



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE
ALIMENTOS – PEG/UEM**

**DESENVOLVIMENTO DE MICROCÁPSULAS DE COMPOSTOS
BIOATIVOS DE BARBATIMÃO (*Stryphnodendron adstringens* (Mart.)
Coville) PARA APLICAÇÃO EM FILMES BIODEGRADÁVEIS
ATIVOS**

**Maringá – PR – Brasil
Março de 2018**



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE
ALIMENTOS – PEG/UEM**

**DESENVOLVIMENTO DE MICROCÁPSULAS DE COMPOSTOS BIOATIVOS
DE BARBATIMÃO (*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville) PARA
APLICAÇÃO EM FILMES BIODEGRADÁVEIS ATIVOS**

Kauyse Matos Nascimento

Eng^a. de Alimentos, UFGD, 2013

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Rita de Cássia Bergamasco

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Mônica Regina da Silva Scapim

Dissertação de Mestrado submetida à Universidade Estadual de Maringá, como parte dos requisitos necessários à obtenção do Grau de Mestre em Engenharia de Alimentos, área de Engenharia de Alimentos.

**Maringá – PR – Brasil
Março de 2018**



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE
ALIMENTOS – PEG/UEM

Esta é a versão final da dissertação de Mestrado apresentada por Kauyse Matos Nascimento perante a Comissão Julgadora do Curso de Mestrado em Engenharia de Alimentos em 26 de março de 2018.

COMISSÃO JULGADORA

Prof. Rita de Cássia Bergamasco, Dr.

Orientador

Prof. Mônica Regina da Silva Scapim, Dr.

Co-orientador

Prof. Flávio Faria de Moraes, Ph.D

Membro

Prof. Fábio Yamashita, Ph.D.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
(Biblioteca Central - UEM, Maringá, PR, Brasil)

N244d Nascimento, Kauyse Matos
Desenvolvimento de microcápsulas de compostos bioativos de barbatimão (*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Corville) para aplicação em filmes biodegradáveis ativos. / Kauyse Matos Nascimento. -- Maringá, 2018.
82 f. : il., color, figs., tabs.

Orientador: Prof^a. Dr^a. Rita de Cássia Bergamasco.
Co-orientador: Prof^a. Dr^a. Mônica Regina da Silva Scapim.
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Tecnologia, Departamento de Engenharia de Alimentos, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, 2018.

1. Taninos condensados. 2. β -ciclodextrina. 3. Microencapsulação. 4. Filmes ativos. 5. Propriedades mecânicas. 6. Cinética de liberação. I. Bergamasco, Rita de Cássia, orient. II. Scapim, Mônica Regina da Silva, coorient. III. Universidade Estadual de Maringá. Centro de Tecnologia. Departamento de Engenharia de Alimentos. Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos. IV. Título.

CDD 21.ed. 660.634

AHS-CRB-9/1065

**DESENVOLVIMENTO DE MICROCÁPSULAS DE COMPOSTOS BIOATIVOS
DE BARBATIMÃO (*STRYPHNODEDRON ADSTRINGENS* (MART.) COVILLE)
PARA APLICAÇÃO EM FILMES BIODEGRADÁVEIS ATIVOS**

AUTOR: KAUYSE MATOS NASCIMENTOS

ORIENTADORA: PROF. DR. RITA DE CÁSSIA BERGAMASCO

CO-ORIENTADORA: MÔNICA REGINA DA SILVA SCAPIM

Dissertação de Mestrado; Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos; Universidade Estadual de Maringá; Av. Colombo, 5790, BL 13 – 07; CEP: 87020-900 – Maringá – PR, Brasil, defendida em 26 de março de 2018. 98p.

RESUMO

A leguminosa barbatimão (*Stryphnodendron adstringens* (Martius) Coville) é uma espécie de planta muito conhecida por suas propriedades antibacterianas, anti-inflamatórias e antioxidantes. Estas estão relacionadas com o alto teor de taninos presentes em suas cascas e folhas. A aplicabilidade industrial destas substâncias é muito limitada por ser um composto instável. A técnica da microencapsulação é uma alternativa de assegurar a estabilidade destes compostos. Microcápsulas podem ser incorporadas em alimentos ou filmes biodegradáveis. O objetivo deste trabalho foi o desenvolvimento e caracterização de microcápsulas de compostos bioativos de barbatimão, para a aplicação em filmes biodegradáveis ativos. Foi elaborado um estudo da extração dos compostos por meio de um planejamento fatorial 2^3 , com o intuito de avaliar as influências das variáveis independentes (temperatura de extração, pH da solução e granulometria da casca moída) em relação as variáveis dependentes (polifenóis totais, atividade antioxidante por radical DPPH e taninos condensados). Através dos testes realizados com planejamento experimental obteve-se um extrato com elevado valor para as três variáveis respostas. Realizou-se a microencapsulação dos compostos bioativos, pelo processo de liofilização, utilizando como agentes encapsulantes β -ciclodextrina (CD) e β -ciclodextrina acrescida de 1% de goma xantana (CD/X). Para confirmar a encapsulação foram utilizadas as técnicas de Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC) e Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). Também avaliou-se a eficiência de encapsulação de polifenóis totais e taninos condensados, as propriedades físicas e o perfil de liberação dos microencapsulados em solução hidroalcoólica. As microcápsulas apresentaram diferença significativa apenas no caso da eficiência de retenção de taninos condensados com 44,55% para a formulação CD e 27,18% para CD/X. As propriedades físicas diferiram apenas na densidade aparente, apresentando menor valor para CD/X. Na cinética de liberação, as microcápsulas apresentaram alta taxa de liberação de compostos fenólicos independente dos revestimentos. Redução na taxa de liberação foi observada para taninos condensados, principalmente para a formulação acrescida de xantana (CD/X). As microcápsulas foram utilizadas para produção de filmes biodegradáveis ativos a base de alginato (FCD e FCD/X). Filmes controle foram elaborados com microcápsulas vazias (FCD-C e FCD/X-C) e extrato livre (FEXT). Avaliou-se as propriedades mecânicas e térmicas, permeabilidade ao vapor de água (PVA) e o perfil de liberação dos microencapsulados em solução hidroalcoólica. Os filmes que continham extrato livre ou microencapsulado

apresentaram menor solubilidade, menor PVA e maior tensão à ruptura. Os filmes com microcápsulas de barbatimão apresentaram alta taxa de liberação de compostos fenólicos e taninos condensados, entretanto não de forma gradual. O filme com extrato livre apresentou reduzida taxa de liberação dos compostos bioativos, demonstrando maior longevidade da sua ação.

Palavras chaves: taninos condensados, β -ciclodextrina; microencapsulação, filmes ativos; propriedades mecânicas; cinética de liberação.

DEVELOPMENT OF MICROCAPSULES OF BIOACTIVE COMPOUNDS OF BARBATIMÃO (*STRYPHODENDRON ADSTRINGENS* (MART.)COVILLE) FOR APPLICATION IN ACTIVE BIODEGRADABLE FILMS

AUTHOR: KAUYSE MATOS NASCIMENTO

SUPERVISOR: PROF. DR. RITA DE CÁSSIA BERGAMASCO

COSUPERVISOR: PROF. DR. MÔNICA REGINA DA SILVA SCAPIM

Master Thesis; Food Engineering Graduate Program; State University of Maringá; Av. Colombo, 5790, BL 13 – 07; CEP: 87020-900 – Maringá – PR, Brazil, presented on 26th March 2018. 98 p.

ABSTRACT

Stryphnodendron adstringens (Martius) Coville is a plant species well known for its antibacterial, anti-inflammatory and antioxidant properties. These are related to the high content of tannins present in their shells and leaves. Industrial applicability is a very limited product because it is an unstable compound. The technique of microencapsulation is an alternative safety to compound stability. Microcapsules can be incorporated into food or biodegradable films. The aim this work was development and characterization of microcapsules of bioactive compounds of barbatimão, for an application in biodegradable films. A study of the extraction of the compounds was done through a factorial design 2^3 , with the purpose of evaluating the influence of the independent variables (extraction temperature, solution pH and mesh) as dependent variables (total polyphenols, activity antioxidant by DPPH radical and condensed tannins). Through the planning, an extract with a high value for the three response variables was obtained. Microencapsulation of the bioactive compounds by the lyophilization process was performed as encapsulating agents β -cyclodextrin (CD) and β -cyclodextrin plus 1% xanthan gum (CD/X). To confirm an encapsulation with Differential Scanning Calorimetry (DSC) and Scanning Electron Microscopy (SEM) techniques. Also was evaluated the encapsulation efficiency of total polyphenols and condensed tannins, such as physical properties and the release profile of microencapsulated in hydroalcoholic solution. The microcapsules presented the significant difference only for the efficiency of condensed tannins with 44.55% for CD formulation and 27.18% for CD/X. The physical properties differed only in apparent density, presenting lower value for CD/X. In the release kinetics, microcapsules showed a high rate of release of phenolic compounds independent of the coatings. Reduction in release rate for observation for condensed tannins, especially for an increased formulation of xanthan (CD/X). The microcapsules was to use for the production of biodegradable films the alginate base (FCD and FCD/X). Control films was elaborated with empty microcapsules (FCD-C and FCD/X-C) and free extract (FEXT). It was evaluated the mechanical and thermal active, permeability to water vapor (PVA) and the release profile of the

microencapsulated in hydroalcoholic solution. The films that presented free or microencapsulated extract had lower solubility, lower PVA and greater tension and rupture. The films with barbatimão microcapsules presented a high rate of release of phenolic compounds and condensed tannins, however, not gradually. The film with free extract presents reduction of the rate of release of the bioactive compounds, demonstrating greater control of release.

Keywords: *tannins, β -cyclodextrin; microencapsulation, active films; mechanical properties; release kinetics*

NDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Aspectos gerais do barbatimão (<i>Stryphnodendron adstringens</i>): A) Árvore; B) Folha composta por folíolos e foliólulos; C) Aspecto da casca.	5
Figura 2 - Estrutura química de flavan-3-ol e flavan-3,4-diol.	8
Figura 3 - Representação esquemática de α -CD, β -CD e γ -CD (esquerda para a direita)..	10
Figura 4 - Representação esquemática do aspecto CD truncado.....	10
Figura 5 - Estrutura química da goma xantana.....	12
Figura 6 - Gráfico de Pareto para o teor de polifenóis totais.	30
Figura 7 - Superfícies de respostas para teor de polifenóis totais em função da temperatura de extração e pH da solução (a); temperatura de extração e mesh (b); pH da solução e mesh (c).	31
Figura 8 - Gráfico de Pareto para teor de taninos condensados.	34
Figura 9 - Superfícies de respostas para teor de taninos condensados em função da temperatura de extração e pH da solução (a); temperatura de extração e mesh (b); pH da solução e mesh (c).....	35
Figura 10 - Gráfico de Pareto para atividade antioxidante.	38
Figura 11 - Superfícies de respostas para atividade antioxidante (DPPH) em função da temperatura de extração e pH da solução (a); temperatura de extração e mesh (b); pH da solução e mesh (c).....	39
Figura 12 - Curvas de contorno para a otimização em função ao pH da solução e temperatura de extração(°C) (a); mesh e temperatura de extração(°C) (b) e pH da solução e mesh (c).	41
Figura 13 - Gráfico de desejabilidade.	41
Figura 14 - Termogramas de DSC dos complexos de inclusão de barbatimão (CD e CD/X) e complexos de inclusão controle (CD-C e CD/X-C).....	47
Figura 15 - Fotografias do MEV das duas formulações de microcápsulas obtidas (a) formulação CD; (b) formulação CD/X.	49
Figura 16 - Perfis de liberação de compostos fenólicos a partir de microcápsulas, em solução hidroalcoólica 50% em temperaturas diferentes (4 e 25 °C).	50
Figura 17 - Perfis de liberação de taninos condensados a partir de microcápsulas de barbatimão, em solução hidroalcoólica 50% e em temperaturas diferentes (4 e 25 °C).....	52

- Figura 18** - Isotermas de sorção de água dos filmes de alginato incorporados de microcápsulas de CD e do extrato livre de barbatimão, sob temperatura de 25°C. (símbolos) – valores observados; (linhas) – valores preditos pelo modelo de GAB.54
- Figura 19** - Isotermas de sorção de água dos filmes de alginato incorporados de microcápsulas de CD/X e do extrato livre de barbatimão, sob temperatura de 25°C. (símbolos) – valores observados; (linhas) – valores preditos pelo modelo de GAB.55
- Figura 20** - Fotografias micrografias de varrimento eletrônico de microscópio dos filmes produzidos. (a) superfície do filme com microcápsula CD; (b) fissura do filme com microcápsula CD; (c) superfície do filme com microcápsula CD/X; (d) fissura do filme com microcápsula CD/X; (e) superfície do filme com extrato livre; (f) fissura do filme com extrato.61
- Figura 21** - Fotografias micrografias de varrimento eletrônico de microscópio dos filmes produzidos. (a) superfície do filme com microcápsula CD-C; (b) fissura do filme com microcápsula CD-C; (c) superfície do filme com microcápsula CD/X-C; (d) fissura do filme com microcápsula CD/X-C.62
- Figura 22** - Perfis de libertação de polifenóis totais a partir de microcápsulas de barbatimão em solução hidroalcoólica 50% em temperaturas diferentes (4 e 25 °C).63
- Figura 23** - Perfis de libertação de taninos condensados a partir de microcápsulas de barbatimão em solução hidroalcoólica 50% em temperaturas diferentes (4 e 25 °C).64
- Figura 24** - Curva padrão de ácido gálico utilizada na determinação do teor de polifenóis totais, a 725 nm.77
- Figura 25** - Curva padrão de trolox utilizada na determinação de atividade antioxidante pelo método DPPH, a 517 nm.78
- Figura 26** - Curva padrão de catequina utilizada na determinação de taninos condensados, a 500 nm.79
- Figura 27** - Curva padrão de trolox utilizada na determinação de atividade antioxidante pelo método ABTS, a 734 nm.80

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 - Fatores avaliados no planejamento e seus respectivos níveis.	16
Tabela 2 - Atividade de água das soluções saturadas de sais.	24
Tabela 3 - Valores codificados das variáveis independentes e respostas de teor de polifenóis totais (Y_1), teor de taninos condensados (Y_2) e atividade antioxidante pelo método de DPPH (Y_3).	28
Tabela 4 - ANOVA e coeficientes de regressão para teor de polifenóis totais (g de ácido gálico equivalente/ 100g de casca)	29
Tabela 5 - ANOVA e coeficientes de regressão para teor de taninos condensados	33
Tabela 6 - ANOVA e coeficientes de regressão para atividade antioxidante pelo método DPPH	37
Tabela 7 - Condições operacionais requeridas para validação dos modelos.	42
Tabela 8 - Resultados teóricos preditos e experimentais obtidos nas condições de ponto ótimo de processo.	42
Tabela 9 - Resultados obtidos das determinações de compostos fenólicos e taninos condensados do extrato concentrado e das duas formulações de microcápsulas.	43
Tabela 10 - Eficiência de encapsulação das microcápsulas.	44
Tabela 11 - Propriedades físicas das microcápsulas.	45
Tabela 12 - Propriedades de cor das microcápsulas e do extrato concentrado.	46
Tabela 13 - Valores das constantes da equação de Peppas e Weibull calculados por regressão não linear para os dados de liberação de polifenóis totais.	51
Tabela 14 - Valores das constantes da equação de Peppas e Weibull calculados por regressão não linear para os dados de liberação de taninos condensados.	53
Tabela 15 - Valores das constantes da equação de GAB a 25°C calculados por regressão não linear para os filmes produzidos.	56
Tabela 16 - Valores médios da espessura, permeabilidade ao vapor de água e solubilidade dos filmes produzidos.	57
Tabela 17 - Valores médios das propriedades mecânica dos filmes produzidos.	59
Tabela 18 - Propriedades de cor dos filmes produzidos.	60
Tabela 21 - Concentrações utilizadas e triplicatas de absorbâncias obtidas para a construção da curva padrão de ácido gálico.	77

Tabela 22 - Concentrações utilizadas e triplicatas de absorbâncias obtidas para a construção da curva padrão de trolox da atividade antioxidante pelo método DPPH.	78
Tabela 23 - Concentrações utilizadas e triplicatas de absorbâncias obtidas para a construção da curva padrão de catequina.	79
Tabela 24 - Concentrações utilizadas e triplicatas de absorbâncias obtidas para a construção da curva padrão de trolox da atividade antioxidante pelo método ABTS.	80
Tabela 25 - Intervalos de tempo e porcentagens de liberação de polifenóis totais das duas formulações de microcápsulas em temperatura de 4 e 25 °C.	81
Tabela 26 - Intervalos de tempo e porcentagens de liberação de taninos condensados das duas formulações de microcápsulas em temperatura de 4 e 25 °C.	81
Tabela 27 - Intervalos de tempo e porcentagens de liberação de polifenóis totais dos três filmes ativos em temperatura de 4 e 25 °C.	82
Tabela 28 - Intervalos de tempo e porcentagens de liberação de taninos condensados dos três filmes ativos em temperatura de 4 e 25 °C.	82

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	1
INTRODUÇÃO	1
CAPÍTULO 2	4
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
2.1 BARBATIMÃO	4
2.1.1 Compostos fenólicos	6
2.1.1.1 Taninos	7
2.2 MICROENCAPSULAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS	8
2.2.1 Ciclodextrinas	10
2.2.2 Goma Xantana	11
2.3 EMBALAGENS BIODEGRADÁVEIS ATIVAS	12
CAPÍTULO 3	16
MATERIAIS E MÉTODOS	16
3.1 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL PARA A EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS DO BARBATIMÃO	16
3.1.1 Material vegetal	16
3.1.2 Processo de extração de compostos bioativos de barbatimão	16
3.1.2.1 Determinação do teor de Polifenóis Totais (PT)	17
3.1.2.2 Determinação de taninos condensados pelo ensaio de vanilina-HCl	17
3.1.2.3 Atividade antioxidante pelo método do radical DPPH•	18
3.1.2.4 Análise estatística	18
3.2 MICROENCAPSULAÇÃO DOS COMPOSTOS BIOATIVOS DO BARBATIMÃO	18
3.2.1 Preparação do complexo de inclusão	18
3.2.2 Caracterização dos complexos de inclusão	19

3.2.2.1 Eficiência de encapsulação.....	19
3.2.2.2 Solubilidade das microcápsulas em água	20
3.2.2.3 Teor de umidade e Atividade de água (a_w) das microcápsulas	20
3.2.2.4 Higroscopicidade	21
3.2.2.5 Densidade aparente.....	21
3.2.2.6 Análise de cor.....	21
3.2.2.7 Calorimetria diferencial de varredura (DSC)	22
3.2.2.8 Análise morfológica das microcápsulas.....	22
3.2.3 Liberação controlada de compostos bioativos das microcápsulas	22
3.3 ELABORAÇÃO DE FILMES BIODEGRADÁVEIS ATIVOS COM INCORPORAÇÃO DE MICROCÁPSULAS DE COMPOSTOS BIOATIVOS DE BARBATIMÃO	23
3.3.1 Desenvolvimento dos filmes biodegradáveis	23
3.3.2 Caracterização dos filmes biodegradáveis.....	24
3.3.2.1 Determinação das isotermas de sorção	24
3.3.2.2 Determinação da espessura	25
3.3.2.3 Determinação da permeabilidade ao vapor de água (PVA)	25
3.3.2.4 Determinação da solubilidade em água	26
3.3.2.5 Determinação das propriedades mecânicas.....	26
3.3.2.6 Análise de cor dos filmes	27
3.3.2.7 Análise da superfície de filmes.....	27
3.3.3 Liberação controlada dos compostos bioativos dos filmes	27
3.3.4 Análise estatística.....	27
CAPÍTULO 4	28
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	28
4.1 PLANEJAMENTO FATORIAL PARA A EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS DO BARBATIMÃO.....	28

4.1.1 Teor de polifenóis totais (Y ₁).....	29
4.1.2 Teor de taninos condensados (Y ₂)	33
4.1.3 Atividade antioxidante pelo método do radical DPPH (Y ₃).....	36
4.1.4 Otimização do processo de extração dos compostos bioativos do barbatimão ...	40
4.2 MICROENCAPSULAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS DE BARBATIMÃO	43
4.2.1 Eficiência de encapsulação	43
4.2.2 Propriedades físicas.....	44
4.2.3 Análise de cor	46
4.2.4 Análise de calorimetria diferencial de varredura (DSC).....	47
4.2.5 Análise morfológica das microcápsulas	48
4.2.6 Liberação dos compostos bioativos das microcápsulas	49
4.3 Filmes biodegradáveis ativos com incorporação de microcápsulas de barbatimão ...	54
4.3.1 Isotermas de sorção	54
4.3.2 Permeabilidade ao vapor de água, solubilidade e espessura	57
4.3.3 Propriedades mecânicas.....	59
4.3.4 Análise de cor	60
4.2.5 Análise morfológica	60
4.3.6 Cinética de liberação dos filmes	63
CAPÍTULO 5	66
CONCLUSÕES	66
CAPÍTULO 6	67
SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	67
CAPÍTULO 7	68
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	68
CAPÍTULO 8	77
ANEXOS.....	77

ANEXO 1 – CURVA PADRÃO DE ÁCIDO GÁLICO PARA POLIFENÓIS TOTAIS	77
ANEXO 2 – CURVA PADRÃO DE TROLOX PARA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO DPPH.....	78
ANEXO 3 – CURVA PADRÃO DE CATEQUINA PARA TANINOS CONDENSADOS	79
ANEXO 4 – CURVA PADRÃO DE TROLOX PARA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO ABTS.....	80
ANEXO 5 – VALORES UTILIZADOS PARA A OBTENÇÃO DOS GRÁFICOS DE LIBERAÇÃO DOS COMPOSTOS BIOATIVOS DAS MICROCÁPSULAS	81
ANEXO 6 – VALORES UTILIZADOS PARA A OBTENÇÃO DOS GRÁFICOS DE LIBERAÇÃO DOS COMPOSTOS BIOATIVOS DOS FILMES	82

CAPÍTULO 1 INTRODUÇÃO

A planta leguminosa *Stryphnodendron adstringens*, conhecida como barbatimão, é uma espécie pertencente à família Fabaceae, muito utilizada no Brasil. Estudos biológicos e farmacológicos de extratos de barbatimão são conhecidos devido a ação antibacteriana, anti-inflamatória e antioxidante. Estas propriedades são atribuídas a grande quantidade de taninos bioativos que a espécie possui em suas folhas e cascas (COSTA et al., 2013).

Os taninos são ingredientes naturais de composição fenólica, produzidos pelo metabolismo secundário das plantas contra o ataque de insetos e microrganismos. Os taninos do barbatimão têm aplicabilidade no curtimento de couro e peles, assim como na indústria farmacêutica, devido as suas atividades farmacológicas. Além disso, estes compostos fenólicos possuem atividade antioxidante, podendo ser utilizado como antioxidantes naturais (ALMEIDA et al., 2010; WU et al., 2017).

A utilização destes compostos fenólicos na indústria é muito restrita, devido a sua baixa estabilidade em relação às condições ambientais durante o processamento e estocagem do produto. A microencapsulação é um método eficiente de proteção destes compostos.

A microencapsulação é um processo de aprisionamento de substâncias (ex: vitaminas, saborizantes, pigmentos, acidulantes, nutrientes, enzimas, conservantes) em microcápsulas que podem ser comestíveis, ou em moléculas hospedeiras (ciclodextrinas), com a finalidade de proteger compostos contra determinados fatores ambientais e reações que possam resultar em perda de aroma, alteração de cor ou perda do valor nutricional. Ela pode ser utilizada para reduzir a taxa de migração de produtos voláteis ao ambiente externo, como alguns óleos essenciais, além de mascarar compostos de sabor indesejável e promover melhor solubilidade, como também as capsulas podem ser projetadas para liberação controlada da(s) substância(s) encapsulada(s) (BARROS e STRINGHETA, 2006; AZEREDO, 2005).

Vários métodos podem ser utilizados para o processo de microencapsulação, sendo que a seleção do método é dependente da aplicação que será dada à microcápsula, do tamanho desejado, do mecanismo de liberação e das propriedades físico-químicas, tanto do material ativo, quanto do agente encapsulante. (AZEREDO, 2005; FAVARO-TRINDADE et al., 2008).

A técnica de microencapsulação por liofilização é baseada na desidratação por sublimação de uma mistura congelada do composto a ser microencapsulado com o agente encapsulante. Apresenta eficiência para microencapsulação de compostos antioxidantes, por protegê-los contra a decomposição química e reduzir a perda de bioatividade do núcleo, devido à aplicação de baixas temperaturas no processamento, comparada a outros métodos. (AZEREDO, 2005).

Um dos principais fatores que influenciam a estabilidade de compostos microencapsulados é a natureza do agente encapsulante. Este para ser ideal, deve possuir propriedades emulsificantes, ser capaz de formar filmes, ser biodegradável, ter baixa viscosidade, exibir baixa higroscopicidade e ser de baixo custo (FAVARO-TRINDADE et al., 2008). Quando não apresenta todas as propriedades, usualmente utiliza-se a combinação de dois ou mais componentes. (AZEREDO, 2005).

A β -ciclodextrina (β -CD) atua como agente encapsulante devido sua forma de cone truncado. Ela apresenta uma superfície exterior hidrofílica e uma cavidade interior hidrofóbica, sendo capaz de formar complexos de inclusão com uma grande variedade de compostos orgânicos solúveis em água (DA ROSA et al, 2013; SZEJTL, 1988). A inclusão em CD proporciona profundos efeitos sobre as propriedades das moléculas hóspedes, entre eles: aumento da solubilidade, aumento da estabilidade oxidativa, estabilização de emulsões, controle da volatilidade, controle da liberação de sabores (AZEREDO, 2005).

Ao considerar que o processo de oxidação é um dos grandes responsáveis pela deterioração dos alimentos, antioxidantes naturais têm sido incorporados aos filmes com o intuito de promover maior estabilidade à oxidação lipídica de produtos gordurosos, bem como o de prolongar a vida de prateleira de produtos altamente perecíveis (FALGUERA et al., 2011; GOMEZ-ESTACA, 2014). A incorporação destes compostos permite a obtenção de filmes ativos, os quais não apenas mantém a qualidade dos alimentos, como também interagem com o produto e proporcionam benefícios extras em relação aos filmes convencionais (DAINELLI et al., 2008).

Desta forma, tem-se como objetivo geral deste trabalho o desenvolvimento e caracterização de microcápsulas de compostos bioativos de barbatimão para aplicação em filmes biodegradáveis ativos. Neste contexto, os objetivos específicos deste trabalho são:

- Realizar a otimização de extração de compostos bioativos de barbatimão;
- Microencapsular os compostos bioativos extraídos e avaliar a eficiência do processo de microencapsulação;

- Caracterizar as microcápsulas produzidas quanto a sua composição em compostos bioativos, propriedades físicas, cor, morfologia e cinética de liberação dos compostos bioativos das microcápsulas.

- Desenvolver filmes biodegradáveis ativos com as microcápsulas produzidas;

- Caracterizar os filmes biodegradáveis determinando as isotermas de sorção, permeabilidade ao vapor d'água, solubilidade em água, espessura, conteúdo de umidade, propriedades mecânicas, espectroscopia no infravermelho com transformada da Fourier e cinética de liberação dos compostos bioativos dos filmes.

CAPÍTULO 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 BARBATIMÃO

Stryphnodendron adstringens (Martius) Coville, também conhecido como barbatimão, barba-de-timão, borãozinho-roxo, casca do Brasil, casca-da-virgindade, casca-da-mocidade, enche cangalha e faveiro, é uma leguminosa nativa do cerrado brasileiro, pertencente à família Leguminosae, sendo uma das maiores dentre as dicotiledôneas. Estão distribuídas especialmente nas regiões tropicais e subtropicais, sendo encontrada nos estados do Pará até São Paulo, passando por Mato Grosso e Sul de Minas. Existem pelo menos três subfamílias ditas importantes na família Leguminosae, sendo estas, a Fabaceae, a Caesalpinioideae e a Mimosoideae. Fazem parte desta última, aproximadamente 40 gêneros e 2000 espécies, incluindo os espécimes do gênero *Stryphnodendron* (SOARES et al, 2008; GILBERT et al., 2005).

