of freeze-dried camu-camu (*Myrciaria dubia* (HBK) Mc Vaugh) pulp with and without maltodextrin addition, *J. Food Eng.* 77 (2006) 426–432.
37. A. Kirca, M. Ozkan, B. Cemeroglu, Effects of temperature, solid content and pH on the stability of black carrot anthocyanins, *Food Chem.* 101 (2007) 212–218.
38. T. R. Albarici, J. D. C. Pessoa, M. R. Forim, Efeito das variações de pH e temperatura sobre as antocianinas na polpa de açai – estudos espectrofotométricos e cromatográfico, *EMBRAPA Inst. Agr.* 78 (2006) 1-5.
39. A. Amr, E. Al-Tamimi, (2007). Stability of the crude extracts of *ranunculus asiaticus* anthocyanins and their use as food colourants. *Int. J. of Food Sci. and Technol*, 42 (8), 985–991.
40. Y. B. Che Man, J. Irwandi, W. J. W. Abdullah, Effect of Different types of Maltodextrin and Drying methods on Physico-chemical and Sensory Properties of Encapsulated Durian Flavour, *J. Sci. Food Agr.* 79 (1999) 1075–1080.

41. J. Suave, E. C. Dall'agnol, A. P. T. Pezzin, D. A. K. Silva, M. M. Meier, V. Soldi, Microencapsulação: Inovação em diferentes áreas, *Rev. Saúde e Ambiente*, 7 2 (2006) 1-9.
42. C. Osorio, B. Acevedo, S. Hillebrand, J. Carriazo, P. Winterhalter, A. L. Morales, A.; L. Microencapsulation by spray-drying of anthocyanin pigments from corozo (*Bactris guineensis*) fruit, *J. Agr. Food Chem.* 58 (2010) 6977–6985.
43. Y. S. Moreno, D. R. Hernández, A. D. Velázquez Extracción y uso de pigmentos del grano de maíz (ZEA MAYS L.) como colorantes en yogurt Archivos Latino americanos de Nutrición *ALAN* 55. (3) (2005) 293-296.
44. A Chandra, G. M. Nair, F. A. Iezzoni. 1993. Isolation and stabilization of anthocyanins from tart cherries (*Prunus cerasus* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 41: 1062-1065.
45. M. Karaaslan, M. Ozden, H. Vardin, H. Turkoglu, Phenolic fortification of yogurt using grape and callus extracts, *LWT - Food Sci. and Technol.* 44 (2011) 1065-1072.
46. K. A. M. Oliveira, L. S. Ribeiro, G. V. Oliveira, J. M. A. T. K. Pereira, R. C. S. Mendonça, C. F. Assumpção, Desenvolvimento de formulação de iogurte de araticum e estudo da aceitação sensorial, *Alim. Nutr.* 19, 3, (2008) 277-281

