



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DOS
ALIMENTOS

**OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE MICROPARTÍCULAS
DE ZEÍNA CARREGADAS COM EXTRATOS
ANTIOXIDANTES DE CASCA DE NOZ-PECÃ [*Carya
illinoensis* (wangenh) C. Koch]**

Florianópolis
2014

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Kureck, Itamara

OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE MICROPARTÍCULAS DE ZEÍNA
CARREGADAS COM EXTRATOS ANTIOXIDANTES DE CASCA DE NOZ-
PECÃ [*Carya illinoensis* (wangenh) C. Koch] / Itamara
Kureck ; orientadora, Jane Mara Block - Florianópolis, SC,
2014.

102 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-
Graduação em Ciência dos Alimentos.

Inclui referências

1. Ciência dos Alimentos. 2. microencapsulação. 3. spray
dryer. 4. antioxidantes. 5. casca de noz-pecã. I. Block,
Jane Mara. II. Universidade Federal de Santa Catarina.
Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos. III.
Titulo.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DOS
ALIMENTOS

ITAMARA KURECK

**OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE MICROPARTÍCULAS
DE ZEÍNA CARREGADAS COM EXTRATOS
ANTIOXIDANTES DE CASCA DE NOZ-PECÃ [*Carya
illinoensis* (wangenh) C. Koch]**

Dissertação submetida ao
Programa de Pós-Graduação em
Ciência e Tecnologia de
Alimentos, da Universidade
Federal de Santa Catarina, como
requisito para obtenção do título de
Mestre em Ciência dos Alimentos.

Orientadora: Professora Jane Mara
Block, Dr^a.

Florianópolis
2014

ITAMARA KURECK

**OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE MICROPARTÍCULAS
DE ZEÍNA CARREGADAS COM EXTRATOS
ANTIOXIDANTES DE CASCA DE NOZ-PECÃ [*Carya
illinoensis* (wangenh) C. Koch]**

Esta Dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de MESTRE EM CIÊNCIA DOS ALIMENTOS e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina.

Florianópolis, 31 de outubro de 2014.

Prof^ª. Jane Mara Block, Dra.

Banca examinadora:

Prof^ª. Edna Regina Amante, Dra
PGCAL/CCA/UFSC

Prof^ª. Sandra Regina Salvador Ferreira, Dra
EQA/CTC/UFSC

Prof^ª. Simone Cardoso, Dra
CIF/CCS/UFSC

Prof^º. Pedro Luiz Manique Barreto, Dr
PGCAL/CCA/UFSC

AGRADECIMENTOS

Á minha mãe, por tudo que fez por mim, por toda a ternura que me dedicou, meu eterno amor e agradecimento. Á minha irmã, a quem considero uma segunda mãe, meu imenso agradecimento pelos incentivos e pelo zelo que sempre existiu por mim.

Á minha orientadora, Jane, a quem tive o imenso prazer em conhecer e contar com a sabedoria, obrigada pela confiança e oportunidade concedida.

Ao professor Pedro, pela colaboração, oportunidade e sabedoria concedidas.

Á equipe do Laboratório de óleos e Gorduras e á secretária da Sociedade Brasileira de óleos e gorduras, pela ajuda e principalmente pela amizade que construímos. Sem vocês essa trajetória não seria tão divertida e prazerosa.

Á todos os professores e equipe de laboratórios envolvidos nesse projeto, meus sinceros agradecimentos pela colaboração.

Ás indústrias Divinut e Triângulo Alimentos pelo fornecimento de amostras.

Á coordenação de aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Só tenho a agradecer a todos àqueles que de alguma forma, acrescentaram e contribuíram para o resultado desse trabalho e a conclusão desta etapa da minha vida.

*“Aqueles que passam por nós, não vão sós, não nos deixam sós.
Deixam um pouco de si, levam um pouco de nós.”*

Antoine de Saint-Exupéry

RESUMO

Este trabalho teve por objetivo produzir e caracterizar micropartículas de zeína carregadas de extratos de casca de noz-pecã [*Carya Illinoensis* (Wangenh) C. Koch] obtidas por *spray-dryer*. Extratos aquosos e hidroalcoólicos de casca de noz-pecã foram obtidos através de extração assistida por ultrassom e a atividade antioxidante dos mesmos foi determinada através das metodologias ABTS e DPPH. Para a microencapsulação dos extratos por *spray dryer* foi utilizado o biopolímero zeína como material de parede e nas formulações com maior rendimento e eficiência de encapsulação foram avaliados a liberação de compostos fenólicos, a densidade, ângulo de contato, a cor através do sistema CIE Lab, o comportamento térmico por *Differential Scanning Calorimeter* (DSC), espectrofotometria no infravermelho (FTIR) e, a morfologia e distribuição de tamanho das partículas por MEV. As micropartículas também foram adicionadas a óleo de palma e girassol e a estabilidade dos mesmos foi avaliada através do *Shaal Oven Test*. Os teores mais significativos ($p < 0,05$) para fenólicos totais, taninos condensados e atividade antioxidante ABTS e DPPH foram observados no extrato hidroalcoólico (275,24mg GAE.g⁻¹; 319,08mg CE.g⁻¹; 1207,62mol TEAC.g⁻¹ e 1191,69 mg TEAC.g⁻¹, respectivamente). As formulações contendo 10g de zeína e 0,4g de extrato aquoso e, 5g zeína e 0,6g de extrato hidroalcoólico apresentaram maior rendimento e eficiência de encapsulação. As micropartículas de zeína com extrato aquoso (MAQ) obtiveram melhor perfil de liberação de compostos fenólicos e menor densidade. A determinação do ângulo de contato indicou que as micropartículas são hidrofóbicas, apesar do núcleo hidrofílico. A análise térmica mostrou que as micropartículas apresentam comportamento amorfo até a temperatura de 200 °C e a análise espectrofotométrica indicou encapsulação dos extratos, com predomínio dos grupamentos da zeína. Através da análise microscópica foi possível observar que as micropartículas apresentaram forma esférica, de superfície lisa, amassada e com concavidades, sem porosidades, fissuras ou fendas. As partículas de zeína com extrato aquoso e hidroalcoólico apresentaram tamanhos médios de 4,93µm e 4,81µm respectivamente, indicando que se encontram na escala micrométrica, sendo a distribuição de tamanho unimodal. Os resultados para o *Shaal Oven Test* indicaram que as micropartículas de zeína com extrato aquoso protegeram melhor o óleo contra as reações de oxidação.

Palavras-chave: casca de noz-pecã, atividade antioxidante, micropartículas, zeína, *spray dryer*.

ABSTRACT

The aim of this study was to produce and characterize zein microparticles loaded with extracts of pecan nut shell [*Carya illinoensis* (Wangenh) C. Koch] obtained by atomization in a spray dryer. The aqueous and hydroalcoholic extracts of pecan nut shell were obtained by ultrasound-assisted extraction (UAE) and their antioxidant activity was determined by the ABTS and DPPH methods. In order to microencapsulate the extract in a spray dryer, zein (a biopolymer) was used as wall material. The following properties were evaluated for the formulations with a higher yield and encapsulation efficiency: release of phenolic compounds, density, contact angle, color (using the CIELAB color system), thermal behavior (using the *Differential Scanning Calorimeter* [DSC]), infrared spectrophotometry [FTIR], and morphology and distribution of particle size by SEM [scanning electron microscope]). The microparticles were also added to palm and sunflower oils, and their stability was determined by the Schaal Oven Test. The most significant contents ($p < 0.05$) for total phenolics, condensed tannins and antioxidant activity obtained by DPPH and ABTS were observed in the hydroalcoholic extract (275,24mg GAE.g⁻¹; 319,08mg CE.g⁻¹; 1207,62mol TEAC.g⁻¹ and 1191,69 mg TEAC.g⁻¹ respectively). Formulations containing 10g of zein and 0.4g of aqueous extract, and 5g of zein and 0.6g of hydroalcoholic extract, showed a higher yield and encapsulation efficiency. Zein microparticles loaded with aqueous extract (MAE) showed a better release profile of phenolic compounds and a lower density. The contact angle found indicated that the microparticles are hydrophobic despite their hydrophilic core. Thermal analysis revealed that the microparticles exhibit an amorphous behavior up to 200°C, and spectrophotometric analysis of the extracts indicated extract encapsulation, with a predominance of chemical groups present in zein. Microscopic analysis made it possible to observe that the microparticles had a spherical shape, with a smooth, depressed, partly concave surface, without pores, fissures or cracks. Zein particles loaded with aqueous and hydroalcoholic extracts had average sizes of 4,93µm and 4,81µm respectively; their size distribution was unimodal.