O barbatimão é uma planta arbórea (Figura 1), de porte pequeno, tortuosa, inermes, de casca rugosa com coloração pardo-esverdeada na superfície externa e pardo-avermelhada na superfície interna, com pouca folhagem e de crescimento muito lento. As folhas são alternas, duplicado-pinadas, grandes, com aproximadamente 30 cm de comprimento. Os folíolos são alternos, glabros, subcoriáceos, orbiculares, com ápice retuso e base assimétrica. As flores são numerosas, pequenas, esbranquiçadas, dispostas em espigas densas, axilares e medem aproximadamente 10 cm de comprimento. Os frutos são do tipo legumes sésseis, possuindo sementes ligeiramente achatadas e de coloração castanho-claro. As folhas são caducas, permanecendo a árvore despida nos meses de junho e julho, voltando a brotar no mês de agosto. A floração inicia-se em setembro e a frutificação em novembro (FERRI, 1969; CORRÊA, 1978).

Figura 1 - Aspectos gerais do barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*): **A)** Árvore; **B)** Folha composta por folíolos e foliólulos; **C)** Aspecto da casca.



Esta planta é bastante utilizada na medicina popular, principalmente na forma de extrato da casca, para o tratamento de licoreira, diarreia, hemorragia, hemorroida, feridas, conjuntivite, inflamação da garganta, corrimento vaginal e úlcera gástrica (SILVA et al., 2010).

Os principais constituintes químicos do barbatimão são os taninos, flavonoides, terpenos, esteroides e inibidores de tripsina e protease, sendo os taninos o grupo de compostos ativos majoritários (VASCONCELOS et al. 2004). Segundo recomendação da Farmacopeia Brasileira (2010) a droga vegetal constituída pelas cascas caulinares secas do barbatimão deve conter no mínimo 8% de taninos totais. A esse composto químico têm sido atribuídos efeitos antioxidantes, cicatrizantes e antimicrobianos.

As atividades farmacológicas do barbatimão estão diretamente ligadas aos teores de taninos condensados, que variam de 20% a 50% dos compostos presentes na planta. Devido a esses altos teores, a planta é também empregada na indústria do couro e na fabricação de tinta de escrever. Isso demonstra a importância da espécie, não só no campo da fitoterapia, mas também como fonte de taninos para o abastecimento de curtumes e fornecimento de corante para indústrias de tintas (JACOBSON et al, 2005).

Na área de alimentos, os estudos são escassos. Sousa (2013) estudou a estabilidade oxidativa de carne de frango pré-cozida contendo bioprodutos do cerrado. No estudo, a

adição de extrato alcoólico de barbatimão em diferentes dosagens (0,2-1,4%) diretamente na carne, apresentou ação antioxidante na proteção dos lipídios da carne armazenada sob refrigeração, evidenciando grande potencial como agente antioxidante para produtos cárneos. Desta forma, tendo apresentado tal potencial, e dado que cada vez mais as pessoas procurem produtos naturais, é de grande importância que se realizem mais estudos sobre a utilização de barbatimão na área de alimentos.

2.1.1 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos representam a maior parte dos compostos bioativos do barbatimão e constituem um dos maiores e mais amplos grupos químicos presentes no reino vegetal. Quimicamente, são definidos como substâncias que possuem anel aromático com uma ou mais hidroxilas substituintes, incluindo seus grupos funcionais (LEE et al., 2005).

Estes constituem um grupo quimicamente heterogêneo, com aproximadamente 10.000 compostos: alguns apenas solúveis em solventes orgânicos, outros solúveis em água como ácidos carboxílicos e glicosídeos e ainda há aqueles que são grandes polímeros insolúveis (TAIZ, ZAIGER, 2004).

A presença de compostos fenólicos em alguns alimentos, medicamentos e cosméticos, pode promover atividade antioxidante através do sequestro de espécies radicais de oxigênio, a modulação da atividade de algumas enzimas específicas, bem como pode ser útil pelo seu potencial como agente antibiótico, antialérgico, antiinflamatório e antimicrobiano (MANACH et al., 2004; FONTANA, et al, 2013; GOMEZ-ESTACA et al., 2014).

Muitos são os efeitos atribuídos aos compostos fenólicos para o benefício à saúde de quem os consome, mas também podem ser aplicados na preservação de alimentos. A atividade antioxidante e antimicrobiana são efeitos importantes na área de alimentos, visto que, se compostos fenólicos são adicionados às formulações de produtos alimentícios ou incorporados em embalagens biodegradáveis ativas, eles podem prevenir reações de oxirredução, aumentando a vida de prateleira dos produtos (GOMEZ-ESTACA et al., 2014).

Nas substâncias fenólicas, tais como ácidos fenólicos, ligninas, taninos, derivados da cumarina, entre outros, diversas estruturas multifuncionais são encontradas, contendo

núcleos aromáticos, pirânicos, hidroxilas, radicais metoxi, etoxi, carbonilas, etc. (HARBORNE, 1998; SHAHIDI, NACZK, 1995).

2.1.1.1 Taninos

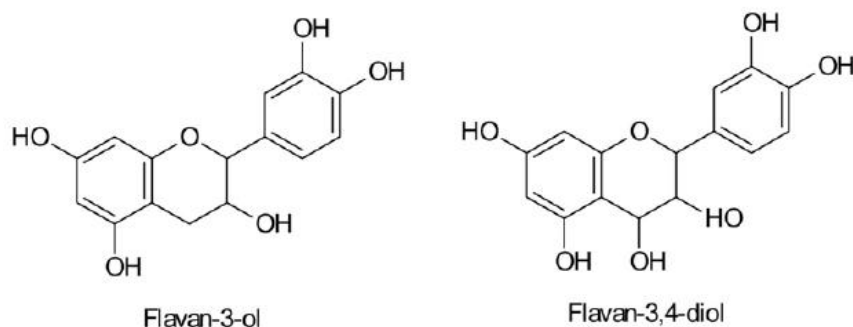
Taninos são compostos polifenólicos, oriundos do metabolismo secundário das plantas, presentes em várias partes dos vegetais, como raízes, cascas, folhas e frutos. São solúveis em água, possuem massa molecular entre 500 e 3000 Dalton, e apresentam habilidades de formar complexos insolúveis em água com proteínas (PEREIRA; CARDOSO, 2012).

Como são substâncias fenólicas, acredita-se que os possíveis mecanismos de ação dos taninos estejam relacionados a três propriedades: complexação com íons metálicos (ferro, manganês, vanádio, cobre, alumínio, cálcio, entre outros); atividade antioxidante e sequestradora de radicais livres e habilidade de complexar com macromoléculas, tais como proteínas e polissacarídeos (PEREIRA; CARDOSO, 2012).

Os taninos são classificados de acordo com sua estrutura química em dois grupos: taninos hidrolisáveis e taninos condensados. Os taninos hidrolisáveis são constituídos por uma mistura de fenóis simples, galotaninos e elagitaninos, que quando submetidos à hidrólise formam o ácido gálico e ácido elágico, substâncias que possuem atividade anti-inflamatória e antioxidante (SANTOS; MELLO, 2004).

Os taninos condensados são oligômeros e polímeros de flavan-3-ol (catequina) e/ou flavan-3,4-diol (leucocianidina), produtos do metabolismo do fenilpropanol (Figura 2). Estes também podem ser denominados por proantocianidinas, provavelmente pelo fato de apresentarem pigmentos avermelhados da classe das antocianidinas, como cianidina e delphinidina, apresentam uma rica diversidade estrutural, resultante de padrões de substituições entre unidades flavânicas, diversidade de posições entre suas ligações e estereoquímica de seus compostos (ANGELO; JORGE, 2007)

Figura 2 - Estrutura química de flavan-3-ol e flavan-3,4-di



Algumas atividades dos taninos hidrolisáveis e condensados já foram demonstradas, tais como ação bactericida, fungicida, antiviral, inibição de enzimas, atividade cicatrizante, dentre outros. Além disso, os taninos também podem formar radicais estáveis ao atuar como captadores de radicais, interceptando o oxigênio ativo (SANTOS; MELLO, 2004).

2.2 MICROENCAPSULAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS

A microencapsulação é uma técnica comumente aplicada para a proteção de uma vasta gama de biomoléculas. Esta técnica é baseada na incorporação de biomoléculas em uma matriz polimérica, criando um microambiente na cápsula capaz de controlar as interações entre a parte interna e externa (BORGOGNA et al., 2010). A microencapsulação baseia-se na preparação de uma mistura entre o composto a ser encapsulado e o agente encapsulante, seguido da secagem da mesma. As micropartículas formadas são compostas por um polímero como agente encapsulante e um material ativo, que se deseja encapsular, chamado de núcleo. (SANTOS et al., 2005; SHAHIDI; HAN, 1993).

A finalidade básica da microencapsulação de componentes é proteger contra oxidação química ou fatores ambientais que possam resultar em perda de aroma, alteração de cor ou perda do valor nutricional. Também tem como objetivo reduzir a taxa de migração de núcleos voláteis para o ambiente externo, como alguns óleos essenciais, além de mascarar compostos de sabor indesejável e promover melhor solubilidade do núcleo. Existem técnicas nas quais a microcápsula pode ser também projetada para liberar lentamente o produto com o passar do tempo ou até determinada condição físico-química seja alcançada (BARROS, STRINGHETA, 2006; AZEREDO, 2005).

Como agente encapsulante, diversos materiais podem ser utilizados, tais como proteínas, lipídeos e carboidratos, dentre os quais estão incluídos as gomas. A escolha do agente encapsulante depende de uma série de fatores, dentre os quais pode-se destacar a não reatividade deste com o material a ser encapsulado, o processo utilizado para a formação da microcápsula e o mecanismo ideal de liberação do componente encapsulado (FAVARO-TRINDADE et al., 2008, MATALANIS et al., 2011). Além disso, os materiais utilizados na encapsulação devem ter propriedades emulsificantes, ser capaz de formar filmes, ser biodegradável, ter baixa viscosidade, exibir baixa higroscopicidade e ser de baixo custo (FAVARO-TRINDADE et al., 2008). Na prática, muitas vezes, um mesmo agente encapsulante não apresenta todas essas propriedades citadas, assim, é comum utilizar misturas de dois ou mais componentes (AZEREDO, 2005).

Alguns tipos de agentes encapsulantes e técnicas empregadas na microencapsulação podem promover liberação controlada do material encapsulado, fazendo com que este seja liberado de acordo com as necessidades específicas de cada produto. Essa liberação pode ocorrer em função de diferentes condições, como pH e temperatura, durante o processamento e a forma de estocagem dos alimentos (WANG et al., 2007).

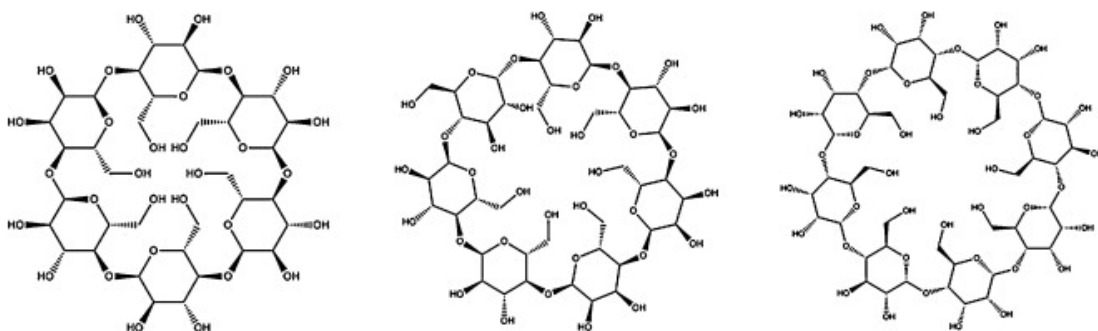
Existem vários métodos que podem ser utilizados para a microencapsulação, sendo que a seleção do método é dependente da aplicação que será dada à cápsula, do tamanho desejado, do mecanismo de liberação e das propriedades físico-químicas, tanto do material ativo, quanto do agente encapsulante. Entre os quais pode-se destacar: extrusão, leite fluidizado, coacervação, liofilização, secagem em tambor, inclusão molecular, inclusão em lipossomas e secagem por atomização (AZEREDO, 2005; FAVARO-TRINDADE et al., 2008).

A liofilização é uma técnica mais eficiente de secagem para obtenção de compostos antioxidantes microencapsulados, como exemplo de ácido gálico, por proteger contra a decomposição química e reduzir a perda de bioatividade do núcleo, devido à aplicação de baixas temperaturas no processamento, comparada com outros métodos (YAMADA et al., 2000). Esta técnica é baseada na desidratação por sublimação a vácuo da emulsão congelada, obtida com o agente encapsulante e o material a ser microencapsulado (AZEREDO, 2005).

2.2.1 Ciclodextrinas

As ciclodextrinas (CDs) são obtidas através da degradação do amido por meio de enzimas. São substâncias não higroscópicas, homogêneas e cristalinas, constituídas por unidades de glicopirranose unidas entre si por ligações glicosídicas do tipo α , 1 \rightarrow 4. Os tipos mais comuns são α , β e γ -CD, que consistem em seis, sete e oito unidades de glicopirranose, respectivamente (Figura 3) (PINHO et al., 2014; SZEJTL, 1988).

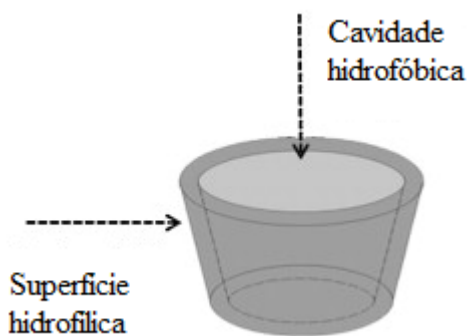
Figura 3 - Representação esquemática de α -CD, β -CD e γ -CD (esquerda para a direita)



Fonte: PINHO et. al., 2013.

As moléculas de CDs têm uma forma de cone truncado, com uma superfície exterior hidrofílica e uma cavidade interior hidrofóbica (Figura 4). Estas são capazes de formar complexos de inclusão com uma grande variedade de compostos orgânicos solúveis em água, que entram em parte, ou totalmente, na cavidade relativamente hidrofóbica expulsando simultaneamente as poucas moléculas de água de alta energia. A cavidade das CDs permite a seletividade para a complexação de moléculas a serem incluídas, e assim atuam como encapsulantes moleculares (DA ROSA et al, 2013; SZEJTL, 1988).

Figura 4 - Representação esquemática do aspecto CD truncado



Fonte: PINHO et. al., 2013.

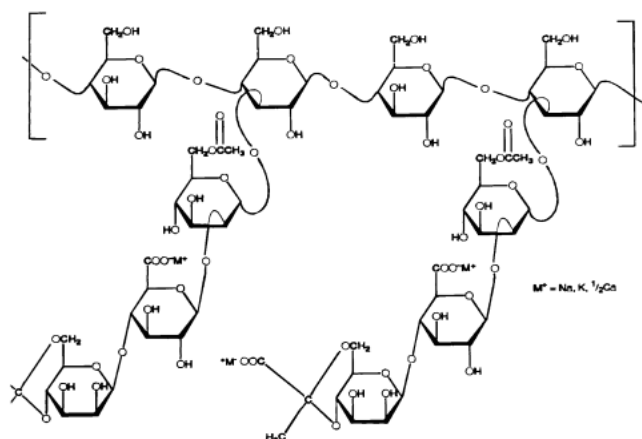
Entre as CDs, a forma β é a mais utilizada para fins de encapsulação, devido à sua disponibilidade e preço mais acessível, comparada com as demais. Além disso, o tamanho da cavidade é adequado para moléculas com massa molar entre 200 e 800 g / mol. (WANG et al., 2011; DA ROSA et al, 2013)

As moléculas encapsuladas com CDs podem sofrer modificações drásticas em relação as suas propriedades físicas, químicas e biológicas. O encapsulamento pode levar à melhoria da taxa de dissolução, permeabilidade da membrana e biodisponibilidade de compostos ativos de baixa solubilidade (SZENTE, SZEJTLI, 2004).

Nas indústrias de alimentos, as CDs podem ser utilizadas como aditivo para a estabilização de aromas, podendo proteger as moléculas hóspedes contra a oxidação, induzidas pela luz e decomposições, e mudanças induzidas pelo calor. Além disso, melhoram a vida útil de produtos alimentícios e podem mascarar ou reduzir gostos indesejados. Porém, possivelmente a propriedade mais importante do encapsulamento de moléculas com CDs é o aumento da solubilidade aquosa de vários compostos pouco solúveis, como o exemplo de compostos fenólicos. (WANG et al., 2011; SZENTE, SZEJTLI, 2004).

2.2.2 Goma Xantana

A goma xantana é um polissacarídeo extracelular produzido por microrganismos da espécie *Xanthomonas*, sendo produzida comercialmente por *Xanthomonas campestris* (RIBEIRO; SERAVALLI, 2004). Estruturalmente, esta é uma goma de heteropolissacarídeo, sendo a sua estrutura primária uma cadeia formada por unidades de β -D-glicose unida por ligação 1 \rightarrow 4, contendo ramificação formada por β -D-manose - 1,4- β -D ácido glucurônico - 1,2- α -D-manose, também pode conter ácido pirúvico e ácido acético (Figura 5). Considera-se um polímero aniônico, devido à presença de grupos carboxílicos na sua estrutura (GARCÍA-OCHOA et al., 2000).

Figura 5 - Estrutura química da goma xantana

Fonte: GARCÍA-OCHOA et al., 2000.

Segundo Sworn (2000), esta goma apresenta solubilidade tanto em água fria quanto em água quente, suas soluções são altamente pseudoplásticas e a viscosidade é muito estável em amplas faixas de pH e temperatura. Devido estas características, a goma de xantana é utilizada em ampla variedade de alimentos por diversos motivos, incluindo a estabilização da emulsão, estabilidade de temperatura, compatibilidade com ingredientes alimentares, e as suas propriedades reológicas pseudoplásticas (GARCÍA-OCHOA et al., 2000). Além disso, tem sido empregada como agente encapsulante de enzimas, compostos aromáticos, micro-organismos e de compostos fenólicos presentes em extratos de amora-preta (RUTZ et al., 2013). A combinação de goma xantana com outros agentes encapsulantes também vem sendo estudadas para a melhoria de viscosidade como no caso da β -CD (RAO et al., 2014).

2.3 EMBALAGENS BIODEGRADÁVEIS ATIVAS

Embalagens de alimentos desempenham inúmeras funções, podendo permitir o fracionamento dos alimentos em quantidades ideais para o consumo, oferecer proteção mecânica, evitar contaminações, prolongar a vida de prateleira de produtos, facilitar o transporte e o armazenamento (SIRACUSA et al., 2008).

Atualmente, grande parte das embalagens utilizadas é obtida a partir de polímeros sintéticos provenientes de fontes não renováveis de energia, como o petróleo. Estes polímeros são largamente utilizados em embalagens alimentícias, por serem mecanicamente resistentes, leves, possuírem propriedades de barreira ao oxigênio e a compostos aromáticos e podem ser termossoldados ou impressos, além de apresentarem

baixo custo (THARANATHAN, 2003; ARORA, PADUA, 2009). Porém, estes polímeros apresentam baixa permeabilidade ao vapor d'água, além de não serem considerados biodegradáveis, podendo acarretar sérios problemas ecológicos e ambientais (THARANATHAN, 2003; DO SUL, COSTA, 2014).

O uso de embalagens e revestimentos adequados para a indústria de alimentos se tornou um assunto de grande interesse, devido à potencialidade de aumentar a vida útil de muitos produtos alimentícios, melhorar a qualidade dos alimentos ou diminuir os resíduos de embalagens (ASSIS et al., 2012). Neste sentido, devido principalmente a dificuldade de reciclagem da maioria das embalagens sintéticas disponíveis, tem-se incentivado diversas pesquisas no sentido de incrementar e/ou desenvolver polímeros biodegradáveis com características que permitam a sua utilização em embalagens alimentícias (MALI et al., 2010).

A substituição dos materiais sintéticos convencionais por polímeros naturais está associada ao conceito de biodegradabilidade. Os polímeros naturais podem ser utilizados na produção de embalagens biodegradáveis, onde sua degradação resulta primariamente da ação de microrganismos, tais como bactérias, fungos e algas de ocorrência natural, convertendo-se em compostos simples e que não agridem o ecossistema, sendo reaproveitados nos ciclos de carbono, nitrogênio e enxofre (ROBERTSON, 2012; CHANDRA, RUSTGI, 1998).

Os filmes biodegradáveis são filmes de baixa espessura (geralmente não maior que 0,25 mm) (ASTM, 1999), preparados a partir de materiais biológicos como proteínas, polissacarídeos, lipídios ou da combinação destes compostos. Estes podem atuar como barreira a elementos externos protegendo o produto embalado de danos físicos e biológicos, e conseqüentemente aumentando sua vida útil (HENRIQUE et al., 2008).

Segundo Robertson (2012), a finalidade do uso de filmes biodegradáveis depende de suas propriedades funcionais como solubilidade em água, propriedade a barreira à umidade, características mecânicas, propriedades térmicas, dentre outras. Estas propriedades dependem da composição da matriz polimérica, processo de obtenção, modo de aplicação, condicionamento e espessura do filme.

Em alimentos, os filmes podem ser comestíveis ou não, podendo também atuar como revestimento. Além disso, os filmes biodegradáveis podem ser divididos em três categorias: hidrocoloides (amido, proteínas, celulose, alginatos, pectinas e outros polissacarídeos), lipídicos (ceras, acilglicerois e ácidos graxos) e compostos (hidrocoloides combinados a lipídicos) (SOBRAL, 2000; PETERSSON, STADING, 2005).

Entre os diversos materiais poliméricos que podem ser utilizados na obtenção de filmes biodegradáveis, os alginatos se destacam pela sua habilidade de funcionar como suporte de substâncias ativas e propriedades de barreira em relação a gases e solutos. Devido a tais características é crescente o interesse no estudo de filmes a base de alginato e seu uso tem sido bastante avaliado nas áreas química, farmacêutica e alimentícia (TURBIANI, 2007, CHANDRA, RUSTGI, 1998).

Na preparação de filmes, além dos materiais poliméricos, utiliza-se solventes e plastificantes, entre outros reagentes para promover suas propriedades mecânicas, sensoriais, nutricionais ou de proteção. Os plastificantes são bons aditivos para os filmes de amido, pois melhoram a flexibilidade do filme e facilitam seu manuseio, porém a sua utilização pode prejudicar as propriedades de barreira, como permeabilidade aos vapores de água e solubilidade (SOUZA et al., 2011).

Nas últimas décadas, novas linhas de pesquisa têm surgido com o intuito de desenvolver embalagens que não apenas mantenham a qualidade dos alimentos, mas também possam melhorar algumas de suas propriedades. Filmes biodegradáveis ativos proporcionam benefícios extras em relação aos filmes convencionais ao interagir com o produto podendo alterar as condições do produto, aumentando sua vida de prateleira, segurança e qualidade e, ou melhorando suas características sensoriais (DAINELLI et al., 2008; BODAGHI et al., 2013; VERMEIREN et al., 2002).

Os filmes biodegradáveis ativos podem ser classificados de acordo com a sua função, podendo ser antioxidante, antimicrobiana, aromático, dentre outros. Para tornar um filme ativo, deve-se incorporar agentes que possuam essas funções em embalagens para promover a estabilidade de produtos alimentícios (LEE et al, 2005).

A oxidação lipídica juntamente com o crescimento microbiano são as principais causas de deterioração de muitos alimentos ricos em gorduras, proporcionando a perda de qualidade nutricional e sensorial do produto embalado. A fim de evitar ou diminuir essas causas de deterioração, uma das tecnologias mais promissoras para preservar alimentos sensíveis à oxidação são as embalagens ativas antioxidantes. Estas embalagens podem promover a liberação gradual de antioxidantes durante o período de armazenamento, de forma a prolongar a vida de prateleira dos produtos embalados, ao prevenir a oxidação lipídica e o crescimento microbiano, além de auxiliar na prevenção do escurecimento enzimático (GOMEZ-ESTACA et al., 2014; JÚNIOR, et al., 2015; LEE et al, 2005).

Tradicionalmente, na elaboração de embalagens ativas antioxidantes, são utilizados compostos sintéticos a fim de obter melhores resultados, como exemplo, é possível citar

polifenóis, organofosfatos e tioésteres. Entretanto, seu uso é proibido em alimentos por apresentarem efeitos toxicológicos. Por essa razão, existe crescente preferência pelo uso de substâncias naturais. Alguns antioxidantes naturais que podem ser utilizados em embalagens para alimentos incluem ácidos fenólicos (α -tocoferol), ácidos orgânicos (ácido ascórbico), extrato de plantas (alecrim, chá etc.) e poliaminas (espermina e espermidina) (SOARES et al. 2009).

Para realizar a incorporação destes compostos ao filme, uma dos métodos é através de sua adição direta, ou da utilização de microcapsulas de compostos bioativos, que podem inibir ou retardarem as reações de oxidação ao interagirem com radicais livres e peróxidos (SOUZA et al., 2011, ASSIS et al., 2012). Muitas dessas embalagens ativas têm sido desenvolvidas a partir de matérias-primas naturais e renováveis, de forma que tanto a matriz polimérica quanto os aditivos funcionais a ela incorporados apresentam caráter da biodegradabilidade (SANTANA et al., 2013).

CAPÍTULO 3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL PARA A EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS DO BARBATIMÃO

3.1.1 Material vegetal

Cascas secas do caule de barbatimão (lote nº 2008 - Nutricrok Alimentos Ltda – Epp) foram obtidas no comércio local de Maringá-PR. O material vegetal foi moído com auxílio de liquidificador industrial, formando um pó de partículas de tamanho médio, que foi separado em três diferentes granulometrias (> 20, 20-42 e 42-60 Standard mesh Tyler, ou seja, > 0,85; 0,85-0,355 e 0,355-0,250 mm) e armazenado ao abrigo de luz e umidade.

3.1.2 Processo de extração de compostos bioativos de barbatimão

Para a determinação da melhor condição de extração dos compostos bioativos do barbatimão, foi realizado um planejamento fatorial 2^3 com oito experimentos e três repetições no ponto central, totalizando 11 ensaios, em triplicata. As variáveis independentes do planejamento foram: temperatura de extração (x_1) (30 °C e 50 °C), pH da solução (x_2) (7 a 11) e granulometria da amostra (> 0,85; 0,85-0,355 e 0,355-0,250 mm), obtida com peneiras de diferentes aberturas (x_3) (20, 42 e 60 Standard mesh Tyler). A faixa de trabalho de cada variável foi determinada conforme dados da literatura (SOUSA et al., 2014; BILIBIO et al., 2015). Os fatores avaliados no planejamento, e seus respectivos níveis, em valores usados na extração, são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 - Fatores avaliados no planejamento e seus respectivos níveis.

Fatores	Low	Center	High
Temperatura (°C)	-1 (30)	0 (40)	1 (50)
pH	-1 (7)	0 (9)	1 (11)
Granulometria (Standard mesh Tyler)	-1 (20)	0 (42)	1 (60)

A extração dos compostos bioativos foi realizada em banho de ultrassom, por 30 minutos, em solução hidroalcoólica (50 %) e concentração de 4 mg/mL (casca/solvente), conforme Sousa et al. (2014).

Desta forma, em um béquer, pesou-se 0,2 g de amostra de casca, peneirada conforme a granulometria de cada ensaio do planejamento, e adicionou-se 50 mL de solução hidroalcoólica (50 %), com pH corrigido também conforme cada ensaio do planejamento. O béquer foi revestido e fechado com papel alumínio, para evitar a perda dos compostos voláteis, e então submetido a banho ultrassônico durante 30 min, em temperaturas determinadas para cada ensaio do planejamento.

A solução obtida foi centrifugada por 10 min, a 4000 rpm. O sobrenadante foi utilizado para análises de teores de polifenóis totais, taninos condensados e atividade antioxidante, pelo método do radical DPPH. Todos os ensaios foram realizados em triplicata.