ANEXOS

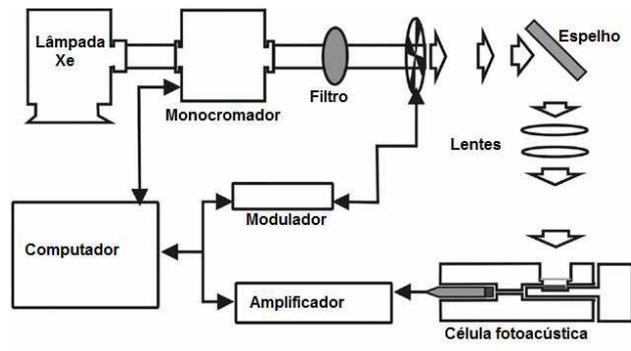
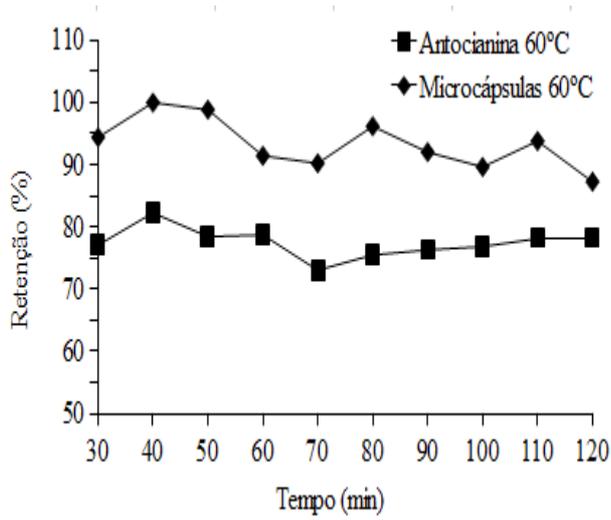
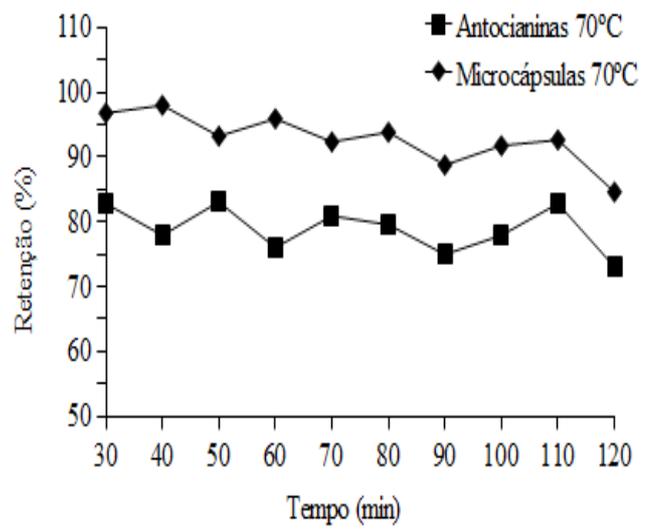


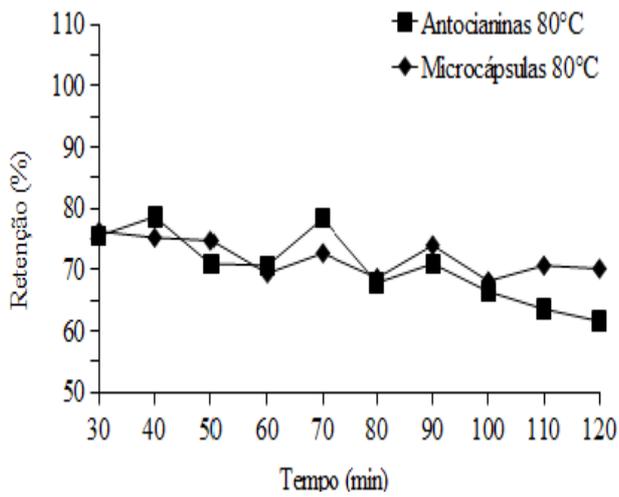
Figura 1: Diagrama esquemático da instalação experimental do espectrômetro fotoacústico