Keywords: pecan nut shell; antioxidant activity; microparticles; zein; spray dryer.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

CAPÍTULO I

Figura 1. Representação do mecanismo de autoxidação de lipídios insaturados.....	20
Figura 2. Formação de hidroperóxidos por fotoxidação.....	21
Figura 3. Mecanismo de ação dos antioxidantes primários.....	23
Figura 4. Estrutura química dos principais ácidos benzóicos.....	25
Figura 5. Estrutura química dos principais ácidos cinâmicos.....	25
Figura 6. Nogueira (A), Noz-pecã com casca (B), Nozes descascadas (C), Cascas de noz-pecã (D).....	26
Figura 7. Estrutura química dos compostos fenólicos encontrados na casca de noz-pecã.....	28
Figura 8. Estrutura química dos principais antioxidantes sintéticos: BHA – Butil hidroxianisol, BHT – Butil hidroxitolueno, PG – Galato de propila e TBHQ – terc-butilhidroxiquinona.....	29
Figura 9. Alguns modelos de encapsulação.....	33
Figura 10. Corte longitudinal de um grão de milho.....	36
Figura 11. Diagrama da sequência de aminoácidos das zeínas Z19 e Z22.....	37
Figura 12. <i>Spray Dryer</i> de laboratório.....	38
Figura 13. Ilustração esquemática da liberação de compostos ativos no sistema de micropartículas.....	40
Figura 14. Representação esquemática do sistema DSC.....	43

CAPÍTULO II

Figura 1. Perfil de liberação de compostos fenólicos das MAL e MAQ ao longo de 19 dias.....	76
Figura 2. Curvas de DSC para a zeína pura, MAL, MAQ, extratos aquoso e hidroalcoólico da casca de noz-pecã.....	81
Figura 3. Espectro FTIR da zeína, extrato hidroalcoólico, MAL, extrato aquoso e MAQ.....	83
Figura 4. Micrografias da zeína pura (A) e extratos hidroalcoólico (B) e aquoso (C) da casca de noz-pecã.....	85
Figura 5. Micrografias das micropartículas de zeína contendo extrato hidroalcoólico (A) e extrato aquoso (B) de casca de noz-pecã.....	86
Figura 6. Distribuição de tamanho das micropartículas de zeína contendo extrato aquoso (MAQ) e extrato hidroalcoólico (MAL) da casca de noz-pecã.....	88
Figura 7. Gráfico cumulativo das micropartículas de zeína com extratos aquoso (MAQ) e hidroalcoólico (MAL) da casca de noz-pecã.....	89

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

Tabela 1. Classes de compostos fenólicos presentes em plantas.....24

Tabela 2. Efeito dos parâmetros do polímero e dos parâmetros da cápsula em relação à permeabilidade da coroa.....35

CAPITULO II

Tabela 1. Níveis codificados e distribuição de experimentos para realização no *spray dryer*.....64

Tabela 2. Teor de compostos fenólicos totais, taninos condensados e capacidade antioxidante nos extratos aquoso e hidroalcoólico de casca de noz-pecã.....71

Tabela 3. Rendimento do processo de secagem por *spray dryer*.....73

Tabela 4. Resultados de extração superficial, extração total e eficiência de encapsulação das micropartículas de zeína com extrato aquoso (AQ) e hidroalcoólico (AL).....74

Tabela 5. Análise instrumental da cor das micropartículas de zeína contendo extrato aquoso (MAQ), micropartículas de zeína contendo extrato hidroalcoólico (MAL), extrato aquoso, extrato hidroalcoólico e zeína pura.....77

Tabela 6. Valores de volume e densidade para as micropartículas, extratos e zeína.....78

Tabela 7. Resultados para o ângulo de contato, energia livre superficial total, dispersiva e polar utilizando o modelos de Owens-Wendt.....79

Tabela 8. Distribuição de frequência por faixas de tamanho das micropartículas de zeína contendo extrato aquoso (MAQ) e hidroalcoólico (MAL).....89

Tabela 9. Determinação do índice de peróxidos, ao longo de 14 dias, na avaliação da liberação de compostos bioativos presentes nas micropartículas contendo extratos aquoso e hidroalcoólico de casca de noz-pecã em óleos de girassol e palma.....91

SUMÁRIO

1 Introdução.....	14
2 Objetivos.....	17
2.1 Objetivo Geral.....	17
2.2 Objetivos Específicos.....	17
CAPÍTULO I.....	18
1 Revisão bibliográfica.....	18
1.1 Lipídios.....	18
1.2 Oxidação de óleos e gorduras.....	19
1.2.1 Autooxidação.....	19
1.2.2 Fotooxidação.....	21
1.2.3 Oxidação Enzimática.....	21
1.3 Antioxidantes.....	22
1.3.1 Compostos fenólicos.....	23
1.3.1.1 Casca de noz-pecã.....	26
1.3.2 Antioxidantes sintéticos.....	28
1.4 Método de obtenção de extratos naturais com atividade antioxidante.....	31
1.4.1 Extração aquosa.....	31
1.4.2 Extração alcoólica.....	32
1.4.3 Extração assistida por ultrassom.....	32
1.5 Microencapsulação de antioxidantes.....	33
1.5.1 Encapsulação.....	33
1.5.1.1 Zeína.....	35
1.5.2 Secagem em <i>Spray Dryer</i>	37
1.6 Caracterização das micropartículas obtidas.....	39
1.6.1 Rendimento de obtenção do processo.....	39
1.6.2 Eficiência de encapsulação.....	39
1.6.3 Liberação.....	40
1.6.4 Análise de cor.....	40
1.6.5 Densidade.....	41
1.6.6 Ângulo de contato.....	42
1.6.7 Calorimetria exploratória diferencial (DSC).....	42
1.6.8 Análise espectrofotométrica no infravermelho (FTIR).....	43
1.6.9 Morfologia e distribuição de tamanho.....	44
1.6.10 Aplicação em óleo vegetal e análise de <i>Shaal Oven Test</i>	44
2 Referências.....	45
CAPÍTULO II.....	57
1 Introdução.....	58
2 Material e métodos.....	60

2.1 Matéria Prima.....	60
2.2 Procedimento Experimental.....	61
2.2.1 Obtenção do pó da casca de noz-pecã para o preparo dos extratos.....	61
2.2.2 Obtenção dos extratos (aquoso e hidroalcoólico) de casca de noz-pecã.....	61
2.2.2.1 Compostos fenólicos totais.....	62
2.2.2.2 Atividade antioxidante.....	62
2.2.2.3 Taninos condensados.....	63
2.2.3 Formulação das micropartículas de zeína com extratos de casca de noz-pecã.....	64
2.2.3.1 Planejamento experimental.....	64
2.2.3.2 Microencapsulação por <i>Spray Dryer</i>	65
2.2.4 Caracterização das micropartículas obtidas.....	65
2.2.4.1 Rendimento de obtenção do processo.....	65
2.2.4.2 Eficiência de encapsulação.....	65
2.2.4.3 Liberação.....	67
2.2.4.4 Análise de cor.....	67
2.2.4.5 Densidade.....	67
2.2.4.6 Ângulo de contato.....	68
2.2.4.7 Análise térmica por calorimetria exploratória diferencial (DSC).....	69
2.2.4.8 Análise espectrofotométrica no infravermelho (FTIR).....	70
2.2.4.9 Morfologia e tamanho das micropartículas.....	70
2.2.4.10 Aplicação das micropartículas em óleo vegetal e análise de <i>Shaal Oven Test</i>	70
2.2.5 Análise estatística.....	71
3 Resultados e discussão.....	71
3.1 Compostos fenólicos totais, taninos condensados e atividade antioxidante (ABTS e DPPH).....	71
3.2 Rendimento de obtenção do processo.....	73
3.3 Eficiência de encapsulação.....	74
3.4 Liberação.....	75
3.5 Análise de cor.....	77
3.6 Densidade.....	78
3.7 Ângulo de contato.....	79
3.8 Análise térmica por calorimetria exploratória diferencial (DSC).....	80
3.9 Análise espectrofotométrica no infravermelho (FTIR).....	82
3.10 Morfologia.....	84
3.10.1 Distribuição de tamanho.....	87

3.11 Aplicação das micropartículas em óleo vegetal e análise de <i>Shaal Oven Test</i>	90
4 Conclusão.....	93
5 Agradecimentos.....	94
6 Referências.....	95

INTRODUÇÃO

Reações de oxidação em lipídios são espontâneas e podem prejudicar a qualidade sensorial dos alimentos, implicando no valor comercial dos produtos e em efeitos indesejáveis à saúde humana (NAWAR, 1993; SILVA, BORGES e FERREIRA, 1998; DEL RÉ e JORGE, 2012).

O uso de antioxidantes é capaz de estender a qualidade dos produtos retardando a oxidação. Existem os antioxidantes sintéticos, amplamente utilizados, e desde os anos 80 há o interesse em encontrar antioxidantes naturais a fim de substituir os sintéticos, que devem ser restringidos devido ao potencial de toxicidade (DEGÁSPARI e WASZCZYNSKYJ, 2004). Segundo Del Ré e Jorge (2012), a adição de extratos de plantas de diferentes tipos e formas pode evitar a deterioração oxidativa em vários sistemas. Entre os extratos estudados pode-se citar: sálvia, orégano, manjerição (ZHENG e WANG, 2001), genipapo, umbu, siriguela (OMENA et al., 2012), alfarroba (ROSEIRO et al., 2013), casca da árvore de erva mate (PRUDÊNCIO et al., 2012) e casca de noz-pecã (PRADO et al., 2013).

A noz-pecã é comercializada descascada, gerando uma grande quantidade de cascas que são usadas como combustível de caldeira ou comercializadas para o preparo de chá. Sabe-se que as cascas possuem maior quantidade de fenólicos totais e taninos condensados do que as nozes e os extratos obtidos a partir das mesmas apresentam elevada capacidade antioxidante (VILLARREAL-LOZOYA et al., 2007; PRADO et al., 2013). A motivação deste trabalho é o aproveitamento da casca de noz-pecã, resíduo industrial, para a extração de compostos antioxidantes naturais e viabilização do uso em alimentos em troca de antioxidantes sintéticos.