3.1.2.1 Determinação do teor de Polifenóis Totais (PT)

O teor de polifenóis totais foi determinado pelo método de Folin-Ciocalteu, conforme Singleton e colaboradores (1965), com modificações. O teste foi realizado por meio de espectrofotometria, utilizando curva de calibração com solução padrão de ácido gálico (0 – 900 mg/L). Em tubos de ensaio, foram transferidas alíquotas de 125 µL de extrato, adicionado 125 µL de reagente de Folin-Ciocalteu e 2250 µL de solução de carbonato de sódio aquoso saturado (3,79 M). Os tubos foram agitados e mantidos ao abrigo de luz por 30 minutos, e em seguida foi medida a absorbância a 725 nm, em espectrofotômetro. O teor de polifenóis totais foi calculado e expresso em g de ácido gálico equivalente / 100 g de casca. Todas as medições foram realizadas em triplicata.

3.1.2.2 Determinação de taninos condensados pelo ensaio de vanilina-HCl

Os taninos condensados foram determinados pelo ensaio de vanilina-HCl conforme Bilibio et al. (2015), com modificações. A análise foi realizada por meio de espectrofotometria, utilizando curva de calibração com solução padrão de catequina (0 – 300 mg/L). Foi adicionado 1 ml de extrato obtido em um tubo de ensaio, e em seguida, acrescentado 2,5 ml de solução de vanilina 1%, e 2,5 ml de HCl 9 M, ambas preparadas em metanol. A solução foi mantida durante 20 min a 30 °C, e a absorbância foi medida a 500 nm, em espectrofotômetro. O conteúdo de taninos condensados foi calculado e expresso em g de catequina / 100 g de casca. Todas as medições foram realizadas em triplicata.

3.1.2.3 Atividade antioxidante pelo método do radical DPPH•

A capacidade antioxidante foi determinada nos extratos pelo método do radical DPPH, conforme Souza et al. (2009), com modificações. Foi realizada por meio de espectrofotometria, utilizando curva de calibração com solução padrão de trolox (0 – 900 mg/L). Em tubos de ensaio, transferiu-se 1 ml de extrato obtido e adicionado 2,5 ml de solução DPPH 0,004%, em metanol. A solução foi agitada e mantida sobre abrigo de luz durante 30 minutos, à temperatura ambiente. A absorbância foi medida a 517 nm, em espectrofotômetro. A capacidade antioxidante foi expressa em g de trolox equivalentes/100 g de casca. Todas as medições foram realizadas em triplicata.

3.1.2.4 Análise estatística

A metodologia de superfície de resposta foi usada para estimar os efeitos das variáveis independentes (temperatura de extração, pH da solução e granulometria) no teor de polifenóis totais (Y_1), atividade antioxidante pelo método do radical DPPH (Y_2) e teor de taninos condensados (Y_3). Um planejamento fatorial 2^3 foi empregado na análise dos dados.

A metodologia de superfície de resposta foi aplicada aos dados experimentais usando o software STATISTIC 8.0. Os dados foram analisados por um modelo de regressão linear, segundo a equação (1).

$$Y = b_0 + b_1 \cdot X_1 + b_2 \cdot X_2 + b_3 \cdot X_3 + b_{12} \cdot X_1 \cdot X_2 + b_{13} \cdot X_1 \cdot X_3 + b_{23} \cdot X_2 \cdot X_3 + \varepsilon \quad (\text{Eq. 1})$$

Os coeficientes do modelo polinomial foram representados por b_0 (termo constante), b_1 , b_2 e b_3 (efeitos lineares); b_{12} , b_{13} e b_{23} (efeitos de interação) e ε o erro.

3.2 MICROENCAPSULAÇÃO DOS COMPOSTOS BIOATIVOS DO BARBATIMÃO

3.2.1 Preparação do complexo de inclusão

Para o preparo do complexo de inclusão, utilizou-se o extrato que apresentou os melhores resultados de extração para as variáveis de resposta (polifenóis totais, atividade antioxidante e taninos condensados). O extrato foi concentrado em rotaevaporador a vácuo

($T \approx 50$ °C), sob proteção da luz, até que o mesmo atingisse metade do volume inicial. A rotaevaporação foi realizada com os objetivos de concentrar o extrato e remover a fração alcoólica.

O processo de liofilização foi escolhido para a secagem dos compostos bioativos do barbatimão microencapsulado. Para tanto, utilizou-se β -ciclodextrina (MM=1135 g/mol, lote n° BATCH: E 1015) adquirida da ROQUETTE Offering the best of nature™ como agente encapsulante e adição de goma xantana (lote n° GA1006601; PROTANAL SF 120RB), visando melhores resultados para aplicações em filmes. O complexo de inclusão foi realizado conforme Ho et al (2017), com algumas modificações. Foram preparadas duas soluções, em uma proporção de 1:1 (mol/mol) (extrato: agente encapsulante; baseado na razão molar de catequina), sendo que se obteve uma formulação utilizando apenas β -ciclodextrina (CD), e a segunda formulação acrescida de 1% de goma xantana (CD/X). As soluções foram submetidas à agitação por 4 horas em agitador magnético, após ficaram em repouso por 12 horas em temperatura ambiente, e então foram submetidas ao congelamento com nitrogênio líquido.

As soluções congeladas foram submetidas ao processo de liofilização (T : -51 °C; pressão: 0,04 mbar; 30 horas) até a desidratação completa. Os pós resultantes foram macerados manualmente com graal e pistilo, e posteriormente armazenados sob refrigeração, em recipiente fechado, para posterior avaliação e caracterização. O extrato concentrado de barbatimão também foi liofilizado, sem a presença de agentes encapsulantes, para medidas de comparação.

3.2.2 Caracterização dos complexos de inclusão

3.2.2.1 Eficiência de encapsulação

Para a extração dos compostos bioativos, misturou-se 0,010 g do pó de casca de barbatimão com uma das granulometrias selecionadas, em 5 mL de etanol 50 %. A suspensão obtida foi submetida ao ultrassom por 30 min, e em seguida centrifugada por 10 min, a 3500 rpm. O sobrenadante resultante foi utilizado para determinar o teor de polifenóis totais e taninos condensados nas microcápsulas.

Como o extrato é uma solução multi-componente, contendo compostos com capacidades diferentes para interagir com os agentes encapsulantes utilizados, a determinação de um valor único para a eficiência de encapsulação não seria viável.

Para tanto, a determinação da eficiência de encapsulação foi realizada levando-se em consideração a concentração dos compostos fenólicos e o teor de taninos condensados presentes no extrato, antes e depois, deste ser microencapsulado. Para este fim, determinou-se os compostos bioativos do sobrenadante, conforme os itens 3.2.2.1 e 3.2.2.2.

As eficiências foram expressas em porcentagem e calculadas de acordo com a equação (2)

$$E (\%) = \left(\frac{C_m}{C_e} \right) \cdot 100 \quad (\text{Eq. 2})$$

Onde: C_m é a concentração de compostos fenólicos/taninos condensados obtidos dos complexos de inclusão; C_e a concentração dos compostos bioativos respectivos, presentes no extrato usado para a preparação do complexo de inclusão.

3.2.2.2 Solubilidade das microcápsulas em água

A solubilidade das microcápsulas em água foi determinada de acordo com o procedimento estabelecido por Cortés-Rojas et al. (2014), com modificações. Para tanto, dissolveu-se 0,100 g de microcápsulas produzidas somente com o material encapsulante em 10 mL de água destilada, e agitou-se a solução com agitador magnético a 25 °C por 10 min. A solução foi centrifugada a 3500 rpm, durante 10 minutos. Retirou-se uma alíquota do sobrenadante (aproximadamente 2 mL) e colocou-se em placa de Petri previamente pesada. A placa foi levada para a estufa a 105 °C, por 5 horas. Após esse tempo, a placa de Petri foi retirada da estufa, deixada resfriar e pesada novamente. O procedimento foi realizado em triplicata. A solubilidade foi expressa pela porcentagem de material seco solubilizado e calculada de acordo com a equação (3)

$$SOL = \frac{m_s}{m_i} \quad (\text{Eq. 3})$$

Onde: m_s é a massa de sólidos secos presentes no sobrenadante; m_i massa da amostra inicial.

3.2.2.3 Teor de umidade e Atividade de água (a_w) das microcápsulas

A umidade foi determinada por meio do método gravimétrico, em estufa a 105 °C até peso constante, conforme AOAC (1995).

A atividade de água das amostras foi medida utilizando-se medidor de atividade de água, portátil AW Sprint – TH 500, Novasina. As análises foram realizadas em triplicata.

3.2.2.4 Higroscopicidade

A higroscopicidade das microcápsulas foi determinada de acordo com o método proposto por Fritzen-Freire et al. (2012). As amostras de cada tipo de microcápsula (aproximadamente 1 g) foram colocadas, a 25 °C, em um dessecador contendo uma solução saturada de NaCl (75,3% UR). Após 1 semana, as amostras foram pesadas e a sua higroscopicidade expressa como g de umidade adsorvida por 100 g de microcápsulas secas (g/100 g).

3.2.2.5 Densidade aparente

A densidade aparente foi determinada de acordo com Ho et al. (2017), com modificações. Cerca de 1 g de cada tipo de microcápsula foi pesado e transferido para uma proveta de 10 ml e acomodando a amostra com leves batidas. A densidade aparente foi determinada como a razão entre a massa das microcápsulas e o volume ocupado na proveta, conforme equação (4), e expressa em g/ml.

$$\text{Densidade Aparente} = \frac{m}{V} \quad (\text{Eq. 4})$$

Onde: m é a massa das microcápsulas; V o volume que elas ocupam na proveta.

3.2.2.6 Análise de cor

A cor foi avaliada utilizando um colorímetro portátil Konica Minolta® CR400. A escala de cores CIELab foi usada para medir os parâmetros L*, a* e b*. Na escala de cor CIELab, o parâmetro L* varia de 0 a 100, indicando a variação de cor de preto para branco; a* mostra a variação de vermelho (+a*) a verde (-a*); enquanto o b* mostra a variação de amarelo (+b*) a azul (-b*). A diferença de cor total (ΔE^*) entre o extrato e

cada uma das amostras produzidas e o ângulo Hue (h) foram calculados conforme as equações (5) e (6), respectivamente:

$$\Delta E^* = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{\frac{1}{2}} \quad (\text{Eq. 5})$$

$$h = \arctg.\left(\frac{b^*}{a^*}\right) \quad (\text{Eq. 6})$$

Onde ΔL^* é a diferença entre o pó de extrato e os pós obtidos; Δa^* é a diferença de intensidade da cor vermelha; Δb^* representa a diferença da intensidade da cor amarela.

3.2.2.7 Calorimetria diferencial de varredura (DSC)

As curvas de DSC de cada tipo de microcápsula foram obtidas utilizando um DSCQ10 (TA Instruments). Amostras de aproximadamente 2 mg de microcápsulas foram colocadas em recipientes de alumínio selado, sob uma atmosfera de ar sintético dinâmico (30 mL min^{-1}), com aquecimento na faixa de temperatura de 30 a 300 °C, a uma taxa de aquecimento de 10 °C min^{-1} .

3.2.2.8 Análise morfológica das microcápsulas

A análise morfológica foi realizada por meio de microscopia eletrônica de varredura (MEV), utilizando o microscópio Quanta 250. As amostras foram fixadas em um suporte metálico com auxílio de fita dupla-face de carbono e recobertas com uma fina camada de ouro. A visualização foi realizada em aumentos de 595 vezes, com uma voltagem de excitação de 15 kV.

3.2.3 Liberação controlada de compostos bioativos das microcápsulas

A cinética de liberação controlada de compostos bioativos das microcápsulas foi determinada conforme procedimento de Birk et al. (2016), com modificações. A quantidade de 0,010 g de cada tipo de microcápsula foi colocada em tubos de ensaio com rosca, contendo 5 ml de solução de etanol:água (50:50). Os tubos foram acondicionados em estufas B.O.D., nas temperaturas de 4 °C (temperatura de refrigeração) e a 25 °C (temperatura ambiente), para estudar a influência da temperatura de liberação. Em

intervalos regulares de tempo, o teor de polifenóis totais e taninos condensados na solução sobrenadante foram determinados, conforme itens 3.2.2.1 e 3.2.2.2. Cada experimento foi realizado em triplicata.

A fim de investigar o modo de liberação dos compostos bioativos das microcápsulas, os dados de foram analisados utilizando os seguintes modelos matemáticos: Peppas (Ritger & Peppas, 1987a, b), conforme equação (7); e Weibull (Papadopoulou et al., 2006), conforme equação (8).

$$\frac{M_t}{M_\infty} = k \cdot t^n \quad (\text{Eq. 7})$$

$$\frac{M_t}{M_\infty} = 1 - \exp(-a \cdot t^b) \quad (\text{Eq. 8})$$

Onde: M_t é definida como a quantidade de composto bioativo liberado em qualquer tempo; M_∞ é a concentração máxima que deveria ser alcançada se todo o composto bioativo fosse liberado das microcápsulas; k e n são constantes do modelo Peppas, sendo a constante cinética e o parâmetro que indica o tipo de transporte, respectivamente; a e b são constantes do modelo de Weibull, sendo que o primeiro indica um parâmetro de escala que descreve o tempo de dependência, enquanto o segundo descreve a forma da progressão da curva de dissolução.

3.3 ELABORAÇÃO DE FILMES BIODEGRADÁVEIS ATIVOS COM INCORPORAÇÃO DE MICROCÁPSULAS DE COMPOSTOS BIOATIVOS DE BARBATIMÃO

3.3.1 Desenvolvimento dos filmes biodegradáveis

Foram desenvolvidas duas formulações de filmes biodegradáveis, sendo cada uma constituída por um tipo de microcápsula obtida anteriormente. Para medidas de comparação também foram desenvolvido filmes com microcápsulas vazias.

Os filmes foram preparados a partir de soluções aquosas de alginato (2%) acrescidas de 1% de microcápsulas de barbatimão e 0,75% de glicerina. A técnica de *casting* (moldagem) foi utilizada para a obtenção dos filmes, na qual aproximadamente 15 ml das soluções filmogênicas foram vertidas em placas acrílicas e submetidas à secagem em estufa de circulação de ar, a 50 °C por 24 horas. Após a secagem os filmes foram

retirados das placas e condicionados em ambiente com umidade relativa controlada.

Um filme contendo somente o extrato liofilizado de barbatimão também foi desenvolvido para medidas de comparação, levando-se em conta a concentração de taninos condensados presentes nos complexos de inclusão.

3.3.2 Caracterização dos filmes biodegradáveis

3.3.2.1 Determinação das isotermas de sorção

As isotermas de sorção dos filmes foram determinadas em triplicata, por gravimetria, de acordo com procedimentos descritos por Scapim (2009). As amostras foram condicionadas em dessecador contendo carbonato de cálcio anidro. Após 15 dias, as amostras foram colocadas em recipientes contendo diferentes soluções saturadas de sais, com faixa de umidade relativa de equilíbrio de 11 a 92 %. Os recipientes foram condicionados em câmara de B.O.D., à temperatura de 25 °C, até atingirem a umidade de equilíbrio (Tabela 2). A umidade final das amostras foi determinada pelo método gravimétrico de secagem, em estufa a 105 °C por 24 horas.

Tabela 2 - Atividade de água das soluções saturadas de sais.

Sal	Umidade Relativa de Equilíbrio (25 °C)
Cloreto de Lítio	0,113
Cloreto de Magnésio	0,33
Carbonato de Potássio	0,432
Nitrato de Magnésio	0,529
Nitrato de Sódio	0,640
Cloreto de Sódio	0,753
Cloreto de Potássio	0,843
Cloreto de Bário	0,902

Para a modelagem das isotermas, foi utilizado o modelo de Guggenheim-Anderson de Boer (GAB), conforme equação (9).

$$X_w = \frac{m_0 \cdot C \cdot K \cdot a_w}{[(1 - K \cdot a_w) \cdot (1 - K \cdot a_w + C \cdot K \cdot a_w)]} \quad (\text{Eq. 9})$$

Onde: X_w (g de água/g de matéria seca) é a umidade relativa de equilíbrio; m_0 é o teor de água na monocamada (g de água/g de sólidos); a_w a atividade de água; C e K constantes do

modelo, respectivamente, a constante de Guggenheim que representa o calor de sorção na primeira camada, e o calor de sorção das multicamadas.

3.3.2.2 Determinação da espessura

A espessura dos filmes foi avaliada manualmente com a utilização de um micrômetro (Mitutoyo, resolução 0,01 mm - São Paulo - SP). Foram avaliados 10 pontos aleatórios da área de cada amostra de filme, e o valor resultante para a espessura foi tomado como a média aritmética das 10 medidas.

3.3.2.3 Determinação da permeabilidade ao vapor de água (PVA)

A permeabilidade dos filmes ao vapor de água foi determinada gravimetricamente, de acordo com método da American Society for Testing and Material (1995), e modificações citadas por Scapim (2009). As amostras foram fixadas em cápsulas de determinação de permeabilidade, contendo em seu interior cloreto de cálcio anidro (0% UR). As cápsulas foram condicionadas em dessecadores, contendo solução saturada de nitrato de magnésio (52 % UR), sendo os ensaios conduzidos em triplicata. Foram realizadas pesagens periódicas, até que a taxa de ganho de massa fosse constante. A taxa de permeabilidade ao vapor de água (TPVA) foi determinada de acordo com a equação (10).

$$TPVA = \left(\frac{m}{t}\right) \cdot \left(\frac{1}{A}\right) \quad (\text{Eq. 10})$$

Onde: m/t é o coeficiente angular da reta de ganho de massa (g) versus tempo (h); A (m^2) é a área de permeação do filme.

Assim o valor da permeabilidade ao vapor de água pode ser calculado de acordo com equação (11):

$$PVA = \left[\frac{TPVA \cdot e}{p_s \cdot (UR_{ext} - UR_{int})} \right] \cdot 100 \quad (\text{Eq. 11})$$

Onde: PVA é a permeabilidade ao vapor de água ($\text{g.m/m}^2.\text{Pa.h.}$); TPVA (taxa de permeação ao vapor de água) ($\text{g/m}^2.\text{h}$); e a espessura média do filme (média de 5 medidas) (m); p_s é a pressão de saturação de vapor à temperatura do ensaio (Pa); UR_{ext} a umidade relativa no exterior da cápsula (%); UR_{int} a umidade relativa no interior da cápsula (%).

3.3.2.4 Determinação da solubilidade em água

A solubilidade dos filmes em água foi determinada de acordo com a metodologia proposta por Gontard et al.(1993), sendo que as amostras, com dimensões de 2 cm x 2 cm foram pesadas e mergulhadas em erlenmeyer, contendo 50 mL de água destilada. O sistema foi mantido sob lenta agitação em shaker a 25 °C, por 24 h. Após as 24 h, as amostras foram filtradas em papel filtro e secas em estufa a 105 °C, por 24 h, para se determinar o peso seco final do material que não foi solubilizado. Os ensaios foram realizados em triplicata. A solubilidade foi expressa pela porcentagem de material seco solubilizado e calculada de acordo com a equação (12).

$$\text{SOL} = \left(\frac{m_i - m_f}{m_i} \right) \cdot 100 \quad (\text{Eq. 12})$$

Onde: SOL é a massa solubilizada em função da massa seca inicial (%); m_i massa inicial do material seco (g); e m_f a massa final do material seco não solubilizado (g).

3.3.2.5 Determinação das propriedades mecânicas

As propriedades de tração dos filmes foram determinadas em texturômetro Stable Micro System (modelo TAXT2i – Inglaterra), empregando-se metodologia baseada na norma ASTM D-882-91 (1996). Os corpos-de-prova foram cortados nas dimensões de 80 mm de comprimento e 10 mm de largura e condicionados por 7 dias em dessecador com cloreto de cálcio. Após 7 dias, os corpos-de-prova foram ajustados às garras pneumáticas do equipamento, sendo a distância inicial entre as garras de 50 mm e a velocidade de tração de 500 mm/min. Foram realizadas no mínimo 10 análises para cada amostra. As propriedades de tração determinadas foram: resistência máxima à tração na ruptura (MPa), alongamento na ruptura (%) e módulo elástico (MPa).

3.3.2.6 Análise de cor dos filmes

A cor dos filmes foi avaliada utilizando um colorímetro portátil Konica Minolta® CR400, conforme o item 3.2.3.2.7.

3.3.2.7 Análise da superfície de filmes

A análise da superfície dos filmes obtidos foi realizada por meio de microscopia eletrônica de varredura (MEV), conforme o item 3.2.3.2.9.

3.3.3 Liberação controlada dos compostos bioativos dos filmes

Os ensaios de liberação dos compostos bioativos dos filmes foram realizados de acordo com a metodologia de Noronha et al. (2014), com algumas modificações. Filmes de dimensões de 2 cm x 2 cm foram colocados em tubos de ensaio com rosca, contendo 10 ml de solução de etanol:água (50:50). Os tubos foram acondicionados em câmaras de B.O.D., nas temperaturas de 4 °C (temperatura de refrigeração) e a 25 °C (temperatura ambiente) para estudar a influência da temperatura de liberação. Em intervalos regulares de tempo, o teor de polifenóis totais e taninos condensados na solução sobrenadante foram determinados conforme itens 3.2.2.1 e 3.2.2.2. Cada experimento foi realizado em triplicata.

3.3.4 Análise estatística

Os dados foram analisados para testar diferenças significativas entre os valores obtidos de acordo com o teste de Tukey, com o auxílio do software STATISTICA 8.0 (Stasoft) ®).

CAPÍTULO 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 PLANEJAMENTO FATORIAL PARA A EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS DO BARBATIMÃO

De acordo com o planejamento fatorial proposto no item 3.2.2.4, foram realizados aleatoriamente um total de 8 experimentos com 3 pontos centrais. A Tabela 3 apresenta todas as combinações feitas pelo planejamento fatorial e seus respectivos valores na obtenção do teor de polifenóis totais, taninos condensados e atividade antioxidante pelo método DPPH. Os resultados das variáveis de resposta foram expressos como média \pm desvio padrão.

Tabela 3 - Valores codificados das variáveis independentes e respostas de teor de polifenóis totais (Y_1), teor de taninos condensados (Y_2) e atividade antioxidante pelo método de DPPH (Y_3).

Ensaio	X_1	X_2	X_3	Y_1	Y_2	Y_3
1	-1	-1	-1	9,391 \pm 0,624	22,841 \pm 0,620	0,478 \pm 0,000
2	+1	-1	-1	13,118 \pm 2,292	29,199 \pm 0,918	0,433 \pm 0,003
3	-1	+1	-1	10,770 \pm 1,082	27,937 \pm 0,616	0,444 \pm 0,005
4	+1	+1	-1	12,166 \pm 0,581	28,038 \pm 0,747	0,426 \pm 0,004
5	-1	-1	+1	11,115 \pm 1,059	28,896 \pm 3,030	0,447 \pm 0,001
6	+1	-1	+1	9,260 \pm 0,443	33,765 \pm 2,164	0,411 \pm 0,005
7	-1	+1	+1	10,557 \pm 0,931	23,674 \pm 1,789	0,461 \pm 0,002
8	+1	+1	+1	10,409 \pm 1,300	35,052 \pm 0,903	0,423 \pm 0,002
9	0	0	0	11,805 \pm 0,968	31,974 \pm 0,703	0,432 \pm 0,002
10	0	0	0	12,757 \pm 1,194	32,100 \pm 3,789	0,437 \pm 0,002
11	0	0	0	12,642 \pm 0,280	28,846 \pm 1,254	0,435 \pm 0,000

Y_1 : g de ácido gálico equivalente/ 100 g de casca; Y_2 : g de catequina equivalente/ 100 g de casca; Y_3 : g de trolox equivalente/ 100 g de casca.

Conforme as condições estabelecidas, os valores obtidos para o teor de polifenóis totais (Y_1 , Tabela 3) variaram entre 9,260 a 13,118 g de ácido gálico equivalente/100g de casca para. O teor de taninos condensados (Y_2) variou de 22,841 a 35,052 g de catequina equivalente/100g de casca, e a atividade antioxidante pelo método de radical DPPH (Y_3) variou de 0,411 a 0,478 g de trolox equivalente/100g de casca.

4.1.1 Teor de polifenóis totais (Y_1)

Através do software STATISTICA pode-se obter resultados sobre os efeitos das interações entre as variáveis do planejamento experimental, coeficientes de regressão e assim sendo foi possível verificar se os fatores (variáveis independentes) apresentaram diferenças significativas. Na Tabela 4 é apresentada a ANOVA e os coeficientes de regressão para os teores de polifenóis obtidos no planejamento experimental.

Tabela 4 - ANOVA e coeficientes de regressão para teor de polifenóis totais (g de ácido gálico equivalente/ 100g de casca)

Fator	Grau de liberdade	Soma dos quadrados	Coefficientes de regressão	p-valor
Média	-	-	11,27	< 0,0001
Temperatura (x_1)	1	3,65	0,39	0,0926
pH (x_2)	1	0,39	0,13	0,5729
Granulometria (mesh) (x_3)	1	6,32	-0,51	0,0301
x_1x_2	1	0,15	-0,08	0,7292
x_1x_3	1	19,04	-0,89	0,0005
x_2x_3	1	0,01	0,02	0,9273
Erro	24	28,55		
Total da Soma dos quadrados	32	80,01		

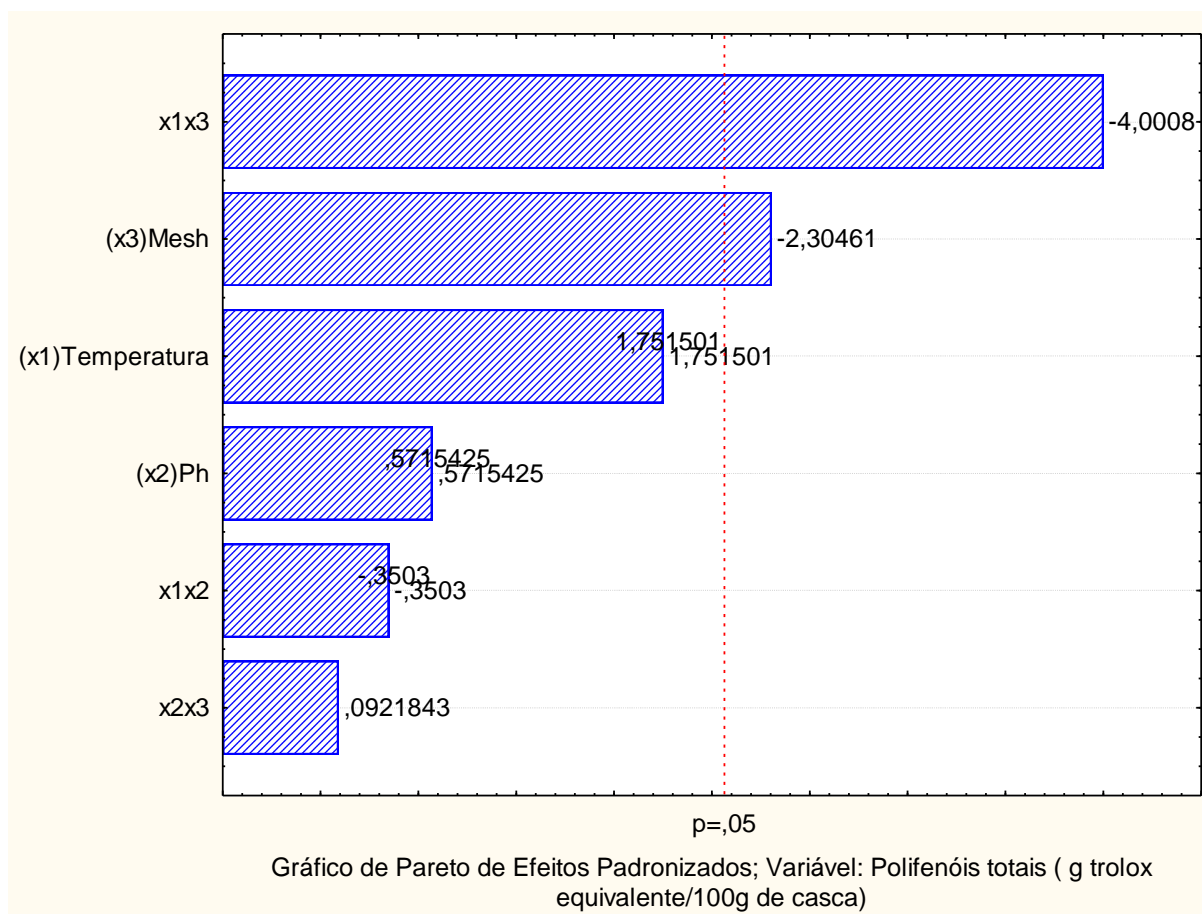
Conforme a Tabela 4, verificou-se que apenas a variável granulometria exerce influência sobre o teor de polifenóis totais, a um nível de significância de 5 % ($p < 0,05$). Além disso, pode-se observar que a granulometria teve maior efeito no teor comparado com as demais variáveis independentes. De acordo com o coeficiente de regressão, este efeito foi negativo, ou seja, quanto menor o mesh (maior granulometria), maior o teor de polifenóis obtido.