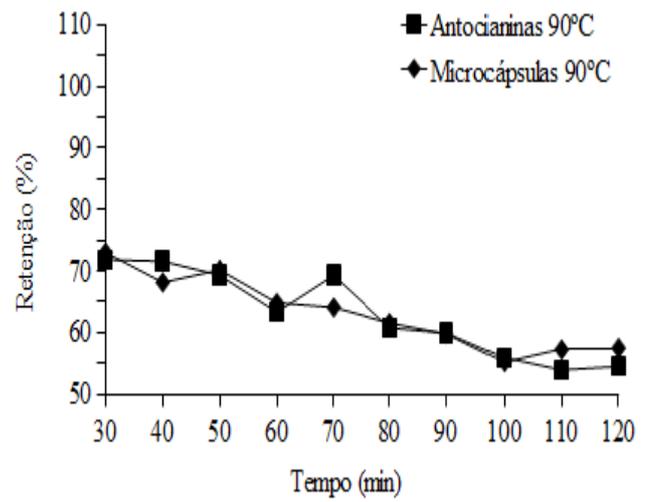
A



B

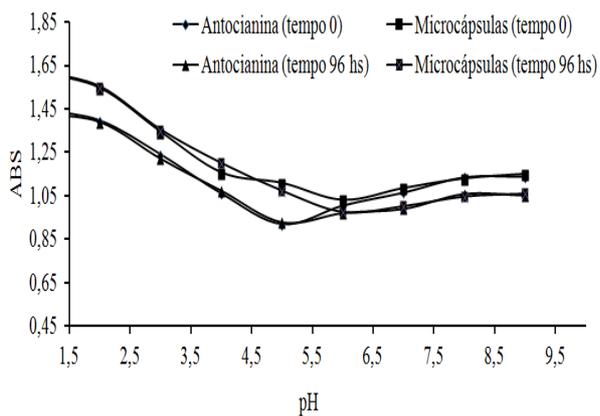


C

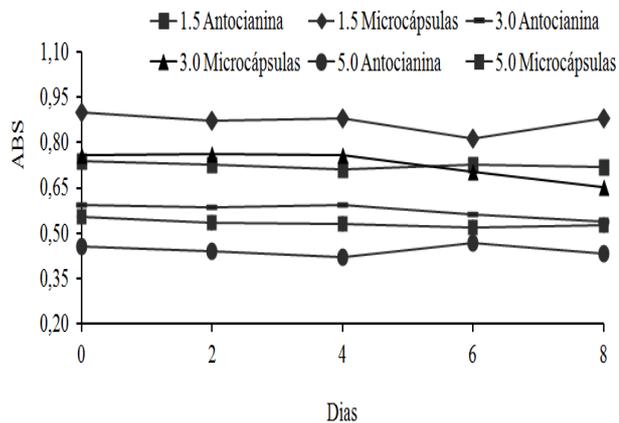


D

Figura 2. Teor de retenção (%) do extrato de antocianina liofilizada e extrato de antocianina microencapsulado com maltodextrina após o aquecimento em diferentes temperaturas: (A) temperatura de 60°C, (B) temperatura de 70°C, (C) temperatura de 80°C e (D) temperatura de 90°C.



A



B

Figura 3. Efeito do pH na estabilidade de extrato de antocianina liofilizado e extrato de antocianina microencapsulado com maltodextrina. A absorbância de 520 nm. (A) pH 1,5 a 9,0 e leitura no tempo zero e após 96 h. (B) pH de 1,5, 3,0 e 5,0 e leitura no tempo zero e em intervalos determinados durante 10 dias.