A infusão das cascas a 100 °C é capaz de extrair os compostos fenólicos da casca de noz-pecã e torná-los disponíveis para o consumo (PRADO et al., 2009; RECKZIEGEL et al., 2011; MULLER et al., 2013). A infusão de misturas de variedades de casca de noz-pecã analisada por Prado et al. (2013) apresentaram alta capacidade antioxidante (1723,6 $\mu\text{g}/\text{g}^{-1}$ de equivalentes em Trolox), teores significativos de fenólicos totais (145,41 mg/g^{-1} de equivalentes de ácido gálico) e de taninos condensados (39,9 mg/g^{-1} de catequinas equivalentes). Resultados semelhantes foram obtidos por Villarreal-Lozoya et al. (2007). Na medicina popular o chá de casca de noz-pecã é empregado para efeito diurético, digestivo, desintoxicante e hipocolesterolêmico (DIVINUT, 2013). Assim como a extração aquosa,

a extração alcoólica é uma alternativa simples e eficiente para extrair compostos fenólicos de vegetais tais como: arruda, camomila, macela, alcachofra, erva-mate, tanchagem, malva, sálvia, capim-limão, alecrim (ASOLINI et al., 2006), cravo (MAZZAFERA, 2003) entre outros.

A extração assistida por ultrassom é um método simples, barato, com baixo gasto de energia, capaz de extrair com eficiência compostos bioativos de plantas, como por exemplo, os compostos fenólicos, cafeína e aminoácidos (Xia, Shan e Wan, 2006; VILKHU et al., 2008; WANG et al, 2011; AWAD et al., 2012). Devido a isto, neste trabalho utilizou-se a infusão e extração hidroalcoólica assistidas por ultrassom com a finalidade de otimizar o processo de extração de compostos bioativos da casca de noz-pecã variedade Barton e superar os valores encontrados na literatura para a infusão simples, diferenciando este estudo dos demais realizados até o presente.

Contudo os compostos fenólicos são instáveis e facilmente oxidáveis, havendo a necessidade de proteger estes compostos ativos do calor, umidade e aumentar sua estabilidade e viabilidade de uso (GIBBS et al., 1999; CARVALHO, GOSMANN e SCHENKEL, 2003; REBELLO, 2009). A encapsulação dos extratos ricos em compostos fenólicos pode ser uma alternativa viável para que sejam protegidos e as propriedades antioxidantes mantidas, otimizando e viabilizando seu uso em alimentos (GIBBS et al., 1999; REBELLO, 2009).

A encapsulação pode ser descrita como o empacotamento de uma substância ativa (enzimas, pigmentos, nutrientes), considerada o núcleo da cápsula (REBELLO, 2009). A parte externa ao núcleo, chamada de coroa, é formada por um polímero ou uma mistura de polímeros que recobrirão o núcleo (KARSA e STEPHENSON, 1993). O polímero de encapsulação pode ter origem natural, semissintética ou sintética (FINCH, 1993).

A escolha do polímero encapsulante está intimamente ligada à qualidade das cápsulas e dependerá da finalidade, devendo promover a liberação controlada da substância ativa no meio desejado (FINCH, 1993). Um exemplo de polímero natural para encapsulação de substâncias ativas e formação de micropartículas por spray dryer é a zeína, uma prolamina presente no endosperma do milho (HOSENEY, 1991; QUISPE-CONDORI, SALDAÑA E TEMELLI, 2011; XUE et al., 2013). A zeína é um biopolímero, natural e como encapsulante dos extratos de casca de noz-pecã, condiz com a proposta de obtenção de um antioxidante natural.

As micropartículas com compostos antioxidantes são de grande interesse tanto na farmacologia quanto na tecnologia de alimentos, já

que desta forma os compostos ativos ficam protegidos do meio circundante e não sofrem degradação por meio da ação de catalisadores oxidantes como a luz, o calor e enzimas, ampliando-se a uma gama de possibilidade de emprego como antioxidante natural (CARVALHO, GOSMANN e SCHENKEL, 2003; PASIN, AZÓN e GARRIGA, 2012). Em alimentos com elevado teor de ácidos graxos insaturados o uso de micropartículas antioxidantes pode prolongar e manter a qualidade sensorial, as propriedades nutricionais e benéficas à saúde por um período maior de tempo (WANASUNDARA e SHAHIDI, 2005; PASIN, AZÓN e GARRIGA, 2012; PRADO et al., 2013). Dessa forma, este trabalho teve como objetivo produzir e caracterizar micropartículas de zeína com extratos de casca de noz- pecã [*Carya Illinoensis* (Wangenh) C. Koch] obtidas por *spray-dryer*. As micropartículas obtidas foram adicionadas a óleos de palma e girassol e a estabilidade oxidativa dos mesmos foi determinada pelo Shaal Oven Test.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Produzir e caracterizar micropartículas de zeína com extratos de casca de noz-pecã [*Carya Illinoensis* (Wangenh) C. Koch] obtidas por *spray-dryer*.

2.2 Objetivos Específicos

- Obter extratos de casca de noz-pecã (variedade Barton) através do método de infusão aquosa e hidroalcoólica assistidos por ultrassom.
- Determinar os compostos fenólicos totais, a atividade antioxidante e taninos condensados nos extratos obtidos.
- Produzir micropartículas de zeína por atomização em *spray dryer*.
- Determinar através do rendimento do processo e da eficiência da encapsulação a melhor formulação para cada extrato.
- Analisar o perfil de liberação dos extratos microencapsulados.
- Caracterizar as micropartículas através da análise de cor, densidade, ângulo de contato, análise térmica utilizando DSC (*Differential Scanning Calorimetry*) e FTIR (*Fourier transform infrared spectroscopy*).
- Caracterizar as micropartículas em relação ao tamanho e morfologia por meio de microscopia eletrônica de varredura (MEV).
- Verificar a capacidade antioxidante das micropartículas obtidas adicionando-as em óleo de soja e palma, e comparar com a adição de um antioxidante sintético (TBHQ tercbutilhidroquinona) através do *Schaal Oven Test*.

CAPÍTULO I

1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 LIPÍDIOS

Os lipídios podem ser de origem animal, vegetal ou microbiana e têm como característica comum o fato de serem hidrofóbicos (NAWAR, 1993; MORETO e FETT, 1998). Representam a maior fonte de energia do organismo, uma vez que cada grama de lipídio fornece aproximadamente 9 kcal, que comparado a um grama de carboidrato ou proteína representa pouco mais que o dobro de energia fornecida (BOBBIO e BOBBIO, 1989; REGITANO-D'ARCE, 2006; BLOCK e BARRERA-ARELLANO, 2012).

Além da função energética, os lipídios promovem a sensação de saciedade, tornam os alimentos mais apetitosos, e são necessários para promover a absorção de vitaminas lipossolúveis e carotenóides. Devido às funções biológicas essenciais, o *Institute of Medicine* (2002) adequa a ingestão de lipídeos e outros macronutrientes através da *Acceptable macronutrient distribution range* – AMDR, expressa em percentual pela *Dietary Reference Intakes* – DRIS, propondo que para a ingestão normal de adultos, deve-se atingir de 20 a 35% do total calórico da dieta em lipídios. As principais fontes de lipídios na dieta são provenientes da carne bovina, frango, produtos lácteos, pescados, oleaginosas, cereais, óleos e gorduras vegetais (KIRCSCHENBAUER, 1964; BOBBIO e BOBBIO, 1989; ZILLER et al., 1994; CUPPARI et al., 2005).

Os lipídios mais amplamente distribuídos na natureza são os óleos e gorduras, compostos predominantemente de triglicerídios e diferindo entre si principalmente pela composição em ácidos graxos e pelo ponto de fusão. São classificados segundo sua estrutura química em simples (ceras, acilgliceróis, ácidos graxos), compostos (fosfolipídios, esfingolipídios) e derivados (carotenoides, esteróides, vitaminas lipossolúveis); ou ainda, podem ser classificados devido a presença ou ausência de ácidos graxos em saponificáveis e insaponificáveis respectivamente, critério mais utilizado na análise de óleos (ZILLER et al., 1994; TURATTI, GOMES e ATHIÉ, 2002; REGITANO-D'ARCE, 2006; COZZOLINO e SANT'ANA, 2009).

Os ácidos graxos são ácidos alifáticos monocarboxílicos que podem ser liberados mediante a hidrólise de qualquer produto natural que os contenha. Classificam-se segundo suas

características estruturais e grau de saturação, podendo ser saturados, quando contém apenas ligações carbono-carbono simples; monoinsaturados (Monounsaturated Fatty - MUFA) quando apresentam apenas uma dupla ligação; e poliinsaturados (Polyunsaturated Fatty Acid – PUFA) quando possuem duas ou mais duplas ligações entre carbonos. O número de ligações insaturadas está relacionado a probabilidade do ácido graxo sofrer oxidação, quanto maior o número de insaturações maior a suscetibilidade à oxidação (NAWAR, 1993; ZILLER et al., 1994; SCRIMGEOUR, 2005).

1.2 OXIDAÇÃO DE ÓLEOS E GORDURAS

A oxidação lipídica é um fenômeno espontâneo e inevitável, com uma implicação direta no valor comercial dos ácidos graxos, assim como, dos produtos que a partir deles foram formulados (SILVA, BORGES e FERREIRA, 1998;). As reações de oxidação podem prejudicar a qualidade organoléptica e nutricional dos alimentos, uma vez que alguns produtos da oxidação apresentam toxicidade. Em determinados casos a reação de oxidação é considerada benéfica uma vez que atribui aromas e sabores característicos, como no caso de alguns queijos e frituras (NAWAR, 1993; MORETTO e FETT, 1998). Nos óleos e gorduras a oxidação ocorre nos ácidos graxos insaturados pela abstração do hidrogênio adjacente a dupla ligação (ZILLER et al., 1994; SCRIMGEOUR, 2005).

A reação de oxidação gera produtos primários e secundários que levam à rancidez. A rancidez, depois da deterioração microbiana, é a causa mais importante da deterioração de alimentos. Ocorre em compostos lipídicos e resulta no desenvolvimento de odores e sabores indesejáveis. A formação de compostos organolepticamente detectáveis decorrentes da oxidação dos lipídios nos alimentos pode ocorrer por autooxidação, fotooxidação e oxidação enzimática, sendo favorecida primordialmente pela presença de oxigênio (REGITANO-D'ARCE, 2006).