Para a temperatura de extração e pH da solução, pode-se observar na Tabela 4 que as variáveis não exerceram influência significativa, em nível de 5 % ($p < 0,05$). Quanto ao coeficiente de regressão, verificou-se que apresentaram efeito positivo, ou seja, quanto maior temperatura e pH, maior o teor de polifenóis totais.

Quanto às interações, observou-se que apenas a interação temperatura e mesh (x_1x_3) foi estatisticamente significativa, sendo que a interação temperatura e pH (x_1x_2) e pH e mesh (x_2x_3) não exerceu diferença significativa.

Com o Gráfico de Pareto (Figura 6), é possível uma melhor compreensão visual, sendo que a linha tracejada indica a região onde as variáveis devem alcançar para demonstrar significância estatística. Pode-se visualizar que a variável mesh (x_3) e a interação temperatura e mesh (x_1x_3) foram significativas para o teor de polifenóis totais. Além disso, através do gráfico de Pareto, pode-se classificar a importância das variáveis independentes no teor de polifenóis totais na seguinte ordem: mesh > temperatura de extração > pH da solução .

Figura 6 - Gráfico de Pareto para o teor de polifenóis totais.



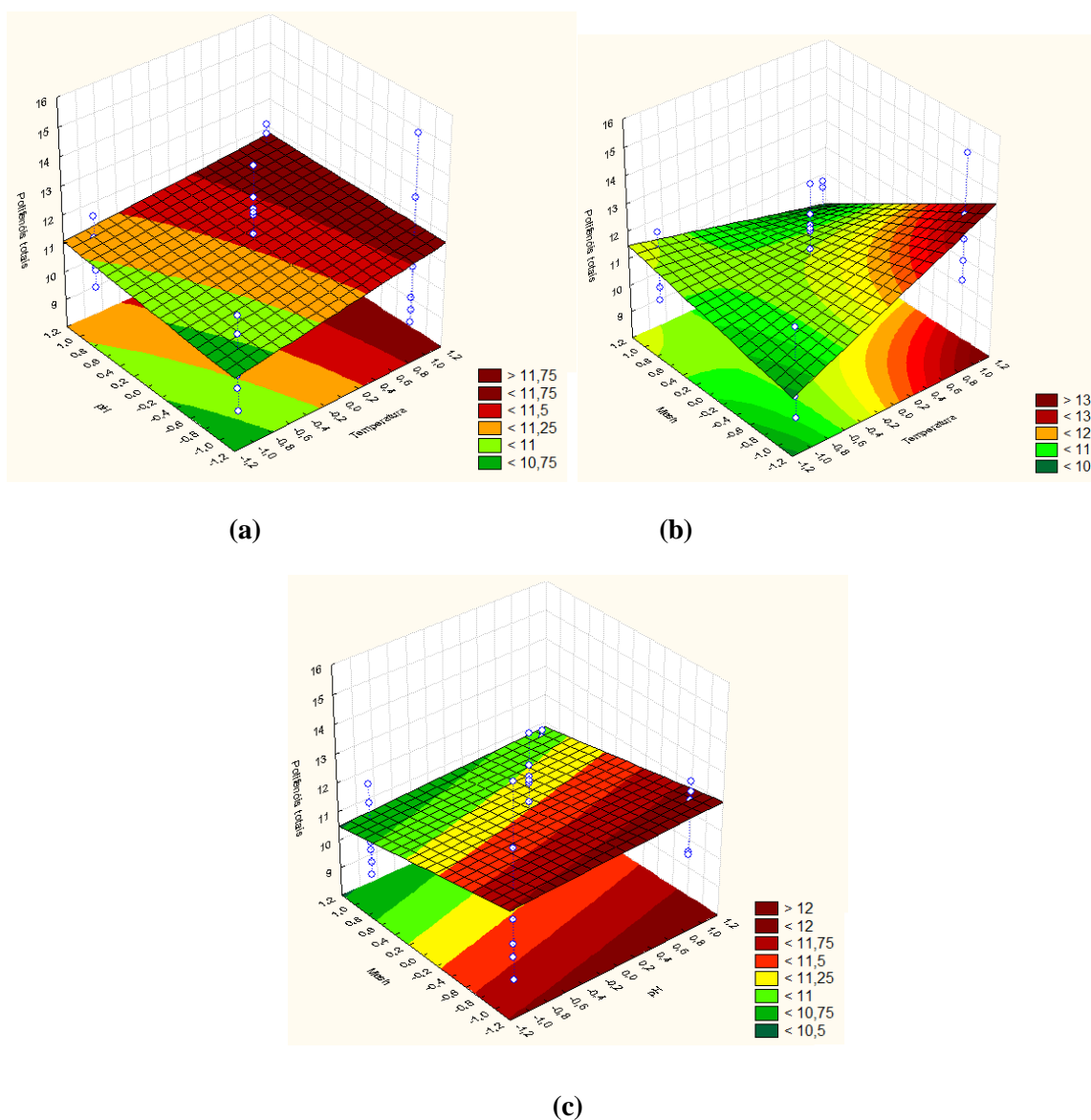
Fonte: Autora.

É possível descrever o modelo obtido a partir do tratamento estatístico dos dados por meio de uma equação matemática gerada pelos efeitos significativos e os valores codificados das variáveis. A equação (13) descreve o teor de polifenóis totais previsto pelo modelo em função das variáveis codificadas, que contém apenas os termos estatisticamente significativos.

$$Y_1 = 11,27 + 0,39x_1 - 0,51x_3 - 0,89x_1x_3 + \varepsilon \quad (\text{Eq. 13})$$

As superfícies de respostas do modelo ajustado para o teor de polifenóis totais são apresentadas na Figura 7.

Figura 7 - Superfícies de respostas para teor de polifenóis totais em função da temperatura de extração e pH da solução (a); temperatura de extração e mesh (b); pH da solução e mesh (c).



Fonte: Autora.

Pode-se observar na figura 7a que o teor de polifenóis totais mais elevado foi obtido em altas temperaturas, independente do pH, utilizando uma peneira de 42 mesh ($D=0,35$

mm). Na figura 7b, também obteve-se teor elevado em altas temperaturas com combinação de menor mesh (maior granulometria), num pH 9 de extração.

Com relação à combinação pH da solução e mesh pode-se observar na figura 7c, que independente do valor de pH da solução, o maior teor de polifenóis totais é obtido em menor mesh (maior granulometria), ou seja, não havendo interação entre as variáveis, numa temperatura de extração de 40 °C. Este resultado também pode ser visualizado na Tabela 3, onde a interação entre estes fatores não foi estatisticamente significativa ao nível de significância de 5 % ($p < 0,05$).

O maior teor obtido de compostos fenólicos foi encontrado no nível máximo de temperatura de extração (50 °C) e nos níveis mínimos de pH da solução (7) e mesh (20) (maior granulometria).

Neste estudo, o mesh foi a única variável que apresentou influencia significativa quanto à obtenção de compostos fenólicos, obtendo maior valor com maior granulometria. Conforme a literatura, quanto menor a granulometria, maior a área superficial disponível para a transferência de massa e, então, maior o rendimento de extração (SPGINO et al., 2007). Uma justificativa dos resultados do presente estudo seria uma possível aglomeração de partículas menores, interferindo na extração de compostos fenólicos.

Além disso, o maior teor obtido foi encontrado no nível máximo de temperatura. Deng et al. (2011), afirmam que as condições do processo de extração dos compostos têm forte influência nos resultados obtidos, de modo que a temperatura é um fator de grande importância. Um aumento de temperatura deve-se principalmente a um aumento da taxa de difusão e solubilidade das substâncias extraídas (BOUTERFAS et al., 2014). A variável temperatura de extração não apresentou influencia significativa, possivelmente devido a faixa de temperatura ser pequena (30 – 50 °C), porém observou-se diferença na interação mesh e temperatura de extração (x_1x_3), uma vez que a variação de temperatura provocou alteração na difusão dos compostos, apresentando influencia significativa.

Bilibio et al. (2015), utilizando amostras de barbatimão obtidas por peneira de 20 mesh ($D=0,85$ mm), estudou individualmente variáveis (pH, temperatura de extração, solvente e concentração) que influenciariam na obtenção de polifenóis totais no extrato de barbatimão. Quanto a temperatura utilizada na extração, o presente estudo obteve resultados semelhantes ao de Bilibio, no qual maiores valores de polifenóis totais foram encontrados em elevadas temperaturas (50 e 75°C). Quando avaliado o pH da solução, diferentemente ao presente estudo, Bilibio obteve menores valores em seus estudos, ao utilizar pH 7, comparado ao demais (pH: 3,5 e 10,5).

4.1.2 Teor de taninos condensados (Y_2)

Utilizando o software STATISTICA pode-se obter, para taninos condensados, resultados sobre os efeitos das interações entre as variáveis do planejamento experimental, coeficientes de regressão e assim, sendo possível verificar se os fatores (variáveis independentes) apresentaram diferença significativa. A Tabela 5 apresenta a ANOVA e os coeficientes de regressão para os teores de taninos condensados.

Tabela 5 - ANOVA e coeficientes de regressão para teor de taninos condensados

Fator	Grau de liberdade	Soma dos quadrados	Coefficientes de regressão	p-valor
Média	-	-	29,30	< 0,0001
Temperatura (x_1)	1	193,33	2,84	< 0,0001
pH (x_2)	1	0,00	0,00	1,0000
Mesh (x_3)	1	67,05	1,67	0,0004
x_1x_2	1	0,02	0,03	0,9382
x_1x_3	1	35,93	1,22	0,0056
x_2x_3	1	23,23	-0,98	0,0222
Erro	24	93,33		
Total da Soma dos quadrados	32	508,57		

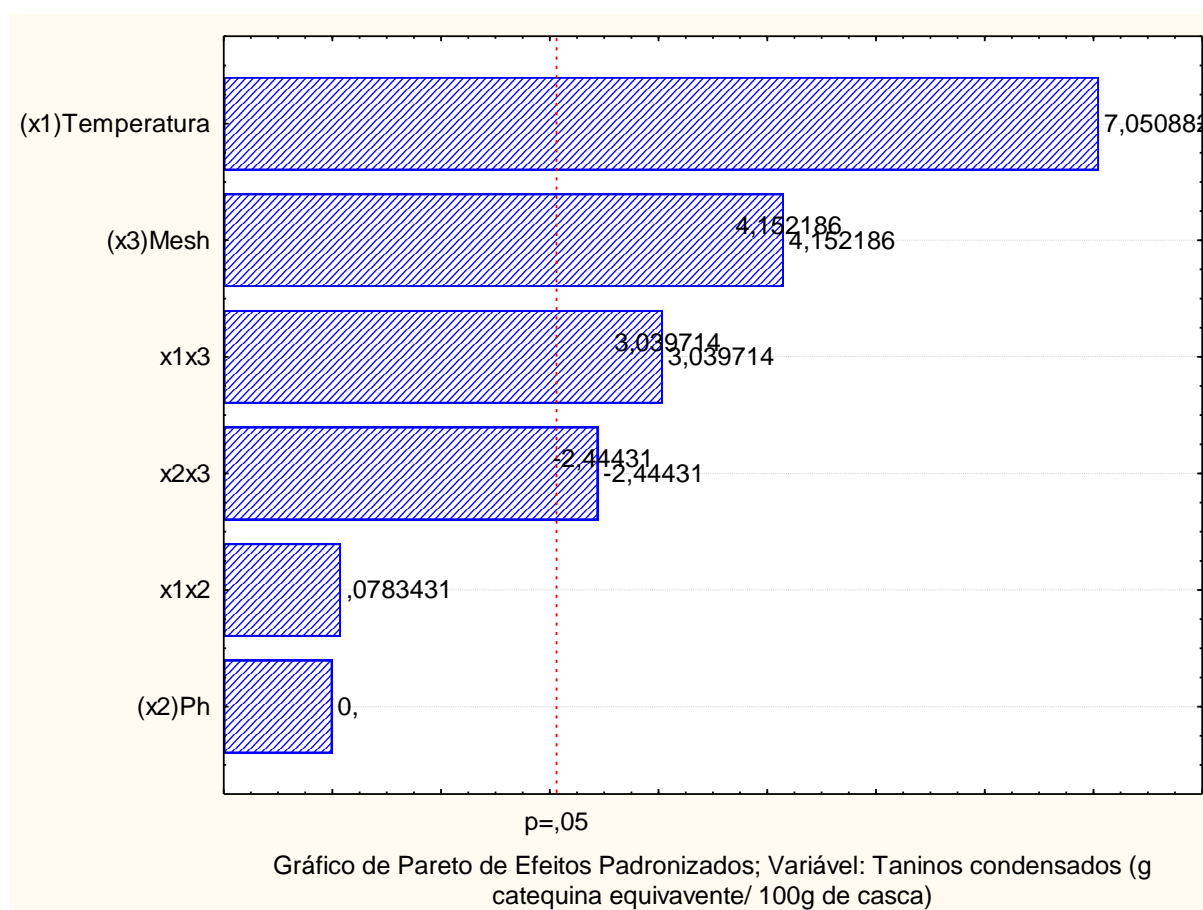
Através da Tabela 5, observando os p-valor, verificou-se que as variáveis, temperatura de extração e mesh, exerceram influência significativa sobre o teor de taninos condensados ao nível de significância de 5% ($p < 0,05$). Além disso, através da soma dos quadrados, pode-se observar que a temperatura de extração teve maior efeito em relação às demais variáveis independentes. Ao analisar os coeficientes de regressão, notou-se que as duas variáveis significativas exerceram efeito positivo, ou seja, quanto maior a temperatura de extração e mesh (menor granulometria), maior teor de taninos condensados obtido.

O pH da solução, foi a única variável independente que não exerceu influência significativa (Tabela 5) no teor de taninos condensados. De acordo com o coeficiente de regressão, apresentou efeito positivo, ou seja, quanto maior o pH, maior o teor obtido.

Quanto as interações (Tabela 5), observou-se que temperatura de extração e mesh (x_1x_3), e pH da solução e mesh (x_2x_3) exerceram influência significativa no teor de taninos do extrato. Sendo assim, apenas a interação temperatura de extração e pH da solução (x_1x_2) não apresentando diferença significativa ao nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

Com o Gráfico de Pareto (Figura 8), é possível uma melhor compreensão visual, sendo que a linha tracejada indica a região onde as variáveis devem alcançar para demonstrar significância estatística. Pode-se visualizar que as variáveis temperatura e mesh exercem influência significativa para a obtenção de taninos condensados, sendo apenas a variável pH que não exerce. Além disso, quanto as interações, apenas temperatura de extração e pH da solução (x_1x_2) não apresentam diferença significativa. Através do gráfico de Pareto, pode-se classificar a importância das variáveis independentes na seguinte ordem: temperatura de extração > mesh > pH da solução .

Figura 8 - Gráfico de Pareto para teor de taninos condensados.



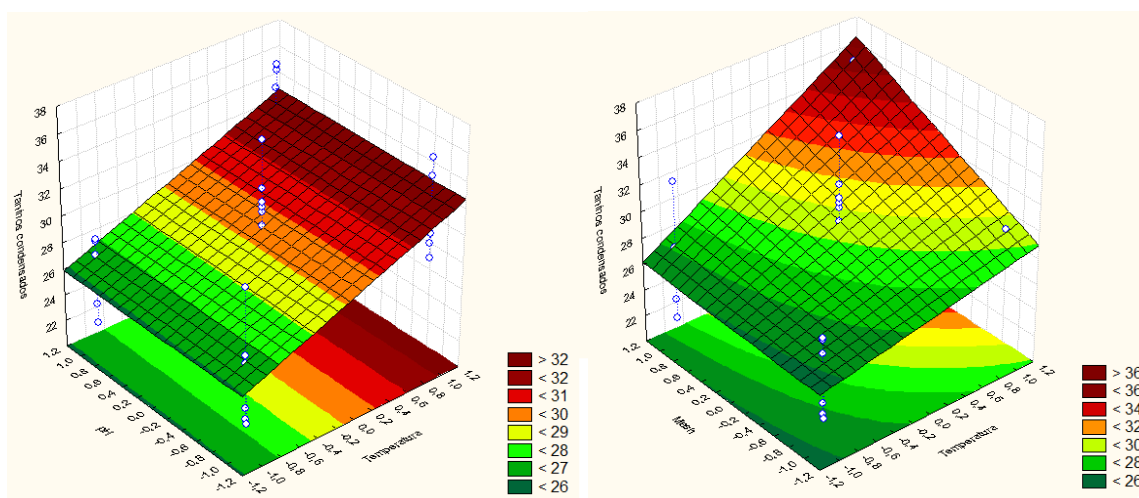
Fonte: Autora.

Através dos coeficientes de regressão dos termos estatisticamente significativos, pode-se descrever, conforme equação (14), o teor de taninos condensados previsto em função das variáveis codificadas.

$$Y_2 = 29,30 + 2,84x_1 + 1,67x_3 + 1,22x_1x_3 + 0,98x_2x_3 \quad (\text{Eq. 14})$$

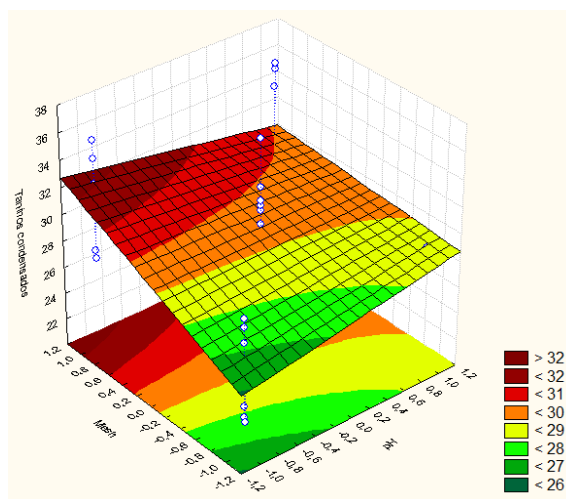
As superfícies de resposta do modelo ajustado para teor de taninos condensados são apresentadas na Figura 9.

Figura 9 - Superfícies de respostas para teor de taninos condensados em função da temperatura de extração e pH da solução (a); temperatura de extração e mesh (b); pH da solução e mesh (c).



(a)

(b)



(c)

Fonte: Autora.

Na figura 9a, pode-se observar que independente do valor de pH da solução e maior temperatura de extração é obtido o maior teor de taninos condensados, utilizando partículas de $D=0,35$ mm (42 mesh). Na figura 9b, pode-se verificar que com maior mesh (menor granulometria) e em altas temperaturas, maior foi o teor de taninos condensados obtido. Com relação à combinação pH da solução e mesh, pode-se observar na figura 9c que o maior teor de taninos condensados foi encontrado em maior mesh (menor granulometria) e menor pH da solução.

Dentro do intervalo de estudo pré-estabelecido o maior teor de taninos condensados foi encontrado no nível máximo de temperatura de extração ($50\text{ }^{\circ}\text{C}$) e níveis médios de pH da solução (9) e mesh (42) ($D=0,35$ mm).

Como já mencionado anteriormente (item 4.1.1), o aumento da temperatura favorece a liberação dos compostos extraídos, assim explicando o maior teor de taninos em maior nível de temperatura. Quanto ao tamanho de partícula, o maior teor de taninos foi encontrado com menor granulometria em relação aos polifenóis. O menor tamanho de partícula aumenta a área da superfície de contato com o solvente, e assim favorece maior extração. Este comportamento não foi observado para polifenóis, possivelmente pela metodologia de Folin ser mais generalizada (KUJALA et al., 2000).

O presente estudo obteve resultados semelhantes aos encontrados por Couto et al. (1999) e Sousa et al. (2014), onde obtiveram maiores teores de taninos condensados ao utilizar temperaturas elevadas no processo de extração ($50 - 90\text{ }^{\circ}\text{C}$), demonstrando assim que a extração de taninos é fortemente influenciada pela temperatura.

4.1.3 Atividade antioxidante pelo método do radical DPPH (Y_3)

Utilizando o software STATISTICA pode-se obter, para a atividade antioxidante, resultados sobre os efeitos das interações entre as variáveis do planejamento experimental, coeficientes de regressão e assim, sendo possível verificar se os fatores (variáveis independentes) apresentaram diferenças significativas. A Tabela 6 apresenta a ANOVA e os coeficientes de regressão para a atividade antioxidante.

Tabela 6 - ANOVA e coeficientes de regressão para atividade antioxidante pelo método DPPH

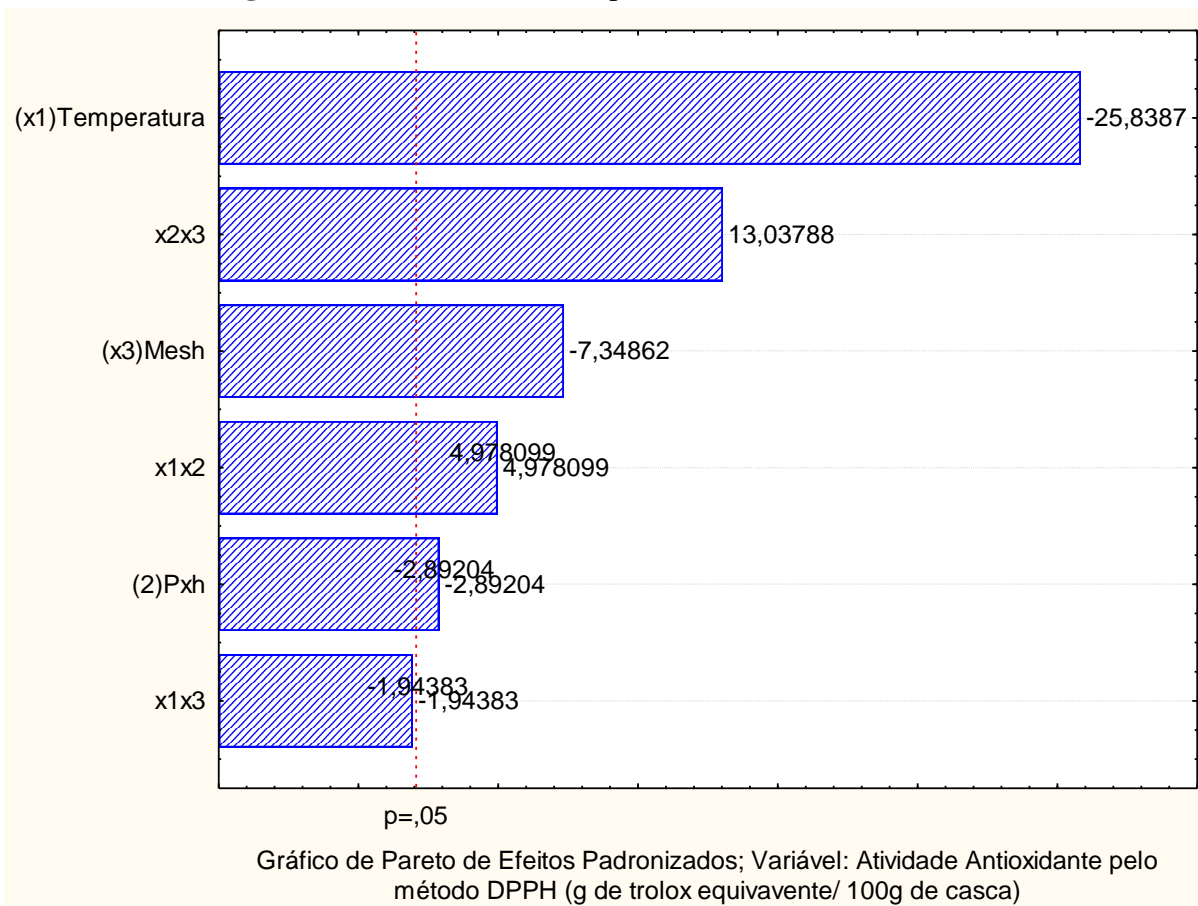
Fator	Grau de liberdade	Soma dos quadrados	Coefficientes de regressão	p-valor
Média	-	-	0,439	< 0,0001
Temperatura (x_1)	1	0,0071	-0,017	< 0,0001
pH (x_2)	1	0,0001	-0,002	0,0080
Mesh (x_3)	1	0,0006	-0,005	< 0,0001
x_1x_2	1	0,0003	0,003	< 0,0001
x_1x_3	1	< 0,0001	-0,001	0,0637
x_2x_3	1	0,0018	0,009	< 0,0001
Erro	24	0,0003		
Total da Soma dos quadrados	32	0,0107		

A partir dos valores da Tabela 6, verificou-se que as três variáveis exercem influência sobre a atividade antioxidante (DPPH) do barbatimão, ao nível de significância de 5 % ($p < 0,05$). De acordo com os coeficientes de regressão, as três variáveis exerceram efeito negativo, ou seja, quanto menor a temperatura de extração, pH da solução e mesh, maior será a atividade antioxidante.

Quanto as interações (Tabela 6), observou-se que as interações temperatura de extração e pH da solução (x_1x_2) e pH da solução e mesh (x_2x_3) exerceram diferença significativa. Sendo assim, apenas a interação temperatura de extração e mesh (x_1x_3) não apresentou diferença significativa, ao nível de significância de 5 % ($p < 0,05$).

Observando o Gráfico de Pareto (Figura 10), é possível uma melhor compreensão visual, onde as variáveis que alcançam a linha tracejada demonstram significância estatística. Pode-se visualizar que as três variáveis e as interações temperatura de extração e pH da solução (x_1x_2) e pH da solução e mesh (x_2x_3) exerceram diferença significativa; e apenas a interação temperatura de extração e mesh (x_1x_3) não exerceu influência significativa para a atividade antioxidante. Além disso, através do gráfico de pareto, pode-se classificar a importância das variáveis independentes na seguinte ordem: temperatura de extração > mesh > pH da solução.

Figura 10 - Gráfico de Pareto para atividade antioxidante.



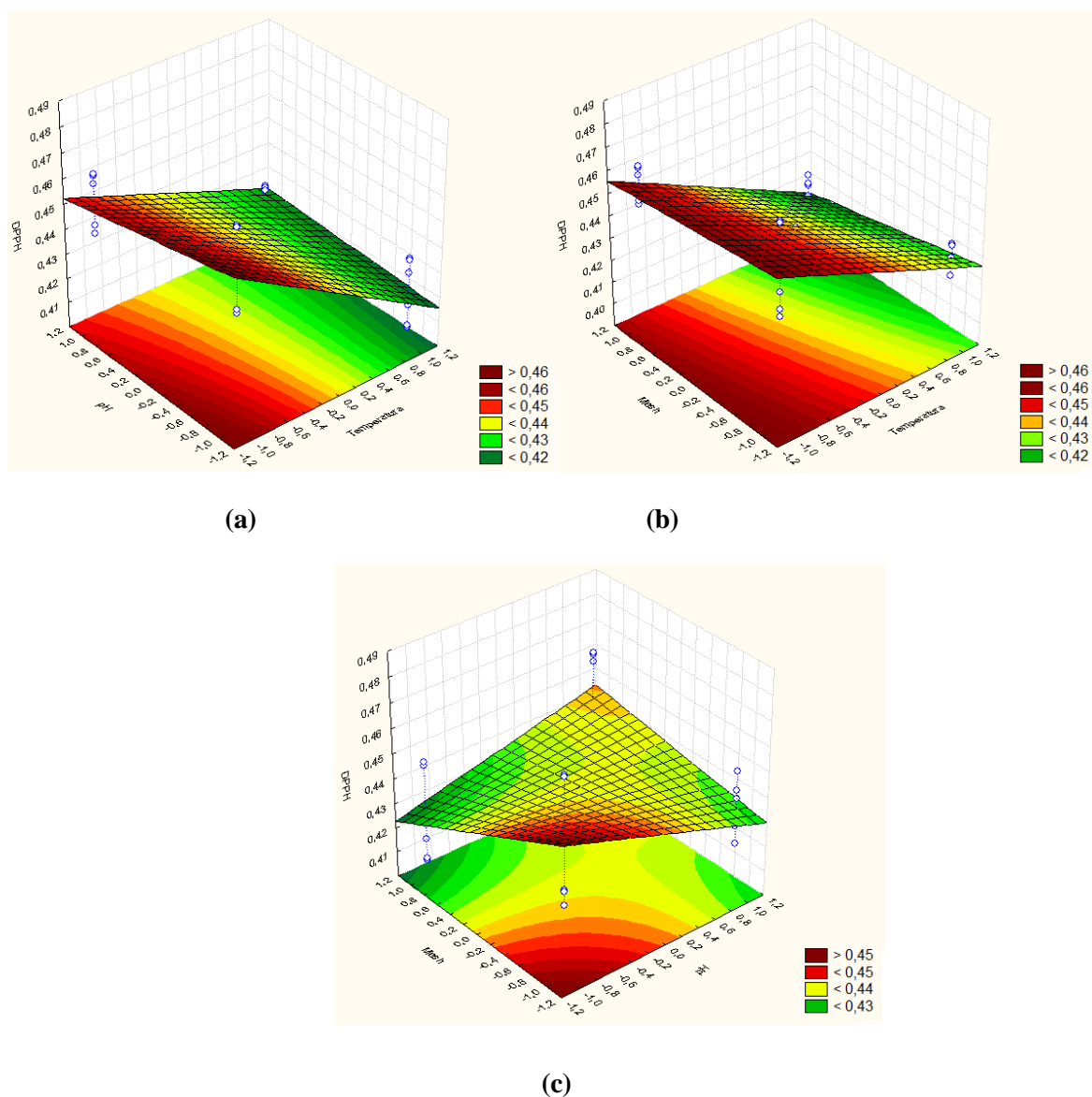
Fonte: **Autora**.