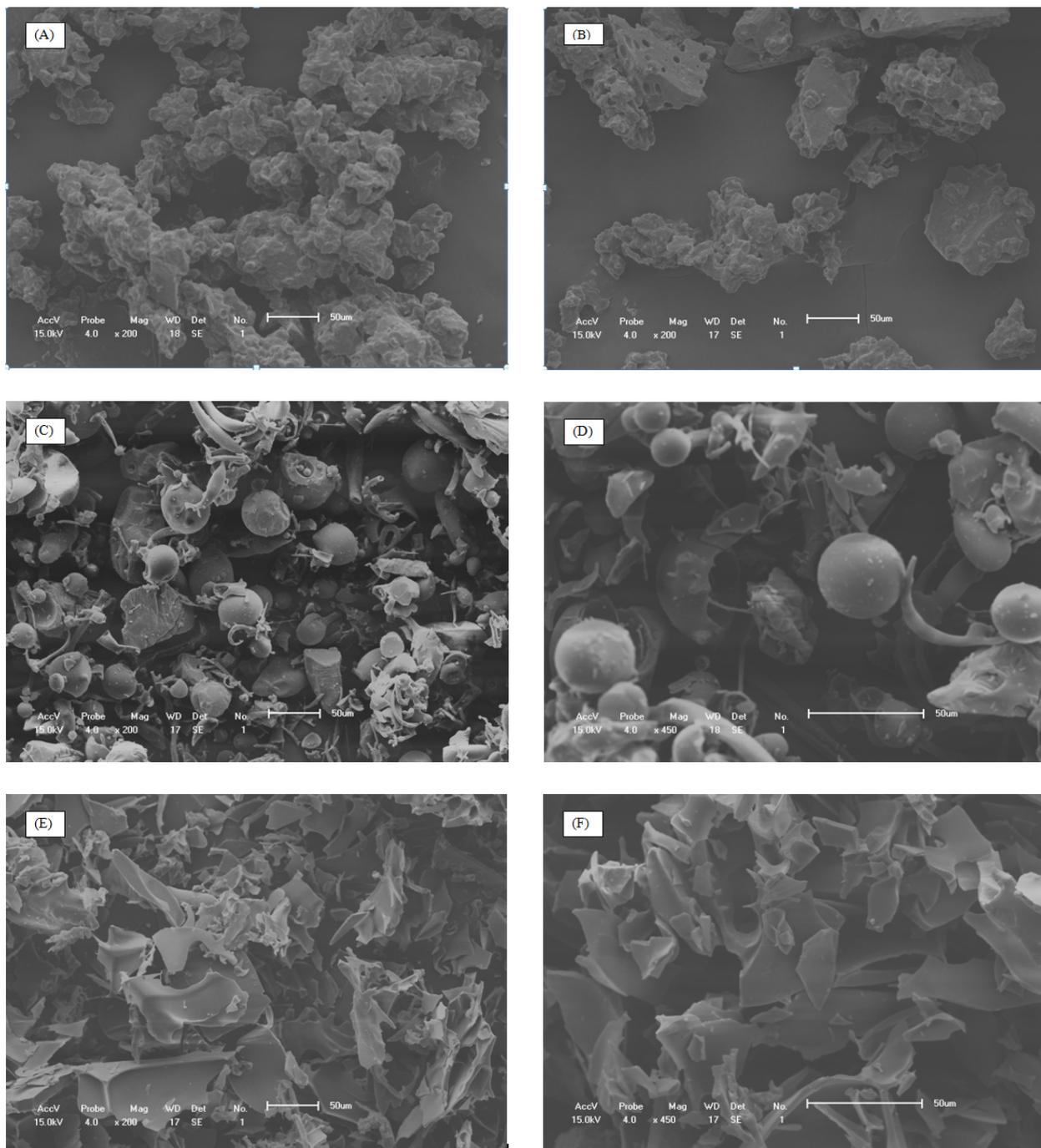
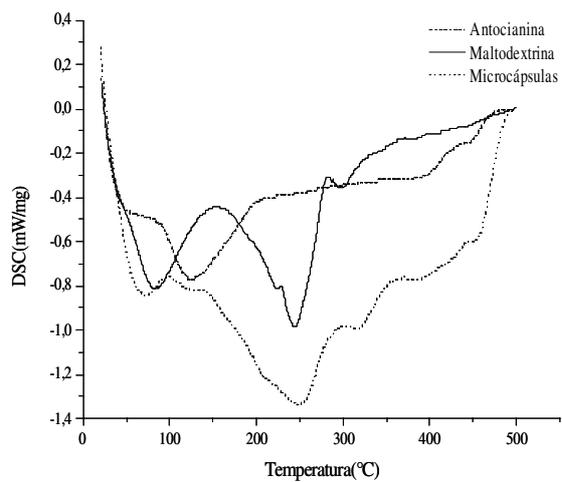
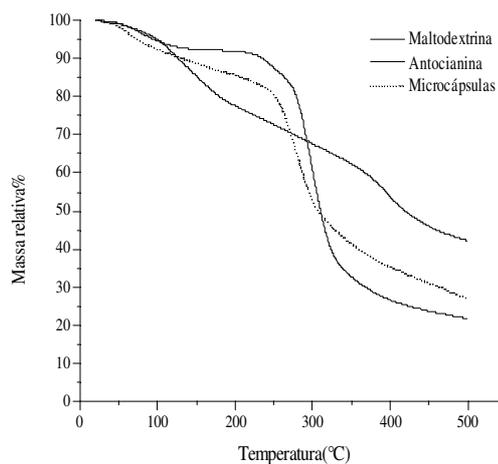


Figura 4. Microscopia eletrônica de varredura: (A e B) extrato de antocianina liofilizado, (C e D) maltodextrina DE 20 e (E e F) extrato de antocianina liofilizado microencapsulado com maltodextrina DE20.