1.2.1 Autooxidação

O principal modo de oxidação dos óleos e gorduras se dá pela reação com o oxigênio do ar, ou autooxidação. Esta é uma reação em cadeia que ocorre por um mecanismo de radicais livres e é catalisada pela presença de calor, luz, metais pesados, número de insaturações e até mesmo devido a outros radicais livres. A autooxidação é caracterizada

1.2.2 Fotoxidação

Na fotoxidação há a formação de uma espécie de oxigênio mais reativa, o oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$) que está envolvido na fase de iniciação da autoxidação. O oxigênio atmosférico encontra-se em estado triplete ($^3\text{O}_2$) e é incapaz de reagir com as ligações insaturadas entre os carbonos dos hidróxidos e peróxidos que se encontram em estado singlete, fato que não obedece a lei de conservação do spin e impede a reação entre eles (NAWAR, 1993).

O mecanismo de fotoxidação de gorduras insaturadas é promovido pela radiação ultravioleta em presença de pigmentos naturais e corantes fotossensibilizadores: clorofila, mioglobina, riboflavina, hematoporfirina, eritrosina, azul metileno; que absorvem a energia luminosa de comprimento de onda na faixa do visível tornando-se eletronicamente excitados. Os sensibilizadores excitados transferem energia para o oxigênio triplete e geram o estado singlete (SILVA, BORGES e FERREIRA, 1999; RAMALHO e JORGE, 2005; SCRIMGEOUR, 2005; WANASUNDARA e SHAHIDI, 2005). O oxigênio em estado singlete é mais eletrofílico quando comparado ao triplete, portanto pode reagir mais rapidamente com zonas de densidade eletrônica alta, como no caso das ligações insaturadas entre carbonos (NAWAR, 1993). Desta forma pode ocorrer uma segunda via de fotoxidação, onde o oxigênio singlete age diretamente nas insaturações dos ácidos graxos gerando hidroperóxidos (Figura 2) que por sua vez serão degradados e vão originar aldeídos, álcoois e hidrocarbonetos (WANASUNDARA e SHAHIDI, 2005; RAMALHO e JORGE, 2005).

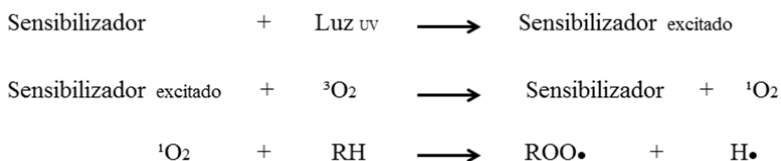


Figura 2. Formação de hidroperóxidos por fotoxidação.

Fonte: Wanasundara e Shahidi (2005).

1.2.3 Oxidação enzimática

Outro modo de oxidação lipídica se dá por via enzimática, através da ação da lipoxigenase. Esta enzima catalisa a adição de

oxigênio na cadeia hidrocarbonada poliinsaturada, formando peróxidos e hidroperóxidos que poderão se envolver em diferentes reações degradativas. A ação da lipoxigenase está relacionada com sua capacidade para co-oxidar substratos, sendo responsável pela iniciação de outros processos oxidativos (SILVA, BORGES e FERREIRA, 1999; RAMALHO e JORGE, 2005). A lipólise altera a qualidade das gorduras, reduzindo o ponto de fumaça e resultando em sabor e odor indesejáveis (RIBEIRO e SERAVALLI., 2007).

1.3 ANTIOXIDANTES

Os antioxidantes são substâncias caracterizadas como aditivos alimentares, que empregados em baixa concentração preservam o alimento, retardando a deterioração e rancidez causadas pela oxidação lipídica. O uso de antioxidantes como aditivo alimentar tem como objetivo manter a qualidade do alimento e estender sua vida de prateleira. Um antioxidante não melhora a qualidade do alimento e não evita a rancidez (MORETTO e FETT, 1998; WANASUNDARA e SHAHIDI, 2005).

Os antioxidantes são utilizados como quelantes ou sequestrantes de radicais livres formados nas etapas de iniciação e propagação da autooxidação. Baixas concentrações de antioxidantes, naturais ou sintéticos, são capazes de competir com as moléculas de lipídios como doadores de hidrogênio para radicais alcoxi e hidroperoxi, produzindo hidroperóxidos, alcoóis e um radical não reativo. Estes radicais estabilizados não iniciam ou propagam a reação em cadeia (SCRIMGOUR, 2005).

Os antioxidantes são classificados de acordo com o mecanismo de ação em antioxidantes primários e secundários. Os primários devido a sua natureza química são capazes de agir diretamente nos receptores de radicais livres e retardar a etapa de iniciação ou interromper a propagação nas reações de autooxidação. O antioxidante primário (AH) reage com o lipídio e com radicais peroxi ($ROO\bullet$), convertendo-os em moléculas mais estáveis, derivados de lipídios e radicais antioxidantes ($A\bullet$), como pode ser observado na Figura 3. O butilhidroxianisol - BHA, butilhidroxitolueno - BHT, o terc butil hidroquinona - TBHQ e os galatos apresentam ação antioxidante primária (WANASUNDARA e SHAHIDI, 2005).

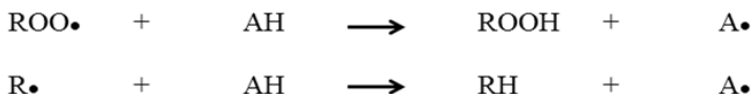


Figura 3. Mecanismo de ação dos antioxidantes primários.

Fonte: Wanasundara e Shahidi (2005).

Os antioxidantes secundários se diferenciam dos primários por não converter os radicais livres em moléculas estáveis, mas agir como quelantes de íons metálicos pró-oxidantes, fornecendo hidrogênio para os antioxidantes primários e decompondo os hidroperóxidos em espécies não reativas. Além disso podem também absorver radiação ultravioleta, e atuar como sequestrantes de oxigênio, aumentando muitas vezes a atividade antioxidante dos primários (WANASUNDARA e SHAHIDI, 2005).

Com relação a origem os antioxidantes podem ser classificados como naturais ou sintéticos. O crescente interesse por antioxidantes naturais tem fomentado a pesquisa sobre fontes vegetais, caracterização e identificação de novos compostos antioxidantes. Exemplo disto são as pesquisas relacionadas aos extratos de especiarias, folhas, sementes, cascas ricos em compostos fenólicos como o alecrim, manjerição, orégano, sálvia e tomilho. Estes extratos são ricos em compostos como diterpenos fenólicos, ácidos fenólicos e fenilpropanóides (DEL RÉ e JORGE, 2012; WANASUNDARA e SHAHIDI, 2005; VILLAREAL-LOZOYA, LOMBARDINI e CISNEROS-ZEVALLOS, 2006; PRADO et al., 2013).

Na indústria de alimentos os carotenóides, tocoferóis, tocotrienos e o ácido ascórbico e outros compostos fenólicos de plantas, estão entre os antioxidantes naturais mais empregados, sendo que muitos destes fitoquímicos, além de apresentarem significativa capacidade antioxidante, estão associados à baixa mortalidade por incidência de câncer em humanos, viabilizando a relação entre tecnologia e saúde (DEGÁSPARI e WASZCZYNSKYJ, 2004; WANASUNDARA e SHAHIDI, 2005).

1.3.1 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos possuem pelo menos um anel aromático no qual, ao menos, um hidrogênio é substituído por um grupamento hidroxila (CARVALHO, GOSMANN e SCHENKEL, 2003). São amplamente encontrados em plantas e têm sido associados a múltiplos

efeitos biológicos, incluindo atividade antioxidante (KÄHKÖNEN et al., 1999; BALASUNDRAM, SUNDRAN e SAMMAN, 2006). São doadores de hidrogênio ou elétrons e sua eficácia como antioxidante está relacionada com a estabilidade relativa de seus radicais intermediários devido à ressonância e a falta de posições adequadas na estrutura para ataque do oxigênio molecular (RIBEIRO e SERAVALLI, 2007).

Os compostos fenólicos podem ser caracterizados em classes, segundo o tipo do esqueleto principal, como demonstra a Tabela 1, onde C6 corresponde ao anel benzênico e CX à cadeia substituinte com X átomos de carbono.

Tabela 1. Classes de compostos fenólicos presentes em plantas.

Classes	Estrutura
Fenólicos simples, <u>Benzoquinonas</u>	C6
Ácidos hidroxibenzóicos	C6-C1
Acetofenonas, <u>Ácidos fenilacéticos</u>	C6-C2
Ácidos hidroxicinâmicos, <u>Fenilpropanóides</u>	C6-C3
Naftoquinonas	C6-C4
Xantonas	C6-C1-C6
Estilbenos, Antraquinonas	C6-C2-C6
Flavonóides, Isoflavonóides	C6-C3-C6
Lignanas, Neolignanas	(C6-C3) <u>2</u>
Diflavonóides	(C6-C3-C6) <u>2</u>
Ligninas	(C6-C3)n
Taninos condensados	(C6-C3-C6)n

Fonte: Adaptado de Balasundram, Sundram e Samman, (2006).

Há também outro tipo de classificação dos compostos fenólicos, relacionada com a ocorrência no reino vegetal, podendo ser: compostos fenólicos amplamente distribuídos, como os derivados de ácidos benzóicos (Figura 4) e de ácidos cinâmicos (Figura 5), cumarinas, flavonóides, e derivados de polimerização (taninos e ligninas); ou

compostos fenólicos de distribuição restrita (CARVALHO, GOSMANN e SCHENKEL, 2003).