Através dos coeficientes de regressão dos termos estatisticamente significativos, podemos descrever, conforme equação (15), a atividade antioxidante pelo método do radical DPPH previsto em função das variáveis codificadas.

$$Y_3 = 0,439 - 0,017x_1 - 0,002x_2 - 0,005x_3 + 0,003x_1x_2 + 0,009x_2x_3 + \varepsilon \quad (\text{Eq. 15})$$

As superfícies de respostas do modelo ajustado para atividade antioxidante são apresentadas na Figura 11.

Figura 11 - Superfícies de respostas para atividade antioxidante (DPPH) em função da temperatura de extração e pH da solução (a); temperatura de extração e mesh (b); pH da solução e mesh (c).



Fonte: Autora.

Na figura 11a, pode-se observar que independente do valor do pH da solução, a maior atividade antioxidante é obtida em menor temperatura de extração, utilizando partículas de $D=0,35$ mm (42 mesh). Na figura 11b, pode-se observar comportamento semelhante na combinação de mesh e temperatura de extração, ou seja, independente do valor de mesh e em menor temperatura, maior foi obtida a atividade antioxidante. Com relação à combinação pH da solução e mesh pode-se observar na figura 11c que a maior

atividade antioxidante foi obtida em menor mesh (maior granulometria) e menor pH da solução.

Dentro do intervalo de estudo pré-estabelecido a maior atividade antioxidante foi encontrada nos níveis mínimos de temperatura de extração (30 °C), pH da solução (7) e mesh (20) (D=0,84 mm).

Conforme a literatura, alguns compostos fenólicos possuem atividade antioxidante, sendo que estudos demonstram que são facilmente oxidados em meio alcalino, como também em combinação de temperatura elevada, um exemplo é o ácido ascórbico (LEE; KADER, 2000). Este comportamento pode ser visto no presente estudo, onde o pH da solução influenciou fortemente na atividade antioxidante, como também a combinação de pH da solução e temperatura (x_1x_3).

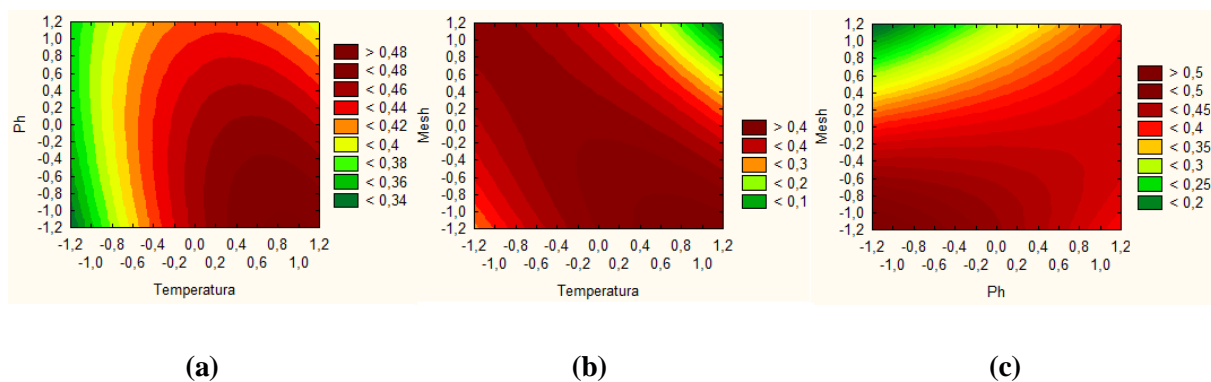
Resultados semelhantes para obtenção de um extrato com melhor atividade antioxidante foram determinados por Bilibio et al. (2015). Ao considerar que altas temperaturas de extração podem promover perdas e diminuir a atividade antioxidante de extratos ricos em polifenóis, Bilibio e seus colaboradores tomaram como base os resultados obtidos em seus estudos e determinaram que o extrato mais adequado seria obtido utilizando-se uma solução com pH 7 e temperatura de extração de 25 °C, com partículas de D=0,85mm.

4.1.4 Otimização do processo de extração dos compostos bioativos do barbatimão

Na otimização do processo de extração dos compostos bioativos do barbatimão, as variáveis de resposta são analisadas simultaneamente com o intuito de encontrar uma condição única e simultânea que possa obter as melhores respostas para o estudo realizado. Neste estudo, a extração de compostos bioativos mais adequada seria considerada com um ponto ótimo que resultasse em um extrato com elevado teor de polifenóis totais, maior atividade antioxidante pelo método do radical DPPH e maior teor de taninos condensados.

Através do software STATISTICA pode-se obter as curvas de contorno para a otimização do processo de extração (Figura 12).

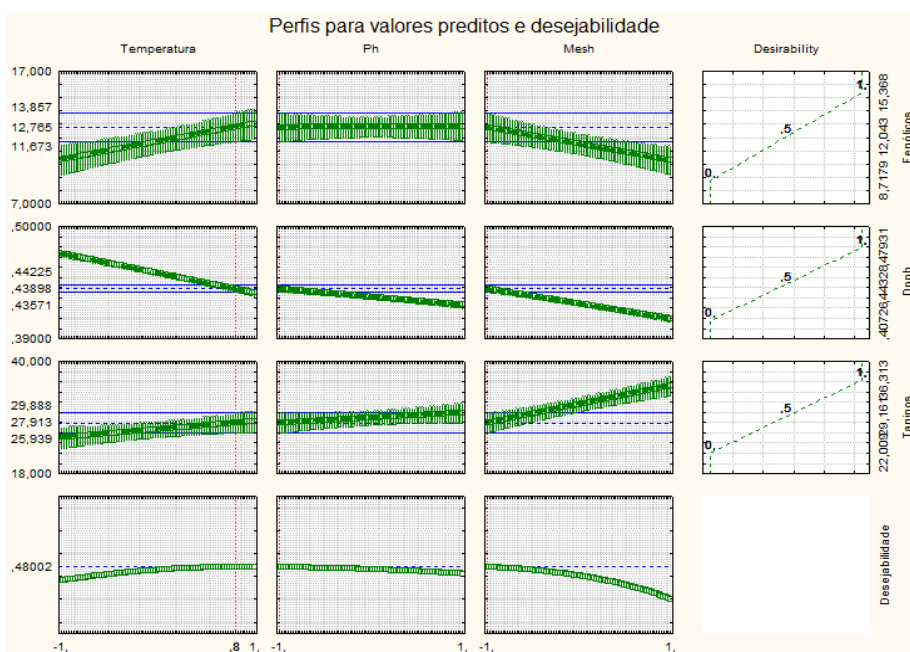
Figura 12 - Curvas de contorno para a otimização em função do pH da solução e temperatura de extração(°C) (a); mesh e temperatura de extração(°C) (b) e pH da solução e mesh (c).



Fonte: Autora.

Conforme a figura 12, pode-se observar que a otimização do processo de extração é obtida com maior temperatura e menor pH e mesh. Esse resultado pode ser melhor visualizado na figura 13, sendo o ponto negativo (-1) das variáveis independentes pH da solução e mesh, e o ponto deslocado (0,8) positivo do ponto central da variável temperatura de extração foram apontados pela função de desejabilidade, como os que fornecem as melhores respostas simultaneamente.

Figura 13 - Gráfico de desejabilidade.



Fonte: Autora.

As condições do processo de otimização, como as condições experimentais para a validação dos modelos estão descritas na Tabela 7.

Tabela 7 - Condições operacionais requeridas para validação dos modelos.

Fator	Valor codificado	Condição experimental
Temperatura (°C)	+0,8	48
pH	-1	7
Mesh	-1	20

Pode-se observar, na tabela 7, que as condições propostas para a melhor obtenção de extrato apresentou-se semelhante ao ensaio 2 do planejamento experimental (Tabela 3) (temperatura: 50 °C; pH: 7; mesh:20). Como a redução é de apenas 2 °C na temperatura de extração, os valores obtidos do planejamento foram utilizados para a comparação dos valores preditos pelo modelo.

Na tabela 7 são apresentados os valores preditos pelo modelo de otimização e os valores obtidos experimentalmente (ensaio 2).

Tabela 8 - Resultados teóricos preditos e experimentais obtidos nas condições de ponto ótimo de processo.

Variável de resposta	Valor predito	Valor experimental	Desvio (%)
Polifenóis totais (Y ₁)	12,765	13,118±2,292	2,69
Atividade antioxidante (DPPH) (Y ₂)	0,439	0,433±0,003	-1,38
Taninos condensados (Y ₃)	27,913	29,199±0,918	4,40

Y1: g de ácido gálico equivalente/ 100 g de casca; Y2: g de trolox equivalente/ 100 g de casca; Y3: g de catequina equivalente/ 100 g de casca

Pode-se verificar, na tabela 8, que os valores experimentais ficaram próximos aos valores preditos com desvio < 5%. Além disso, pode-se destacar que a variável taninos condensados apresentou maior valor experimental, quando comparado com o valor predito. Este valor está relacionado ao aumento de 2 °C da temperatura de extração, demonstrando que esta variável é fortemente influenciada pela temperatura.

Os valores de polifenóis em percentual correspondem a 22,56%. Resultados semelhantes foram obtidos na literatura. Bilibio et al. (2015) obtiveram um teor aproximado de 22% de polifenóis totais para uma extração com alta temperatura (80 °C), pH de solução 7 e solvente etanol 50 %. Sousa et al. (2014) encontraram teor de 22 % de

polifenóis utilizando concentração de sólidos de 4 mg/L em solução hidroalcoólica 50 %, com tempo de extração com 30 min.

Quanto aos valores de taninos condensados correspondem a 50,22 %. O presente estudo apresentou valores superiores ao reportados pela literatura. Couto et al. (1999) obtiveram 6,5 % de taninos condensados em extração aquosa utilizado altas temperaturas (60 e 90 °C). O maior percentual obtido pelo presente estudo pode ser atribuído à diferença do tempo se extração (4 horas) como também pelo solvente utilizado, visto que os taninos condensados pertencem aos compostos fenólicos, estes podendo ser degradados por determinados fatores. Além disso, outro fator que pode ser justificar é o solvente utilizado, uma vez que Li et al., (2006) afirmam que a mistura de solventes é mais eficaz na recuperação de compostos antioxidantes do que o uso de solventes individuais.

Poucos são os estudos para a extração de compostos de barbatimão, e independente das diferenças verificou-se que a obtenção de extratos em temperatura de 50 °C, pH 7 e utilizando amostras obtidas por peneira de 20 mesh (D=0,85 mm), promoveu em excelente extração de compostos com altos teores de compostos fenólicos, taninos condensados e com capacidade antioxidante.

4.2 MICROENCAPSULAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS DE BARBATIMÃO

4.2.1 Eficiência de encapsulação

Na tabela 9 são mostrados os teores de polifenóis totais e taninos condensados no extrato concentrado e nas microcápsulas após serem submetidos aos procedimentos do método de Folin-Ciocalteu e Vanilina-HCl (3.1.2.1 e 3.1.2.2).

Tabela 9 - Resultados obtidos das determinações de compostos fenólicos e taninos condensados do extrato concentrado e das duas formulações de microcápsulas.

Amostras	Determinações	
	Polifenóis totais	Taninos condensados
CD (mg/ g pó)	81,04 ^b ±3,42	223,45 ^b ±1,20
CD/X (mg/ g pó)	86,69 ^b ±2,59	135,62 ^c ±2,87
Extrato (mg/ g casca)	168,59 ^a ±3,05	744,26 ^a ±3,16

*Letras diferentes na mesma coluna diferem entre si a 5% de significância.

O extrato concentrado de barbatimão é uma mistura de substâncias com diferentes propriedades químicas e, portanto, com diferentes capacidades de interação e ligação

dentro da cavidade da β -ciclodextrina. Desta forma, optou-se por calcular as eficiências de encapsulação separadamente. Na tabela 10, encontram-se os valores médios de eficiência de encapsulação para cada formulação.

Tabela 10 - Eficiência de encapsulação das microcápsulas.

Amostras	Eficiência de encapsulação (%)	
	Polifenóis totais	Taninos condensados
CD	71,32 ^a ±3,01	44,55 ^a ±0,24
CD/X	76,68 ^a ±2,29	27,18 ^b ±0,57

*Letras diferentes na mesma coluna diferem entre si a 5% de significância.

Por meio da tabela 10, pode-se observar que os revestimentos dos compostos encapsulados não influenciaram significativamente na eficiência de polifenóis totais. Porém, em relação a taninos condensados, as formulações apresentaram diferenças significativas, obtendo o menor valor para a formulação acrescida de xantana.

A ciclodextrina possui capacidade de formar complexo de inclusão com alguns taninos (KALOGEROPOULOS et al, 2010). Na presença de goma xantana, essa capacidade de formação do complexo de inclusão foi reduzida. Segundo Rao et al (2014) a β -CD interage com a goma xantana, aumentando a viscosidade da solução, provavelmente devido a formação de pontes entre as cadeias de polímero adjacente, resultando em uma rede de associação forte. Esta interação possivelmente provocou um rearranjo na cavidade da CD, resultando na redução da eficiência de taninos condensados. A eficiência de polifenóis não apresentou diferença, dado que a metodologia de Folin quantifica polifenóis de um modo geral (KUJALA, et al, 2000).

A microencapsulação de misturas de compostos fenólicos em extratos de plantas tem sido amplamente estudada. Em estudos de Kalogeropoulos et al, (2010), ao microencapsular extrato de *Hypericum perforatum* (hipericão) em β -ciclodextrina, obteve-se 27,5 % de eficiência de encapsulação para catequina. Desta forma, ao comparar os resultados com a literatura, pode-se considerar que o presente estudo obteve valores consideráveis.

4.2.2 Propriedades físicas

A tabela 11 apresenta os valores médios das propriedades físicas das microcápsulas obtidas.

Tabela 11 - Propriedades físicas das microcápsulas.

Complexos de inclusão	Solubilidade (%)	Atividade de água (Aw)	Densidade aparente(g/ml)	Higroscopicidade (g/100g)	Umidade (%)
CD	99,20 ^a ±0,07	0,32 ^a ±0,07	0,18 ^a ±0,01	6,55 ^a ±0,23	3,81 ^a ±0,29
CD/X	98,95 ^a ±0,28	0,33 ^a ±0,01	0,16 ^b ±0,01	7,07 ^a ±0,35	3,88 ^a ±0,40

*Letras diferentes na mesma coluna diferem entre si a 5% de significância.

Pode-se verificar na Tabela 11 que o acréscimo de goma xantana não interferiu no valor obtido de solubilidade das microcápsulas. Além disso, verificou-se que as formulações apresentaram alto valor de solubilidade, sendo maiores que 90%. Conforme Stoll et al. (2016), a solubilidade das microcápsulas torna-se um parâmetro importante, uma vez que a liberação dos compostos encapsulados é altamente dependente da dissolução do agente encapsulante utilizado.

Quanto ao teor de umidade, assim como a solubilidade, as formulações não apresentaram diferença significativa quanto ao acréscimo de goma xantana. Segundo Dag et al. (2017), o teor de umidade é uma propriedade importante, no qual demonstra a eficiência da secagem utilizada para obtenção dos pós.

Os valores médios da atividade de água não diferiram significativamente, apresentando valores próximos a 0,30 (Tabela 11). Segundo Turak et al. (2017), a atividade da água de um sistema destaca a fração de umidade total que está disponível para reações bioquímicas e crescimento microbiano. Em ambiente de atividade de água baixa (entre 0,0-0,25) é esperado baixa atividade enzimática, limitada oxidação lipídica e início de possíveis reações bioquímicas, enquanto que o crescimento de microrganismos como bolores leveduras e bactérias está previsto para um a_w acima de 0,6 (CARVALHO et al., 2016; TURAK et al., 2017). Desta forma, os valores apresentados neste estudo são muito positivos para a estabilidade das microcápsulas, devido à disponibilidade limitada de água para o crescimento microbiano e reações bioquímicas.

Em relação à higroscopicidade, pode-se observar que as formulações apresentaram valores baixos (Tabela 11), não diferindo significativamente. O ganho de umidade é reduzido principalmente pela presença de β -ciclodextrina que atua como uma barreira contra a umidade e Ho et al. (2017), constataram tal comportamento ao comparar o valor do ganho de umidade de compostos antioxidantes antes e depois de ser encapsulados com β -ciclodextrina.

A densidade aparente foi a única propriedade física que apresentou diferença significativa entre as formulações, obtendo o menor valor a formulação com acréscimo de xantana (Tabela 11). A formulação acrescida de goma xantana apresentou-se com aparência esponjosa quando submetida à liofilização. Devido a esta característica, a formulação ocupou maior volume para uma mesma massa, e consequentemente uma menor densidade.

4.2.3 Análise de cor

A análise de cor das microcápsulas e do extrato concentrado foi realizada em um colorímetro portátil, e os valores obtidos para os parâmetros de cor estão dispostos na tabela 12.

Tabela 12 - Propriedades de cor das microcápsulas e do extrato concentrado.

Microcápsulas	L*	a*	b*	H°	ΔE*
CD	70,01 ^b ±0,13	7,90 ^b ±0,22	24,91 ^b ±0,14	72,40	15,32
CD/X	75,50 ^a ±0,88	5,37 ^c ±0,29	22,18 ^c ±0,22	76,39	21,75
Extrato	56,09 ^c ±0,22	13,94 ^a ±0,17	26,95 ^a ±0,24	62,64	-

*Letras diferentes na mesma coluna diferem entre si a 5% de significância.

Comparando a cor do extrato com a das microcápsulas, observou-se na Tabela 12 que os valores de L* aumentaram (luminosidade) e os valores de a* (vermelho) e b* (amarelo) diminuíram para as duas formulações. Sendo assim, observou-se que o extrato liofilizado apresentou-se mais opaco (menor valor de L*), e cor próxima do marrom (altos valores de a* e b*), quando comparado com as microcápsulas. O aumento dos valores de L* das microcápsulas resultou em cores mais claras, devido à presença dos agentes encapsulantes, e consequentemente mais próximas do amarelo (alto valor de b*).

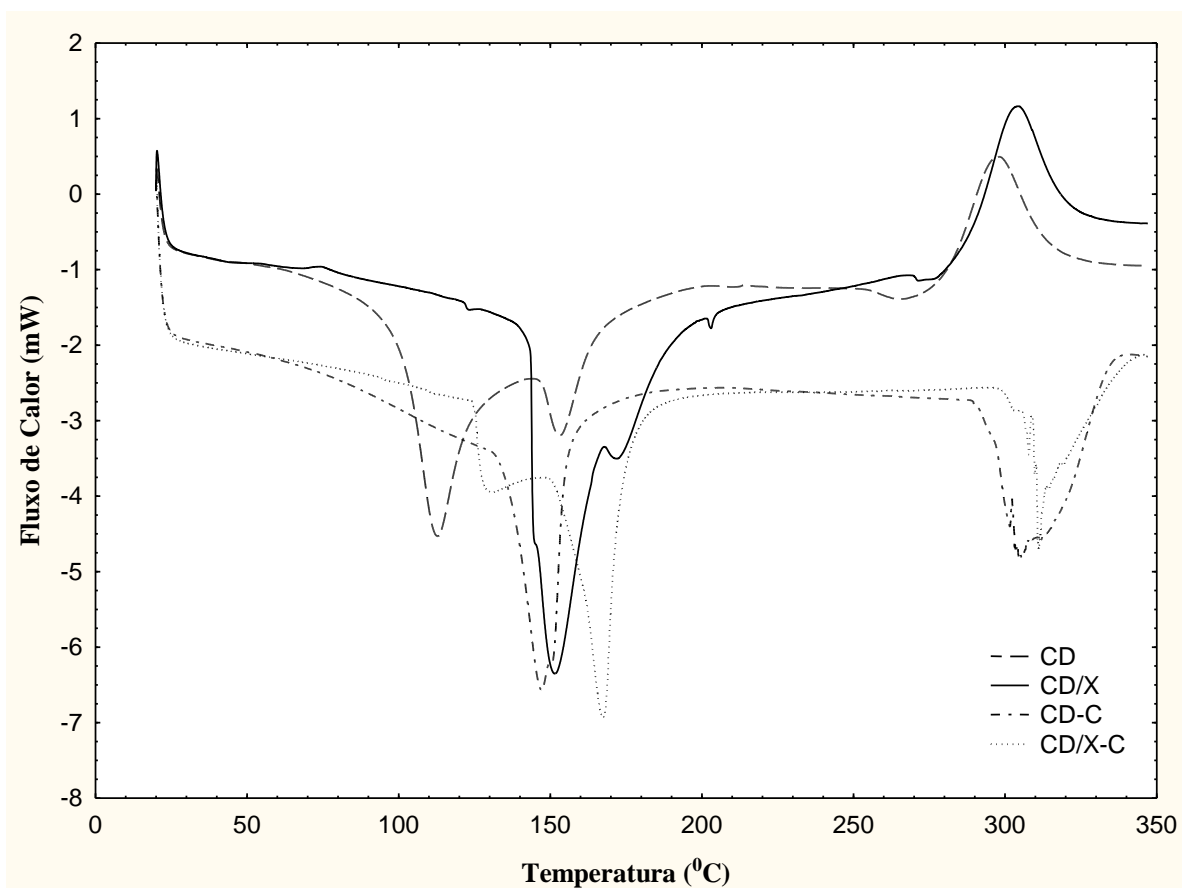
Os valores do ângulo H mostram o quão clara é uma amostra, ou seja, quanto mais próximo do valor de 90°, mais amarela é a amostra. Pode-se observar que a formulação CD/X apresentou uma coloração mais próxima do amarelo, enquanto o extrato apresentou uma cor mais escura. O maior ângulo H da formulação acrescida de xantana pode estar relacionado com a menor eficiência de encapsulação de taninos condensados (Tabela 10), uma vez que segundo Battestin et al. (2004), os taninos condensados são da classe das antocianidinas, sendo os responsáveis pela cor marrom avermelhado.

Quanto a mudança de cor total (ΔE), conforme Monagas et al (2007), a diferença dos valores de $\Delta E > 2,7$ indicam que as diferenças de cor podem ser percebidas pelo olho humano. Na tabela 12 pode-se observar que as microcápsulas apresentaram ΔE superiores a este valor, sendo a formulação com acréscimo de xantana com maior valor.

4.2.4 Análise de calorimetria diferencial de varredura (DSC)

A caracterização térmica foi realizada por meio de análise de calorimetria de diferencial de varredura (DSC). Com o intuito de comparação, foram obtidas duas formulações de agentes encapsulantes sem adição de extrato. Os resultados obtidos estão representados na figura 14.

Figura 14 - Termogramas de DSC dos complexos de inclusão de barbatimão (CD e CD/X) e complexos de inclusão controle (CD-C e CD/X-C).



Fonte: Autora.

Como a figura 14 mostra, a curva de DSC da CD-C apresenta dois picos endotérmicos, sendo o pico de fusão da água a 145 °C, e da decomposição da ciclodextrina em 302 °C (Szejtli, 1988). Quanto a formulação CD pode-se observar um pico endotérmico a 110 °C, possivelmente do deslocamento do ponto de fusão da água, um pico de fusão do extrato a 156 °C, e a decomposição da ciclodextrina em 295°C, resultando em um pico exotérmico. O deslocamento do pico de fusão da água para valores mais baixos, pode estar relacionado à evaporação da água na superfície, enquanto no caso da CD-C o pico apresentou-se maior devido a água estar encapsulada.

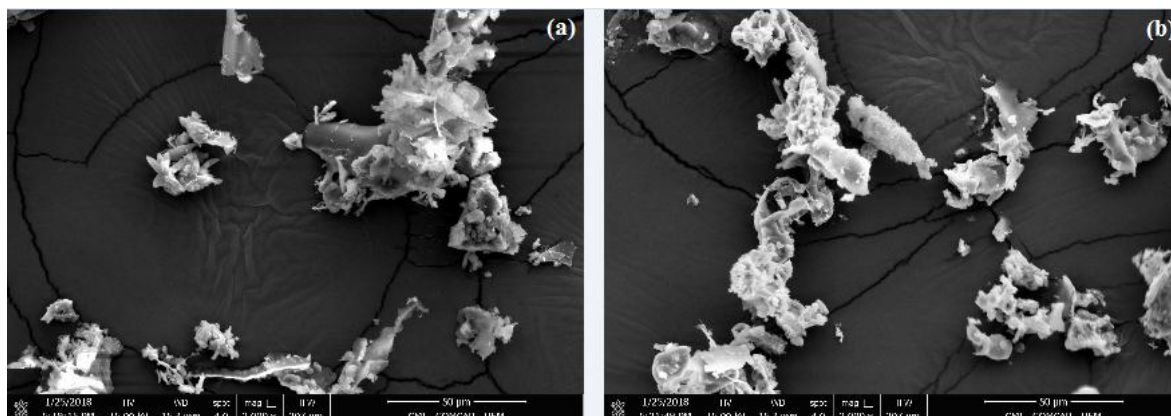
Ao analisar os termogramas de CD/X-C na figura 14, verificou-se três picos endotérmicos, sendo o observado a 127 °C relacionado ao ponto de fusão da água, o pico de fusão da goma xantana para 165 °C e o pico de decomposição da ciclodextrina a 310 °C. Quanto à formulação CD/X, verificou-se dois picos endotérmicos, sendo o pico de fusão da água 147 °C e o pico de fusão do extrato a 174 °C, e um pico exotérmico da decomposição a 300 °C. Além disso, pode-se observar um pequeno pico a 200 °C, podendo estar relacionado à liberação do extrato.

Desta forma, o deslocamento das curvas de DSC sugere uma interação entre o extrato e os agentes encapsulantes, podendo estar relacionado com a complexação dos compostos bioativos e proteção térmica. Além disso, pode-se verificar que a interação entre a ciclodextrina e a goma xantana resultou em aumento na temperatura de decomposição das amostras.

4.2.5 Análise morfológica das microcápsulas

A análise da morfologia das duas formulações de microcápsulas foi realizada usando microscopia eletrônica de varredura (MEV) e as imagens estão apresentadas na figura 15.

Figura 15 - Fotografias do MEV das duas formulações de microcápsulas obtidas **(a)** formulação CD; **(b)** formulação CD/X.



Fonte: Autora.