A



B

Figura 5. (A) Termograma de Calorimetria Diferencial de Varredura e (B) Termograma de Termogravimetria do extrato de antocianina liofilizado, da maltodextrina e do extrato de antocianina liofilizado microencapsulado com maltodextrina.

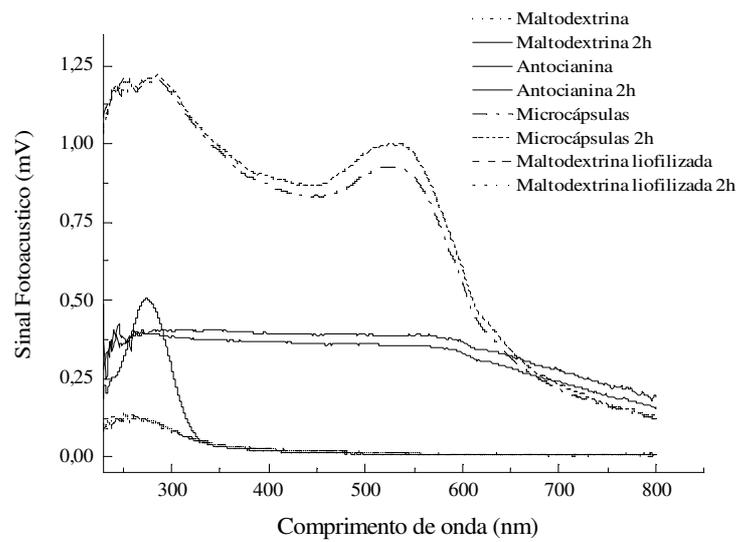


Figura 7: Espectros de absorção na região espectral do ultravioleta e do visível para maltodextrina tempo zero e após 2h, extrato de antocianina liofilizado tempo zero e após 2h, extrato de antocianina liofilizado microencapsulado com maltodextrina tempo zero e após 2h e maltodextrina tempo zero e após 2h.

Tabela 1: Análises colorimétricas durante a estocagem das coordenadas L* a* b* das formulações de iogurte: (A) sem adição de antocianina, (B) com adição de antocianina liofilizada e (C) com antocianina microencapsulada com maltodextrina.

Amostras	Tempo (Dias)								
	1	2	5	8	11	14	17	20	23
Formulação A									
L*	88,16	87,92	87,71	87,84	88,95	87,87	88,22	88,15	88,42
a*	-2,57	-3,26	-3,32	-3,22	-0,30	-3,21	-3,13	-3,14	-3,16
b*	8,91	9,99	9,60	10,48	10,39	10,13	9,91	10,69	10,44
Formulação B									
L*	76,89	78,17	77,62	78,50	78,52	78,38	78,91	77,62	76,77
a*	3,70	3,81	3,34	3,52	3,70	3,47	3,61	3,57	3,13
b*	6,04	7,13	7,21	7,59	7,65	7,66	7,69	7,60	7,73
Formulação C									
L*	70,07	76,78	76,46	76,78	77,04	77,12	76,42	76,28	77,17
a*	5,30	4,51	4,32	4,21	4,36	4,22	4,40	4,18	4,10
b*	5,78	6,68	6,93	7,13	7,16	7,19	7,27	7,29	7,31

Tabela 2: Média e desvio-padrão obtidos para os atributos: aroma, cor, sabor e textura das formulações de iogurtes.

Atributos	Iogurte sem adição de antocianina	Iogurte com adição de antocianina	Iogurte com adição de antocianina microencapsulada com maltodextrina DE20
Aroma	6,39 ^a ±1,36	6,35 ^a ±1,38	6,85 ^a ±1,37
Cor	7,10 ^a ±1,44	6,39 ^a ±1,70	6,35 ^a ±1,71
Sabor	7,26 ^a ±1,69	7,00 ^a ±1,60	7,29 ^a ±1,49
Textura	6,85 ^a ±1,78	6,79 ^a ±1,76	6,80 ^a ±1,77

^aMédias acompanhadas de letras em comum, em uma mesma linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0.05$). Escala utilizada: 1= desgostei muitíssimo e 9 = gostei muitíssimo.