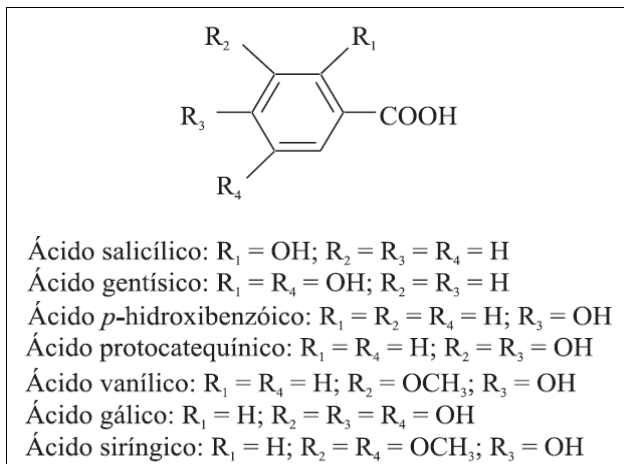


Figura 4. Estrutura química dos principais ácidos benzóicos.
Fonte: Ramalho e Jorge (2006).

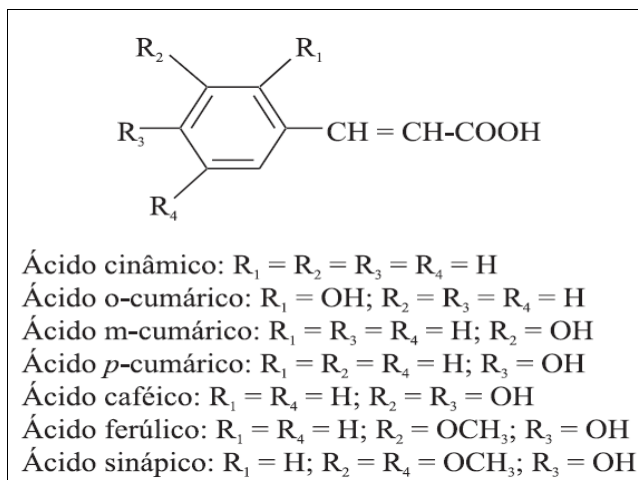


Figura 5. Estrutura química dos principais ácidos cinâmicos.
Fonte: Ramalho e Jorge (2006).

A maior parte dos compostos fenólicos não é encontrada no estado livre na natureza, e sim sob forma de ésteres ou de heterosídeos, assim, são compostos solúveis em água e em solventes orgânicos polares. Desta forma, podem ser extraídos por extração aquosa e etanólica, sendo recomendado evitar valores de pH extremos e altas temperaturas, já que estes compostos são frágeis e facilmente oxidáveis através da influência de metais, luz, calor, enzimas vegetais ou mesmo pelo meio alcalino (CARVALHO, GOSMANN e SCHENKEL, 2003).

1.3.1.1 Casca de noz-pecã

As cascas da noz-pecã são subprodutos do processo industrial da retirada das nozes [*Carya illinoensis* (Wangenh) K. Koch] e representam boa parte da massa total da oleaginosa. Na Figura 6 podem ser observados: a noqueira, nozes pecã com casca, nozes descascadas e cascas de noz-pecã.



Figura 6. Nogueira (A), Noz-pecã com casca (B), Nozes descascadas (C), Cascas de noz-pecã (D).

Fonte: Sanchez (2013), Shemesh (2013), Sica (2010), Whittlesey (2013).

De acordo com Prado et al. (2013) as cascas de noz-pecã em geral apresentam entre 44,8 e 49,8% de fibra bruta; 34,3 e 41,4% de carboidratos; 7,9 e 11,8% de umidade; 2,2 e 2,8% de proteína; 0,9 e 1,85% de minerais e, entre 0,3 – 0,9% de lipídios totais. Variações dos valores de composição podem ser influenciadas pela variedade, maturação da noz e localização geográfica da noqueira (SINGANUSONG et al., 2003).

A casca de noz-pecã apresenta significante atividade antioxidante (média de 487 mg/g de equivalentes em Trolox), associada a teores representativos de compostos fenólicos totais (cerca de 448 mg/g de equivalentes de ácido clorogênico) e de taninos condensados (aproximadamente 634 mg/g de catequinas equivalentes) (VILLARREAL- LOZOYA, LOMBARDINI, CISNEROS-ZEVALLOS, 2007). A ação antioxidante da casca de noz-pecã foi observada também nos estudos de Prado et al. (2009a) em extração sequencial de extratos de casca de noz-pecã e de Prado et al. (2009b, 2013) referente a infusão da casca.

Entre os compostos fenólicos identificados na casca de noz-pecã estão o ácido gálico, ácido clorogênico, ácido p-hidroxibenzoico, epigalocatequina e epicatequina galato (PRADO, 2013), cujas estruturas estão apresentadas na Figura 7.

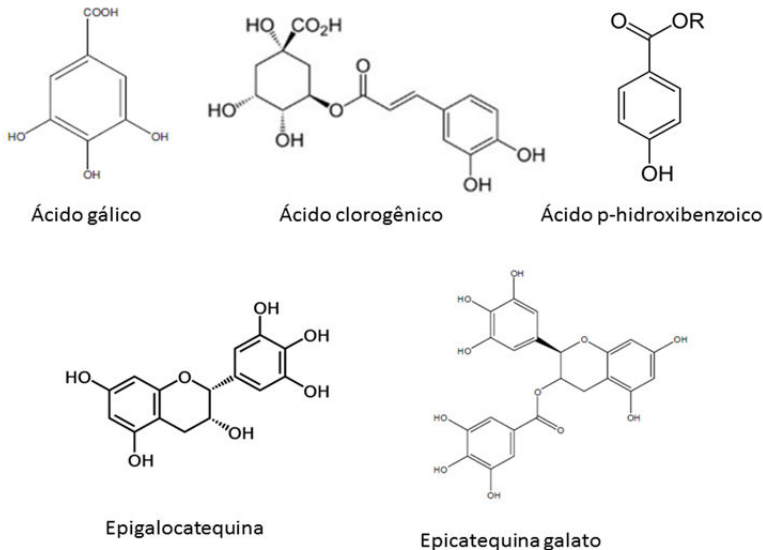


Figura 7. Estrutura química dos compostos fenólicos encontrados na casca de noz-pecã

Fonte: Brewer (2011); Borneman, Gokmen e Nijhuis (2001); Gramza e Korczak (2005); Heleno et al. (2013).

Na medicina popular e fitoterápica, o chá da casca de noz-pecã é utilizado como diurético, digestivo, desintoxicante, hipocolesterolêmico (Divinut, 2013), e até mesmo, como indutor de êmese e vermífugo (BALMÉ, 1978). Além disto, o extrato de casca de noz-pecã, rico em antioxidantes, demonstra efeito hepatoprotetor na ação do álcool (MULLER et al., 2013); capacidade de prevenir e reverter desordens extrapiramidais como a discinesia orofacial, evitando catalepsia em ratos (TREVIZOL et al., 2011); e pode reduzir em cérebros de ratos a toxicidade do fumo passivo (RECKZIEGEL et al., 2011).

1.3.2 Antioxidantes sintéticos

Os antioxidantes de origem sintética apresentam estrutura fenólica e a estrutura química dos mais utilizados na indústria de alimentos pode ser observada na Figura 8.

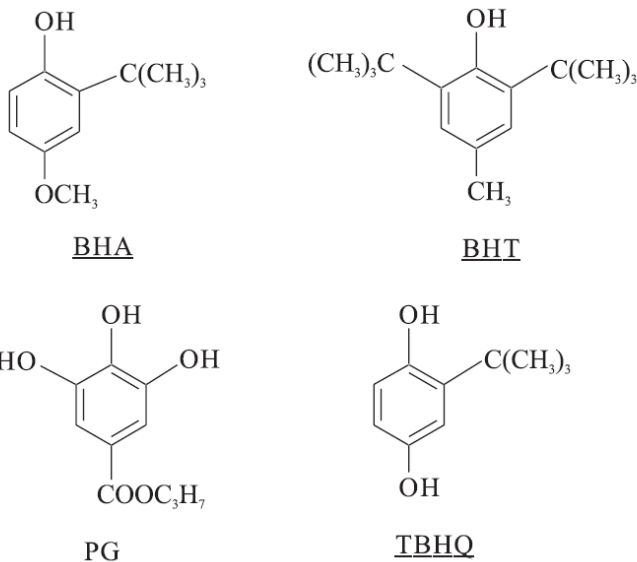


Figura 8. Estrutura química dos principais antioxidantes sintéticos: BHA – Butil hidroxianisol, BHT – Butil hidroxitolueno, PG – Galato de propila e TBHQ – terc-butilhidroxiquinona.

Fonte: Ramalho e Jorge (2006).

O butil hidroxianisol (BHA) é uma mistura de isômeros 2- e 3-do terc-butil-4-metoxifenol e comercialmente possui 90% deste composto. É um sólido branco, ceroso, altamente solúvel em óleos e gorduras, insolúvel em água, volátil e destilável no vapor. Mas, apesar de sua solubilidade em óleo e em solventes orgânicos, quando utilizado em óleos vegetais, apresenta pouca atividade antioxidante, devido principalmente à presença de antioxidantes naturais. Sua eficiência está relacionada aos produtos processados e as gorduras animais, tendo efeito aumentando quando usado em consonância com o galato de propila e com o butil hidroxitolueno (REGITANO-D'ARCE, 2006; RIBEIRO e SERAVALLI, 2007).

O BHA possui boa sinergia com o Butil hidroxitolueno (BHT) ou 2,6-diterciário-butil-4-metilfenol, um fenol sólido cristalino, considerado o antioxidante mais ativo em gorduras animais. Resiste a altas temperaturas, mas não tanto quanto o BHA, o que limita seu uso em processos de frituras ou em altas temperaturas (REGITANO-D'ARCE, 2006; RIBEIRO e SERAVALLI, 2007).