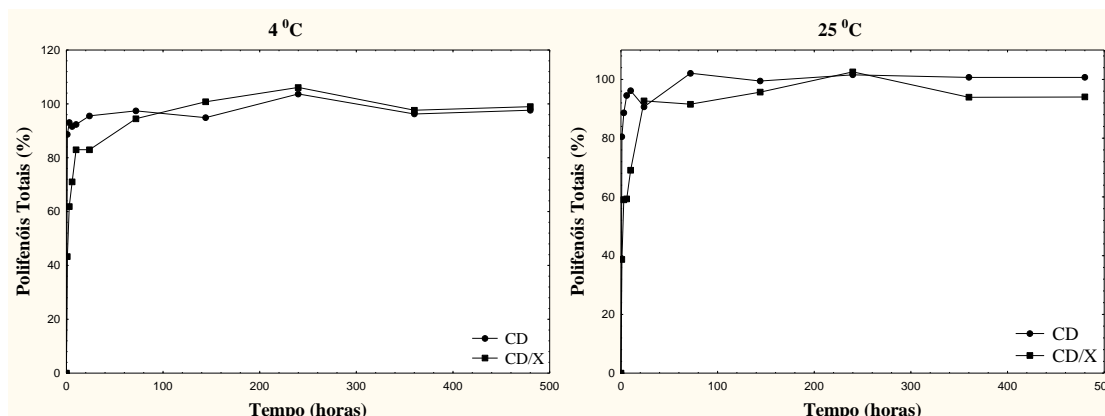
As microcápsulas (Figura 15: a, b) apresentaram superfícies lisas e estruturas irregulares de diferentes tamanhos, eventualmente formando aglomerados. As características observadas no presente estudo são obtidas principalmente para pós que passam pelo processo de liofilização e são submetidos à homogeneização com auxílio de graal e pistilo (GURAK et al, 2013).

Além disso, na figura 15b pode-se observar uma estrutura de forma esponjosa, indicando possivelmente a presença de goma xantana, que se coaduna com a menor densidade aparente das microcápsulas CD/X, como já discutido no item 4.2.2.

4.2.6 Liberação dos compostos bioativos das microcápsulas

O perfil de liberação dos polifenóis totais das microcápsulas de barbatimão foram avaliados em solução hidroalcoólica, em temperatura de refrigeração (4 °C) e temperatura ambiente (25 °C), e estão apresentados na figura 16.

Figura 16 - Perfis de liberação de compostos fenólicos a partir de microcápsulas, em solução hidroalcoólica 50% em temperaturas diferentes (4 e 25 °C).



Fonte: Autora.

Os mecanismos de liberação dependem de muitos fatores, tais como: o agente encapsulante, a substância encapsulada, a geometria e a morfologia da cápsula, as condições de liberação (solvente, pH, força iônica, temperatura) e o método de preparação (DIMA et al., 2016).

Como a figura 16 mostra, a curva cinética de liberação dos compostos fenólicos das microcápsulas utilizando apenas β -ciclodextrina (CD) liberou na primeira hora 80,5% dos compostos fenólicos para temperatura de 25 °C e 88,7 % para 4 °C. O valor alto de liberação pode ser explicado pela possível instabilidade do complexo de inclusão com a solução hidroalcoólica utilizada como solução para liberação. Segundo Stella et al. (1999), a complexação de ciclodextrinas com moléculas se apresenta como um processo dinâmico, no qual a molécula hóspede se associa e dissocia-se a ciclodextrina hospedeira continuamente, podendo assim justificar a alta liberação nas primeiras horas. Além disso, embora o estudo tenha sido realizado em 480 horas, observou-se que os complexos apresentaram liberação máxima em 72 horas para 25 °C e 240 horas para a temperatura de 4 °C.

Para a formulação com acréscimo de xantana (CD/X), pode-se observar que na primeira hora teve liberação de 50 % menos que a formulação CD, sendo 38,7 % em 25 °C e 43,3 % em 4 °C. Além disso, devido à redução de liberação, pode observar que o acréscimo de xantana promoveu o aumento necessário para a liberação máxima de compostos fenólicos, atingida em 144 horas para as duas temperaturas.

O processo de complexo de inclusão foi realizado com adição de β -CD em extrato concentrado sob agitação. O tempo de agitação foi suficiente para alguns compostos bioativos complexarem com a cavidade da β -CD. Ao acrescentar a goma xantana ocorreu a alteração da viscosidade da solução e possivelmente causou mudança na conformação tanto da goma xantana quanto da ciclodextrina. Esta mudança, provavelmente aprisionou fortemente os compostos bioativos na cavidade da CD e, conseqüentemente, retardou a sua liberação.

Os modelos de Peppas e Weibull foram usados para ajustar os dados de liberação de compostos fenólicos totais em todo o intervalo de tempo estudado. Os parâmetros do ajuste dos modelos são apresentados na Tabela 13.

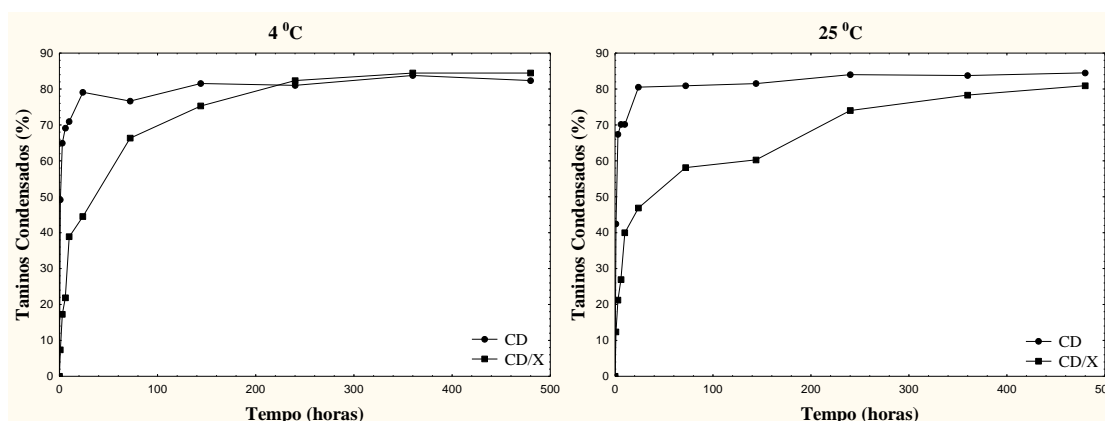
Tabela 13 - Valores das constantes da equação de Peppas e Weibull calculados por regressão não linear para os dados de liberação de polifenóis totais.

Modelo matemático	Parâmetros	CD	CD/X	CD	CD/X
		4 °C		25 °C	
Peppas	k	0,907	0,579	2,251	0,604
	n	0,016	0,101	0,123	0,405
	R ²	0,997	0,972	0,997	0,994
Weibull	k	0,858	0,526	1,666	0,500
	b	0,030	0,111	0,242	0,412
	R ²	0,994	0,959	0,996	0,988

Ao analisar os valores dos coeficientes de determinação do ajuste dos modelos (R²), verificou-se que ambos os modelos tiveram bons ajustes (R² > 0,95), porém pode-se considerar que a cinética de liberação de polifenóis totais, para as duas formulações, foi descrita melhor pelo modelo de Peppas (Tabela 13). Os valores dos expoentes difusionais obtidos para todos os ensaios explica um processo de liberação controlada por difusão Fickiana (n < 0,43), causada pela presença de compostos fenólicos na superfície ou na camada exterior (MADERUELO et al, 2011;. SIEPMANN, PEPPAS, 2001). Além disso, observa-se que a CD/X apresentou valores maiores de n comparado a outra formulação, demonstrando assim uma menor difusividade dos componentes para o meio.

A figura 17 apresenta o perfil de liberação dos taninos condensados das microcápsulas de barbatimão avaliados em solução hidroalcoólica, em temperatura de refrigeração (4 °C) e temperatura ambiente (25 °C).

Figura 17 - Perfis de liberação de taninos condensados a partir de microcápsulas de barbatimão, em solução hidroalcoólica 50 % e em temperaturas diferentes (4 e 25 °C).



Fonte: Autora.

Quanto a liberação de taninos condensados, pode-se observar na figura 17 que foi reduzida na primeira hora em relação à liberação de polifenóis totais (figura 16). Este fato é ocorrido principalmente pelo método de determinação de taninos condensados ser mais específico. Kujala et al (2000) comentam sobre o método de Folin ser uma metodologia generalizada, uma vez que não mostra devidamente a qualidade ou quantidade dos constituintes presentes no extrato.

Como a figura 17 mostra, a temperatura interferiu na curva de liberação dos taninos para a formulação CD, apresentando na primeira hora 42% de liberação a 25 °C e 49,2 % a 4 °C. Além disso, pode-se observar que esta formulação apresentou liberação mais acelerada até o período de 10 horas, atingindo 70 % de liberação para as duas temperaturas, e então é seguida por uma liberação lenta até atingir a liberação máxima de 84 % em 240 horas a 25 °C, e 83 % em 360 horas a 4 °C. A rápida liberação nas primeiras horas está relacionada ao efeito explosivo, uma vez que compostos bioativos presentes na superfície das microcápsulas são liberados facilmente (FLORES, KONG et al., 2017).

Com a presença de goma xantana (CD/X), pode-se verificar que o comportamento da liberação de taninos também apresentou diferença quanto à temperatura. Com temperatura de 25 °C a liberação foi mais lenta após ambas atingirem 40 % de liberação. Além disso, pode-se observar que a liberação máxima de 80,9 % de liberação a 25 °C e 84,4 % a 4 °C, ambas em 480 horas.

Os modelos de Peppas e Weibull foram usados para ajustar os dados de liberação de taninos condensados em todo o intervalo de tempo. Os parâmetros do ajuste dos modelos são apresentados na Tabela 14.

Tabela 14 - Valores das constantes da equação de Peppas e Weibull calculados por regressão não linear para os dados de liberação de taninos condensados.

Modelo matemático	Parâmetros	CD	CD/X	CD	CD/X
		4 ^o C		25 ^o C	
Peppas	k	0,593	0,178	0,580	0,196
	n	0,060	0,269	0,069	0,236
	R ²	0,984	0,976	0,969	0,987
Weibull	k	0,849	0,134	0,797	0,180
	b	0,135	0,464	0,161	0,361
	R ²	0,988	0,992	0,977	0,993

Ao analisar os valores dos coeficientes de determinação do ajuste dos modelos (R^2), verificou-se que ambos os modelos também apresentaram bons ajustes ($R^2 > 0,96$), porém pode-se considerar que a cinética de liberação de taninos condensados, para as duas formulações, foi descrita melhor pelo modelo de Weibull (Tabela 14).

No modelo Weibull, a constante b está relacionada ao mecanismo de liberação do princípio ativo. Para as microcápsulas CD, as constantes b teve valor de 0,135 e 161 ($b < 0,35$) para 4 e 25 °C, respectivamente. Este valor indica que a liberação dos compostos bioativos ocorre em um espaço altamente desordenado. Quanto ao processo de liberação das microcápsulas contendo xantana (CD/X), observou-se que o comportamento de liberação mudou com a temperatura, sendo que as microcápsulas em temperatura de 4 °C forneceram a constante b com valor de 0,464 ($0,39 < b < 0,69$), indicando liberação por difusão em espaço euclidiano normal. Na temperatura de 25 °C, b apresentou valor de 0,361 ($b \sim 0,35-0,39$), indicando difusão em substrato de fração morfológicamente semelhante ao agrupamento de percolação (PAPADOPOULOU et al., 2006).

Segundo Rutz et al. (2013), a liberação controlada de compostos bioativos é altamente importante para que a aplicação dos compostos encapsulados seja viável devido à prevenção de perdas de compostos durante o processamento. Desta forma, o estudo cinético de liberação demonstrou que dentre as formulações acrescidas com xantana (CD/X) obteve-se um maior controle na liberação, possivelmente por maior proteção dos compostos, podendo ser mais viável principalmente quanto às menores perdas de taninos condensados.

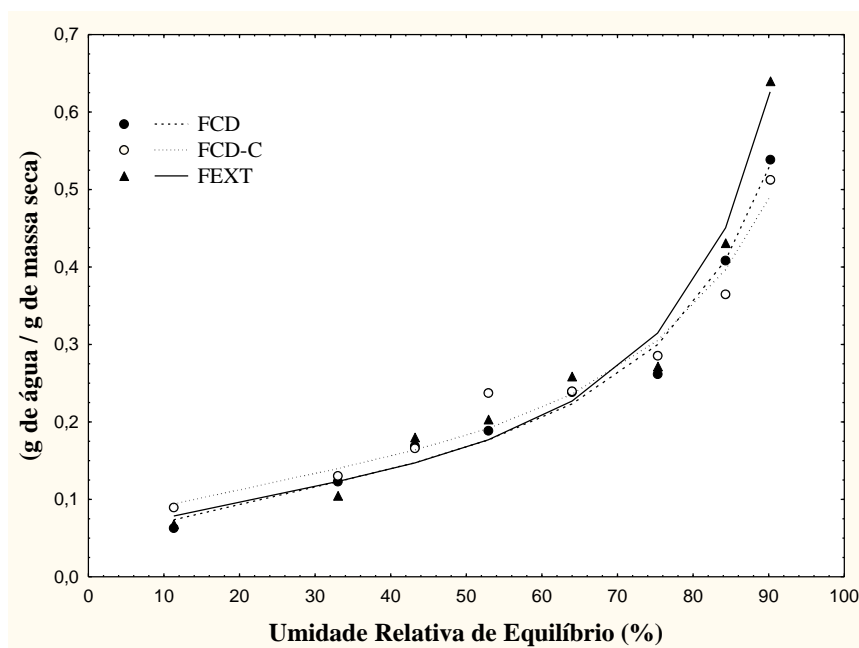
Pode-se ressaltar que a encapsulação em CD apresentou-se mais eficiente, porém na cinética de liberação notou-se que a formulação CD/X apresentou-se mais estável. Esta estabilidade também pode ser observada nas curvas de DSC, onde o pico de fusão dos compostos bioativos foi de 156 °C para a CD, e 200 °C para a CD/X.

4.3 Filmes biodegradáveis ativos com incorporação de microcápsulas de barbatimão

4.3.1 Isotermas de sorção

As isotermas de sorção relacionam a quantidade de água de um material com sua atividade de água, uma vez alcançado o equilíbrio, a uma dada temperatura e pressão constante. Constituem uma ferramenta muito valiosa, pois pode prever o nível de hidratação de filmes contendo polissacarídeos plastificados e selecionar sua aplicação conforme suas propriedades em diferentes ambientes (STENCL, 2004; GODBILLOT et al., 2006; PERDOMO et al., 2009). A Figura 18 apresenta as isotermas de sorção dos filmes contendo as microcápsulas de barbatimão com CD, filmes contendo microcápsulas de CD-C e o filme controle com extrato a 25°C.

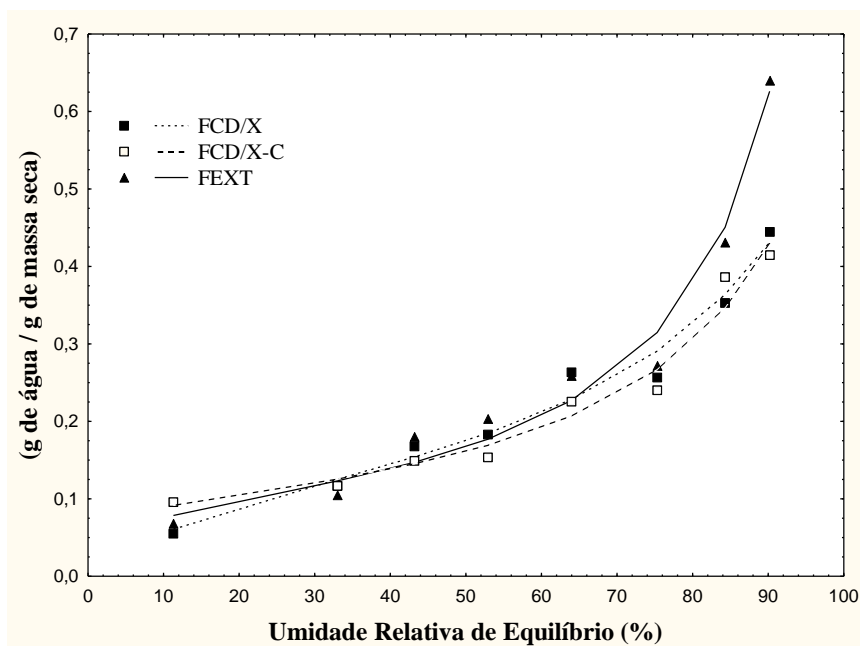
Figura 18 - Isotermas de sorção de água dos filmes de alginato incorporados de microcápsulas de CD e do extrato livre de barbatimão, na temperatura de 25°C. (**símbolos**) – valores observados; (**linhas**) – valores preditos pelo modelo de GAB.



Fonte: Autora.

Na Figura 19 são apresentadas as isotermas de sorção dos filmes com contendo as microcápsulas de barbatimão com CD/X, filmes contendo microcápsulas de CD/X-C e o filme controle com extrato a 25°C.

Figura 19 - Isotermas de sorção de água dos filmes de alginato incorporados de microcápsulas de CD/X e do extrato livre de barbatimão, sob temperatura de 25°C. (**símbolos**) – valores observados; (**linhas**) – valores preditos pelo modelo de GAB.



Fonte: Autora.

Como as figuras 18 e 19 mostram, os filmes apresentaram pequeno aumento de ganho de umidade nas isotermas de sorção até umidades relativas de equilíbrio (URE) de aproximadamente 64 %. A partir deste valor a sorção de água cresceu de forma mais acentuada até URE de 92 % .

As isotermas de sorção mostraram uma forma sigmoideal (figura 18 e 19) característica de isotermas do Tipo II, que absorvem uma quantidade relativamente pequena de água a baixas atividades de água, e uma grande quantidade de água em atividades elevadas. Segundo Al-Muhtaseb et al. (2004) este comportamento é devido ao fato da água afetar o desempenho estrutural dos filmes como efeito plastificante, sendo que em baixa umidade relativa, o efeito plastificante é muito pequeno e a mobilidade das cadeias da matriz do filme é restrita. À medida que aumenta a umidade relativa, existe um acúmulo de moléculas de água como aglomerados na matriz polimérica, seguido por

inchaço, o que resulta em aumento da disponibilidade de locais de ligação para a sorção de água.

O modelo Guggenheim-Anderson-de Boer (GAB) foi usado para ajustar os dados de adsorção de água em todo o intervalo de URE. Os parâmetros do ajuste do modelo de GAB aos dados de equilíbrio de sorção são apresentados na Tabela 15. O ajuste do modelo foi satisfatório, com o coeficiente de determinação (R^2) variando entre 0,984 e 0,997.

Tabela 15 - Valores das constantes da equação de GAB a 25 °C calculados por regressão não linear para os filmes produzidos.

Parâmetros do modelo de GAB	Filme				
	FCD	FCD/X	FEXT	FCD-C	FCD/X-C
m_0	0,097	0,123	0,091	0,107	0,093
C	18,664	8,115	27,318	35,701	77,541
K	0,909	0,806	0,948	0,869	0,871
R^2	0,993	0,987	0,988	0,984	0,984

FCD: filme com microcápsulas de barbatimão CD; FCD/X: filme com microcápsulas de barbatimão CD/X; FEXT: filme com extrato liofilizado de barbatimão; FCD-C: filme com microcápsulas controle de CD; FCD/X-C: filme com microcápsulas controle de CD/X.

Pode-se observar que as curvas nas figuras 18 e 19 indicam que as isotermas de sorção para os filmes FCD e FDC-C não foram grandemente afetadas pela presença dos compostos bioativos do barbatimão, porém com maior interferência para os filmes com microcápsulas acrescidas de xantana (FCD/X e FCD/X-C). Esta mesma tendência foi também observada para o valor calculado da monocamada (m_0) (Tabela 15).

O valor de m_0 está relacionado com a máxima quantidade de água que pode ser adsorvido em uma única camada, por grama de filme seco, sendo assim uma medida de número de sítios de sorção (CHO et al., 2002). Pode-se observar na Tabela 15 que filme FCD-C apresentou maior valor de m_0 em relação o filme FCD, possivelmente devido ao fato de que as cápsulas vazias encapsulam as moléculas de água do ambiente. Efeito contrário foi observado para formulações acrescidas de xantana, sendo que a mudança da conformação estrutural da β -CD em presença da xantana reduziu a capacidade de encapsulação de moléculas de água do ambiente. Além disso, pode-se observar que o menor valor obtido foi para o filme com extrato livre (FEXT), demonstrando forte interação entre os compostos do extrato e a matriz do filme, reduzindo o número de sítios de sorção.

Quanto ao parâmetro C, este está relacionado com a diferença de potencial químico na monocamada e as camadas de subsequências. Conforme Chen et al. (2013), um baixo valor de C implica em filmes mais hidrofílicos e necessitando menos energia para a adsorção de moléculas de água nos locais ativos. Assim, os resultados da tabela 15 sugerem que os filmes com microcápsulas de extrato são mais hidrofílicos que os filmes com microcápsulas vazias, ou seja, o complexo de inclusão formado foi um complexo solúvel. Quando comparados os filmes com microcápsulas controle, o FCD-C apresentou-se mais hidrofílico que o filme controle acrescido de xantana (FCD/X-C). Efeito contrário foi observado para as microcápsulas de extrato, sendo o FCD/X mais hidrofílico que FCD. Além disso, os resultados da tabela 14 sugerem que o filme com extrato livre é menos hidrofílicos que os filmes com o extrato encapsulado.

4.3.2 Permeabilidade ao vapor de água, solubilidade e espessura

Na tabela 16 estão apresentados os valores médios das espessuras, PVA e solubilidade dos filmes produzidos.

Tabela 16 - Valores médios da espessura, permeabilidade ao vapor de água e solubilidade dos filmes produzidos.

Filmes	Espessura (mm)	PVA ($10^{-9} \text{g m}^{-1} \text{s}^{-1} \text{Pa}^{-1}$)	Solubilidade (%)
FCD	0,075 ^a ±0,011	7,51 ^b ±0,08	62,02 ^d ±0,68
FCD/X	0,060 ^a ±0,008	5,86 ^c ±0,18	85,96 ^c ±0,35
FEXT	0,031 ^b ±0,008	4,56 ^d ±0,09	91,64 ^b ±1,43
FCD-C	0,074 ^a ±0,013	9,73 ^a ±0,25	98,91 ^a ±0,49
FCD/X-C	0,066 ^a ±0,022	8,96 ^b ±0,15	99,15 ^a ±0,78

FCD: filme com microcápsulas de barbatimão CD; FCD/X: filme com microcápsulas de barbatimão CD/X; FEXT: filme com extrato liofilizado de barbatimão; FCD-C: filme com microcápsulas controle de CD; FCD/X-C: filme com microcápsulas controle de CD/X. *Letras diferentes na mesma coluna diferem entre si a 5% de significância.

Pode-se observar na tabela 16 que apenas o filme com extrato (FEXT) apresentou diferença significativa quanto à espessura, obtendo o menor valor (0,031 mm). Segundo Perdones et al. (2014), a diferença de espessura em filmes incorporados de compostos ativos é devido ao maior teor de sólidos por unidade de superfície. Desta forma, a diferença de espessura obtida pelo filme de extrato livre é atribuída pela quantidade de

sólidos adicionado no preparo da solução filmogênica, uma vez que a adição de extrato foi baseada na concentração de taninos condensados obtidas nas microcápsulas.

A permeabilidade ao vapor de água (PVA) mede a difusão de moléculas de água através da seção transversal da película e pode ter uma estimativa da sua propriedade de barreira. Para prevenir ou reduzir a desidratação de alimentos, filmes usados como embalagens ou revestimentos devem controlar o transporte de umidade do produto para o meio ambiente, logo o PVA deve ser tão baixa quanto possível (ACEVEDO-FANI et al., 2015)

De acordo com Beierhaiz et al. (2014), PVA é uma dissolução combinada de processo de difusão controlada, regido não apenas pela concentração e a estrutura química dos componentes mas também pela mobilidade da cadeia. O menor valor de PVA para filme do extrato livre (FEXT) pode ser explicado pela forte interação do extrato com a matriz do filme (alginato), uma vez que o constituinte majoritário é taninos condensados, este apresentando forte interação com polissacarídeos (CARVALHO et al., 2006).

As espessuras dos filmes obtidos com as microcápsulas não apresentarem diferenças significativas, porém observou-se que os filmes com microcápsulas CD apresentaram maior valor de PVA. Este resultado é explicado devido à β -ciclodextrina ser um composto derivado do amido, no qual vários estudos demonstram redução nas propriedades de permeabilidade ao vapor de água em filmes elaborados com amido (Brandelero et al., 2013). Sendo assim, a goma xantana presente nas microcápsulas incorporadas nos filmes proporcionou melhoria nas propriedades de permeabilidade de vapor de água.

As porcentagens de solubilidade em água de todos os filmes ativos estão apresentadas na tabela 16. Os filmes com microcápsulas controle obtiverem solubilidade próximas de 100%, não apresentando diferença significativa em relação ao acréscimo de xantana. Este comportamento pode ser atribuído principalmente pela natureza hidrofílica da matriz do filme (alginato) e dos agentes encapsulantes, possuindo a capacidade de ligação com água (RIQUELME et al, 2017).

O filme com extrato livre apresentou 91,64% de solubilidade em água. Os valores de solubilidade dos filmes baseados nas microcápsulas de barbatimão CD e CD/X (62,02 e 85,96%) foram menores do que os seus respectivos controles (98,91 e 99,15%). Este comportamento pode ser atribuído pela interação do extrato de barbatimão com a β -ciclodextrina, o que estabiliza a estrutura física dos filmes, reduzindo a sua solubilidade, devido a um aumento da energia de ligação. Além disso, pode-se observar que o acréscimo

de xantana influenciou significativamente na solubilidade dos filmes com as microcápsulas de barbatimão (CD e CD/X), aumentando sua solubilidade.

4.3.3 Propriedades mecânicas

A resistência à tração, porcentagem de alongamento na ruptura e módulo de elasticidade para os diferentes tipos de filmes produzidos são mostrados na Tabela 17.

Tabela 17 - Valores médios das propriedades mecânica dos filmes produzidos.

Filmes	Tensão na Ruptura (MPa)	Elongação na Ruptura (%)	Módulo de Young (Mpa)
FCD	74,18 ^a ±8,78	0,0023 ^{bc} ±0,0004	30,07 ^b ±2,33
FCD/X	79,53 ^a ±5,57	0,0022 ^c ±0,0001	30,29 ^{ab} ±3,08
FEXT	77,83 ^a ±3,96	0,0020 ^c ±0,0001	32,71 ^a ±1,77
FCD-C	29,69 ^b ±2,91	0,0029 ^b ±0,0002	11,79 ^c ±1,2
FCD/X-C	20,83 ^c ±3,14	0,0048 ^a ±0,0012	8,08 ^d ±1,33

FCD: filme com microcápsulas de barbatimão CD; FCD/X: filme com microcápsulas de barbatimão CD/X; FEXT: filme com extrato liofilizado de barbatimão; FCD-C: filme com microcápsulas controle de CD; FCD/X-C: filme com microcápsulas controle de CD/X. *Letras diferentes na mesma coluna diferem entre si a 5% de significância.

Pode-se observar na tabela 17 que tanto a incorporação do extrato livre como encapsulado não apresentaram diferenças significativas na tensão a ruptura dos filmes, apresentando valores acima de 70 Mpa, sendo valores maiores comparado aos filmes com microcápsulas controle. Além disso, observou-se que os filmes constituídos de extrato livre ou microencapsulado, apresentaram menor alongação na ruptura e maior módulo de Young, sendo características de filmes pouco elásticos.

Em relação aos filmes incorporados de microcápsulas controle, pode-se observar que apresentaram maiores valores de alongação na ruptura e menores valores de tensão a ruptura e módulo de Yong. A maior alongação e menor módulo de Yong podem ser explicados devido os corpos de prova para realização da análise terem sidos mantidos em umidade relativa de 53%, demonstrando assim que as capsulas controle possivelmente complexaram com moléculas de água, proporcionando um efeito plastificante para os filmes controle.

4.3.4 Análise de cor

As propriedades de cor dos filmes ativos são de grande importância uma vez que estas influenciam diretamente na aceitabilidade de alimentos em que estes são aplicados. A tabela 18 apresenta as propriedades de cor dos filmes ativos contendo as microcápsulas de barbatimão e o extrato liofilizado.

Tabela 18 - Propriedades de cor dos filmes produzidos.

Filmes	L*	a*	b*	H °	ΔE*
FCD	53,93 ^a ±1,30	16,71 ^c ±0,70	32,27 ^a ±0,26	62,62	13,39
FCD/X	51,93 ^a ±0,36	18,15 ^b ±0,08	32,89 ^a ±0,07	61,10	11,87
FEXT	42,72 ^b ±1,51	19,59 ^a ±0,12	25,55 ^b ±1,35	52,52	-

FCD: filme com microcápsulas de barbatimão CD; FCD/X: filme com microcápsulas de barbatimão CD/X; FEXT: filme com extrato liofilizado de barbatimão. *Letras diferentes na mesma coluna diferem entre si a 5% de significância.

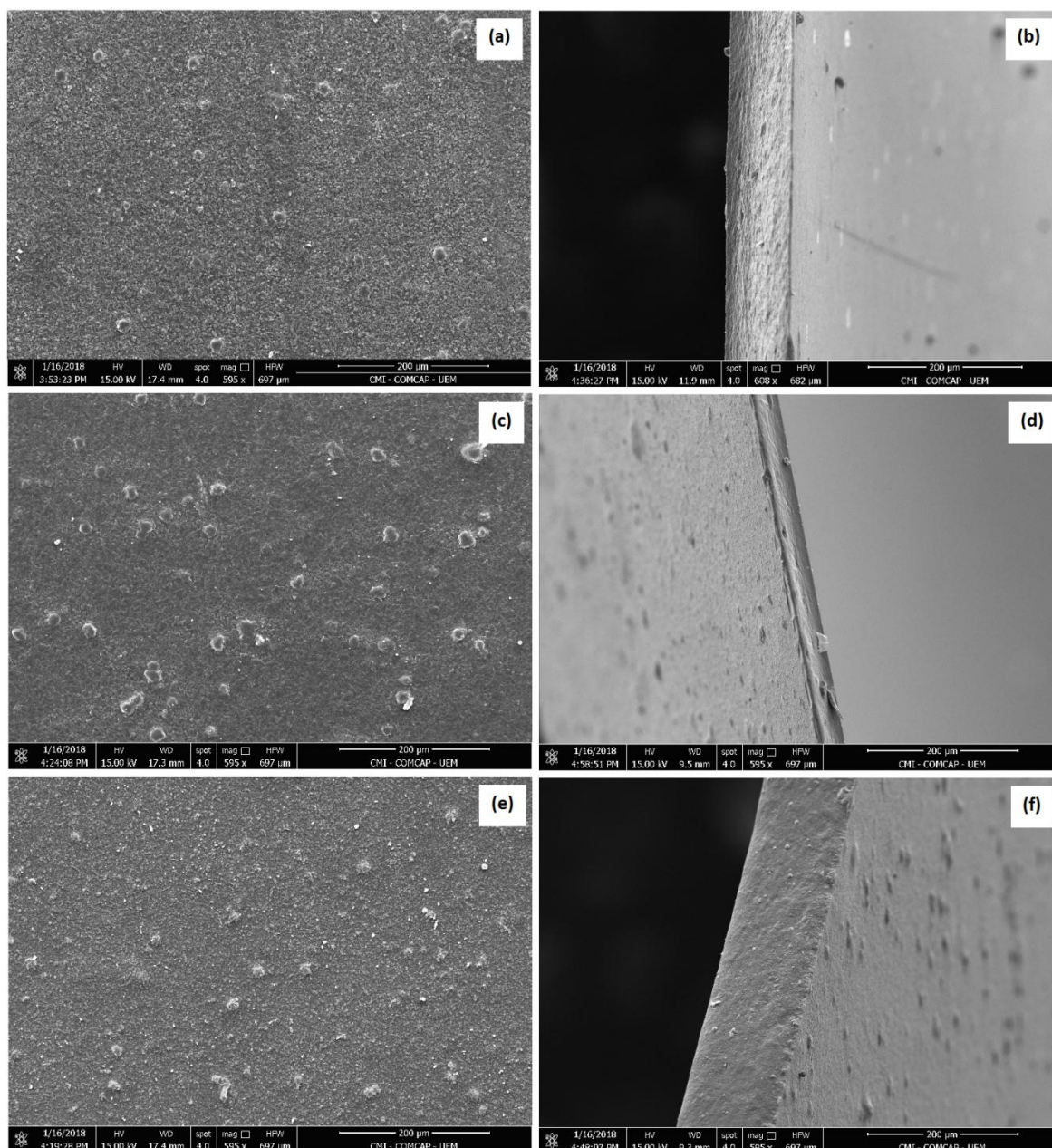
Comparando a cor do filme de extrato com os filmes das microcápsulas, observou-se na tabela 18 que os valores de L* (luminosidade) e b* (amarelo) aumentaram e os valores de a* (vermelho) diminuíram para as duas formulações de filmes. Comportamento diferente para o valor b* e as proporções de L*, a* e H foi observado na análise de cor das microcápsulas sozinhas (Tabela 12), sendo estas mudanças relacionadas a presença em maior proporção de alginato nos filmes.

O filme de extrato livre apresentou-se mais opaco e com tonalidade mais próxima do marrom comparado aos filmes com microcápsulas. Em relação ao ângulo H, os filmes com as duas microcápsulas apresentaram-se mais claros em relação ao filme de extrato, apresentando cor mais próxima do amarelo. Quanto a mudança de cor total dos filmes com as microcápsulas em relação ao filme de extrato variou de 11,87-13,39, sendo a formulação com acréscimo de xantana com menor valor.

4.2.5 Análise morfológica

A análise da morfologia dos filmes foi realizada usando microscopia eletrônica de varredura (MEV). As micrografias da superfície e fissura dos filmes de alginato incorporado com microcápsulas e extrato livre de barbatimão são mostradas na figura 20.

Figura 20 - Fotografias micrografias de varrimento eletrônico de microscópio dos filmes produzidos. **(a)** superfície do filme com microcápsula CD; **(b)** fratura do filme com microcápsula CD; **(c)** superfície do filme com microcápsula CD/X; **(d)** fratura do filme com microcápsula CD/X; **(e)** superfície do filme com extrato livre; **(f)** fratura do filme com extrato l.



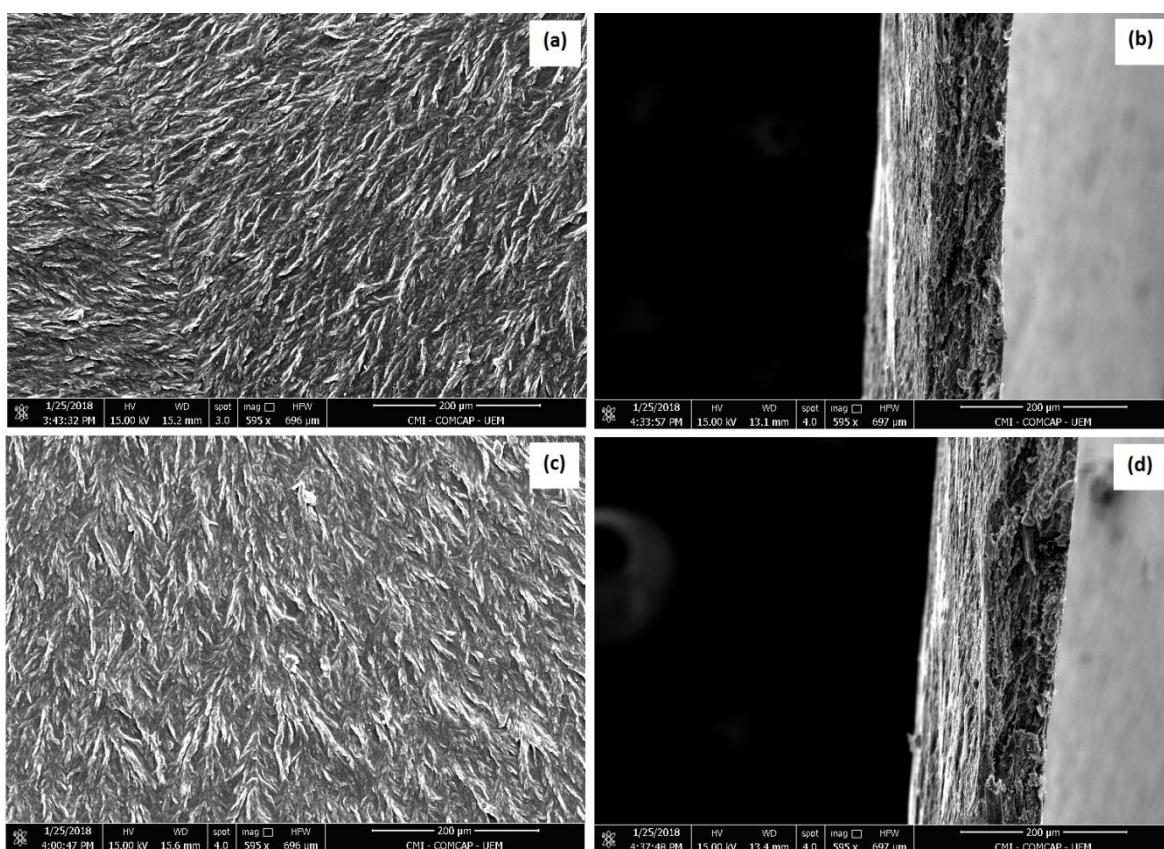
Fonte: Autora.

As superfícies e as fraturas dos filmes contendo as duas formulações de microcápsulas e o extrato liofilizado (figura 20) mostrou uma microestrutura ligeiramente única, com superfície heterogênea e formação de pequenos aglomerados. Esta semelhança

explica a não presença de diferença significativa das propriedades mecânicas para os três filmes.

As micrografias da superfície e fratura dos filmes de alginato incorporado com microcápsulas controles são mostrados na figura 21.

Figura 21 - Fotografias micrografias de varrimento eletrônico de microscópio dos filmes produzidos. **(a)** superfície do filme com microcápsula CD-C; **(b)** fratura do filme com microcápsula CD-C; **(c)** superfície do filme com microcápsula CD/X-C; **(d)** fratura do filme com microcápsula CD/X-C.



Fonte: Autora.

Pode-se observar que os filmes com as microcápsulas controle apresentaram características semelhantes, de superfície com bastante irregularidade e com presença de fragmentações em suas fraturas. Devido a essas características, explica-se os menores valores obtidos para as propriedades mecânicas dos filmes, uma vez que apresentaram de fragmentações em suas fraturas. Além disso, essa característica podem ser responsáveis pelos valores mais elevados de PVA dos filmes, em comparação com os demais filmes. Mesmo comportamento foi relatado por Norajit et al. (2010), ao produzir filmes de

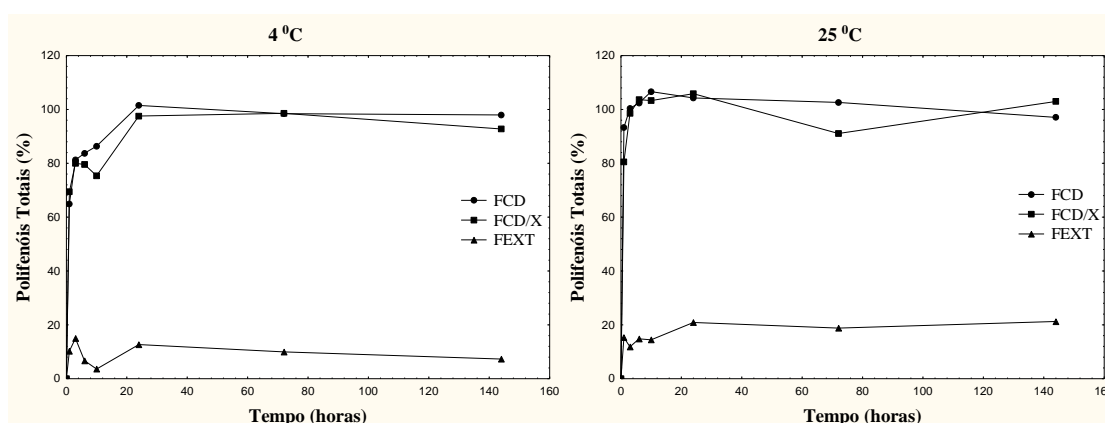
alginate incorporados de extrato de ginseng, onde os filmes com maiores porosidades apresentaram maiores valores de PVA.

Ao comparar as superfícies dos filmes contendo as microcápsulas e o extrato de barbatimão (figura 20), confirma a forte interação do extrato com a matriz do filme (alginate), não apresentando fragmentações em suas fratura.

4.3.6 Cinética de liberação dos filmes

O perfil de liberação de polifenóis totais dos filmes incorporados de extrato de barbatimão livre e encapsulado foram avaliados em solução hidroalcoólica em temperatura de refrigeração (4 °C) e temperatura ambiente (25 °C), e estão apresentados na figura 24.

Figura 22 - Perfis de liberação de polifenóis totais a partir de microcápsulas de barbatimão em solução hidroalcoólica 50% em temperaturas diferentes (4 e 25 °C).



Fonte: Autora.

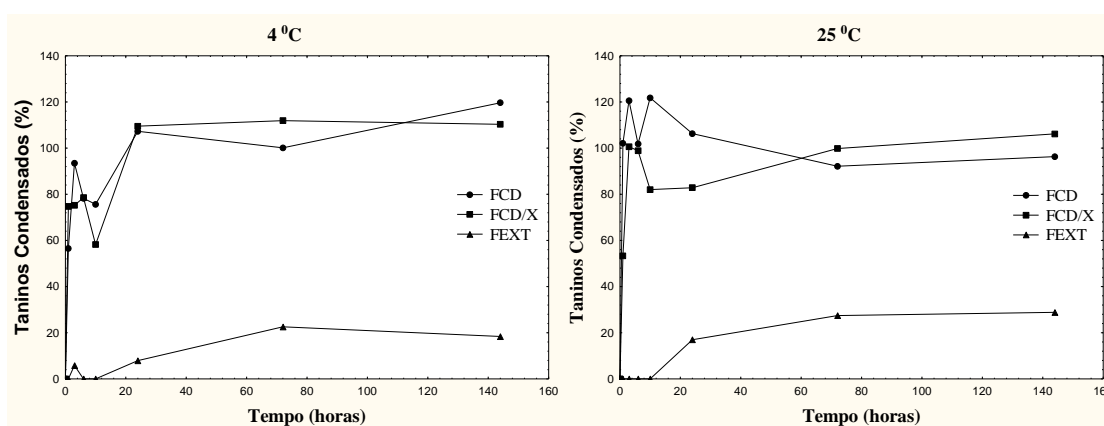
Como nos ensaios de liberação das microcápsulas, a liberação dos filmes ativos também foi analisada em (480horas), porém, optou-se plotar os gráficos no intervalo de 144 horas para melhor visualização dos comportamentos das curvas.

Como a figura 24 mostra, a taxa de liberação de polifenóis totais dos filmes contendo extrato encapsulado não diferiram quanto a presença de xantana, porém apresentou diferença quando submetidos em temperaturas diferentes. Na temperatura de 25 °C, a liberação máxima de ambos os filmes foi obtida nas primeiras horas, sendo que a temperatura de 4 °C apresentou uma liberação mais lenta, atingindo 80 % após 10 horas e a liberação máxima em 24 horas.

Quanto ao filme com extrato livre (FEXT), verificou-se que apresentou menor taxa de liberação em relação aos filmes com extrato encapsulado, obtendo taxa máxima de 21% em 144 horas para 25 °C e 12% em 24 horas a 4 °C. Além disso, como pode-se observar, a temperatura de 4 °C também proporcionou menor liberação para o filme de extrato livre.

O perfil de liberação de taninos condensados dos filmes incorporados de extrato de barbatimão livre e encapsulado foram avaliados em solução hidroalcoólica em temperatura de refrigeração (4 °C) e temperatura ambiente (25 °C), e estão apresentados na figura 23.

Figura 23 - Perfis de liberação de taninos condensados a partir de microcápsulas de barbatimão em solução hidroalcoólica 50 % em temperaturas diferentes (4 e 25 °C).



Fonte: Autora.

Como a figura 23 mostra, o mesmo comportamento que apresentou na liberação de polifenóis totais, foi observado para taninos condensados, uma vez que o acréscimo de xantana não demonstrou grandes diferenças na liberação, sendo a temperatura a maior influencia.

Quanto ao filme com extrato livre (FEXT), verificou-se que apresentou menor taxa de liberação em relação aos filmes com extrato encapsulado, tendo início de liberação após 24 horas, obtendo taxa máxima de 29 % em 144 horas para 25 °C e 22 % em 72 horas a 4 °C. Além disso, como pode-se observar, a temperatura de 4 °C também proporcionou menor liberação para o filme de extrato livre.

É importante ressaltar que as curvas cinéticas de liberação dos compostos bioativos dos filmes apresentaram mais instáveis comparados com as apresentadas para a cinética de microcápsulas (Figuras 16 e 17). Esta instabilidade pode não ser inesperada, uma vez que, o alginato torna-se uma variável adicional para a difusão dos compostos bioativos, criando uma estrutura adicional para a liberação.

Quanto à redução de liberação de compostos bioativos dos filmes com extrato livre corrobora com os resultados das análises de isotermas dos filmes, uma vez que o filme com extrato livre apresentou-se mais hidrofóbico em relação aos demais filmes com extrato encapsulados. Além disso, sendo a matriz do filme um polissacarídeo, o comportamento de redução de liberação também pode ser atribuído a forte interação dos compostos bioativos com o alginato, uma vez que os extratos encapsulados não apresentaram esta forte interação (CARVALHO et al. 2006)

Conforme Appndini et al. (2000), uma rápida liberação do agente ativo não é desejável, uma vez que podem promover a migração do soluto para partes internas do alimento, reduzindo a ação de proteção na superfície. Contudo, se a taxa de liberação é muito lenta, a sua concentração inibitória pode não ser alcançada. Sendo assim, é de grande importância o conhecimento da taxa de liberação e, portanto, a difusividade dos agentes ativos a partir da matriz do filme sendo um fator determinante para o desenvolvimento e aplicação dos filmes ativos (ZACTITI et al., 2009).

CAPÍTULO 5 CONCLUSÕES

A casca de barbatimão apresentou grande capacidade biológica antioxidante justificada por sua composição química, que apresenta no extrato, teores consideráveis de compostos fenólicos e taninos condensados. O melhor processo de extração foi realizado à temperatura de 50 °C, pH da solução 7,0 e amostra obtida por peneira de 20 mesh (D 0,84 mm).

No processo de encapsulação a formulação CD apresentou maior eficiência de encapsulação para taninos condensados. As propriedades físicas das formulações apresentaram valores positivos para sua estabilidade. A adição de goma xantana promoveu maior estabilidade das microcápsulas na cinética de liberação. Esta estabilidade também foi observada nas curvas de DSC, onde o pico de fusão dos compostos bioativos foi de 156 °C para a CD, e 200 °C para a CD/X.

Na elaboração dos filmes, a presença de goma xantana das microcápsulas melhorou a permeabilidade de vapor de água e solubilidade dos filmes. Quanto à liberação controlada dos compostos, as duas formulações apresentaram comportamentos semelhantes, com altas taxas de liberação em curto tempo, comparada com o filme controle de extrato livre. Considerando a aplicabilidade dos filmes ativos como alternativa de aumentar a vida de prateleira em produtos sujeitos a oxidação, uma alta taxa de liberação dos compostos não seria recomendada, podendo assim sugerir novos estudos de liberação das formulações de filmes.

Desta forma, pode-se concluir que se torna viável a utilização da casca de barbatimão na elaboração de extratos ricos em compostos bioativos, como a microencapsulação do mesmo, podendo ser amplamente explorada na indústria de obtenção de embalagens biodegradáveis ativas.

CAPÍTULO 6

SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Estudos com a utilização de barbatimão na área de alimentos são muito escassos, e devido às limitações de tempo, não foi possível abordar todos os aspectos da obtenção e caracterização de microcápsulas, como também a produção de filmes. Portanto, a seguir serão listados alguns novos pontos interessantes que poderão ser explorados:

- Estudo de preparação e caracterização dos compostos bioativos utilizando outros agentes encapsulantes para aplicação em filmes;
- Realização de novos testes de liberação do filme com extrato livre ou microencapsulado com outros agentes encapsulantes, alterando as concentrações de solução;
- Obtenção de filmes com base em amido, evitando a forte interação do extrato com a base do filme como ocorrido no presente estudo;
- Estudo da aplicabilidade do filme como agente antioxidante em alimentos;
- Estudo da biodegradabilidade dos filmes.

CAPÍTULO 7

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACEVEDO-FANI, A.; SALVIA-TRUJILLO, L.; ROJAS-GRAÜ, M. A.; MARTÍN-BELLOSO, O. Edible films from essential-oil-loaded nanoemulsions: Physicochemical characterization and antimicrobial properties. **Food hydrocolloids**, v. 47, p. 168–177, 2015.

ALMEIDA, D.M.; WOICIECHOWSKI, A. L.; WOSIACKI, G.; et al. Propriedades físicas, químicas e de barreira em filme formados por blenda de celulose bacteriana e fécula de batata. **Polímeros**, v. 23, n. 4, p. 538-546, 2013.

AL-MUHTASEB, A. H.; MCMINN, W. A. M.; MAGEE, T. R. A. Water sorption isotherms of starch powders: Part 1: mathematical description of experimental data. **Journal of Food Engineering**, v. 61, p. 297-307, 2004.

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

AOAC, Association of Official Analytical Chemists (1995). **Official Methods of Analysis**. 16. ed. v. I e II.

ARORA, A.; PADUA, G. W. Review: nanocomposites in food packaging. **Journal of Food Science**, v. 75, n. 1, p.43-49, 2010

ASSIS, L. M.; ZAVAREZE, E. R.; PRENTICE-HERNÁNDEZ, C.; SOUZA-SOARES, L. A. Revisão: Características de nanopartículas e potenciais aplicações em alimentos. **Journal of food technology**, Campinas, v. 15, n. 2, p. 99-109, 2012.

ASTM, American Society for Testing and Materials. (1996). **Test methods for tensile properties of thin plastic sheeting – D 882-91**. Annual book of ASTM standards. Philadelphia, ASTM.

AZEREDO H. M. C. Encapsulação: aplicação à tecnologia de alimentos, **Alim. Nutr., Araraquara**, v.16, n. 1, p. 89-97, 2005.

BARROS F.; STRINGHETA P. Microencapsulamento de antocianinas, **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, nº 36, 2006.

BATTESTIN, V.; MATSUDA, L. K.; MACEDO, G. A. Fontes e aplicações de taninos e tanases em alimentos. **Alimentos e nutrição**, p. 63–72, 2004.

BIERHALZ, A. C. K.; SILVA, M. A.; BRAGA, M. E. M.; et al. Effect of calcium and/or barium crosslinking on the physical and antimicrobial properties of natamycin-loaded alginate films. **Food Science and Technology**, v. 57, p. 494-501, 2014.

BILIBIO, D.; ZANOTTO-FILHO, A.; SIMÕES-PIRES, A.; et al. Potential of Total Polyphenols from Barbatimão against Different Reactive Oxygen/Nitrogen Species. **Indian Journal of Advances in Chemical Science**, v. 3, n. 3, p. 260-267, 2015.

BIRCK, C.; DEGOUTIN, S.; MATON, M.; et al. Antimicrobial citric acid/poly (vinyl alcohol) crosslinked films: Effect of cyclodextrin and sodium benzoate on the antimicrobial activity. **Food Science and Technology**, 68, 27-35, 2016.

BODAGHI, H.; MOSTOFI, Y.; OROMIEHIE, A.; et al. Evaluation of the photocatalytic antimicrobial effects of a TiO₂ nanocomposite food packaging film by in vitro and in vivo tests. **LWT - Food Science and Technology**, 50(2), 702-706, 2013

BORGOGNA, M.; BELLICH, B.; ZORZIN, L.; et al. Food microencapsulation of bioactive compounds: Rheological and thermal characterisation of non- conventional gelling system. **Food Chemistry, Barking**, v. 122, n. 2, p. 416–423, 2010.

BOUTERFAS, k.; MEHDADI, Z.; BENMANSOUR, D.; et al. Optimization of extraction conditions of some phenolic compounds from white Horehound (*Marrubium vulgare L.*) leaves. **International Journal of Organic Chemistry**, v. 4, p. 292-308, 2014.

BRANDELERO, R. P. H.; GROSSMANN, M. V.; YAMASHITA, F., 2013. Hidrofilicidade de Filmes de Amido/Poli (Butileno Adipato Co-Tereftalato)(Pbat) Adicionados de Tween 80 e Óleo de Soja. **Polímeros**, v. 23(2), p.270-275.

BRASIL. **Farmacopéia Brasileira**, 5^oed. v. 2, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 2010.

CARVALHO, A. G. S.; MACHADO, M. T. C.; SILVA, V. M.; et al. Physical properties and morphology of spray dried microparticles containing anthocyanins of jussara (*Euterpe edulis Martius*) extract. **Powder Technology**, v. 294, p. 421–428, 2016.

CARVALHO, E.; PÓVOAS, M. J.; MATEUS, N.; et al. Application of flow nephelometry to the analysis of the influence of carbohydrates on protein–tannin interactions. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 86, p. 891–896, 2006.

CHANDRA, R. e RUSTGI, R. Biodegradable polymers. **Progress in Polymer Science**, v.23, n.7, p.1273-1335, 1998.

CHEN, C.H.; KUO, W.S.; LAI, L.S. Development of tapioca starch/decolorized Hsian-Tsao leaf gum-based antimicrobial films: physical characterization and evaluation against *Listeria monocytogenes*. **Food and Bioprocess Technology**, v. 6, p. 1516-1525, 2013.

CHO, S. Y.; RHEE, C. Sorption characteristics of soy protein films and their relation to mechanical properties. **Lebensmittel Wissenschaft und Technologie**, v. 35, p. 151-157, 2002.

CORRÊA, M.P. **Dicionário de plantas úteis do Brasil e das exóticas e cultivadas**. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, p. 590, 1978.

CORTÉS-ROJAS, D. F.; SOUZA, C. R. F.; OLIVEIRA, W. P. Encapsulation of eugenol rich clove extract in solid lipid carriers. **Journal of Food Engineering**, v. 127, p. 34–42, 2014.

COSTA, J. G. M.; LEITE, G. O.; DUBOIS, A. F.; et al. Antioxidant effect of *Stryphnodendron rotundifolium* Martius extracts from Cariri-Ceará State (Brazil): Potential Involvement in its therapeutic use. **Journal Molecules**, v. 17, p. 934-950, 2012.

COSTA, D. F. G.; FRANCA, J. R.; RIBEIRO, T. G.; et al. Development and characterization of polymeric nanoparticles as Barbatimão (*Stryphnodendron obovatum*) standardized fraction carrier. **Advances in Bioscience and Biotechnology**, v. 4, p. 89–92, 2013.

COUTO, L. C.; FORTIN, Y.; DOUCET, J.; et al. Efeito da temperatura de extração no rendimento e no teor de taninos condensados da casaca de barbatimão (*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville. **R. árv.**. Viçosa-MG, v. 23, n 3, p. 333-339, 1999.

DA ROSA, C. G.; BORGES, C. D.; ZAMBIAZI, R. C.; et al. Microencapsulation of gallic acid in chitosan, β -cyclodextrin and xanthan. **Industrial Crops and Products**, v. 46, p. 138–146, 2013.

DAG, D.; KILERCIOGLU, M.; OZTOP, M. H. Physical and chemical characteristics of encapsulated goldenberry (*Physalis peruviana* L.) juice powder. **Food Science and Technology**, v. 83, p. 86–94, 2017.

DAINELLI, D.; GONTARD, N.; SPYROPOULOS, D.; et al. Active and intelligent food packaging: legal aspects and safety concerns. **Trends in Food Science & Technology**, v. 19, Supplement 1, p. 103- 112, 2008.

DENG, Q.; PENNER, M. H.; ZHAO, Y. Chemical composition of dietary fiber and polyphenols of wine grape pomace skins and development of wine grape (cv. Merlot) pomace extract based films. **Food Research International**. p. 2712-2720, 2011.

DIMA, C.; PA, L.; CANTARAGIU, A.; ALEXE, P. The kinetics of the swelling process and the release mechanisms of *Coriandrum sativum* L . essential oil from chitosan / alginate / inulin microcapsules. **Food Chemistry**, v. 195, p. 39–48, 2016.

DO SUL, J. A. I.; COSTA, M. F. The present and future of microplastic pollution in the marine environment. **Environmental Pollution**, v. 185, p. 352-364, 2014.