Por sua vez, o BHT não possui boa sinergia com o Galato de propila (PG), antioxidante com eficiência atribuída devido a estrutura de trihidroxila (3,4,5 trihidroxi benzoico). Apresenta solubilidade em água, o que difere seu uso do BHA, BHT e TBHQ. Perde sua eficiência sob condições abruptas de temperatura e em meio básico, formando compostos escuros com íons metálicos, fato que serviu para minimizar seu uso em óleos vegetais e atualmente, mudar sua formulação, sendo misturados em quelantes de metais para evitar esses inconvenientes (REGITANO-D'ARCE, 2006; RIBEIRO e SERAVALLI, 2007).

O consumo e o uso no processamento de alimentos dos óleos vegetais poliinsaturados, altamente suscetíveis a oxidação, fez com que houvesse a necessidade de um composto antioxidante mais potente, o Terc-butilhidroquinona (TBHQ). O TBHQ apresenta melhor resposta antioxidante que os anteriores, e é considerado o mais eficiente dos antioxidantes primários. Sua ação potencializada ocorre devido a estrutura dihidroxila e a ausência de impedimento estérico. É um sólido branco cristalino, resistente a altas temperaturas, com moderada solubilidade em óleo e muito baixa solubilidade em água, o que pode comprometer sua eficiência em emulsões, contudo, garante sua eficácia em frituras e alimentos assados (REGITANO-D'ARCE, 2006).

Os antioxidantes sintéticos são aditivos alimentares que tem seu uso aprovado em alimentos dentro de um limite de ingestão diária; sendo assim, estão sujeitos a legislações específicas de cada país ou por normas internacionais (TAKEMOTO, FILHO e GODOY, 2009). A Norma Geral do Codex Alimentarius (2011) para os aditivos alimentares (CODEX STAN 192-1995) permite um nível máximo de 100mg/kg de produto dos antioxidantes sintéticos: BHA e BHT. No Brasil, as legislações vigentes permitem a adição em óleos e gorduras de BHA e TBHQ em um nível máximo de 200mg/kg; e de BHT e PG no limite de 100mg/kg (BRASIL, 1988).

O emprego de antioxidantes sintéticos na indústria de alimentos tem sido alvo de questionamentos quanto a inocuidade, demonstrando a possibilidade destes componentes apresentarem efeitos adversos (ALTMANN et al., 1985; ALTMANN et al., 1986; BAUER et al., 2001). Associa-se a utilização do antioxidante BHA ao aumento do nível de gorduras e colesterol plasmático; a ingestão de BHT a erupções cutâneas; o PG a possível causa de irritação gástrica; e tem-se observado atividade cancerígena do TBHQ em animais (CALIL e AGUIAR, 1999).

Considerando a associação dos sintéticos à possíveis efeitos negativos a saúde, surgiu uma nova demanda de consumidores e uma

consequente linha de pesquisa dirigida ao uso dos antioxidantes naturais, permitindo assim a substituição total ou associada, a fim de reduzir a quantidade dos sintéticos nos alimentos (WANASUNDARA e SHAHIDI, 2005; RAMALHO e JORGE, 2006).

1.4 MÉTODO DE OBTENÇÃO DE EXTRATOS NATURAIS COM ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Segundo Xu et al. (2010) há cinco fatores que interferem na extração de compostos fenólicos: os meios de extração, repetições de extração (extração sequencial), solventes de extração, granulometrias de amostra e métodos de moagem. Selecionando adequadamente um procedimento de extração pode-se aumentar a concentração do composto antioxidante. Para a extração de polifenóis, são utilizadas três técnicas de extração: a extração por solventes, extração em fase sólida e extração com fluido supercrítico (BREWER, 2011). Além destes métodos, a infusão assistida por ultrassom (XIA, SHI E WAN, 2006), a extração sequencial por ultrassom (XU et al., 2010) e a infusão (PRADO et al., 2009, 2013) apresentam eficiência para extração de compostos fenólicos de extratos vegetais.

1.4.1 Extração aquosa

Entre os métodos utilizados para a obtenção de extratos naturais está a extração aquosa. A extração aquosa com o uso de água quente é também chamada de infusão. Esta técnica é utilizada para extrair compostos ativos de ervas e também para o preparo de chás, onde folhas, flores, raízes, cascas ou outras partes da planta são cortadas ou esmiuçadas, vertendo-se, sobre elas, água fervente. O recipiente normalmente é fechado e deixa-se o material em infusão por em média um quarto de hora. Podendo ser coado ou filtrado ao final (BALMÉ, 1978).

A extração aquosa é considerada uma técnica eficiente para a extração de compostos fenólicos originados de plantas (LIMA et al., 2004; ROESLER et al., 2007; BROENZI et al., 2007; PRUDÊNCIO et al., 2012, PRADO et al., 2013). Extratos de frutas, ervas, legumes, cereais e outros materiais vegetais ricos em fenólicos são de grande interesse na indústria alimentar, já que, possuem ação de retardar a degradação oxidativa dos lipídios e, assim, podem melhorar a qualidade e o valor nutricional de alimentos (KÄHKÖNEN et al., 1999).

1.4.2 Extração alcoólica

A extração alcoólica é um método de extração amplamente empregado, em que o solvente utilizado é o álcool. Pode ser feita diretamente por simples percolação, ou em aparelhos de extração contínua. O resíduo obtido desta extração é chamado extrato alcoólico o qual, representa um elemento importante na avaliação de óleos voláteis, essências e etc. (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985).

A extração alcoólica é um método simples e eficaz capaz de obter compostos fenólicos de vegetais tais como: arruda, camomila, macela, alcachofra, erva-mate, tanchagem, malva, sálvia, capim-limão, alecrim (ASOLINI et al., 2006), cravo (MAZZAFERA, 2003); e também de flavonoides presente no própolis (LONGHINI et al., 2007).

1.4.3 Extração assistida por ultrassom

A extração por ultrassom, ou sonicação, é um preparo de amostra relativamente rápido, onde se utiliza a vibração ultrassônica para assegurar um contato íntimo entre a amostra e o solvente (KOU e MITRA, 2003).

É um processo considerado simples, barato e de baixo consumo de energia, e devido a isto, tornou-se uma tecnologia emergente para modificação de produtos alimentares. A alta frequência e baixo consumo de energia de ultrassom é utilizado para o monitoramento não invasivo da composição e propriedades físico-químicas dos componentes alimentares e de produtos durante o processamento e armazenamento, como por exemplo no controle de qualidade de vegetais frescos, alimentos congelados, pães, cereais, detecção de adulteração em mel entre outros; enquanto que a baixa frequência e consequente alta potência de ultrassom induz alterações mecânicas, físicas e químicas/bioquímicas através da cavitação, que pode ser utilizada em operações de processamento de alimentos como a extração, congelamento, secagem, emulsificação e inativação de bactérias patogênicas (AWAD et al., 2012). Além da potência e da frequência, a eficiência do processo de extração é influenciada pela temperatura e tempo de sonicação (WANG et al., 2011).

Uma das maiores aplicações da extração assistida por ultrassom se dá pelo fenômeno da cavitação, utilizado para facilitar o processo de extração de uma gama de componentes alimentares, presentes em plantas, óleos, proteínas e polissacarídeos; bem como ingredientes bioativos, como os antioxidantes a partir de plantas e recursos animais

(VILKHU et al., 2008; WANG et al., 2011). A cavitação resulta em rendimento elevado de material extraído e taxa rápida de extração (VILKHU et al., 2008).

1.5 MICROENCAPSULAÇÃO DE ANTIOXIDANTES

1.5.1 Encapsulação

A encapsulação é o processo de empacotamento de compostos ativos (nutrientes, enzimas, pigmentos, aditivos, compostos de sabor) no estado sólido, líquido ou gasoso, em cápsulas extremamente pequenas, as quais podem liberar o conteúdo de forma controlada e sob condições específicas (REBELLO, 2009). Desta forma, estes compostos ativos encapsulados podem ser protegidos do calor, umidade ou outras condições extremas, aumentando assim sua estabilidade e viabilidade de uso (GIBBS et al., 1999).

O material encapsulado é chamado de recheio ou núcleo, e o material que forma a cápsula é o encapsulante, coroa, cobertura ou parede (KARSA e STEPHENSON, 1993; AZEREDO, 2005). As partículas são denominadas conforme o tamanho: maior que 5000 μm são macropartículas; de 0,2 a 5000 μm são micropartículas; e abaixo de 0,2 μm são consideradas nanopartículas (BACKER apud REBELLO, 2009). O termo encapsulação engloba desde micropartículas a microcápsulas, podendo ter um ou mais núcleos, ou várias paredes para um mesmo núcleo, a Figura 9 ilustra alguns modelos de encapsulação.

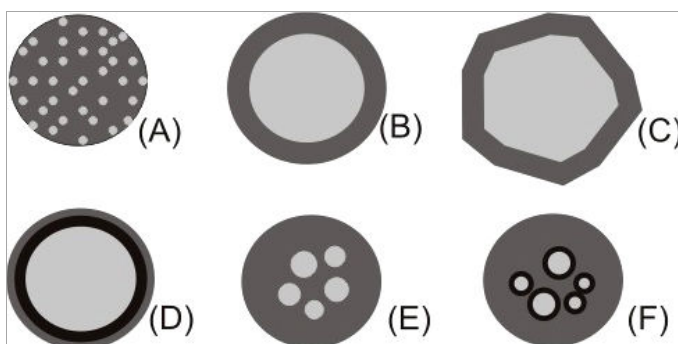


Figura 9. Alguns modelos de encapsulação. (A): matriz; (B): microcápsula simples; (C): microcápsula simples e irregular; (D): duas paredes; (E): vários núcleos; (F): agrupamento de microcápsulas.

Fonte: Azeredo (2005).

A maioria das aplicações de compostos ativos microencapsulados requerem uma vida de prateleira indefinida, seguida pela liberação do núcleo em condições específicas. A performance das micropartículas, tanto na vida de prateleira como na taxa de liberação do núcleo, depende significativamente da permeabilidade do polímero utilizado na parede da cápsula (FINCH, 1993).

Estes polímeros podem ser de origem natural (proteínas, carboidratos, ceras), semi-sintética (ésteres de celulose, derivados de ácidos graxos) ou sintética (vinil, poliamidas, poliésteres, resinas), para este fim, devem ter propriedades de formação de filme. Muitas vezes são utilizadas misturas de polímeros, a escolha dependerá da finalidade das cápsulas. Para uso farmacêutico ou em alimentos, os polímeros devem ser comestíveis; já em certas aplicações farmacológicas o polímero deverá ser fisiologicamente aceitável e biodegradável (FINCH, 1993).

A permeabilidade das cápsulas está intimamente relacionada com a natureza do polímero da coroa e pelos parâmetros e geometria da cápsula, como se observa na Tabela 2. O tamanho das cápsulas pode ser influenciado por fatores como: a viscosidade e a quantidade de fase orgânica e/ou aquosa; taxa de agitação; conteúdo de sólidos na fase orgânica; e o perfil da temperatura e do pH durante a produção. A soma destes efeitos afetarão na qualidade final das cápsulas (FINCH, 1993).

Tabela 2. Efeito dos parâmetros do polímero e dos parâmetros da cápsula em relação à permeabilidade da coroa.

Parâmetro do Polímero	Efeito na permeabilidade
Aumento da densidade	Reduz
Aumento da cristalinidade	Reduz
Aumento no grau de <i>cross-linking</i>	Reduz
Aumento da plasticidade	Aumento
Aumento do preenchimento	Possível aumento
Parâmetro da Cápsula	Efeito na permeabilidade
Tamanho maior	Reduz
Aumento da espessura da parede	Reduz
Pós-tratamento	Reduz
Formação de parede múltipla	Reduz
Variação na dispersão do tamanho	Varia

Fonte: Finch (1993).

1.5.2 Zeína

O grão do milho é composto por quatro partes principais: casca e fibra, germe, endosperma e pedículo (HOSENEY, 1991), como demonstra a Figura 10.

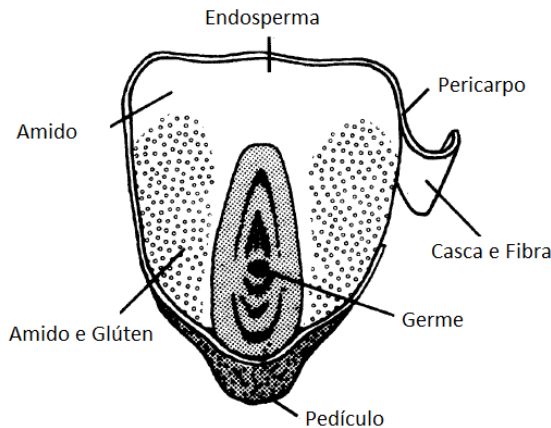


Figura 10. Corte longitudinal de um grão de milho.

Fonte: Shukla e Cheryan, 2001.

O endosperma é a parte do milho onde se encontram as proteínas, que compõem cerca de 6% do grão (HOSENEY, 1991; TACO, 2006). As proteínas do milho são constituídas de aproximadamente 20% de globulinas e albuminas (proteínas solúveis em água ou solução salina), 40% de prolaminas (proteínas insolúveis em água e solúveis em álcool 70%) e 40% do endosperma de glutelinas (proteínas insolúveis em água e álcool) (HOSENEY, 1991; BICUDO et al., 2006).

A zeína, ou também popularmente chamada “glúten do milho” determina a dureza no milho e se classifica como prolamina devido à solubilidade em álcool (HOSENEY, 1991; SHUKLA e CHERYAN, 2001; POMERANZ, 1987). A maioria das glutelinas tornam-se solúveis em álcool após redução das ligações dissulfeto, e devido a isto, e por semelhanças de sequência e composição de aminoácidos, também têm sido classificadas como zeínas, assim são denominadas as zeínas totais, que representam cerca de 80% das proteínas do milho (BICUDO et al., 2006).

As zeínas tem pouco valor nutricional por serem pobres em aminoácidos essenciais e por serem ricas em resíduos de aminoácidos apolares (leucina, prolina, alanina, glicina, valina e outros) é insolúvel em água, o que limita o uso na alimentação humana (SHUKLA e CHERYAN, 2001).

As zeínas são constituídas de frações classificadas de acordo com sua massa relativa e solubilidade, como zeínas α , γ , β e δ (BICUDO et al., 2006; FORATO et al., 2012). A zeína α é a mais abundante (75 a 85% das zeínas totais) e compreendem as proteínas de 19kDa (Z19) e 22 kDa (Z22), sendo que a eletroforese da fração solúvel em álcool apresenta bandas variando de 19-22 kDa (Z19) e de 22-26 kDa (Z22), de acordo com a Figura 11. Essas proteínas têm domínios não repetitivos nos terminais carboxi e amino e repetições homólogas na região central (BICUDO et al., 2006).

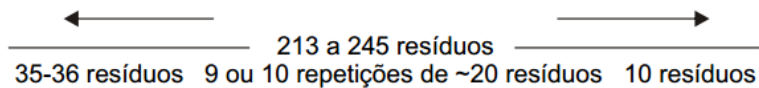


Figura 11. Diagrama da sequência de aminoácidos das zeínas Z19 e Z22.

Fonte: Forato, 2000 apud Bicudo et al., 2006.

A zeína é biodegradável, sendo uma boa opção em vista de polímeros sintéticos plásticos e derivados do petróleo, além disso, possui propriedades de formação de filme, resistência a gorduras, boas propriedades de barreira a gases atmosféricos e solubilidade, e é eficiente na encapsulação e proteção da oxidação de compostos ativos (BECK et al., 1996). Devido a isto, desde a década de 20 se estudam as possibilidades de uso da zeína como biopolímero industrial (SHUKLA e CHERYAN, 2001).

Sendo assim, o uso da zeína tem sido relatado por vários autores como polímero carreador de substâncias ativas no desenvolvimento de filmes (ARCAN E YEMENICIOĞLU, 2011), micropartículas por spray dryer (QUISPE-CONDORI, SALDAÑA E TEMELLI, 2011; XUE et al., 2013) e nanopartículas (LUO et al., 2010; LUO et al., 2011; CHAVEZ, 2013; ZOU et al., 2013).

1.1.1 Atomização em Spray Dryer

O Spray dryer é considerado uma etapa rápida, contínua e barata, largamente utilizado na química, bioquímica, farmácia e em indústria de alimentos para secar e encapsular substâncias (TEWES et al., 2006; KISSEL et al., 2006).

Neste processo, uma solução aquosa contendo o material do núcleo e da coroa, é atomizada em ar quente cumprindo três etapas: (i) atomização do líquido, (ii) contato do líquido atomizado com o ar quente, (iii) separação do produto seco do ar de secagem (FINCH, 1993; TEWES et al., 2006). As etapas ocorrem no percurso pelo equipamento, observado na Figura 12.

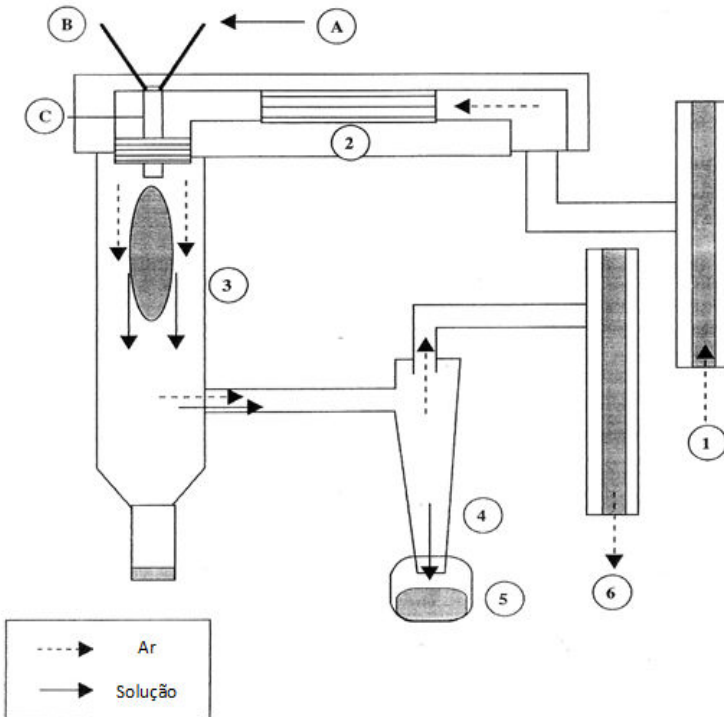


Figura 12. Spray Dryer de laboratório: (1) entrada do ar seco + filtração; (2) aquecimento; (3) câmara de dessecação; (4) ciclone; (5) coletor de microesferas secas; (6) filtração + saída de ar; (A) solução, suspensão, emulsão para o spray; (B) compressão ou nitrogênio; e (C) bico.

Fonte: Kissel et al. (2006).