FAVARO-TRINDADE C.S., PINHO S. C., ROCHA G.A. Revisão: Microencapsulação de ingredientes alimentícios. **Braz. J. Food Technol.**, v. 11, n. 2, p. 103-112, 2008.

FERRI, M.G. Plantas do Brasil: espécies do cerrado. São Paulo: **Edgard Blucher**, p.192, 1969.

FLORES, F. P.; KONG, F. In Vitro Release Kinetics of Microencapsulated Materials and the Effect of the Food Matrix. **Annual Review of Food Science and Technology**. v. 8, p. 237-259, 2017.

FONTANA, A. R., ANTONIOLLI, A., BOTTINI, R. Grape pomace as a sustainable source of bioactive compounds: extraction, characterization, and biotechnological applications of phenolics. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, p. 8987–9003, 2013.

FRITZEN-FREIRE, C. B.; PRUDÊNCIO, E. S.; AMBONI, R. D. M. C.; et al. Microencapsulation of bifidobacteria by spray drying in the presence of prebiotics. **Food Research International**, v. 45, n. 1, p. 306–312, 2012.

GARCÍA-OCHOA, F., SANTOS, V.E., CASAS, J.A., GÓMEZ, E. Xanthan gum: production recovery, and properties. **Biotechnol. Adv.** 18, 549–579, 2000.

GILBERT, B.; FERREIRA, J. L. P.; ALVES, L. F. **Monografias de plantas medicinais brasileiras e aclimatadas**. 1ª ed, Curitiba: Abifito, 250 p. 2005.

GODBILLOT, L.; DOLE, P.; JOLY, C.; et al. Analysis of water binding in starch plasticized films. **Food Chemistry**, v. 96, p. 380–386, 2006.

GOMEZ-ESTACA, J. LÓPEZ-DE-DICASTILHO, C.; HERNÁNDEZ-MUÑOZ, P.; et al. Advances in antioxidant active food packaging. **Trends in Food Science & Technology**, v. 35, p. 42-51, 2014.

GONTARD, N., GUILBERT, S., CUQ, J-L. Water and glycerol as plasticizers affect mechanical and water vapor barrier properties of an edible wheat gluten film. **Journal of Food Science**, v. 58(1), p. 206-211, 1993.

GURAK, P. D.; CABRAL, L. M. C.; ROCHA-LEÃO, M. H. Production of grape juice powder obtained by freeze-drying after concentration by reverse osmosis. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 56, n. 6, p. 1011-1017, 2013.

HARBORNE JB. *Phytochemical Methods: a guide to modern techniques of plant analysis*. London: **Chapman & Hall**, 1988.

HENRIQUE, C. M.; CEREDA, M. P.; SARMENTO, S. B. S. Características físicas de filmes biodegradáveis produzidos a partir de amidos modificados de mandioca. **Food Science and Technology**, v. 28, p. 231-240, 2008.

HO, S.; YIN, Y.; JAMES, D.; FONG, L. LWT - Food Science and Technology Inclusion complexation of catechin by β -cyclodextrins : Characterization and storage stability. **Food Science and Technology**, v. 86, p. 555–565, 2017.

JACOBSON, T. K. B.; GARCIA, J.; SANTOS, S. C.; DUARTE, J. B.; et al. Influencia de fatores edáficos na produção de fenóis totais e taninos de duas espécies de barbatimão (*Stryphnodendron sp.*). **Pesquisa Agropecuária Tropical**, p.163-169, 2005

KALOGEROPOULOS, N.; YANNAKOPOULOU, K.; GIOXARI, A.; et al. Polyphenol characterization and encapsulation in β -cyclodextrin of a flavonoid-rich *Hypericum perforatum* (St John's wort) extract. **Food Science and Technology**, v. 43, n. 6, p. 882-889, 2010.

KUJALA, T. S.; LOPONEN, J. M.; KLIKA, K. D.; et al. Phenolics and betacyanins in red beetroot (*Beta vulgaris*) root: distribution and effect of cold storage on the content of total phenolics and three individual compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, p. 5338-5342, 2000.

LIU, Y.; WEI, S.; LIAO, M.; et al. Self-assembly of glycinin nanoparticles for delivery of phenolic compounds from *Phyllanthus urinaria*. **RSC Advances**, v. 5, n. 8, p. 5533-5541, 2015.

JÚNIOR, A.; FRONZA, N.; FORALOSSO, F. B.; et al. Biodegradable Duo-functional Active Film: Antioxidant and Antimicrobial Actions for the Conservation of Beef. **Food and Bioprocess Technology**, v. 8, p. 75-87, 2015.

LEE, S. J.; UMANO, K.; SHIBAMOTO, T. LEE, K.G. Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum L.*) and thyme leaves (*Thymus vulgaris L.*) and their antioxidant properties. **Food Chemistry, Barking**, v. 91, n. 1, p. 131-137, 2005.

LEE, S. K.; KADER, A. A. Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. **Postharvest biology and technology**, v. 20, n. 3, p. 207-220, 2000).

LI, Y.; GUO, C.; YANG, J.; WEI, J.; XU, J.; CHENG, S. Evaluation of antioxidant properties of pomegranate peel extract in comparison with pomegranate pulp extract. **Food Chemistry, Barking**, v. 96, n. 2, 254–260, 2006.

MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E.; YAMASHITA, F. Filmes de amido: produção, propriedades e potencial de utilização. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 1, p. 137-156, 2010.

MATALANIS, A.; JONES, O. G.; MCCLEMENTS, D. J. Structured biopolymer- based delivery systems for encapsulation, protection, and release of lipophilic compounds. **Food Hydrocolloids**, v.25, n.8, p.1865-1880, 2011.

MANACH, C. SCALBERT, A.; MORAND, C.; et al. Polyphenols: food sources and bioavailability. **American Society for Clinical Nutrition**, v. 79, n. 5, p. 727-747, 2004.

MONAGAS Maria; GÓMEZ-CORDOVÉS Carmen; BARTOLOMÉ Begoña. Evaluation of different *Saccharomyces cerevisiae* strains for red winemaking. Influence on the anthocyanin, pyranoanthocyanin and non-anthocyanin phenolic content and colour characteristics of wines. **Food Chemistry**, v. 104, p. 814–823, 2007.

NORONHA, C. M.; DE CARVALHO, S. M.; LINO, R. C.; BARRETO, P. L. M. Characterization of antioxidant methylcellulose film incorporated with α -tocopherol nanocapsules. **Food Chemistry**, v. 159, p. 529–535, 2014.

NORAJIT, K.; MYONG, K.; HYUNG, G. Comparative studies on the characterization and antioxidant properties of biodegradable alginate films containing ginseng extract. **Journal of Food Engineering**, v. 98, p. 377–384, 2010.

PAPADOPOULOU, V.; KOSMIDIS, K.; VLACHOU, M.; et al. On the use of the Weibull function for the discernment of drug release mechanisms. **International journal of pharmaceutics**, v. 309, p. 44-50, 2006.

PERDOMO, J.; COVA, A.; SANDOVAL, A. J.; et al. Glass transition temperatures and water sorption isotherms of cassava starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 76, p. 305–313, 2009.

PERDONES, Á.; VARGAS, M., ATARÉS, L., ET AL. Physical, antioxidant and antimicrobial properties of chitosan-cinnamon leaf oil films as affected by oleic acid. **Food Hydrocoll**, v.36, p. 256–264, 2014.

PETERSSON, M.; STADING, M. Water vapour permeability and mechanical properties of mixed starch-monoglyceride films and effect of film forming conditions. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v.19, n.2, p.123-132, 2005.

PINHO, E.; GROOTVELD, M.; SOARES, G.; HENRIQUES, M. Cyclodextrins as encapsulation agents for plant bioactive compounds. **Carbohydrate Polymers**, v. 101, n. 1, p. 121–135, 2014.

RAO, G. C. S.; RAMADEVI, K.; SIRISHA, K. Effect of β -cyclodextrin on rheological properties of some viscosity modifiers. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 76, n. 6, p. 545–548, 2014.

RE, R. PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Rad. Biol. Med.**, v. 26, p. 1231-1237, 1999.

RIBEIRO, E. P.; SERAVALLI, E. A. G. Química de alimentos. 1.ed. São Paulo: **Edgard Blücher Ltda**, 184p, 2004.

RIQUELME, N.; HERRERA, M. L.; MATIACEVICHA, S. Active films based on alginate containing lemongrass essential oil encapsulated: Effect of process and storage conditions. **Food and bioproducts processing**, v. 104, p. 94-103, 2017.

ROBERTSON, G. L. Food Packaging: Principles and Practice. **Taylor & Francis**. CRC Press, 3^a edição, 2012.

RUTZ, J. K.; ZAMBIAZI, R. C.; BORGES, C. D.; et al. Microencapsulation of purple Brazilian cherry juice in xanthan, tara gums and xanthan-tara hydrogel matrixes. **Carbohydrate Polymers**, v. 98, n. 2, p. 1256–1265, 2013.

SAÉNZ, C.; TAPIA, S.; CHÁVEZ, J.; ET AL. Microencapsulation by spray drying of bioactive compounds from cactus pear (*Opuntia ficus-indica*). **Food Chemistry**, 114(2), 616-622, 2009.

SANTANA, M.C.C.B. MACHADO, B. A. S.; DA SILVA, T. N.; NUNES, I. L.; DRUZIAN, J. I. Incorporação de Urucum como Aditivo Antioxidante em Embalagens Biodegradáveis a Base de Quitosana. **Ciência Rural**, v.43, n.3, 2013.

SANTOS, A.B., FÁVARO-TRINDADE, C.S., GROSSO, C.R.F.. Preparo e caracterização de microcápsulas de oleoresina de páprica obtidas por atomização. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.25, n.2, p. 322–326, 2005.

SCAPIM, M. R. S (2009). Production, characterization, and application biodegradability of films and starch blends of poly (butylene adipate co-terephthalate) produced by extrusion. **Tese de Doutorado** (Doutorado em Ciência de Alimentos). Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2009.

SHAHIDI, F.; HAN, X. Encapsulation of food ingredients. **Critical review in food science and nutrition**, v.33, n.6, p.501-547. 1993.

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

SILVA, L. A. F.; SILVA, J. A.; LIMA, C. R. O.; DAMBROS, C. E.; CARDOSO, V. S. Uso popular do barbatimão. **In: SILVA, L. A. F.; EURIDES, D.; PAULA, J. R.; LIMA, C. R. O.; MOURA, M. I. Manual do barbatimão**. Goiânia: Kelps., p. 79-85.2010

SINGLETON, V. L.; ROSSI, Joseph A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American journal of Enology and Viticulture**, v. 16, n. 3, p. 144-158, 1965

SIRACUSA, V. ROCCULI, P.; ROMANI, S.; et al. Biodegradable polymers for food packaging: a review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 19, n. 12, p. 634-643, 2008.

SOARES, S. P.; VINHOLIS, A. H. C.; CASEMIRO, L. A.; SILVA, M. L. et al. Antibacterial activity of the crude hydroalcoholic extract of *Stryphnodendron adstringens* on dental caries microorganisms . **Rev. odonto ciênc.** p. 141-144, 2008.

SOBRAL, P. J. A. Influência da espessura de biofilmes feitos à base de proteínas miofibrilares sobre suas propriedades funcionais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, n. 6, 2000.

SOUSA, J. N.; PEDROSO, N. B.; BORGES, L. L.; et al. Optimization of Ultrasound-assisted extraction of polyphenols, tannins and epigallocatechin gallate from barks of *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville bark extracts. **Pharmacognosy Magazine**. v. 10, p. 318-323, 2014.

SOUZA, C. O.; SILVA, L. T.; SILVA, J. R.; LÓPEZ, J.; VEIGA-SANTOS, P.; DRUZIAN, J. I. Mango and acerola pulps as antioxidant additives in cassava starch bio-based film. **Journal agriculture food chemistry**, v.1, n.1, 2011.

SOUZA, T. M.; SEVERI, J. A.; SILVA, V. Y. A. et al. Bioprospecção de atividade antioxidante e antimicrobiana da casca de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (Leguminosae-Mimosoidae). **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 28, n. 2, p. 221-226, 2009.

SOUZA, T. C. (2013). Estabilidade oxidativa da carne de frango pré-cozida contendo bioprodutos do cerrado. **Monografia** (Curso de Medicina Veterinária). Universidade de Brasília , Brasília, 2013.

SPIGNO, G.; TRAMILI, L.; DE FAVERI, D. M. Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. **Journal of Food Engineering**, v. 81, p. 200–208, 2007.

STENCL, J. Modelling the water sorption isotherms of yoghurt powder spray. **Mathematics and computers in simulation**, v. 65, n. 1, p. 157-164, 2004.

STELLA V.J.; RAO M. V.; ZANNOU E.A.; et al. Mechanisms of drug release from cyclodextrin complexes. **Advanced Drug Delivery Reviews, Amsterdam**, v.36, p.3–16, 1999.

STOLL, L.; COSTA, T. M. H.; JABLONSKI, A.; et al. Microencapsulation of anthocyanins with different wall materials and its application in active biodegradable films. **Food and bioprocess technology**, v. 9, n. 1, p. 172-181, 2016.

SZEJTLI, J. Cyclodextrin Technology. **Dordrecht: Kluwer Academic Publishers**, p. 1-185, 1988

SZENTE, L.; SZEJTLI, J. Cyclodextrins as food ingredients. **Trends in Food Science and Technology**, v. 15, p.137–142, 2004.

SWORN, G. Xanthan gum. In: PHILLIPS, G. O.; WILLIAMS, P. A. **Handbook of Hydrocolloids**. New York: CRC Press, p. 103-116, 2000.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 719 p, 2004.

THARANATHAN, R. N. Biodegradable films and composite coatings: past, present and future. **Trends in Food Science & Technology**, v. 14, n. 3, p. 71-78, 2003.

TSIRIGOTIS-MANIECKA, M.; LAMCH, Ł.; CHOJNACKA, I.; GANCARZ, R.; WILK, K. A. Microencapsulation of hesperidin in polyelectrolyte complex microbeads: Physico-chemical evaluation and release behavior. **Journal of Food Engineering journal**, v. 214, p. 104–116, 2017.

TURAK, E. J.; DELLAROSA, N.; TYLEWICZ, U.; et al. The influence of carrier material on some physical and structural properties of carrot juice microcapsules. **Food Chemistry**, v. 236, p. 134–141, 2017.

TURBIANI, F. R. B. (2007) Desenvolvimento e caracterização de filmes ativos de alginato de sódio reticulados com benzoato de cálcio. **Dissertação de Mestrado** (Mestrado em Engenharia Química) Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007.

VASCONCELOS, M. C. A.; RODOVALHO, N. C. M.; POTT, V. J.; et al. Avaliação de atividade biológicas das sementes de *Stryphnodendron obovatum Benth* (Leguminosae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.14, n. 1, p. 121-127, 2004.

VERMEIREN, L.; DEVLIEGHIERE, F.; DEVEBERE, J.. Effectiveness of some recent antimicrobial packaging concepts. **Food Additives and Contaminants**, 19:163-171, 2002.

WANG, J.; CAO, Y.; SUN, B.; WANG, C. Physicochemical and release characterisation of garlic oil- β -cyclodextrin inclusion complexes. **Food Chemistry**, v.127, p.1680-1685, 2011.

WU, X.; XUE, J.; FAN, E. Plant Phenolics Extraction from FlosChrysanthemi: Response Surface MethodologyBased Optimization and the Correlation BetweenExtracts and Free Radical Scavenging ActivityYanfang. **Journal of Food Science**.v. 82, p. 2726-2733, 2017.

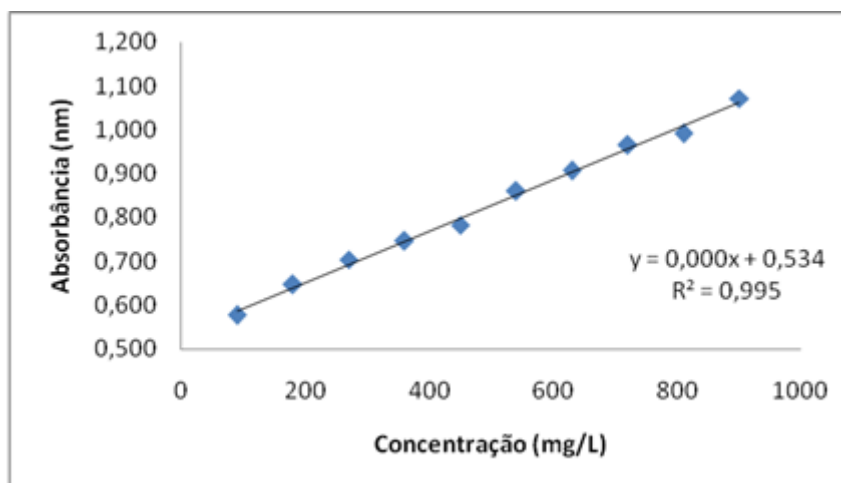
CAPÍTULO 8 ANEXOS

ANEXO 1 – CURVA PADRÃO DE ÁCIDO GÁLICO PARA POLIFENÓIS TOTAIS

Tabela 19 - Concentrações utilizadas e triplicatas de absorvâncias obtidas para a construção da curva padrão de ácido gálico.

Concentração (mg/L)	Absorbância (nm)		
	1	2	3
90	0,57	0,587	0,572
180	0,58	0,68	0,682
270	0,703	0,706	0,703
360	0,747	0,738	0,756
450	0,783	0,788	0,779
540	0,857	0,862	0,859
630	0,907	0,914	0,897
720	0,963	0,967	0,965
810	0,991	0,995	0,989
900	1,071	1,074	1,069

Figura 24 - Curva padrão de ácido gálico utilizada na determinação do teor de polifenóis totais, a 725 nm.



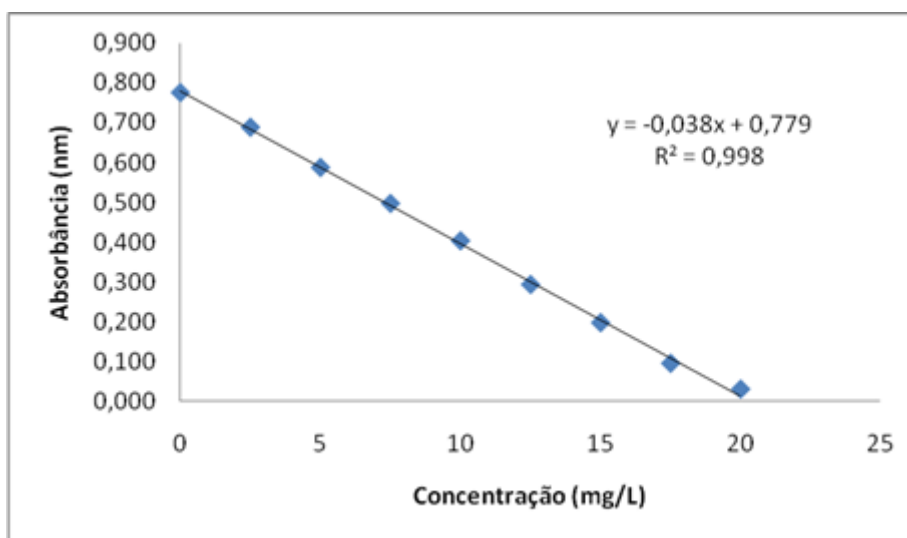
Fonte: Autora.

ANEXO 2 – CURVA PADRÃO DE TROLOX PARA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO DPPH

Tabela 20 - Concentrações utilizadas e triplicatas de absorvâncias obtidas para a construção da curva padrão de trolox da atividade antioxidante pelo método DPPH.

Concentração (mg/L)	Absorbância (nm)		
	1	2	3
0	0,775	0,775	0,777
2,5	0,688	0,69	0,688
5	0,585	0,59	0,588
7,5	0,498	0,496	0,498
10	0,398	0,407	0,405
12,5	0,29	0,297	0,294
15	0,201	0,196	0,196
17,5	0,095	0,094	0,098
20	0,031	0,029	0,032

Figura 25 - Curva padrão de trolox utilizada na determinação de atividade antioxidante pelo método DPPH, a 517 nm.



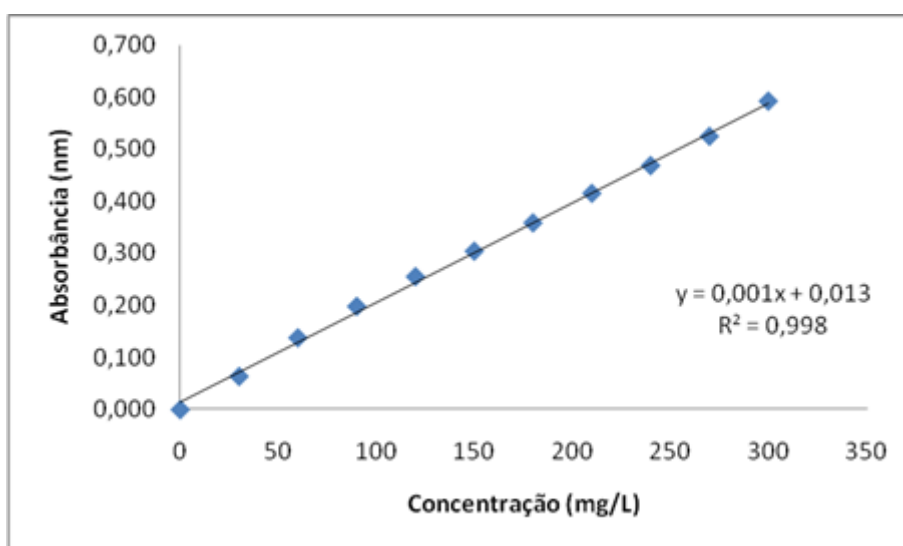
Fonte: Autora.

ANEXO 3 – CURVA PADRÃO DE CATEQUINA PARA TANINOS CONDENSADOS

Tabela 21 - Concentrações utilizadas e triplicatas de absorvâncias obtidas para a construção da curva padrão de catequina.

Concentração (mg/L)	Absorbância (nm)		
	1	2	3
0	0	0	0
30	0,064	0,064	0,063
60	0,146	0,134	0,133
90	0,203	0,198	0,193
120	0,251	0,264	0,25
150	0,304	0,302	0,305
180	0,347	0,358	0,369
210	0,425	0,417	0,402
240	0,481	0,444	0,479
270	0,539	0,535	0,498
300	0,588	0,587	0,599

Figura 26 - Curva padrão de catequina utilizada na determinação de taninos condensados, a 500 nm.



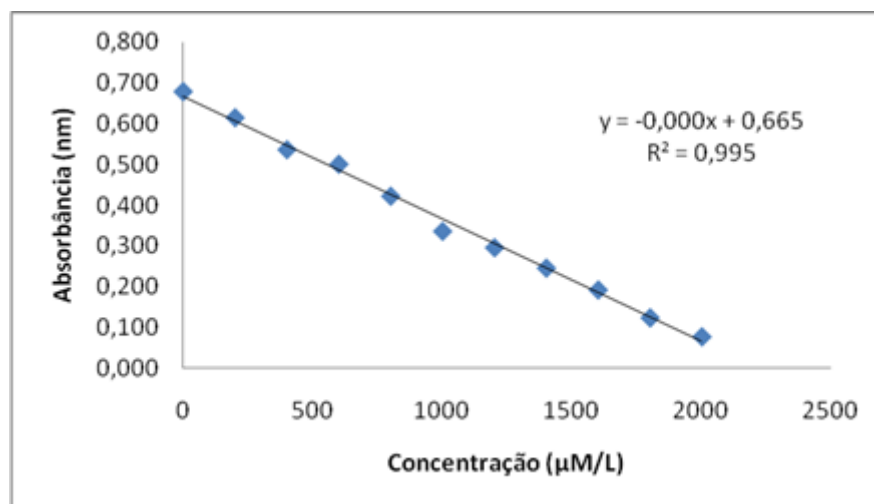
Fonte: Autora.

ANEXO 4 – CURVA PADRÃO DE TROLOX PARA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO ABTS

Tabela 22 - Concentrações utilizadas e triplicatas de absorvâncias obtidas para a construção da curva padrão de trolox da atividade antioxidante pelo método ABTS.

Concentração (μM)	Absorbância (nm)		
	1	2	3
0	0,67	0,684	0,677
200	0,604	0,622	0,614
400	0,532	0,536	0,538
600	0,501	0,5	0,498
800	0,426	0,417	0,422
1000	0,323	0,349	0,336
1200	0,287	0,299	0,302
1400	0,257	0,241	0,24
1600	0,196	0,189	0,193
1800	0,131	0,118	0,125
2000	0,093	0,086	0,056

Figura 27 - Curva padrão de trolox utilizada na determinação de atividade antioxidante pelo método ABTS, a 734 nm.



Fonte: Autora.

ANEXO 5 – VALORES UTILIZADOS PARA A OBTENÇÃO DOS GRÁFICOS DE LIBERAÇÃO DOS COMPOSTOS BIOATIVOS DAS MICROCÁPSULAS

Tabela 23 - Intervalos de tempo e porcentagens de liberação de polifenóis totais das duas formulações de microcápsulas em temperatura de 4 e 25 °C.

Tempo (horas)	4°C		25 °C	
	CD	CD/X	CD	CD/X
0	0	0	0	0
1	88,68	43,33	80,51	38,68
3	93,10	61,90	88,61	59,06
6	91,59	71,08	94,50	59,30
10	92,37	82,99	96,17	69,10
24	95,58	82,99	90,72	92,69
72	97,42	94,51	102,11	91,57
144	94,90	100,78	99,46	95,66
240	103,69	106,12	101,57	102,58
360	96,26	97,67	100,69	93,91
480	97,67	98,98	100,69	94,00

Tabela 24 - Intervalos de tempo e porcentagens de liberação de taninos condensados das duas formulações de microcápsulas em temperatura de 4 e 25 °C.

Tempo (horas)	4°C		25 °C	
	CD	CD/X	CD	CD/X
0	0,00	0,00	0,00	0,00
1	49,20	7,42	42,46	12,41
3	64,91	17,29	67,38	21,26
6	69,09	21,83	70,11	26,93
10	70,93	38,85	70,11	39,98
24	79,09	44,52	80,53	46,90
72	76,64	66,30	80,90	58,13
144	81,54	75,27	81,52	60,29
240	81,03	82,36	84,00	74,02
360	83,78	84,46	83,75	78,33
480	82,35	84,46	84,50	80,90

ANEXO 6 – VALORES UTILIZADOS PARA A OBTENÇÃO DOS GRÁFICOS DE LIBERAÇÃO DOS COMPOSTOS BIOATIVOS DOS FILMES

Tabela 25 - Intervalos de tempo e porcentagens de liberação de polifenóis totais dos três filmes ativos em temperatura de 4 e 25 °C.

Tempo (horas)	4°C			25 °C		
	FCD	FCD/X	FEXT	FCD	FCD/X	FEXT
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
1	64,90	69,42	10,27	93,32	80,54	15,27
3	81,25	79,98	14,97	100,43	98,62	11,86
6	83,76	79,60	6,71	102,40	103,65	14,82
10	86,37	75,39	3,60	106,63	103,32	14,44
24	101,50	97,57	12,70	104,27	105,86	20,88
72	98,45	98,56	9,97	102,62	91,10	18,80
144	97,97	92,76	7,32	97,06	102,99	21,26
240	103,37	101,27	7,24	99,63	99,56	23,46
360	95,46	92,70	5,42	88,94	101,99	21,41
480	99,04	83,52	2,47	94,28	95,74	23,46

Tabela 26 - Intervalos de tempo e porcentagens de liberação de taninos condensados dos três filmes ativos em temperatura de 4 e 25 °C.

Tempo (horas)	4°C			25 °C		
	FCD	FCD/X	FEXT	FCD	FCD/X	FEXT
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
1	56,51	74,74	0,00	102,15	53,29	0,00
3	93,52	75,21	5,84	120,60	100,64	0,00
6	78,25	78,55	0,00	101,85	98,89	0,00
10	75,69	58,21	0,00	121,83	82,05	0,00
24	107,29	109,53	7,93	106,30	82,84	17,00
72	100,14	111,92	22,58	92,16	99,84	27,46
144	119,65	110,33	18,39	96,31	106,20	28,85
240	126,88	120,02	14,21	82,63	80,69	21,88
360	115,80	103,18	12,11	53,10	93,80	23,97
480	99,80	62,50	7,93	55,87	59,01	23,97