Há uma gama de sistemas de atomização e podem ser classificados de acordo com o tipo de bico em: atomizador rotativo, atomizador pressurizado e bico de dois fluidos. A seleção do atomizador afeta no tamanho da partícula, o atomizador rotativo por discos pode ser utilizado em amostras muito viscosas e devido a isto, forma

microesferas maiores de 200 μm , já o atomizador com bocal de dois fluidos é capaz de produzir micropartículas com diâmetro inferior a 10 μm (KISSEL et al., 2006).

O processo de spray dryer quando aplicado para a produção de micropartículas por spray de misturas líquidas complexas pode conter um princípio ativo dissolvido ou disperso em uma solução orgânica ou aquosa de polímeros (TEWES et al., 2006). A qualidade da microencapsulação por spray dryer pode variar devido ao material do núcleo e da coroa, e é dependente da concentração, viscosidade e temperatura da solução inicial. A temperatura empregada no spray deve assegurar a não desnaturação do composto ativo que está sendo encapsulado (FINCH, 1993).

1.6 CARACTERIZAÇÃO DAS MICROPARTÍCULAS OBTIDAS

1.6.1 Rendimento de obtenção do processo

O rendimento é determinado através da razão entre a massa das micropartículas pela massa total utilizada na alimentação do spray dryer. Através deste cálculo pode-se basear a perda de componentes durante o processo, e estimar um fator de correção (MAYYA, BHATTACHARYYA e ARGILLIER, 2003; QUISPE-CONDORI, SALDAÑA e TEMELLI, 2011).

1.6.2 Eficiência de encapsulação

A eficiência de encapsulação é dada através da razão entre o composto ativo presente na superfície da partícula pela quantidade total de ativo, presente dentro e fora da partícula (VELASCO et al., 2006; QUISPE-CONDORI, SALDAÑA e TEMELLI, 2011).

Para obter a quantidade total de composto ativo é preciso abrir as partículas com solvente. Já para a determinação da fração não encapsulada, o composto ativo superficial, é necessário realizar a lavagem das partículas (QUISPE-CONDORI, SALDAÑA e TEMELLI, 2011). A quantificação destes teores é realizada por espectrofotômetro.

1.6.3 Liberação

Na microencapsulação um composto ativo é incorporado a uma matriz. A liberação do composto ativo é influenciada por uma série de fatores, tais como o coeficiente de difusão, a carga e solubilidade do composto ativo, a área de superfície da partícula, a espessura da camada formada pela matriz e fatores relacionados à forma. Além disso, algumas propriedades do composto ativo, como a solubilidade e valor do pK devem se relacionar com as propriedades do meio para que possa haver a difusão (YANG e WASHINGTON, 2006).

A liberação de um composto ativo no sistema de microencapsulação ocorre quando o líquido do meio adentra as micropartículas e dissolve o composto ativo, carregando-o para fora da matriz, conforme esquematiza a Figura 13.

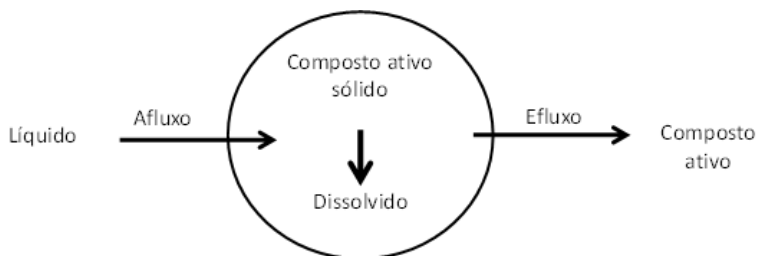


Figura 13. Ilustração esquemática da liberação de compostos ativos no sistema de micropartículas.

Fonte: (YANG e WASHINGTON, 2006).

Os testes de liberação de micropartículas avaliam a quantidade de composto ativo liberado em um determinado tempo. A liberação pode ser avaliada em diversos sistemas, dependendo do núcleo utilizado e da finalidade, pode se dar, por exemplo, através de digestão a pH ácido (TAYLOR et al., 2009), *in vitro* através de bolsas de diálise (LUO et al., 2010), por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) (XUE et al., 2013), e por controle da liberação de compostos fenólicos (ARCAN E YEMENICIOĞLU, 2011).

1.6.4 Análise de cor

A cor é um importante atributo de qualidade em alimentos e pode determinar a aceitabilidade do produto pelos consumidores,

embora não reflita necessariamente, valores nutricionais, funcionais ou de sabor (SAHIN e SUMNU, 2006; SILVA et al., 2007).

A cor de um material se torna visível apenas quando a luz de um objeto ou fonte luminosa ilumina ou atinge a superfície. Quando a luz interage com a matéria, certos comprimentos de onda na região visível podem ser transmitidos ou refletidos, e as radiações resultantes em comprimentos de onda diferentes são percebidos pelo olho humano em forma de cores (SAHIN e SUMNU, 2006).

Os instrumentos para a medição de cores são classificados em dois tipos: espectrofotômetros e colorímetros. O espectrofotômetro permite medir a reflexão ou absorção para cada comprimento de onda, sem no entanto, efetuar o cálculo. Para facilitar os cálculos dos métodos espectrofotométricos, posteriormente foi criado o colorímetro, que dispõe de três componentes principais: fonte de iluminação, combinação de filtros e um detector fotoelétrico (SAHIN e SUMNU, 2006).

O método CIELAB oferece mais vantagens sobre o sistema de cores CIE, por se tratar de um método mais uniforme e baseado em cores mais úteis e aceitáveis, através da teoria das cores opostas. A localização de qualquer cor no espaço de cor CIELAB é determinada por suas coordenadas de cor: L^* diferença de luz ($L^*=100=luz$) e ($L^*=0=escuro$); o componente a^* representa a diferença entre o verde ($-a^*$) e vermelho ($+a^*$); o componente b^* representa a diferença entre azul ($-b^*$) e amarelo ($+b^*$) (SAHIN e SUMNU, 2006).

1.6.5 Densidade

A qualidade de materiais alimentares pode ser avaliada através da densidade, esses dados são necessários nos processos de separação, tais como centrifugação e decantação, e no pneumático e transporte hidráulico de pó e partículas no caso de alimentos sólidos. Além disto, nos líquidos, a medição da densidade é importante para determinar a energia necessária para o bombeamento (SAHIN e SUMNU, 2006).

A densidade pode ser calculada através da medida da massa e do volume do objeto e é definida como a massa por unidade de volume. No sistema internacional, a unidade de densidade é kg/m^3 (SAHIN e SUMNU, 2006).

A determinação da densidade pode ser medida por vários aparelhos, sendo os mais utilizados: balança de Westphal, densímetros e picnômetros (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985).

A chamada densidade de partículas é considerada a densidade de uma partícula que não tenha sido modificada estruturalmente e inclui

o volume de todos os poros. O volume da partícula pode ser determinado por picnometro a gás, e obtém-se a densidade dividindo o peso da amostra pelo volume resultante (SAHIN e SUMNU, 2006). Os picnometros dão resultados precisos e são construídos e graduados de modo a permitir a pesagem de volumes exatamente iguais a uma dada temperatura (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985).

1.6.6 Ângulo de contato

O ângulo de contato, ou ângulo de molhabilidade, pode ser medido através de um goniômetro e representa o valor em graus que uma determinada substância líquida forma com a superfície. Este instrumento é constituído por uma fonte de luz e um telescópio. Ao ver a queda através do telescópio, o ângulo de contato é medido (SAHIN e SUMNU, 2006; SILVA et al., 2007).

Medir o ângulo de contato pode caracterizar as micropartículas quanto à capacidade de molhamento. Quando o ângulo se situar entre 0° e 90° , pode-se considerar que a superfície é molhada pelo líquido, ou seja, é hidrofílica; porém se o ângulo estiver entre 90° e 180° , considera-se que o líquido não molha o sólido, caracterizando uma superfície hidrofóbica (MOITA NETO, 2006 apud IOST e RAETANO, 2011).

Através dos ângulos de contato, pode-se calcular através do modelo de Owens Wendt a energia livre superficial e suas componentes polar e dispersiva. Através destes resultados é possível caracterizar a hidrofobicidade ou hidrofílicidade da amostra, e calcular a energia livre superficial total, representada pela soma das componentes polar e dispersiva (OWENS e WENDT, 1969).

1.6.7 Calorimetria exploratória diferencial - DSC

A calorimetria exploratória diferencial é uma ferramenta excelente para a medição de transições de fase de calor e de características específicas dependentes de temperatura (SAHIN e SUMNU, 2006).

A medição é feita pelo aquecimento da amostra a uma taxa conhecida e fixa. Depois de alcançado o equilíbrio dinâmico de aquecimento, o fluxo de calor é registrado em função da temperatura. Este fluxo de calor é diretamente proporcional ao calor específico da amostra (SAHIN e SUMNU, 2006).

Uma célula de medição de DSC consiste de um forno e um sensor integrado com posições designadas para os cadinhos de

amostra e referência. Esta célula esta acoplada a um computador com um software que irá gerar os picos dos processos endotérmicos e exotérmicos, conforme ilustra a Figura 14.

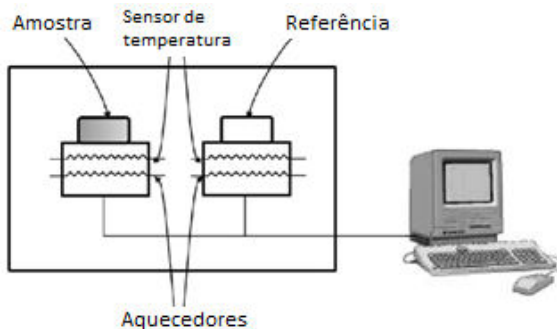


Figura 14. Representação esquemática do sistema DSC.
Fonte: SAHIN e SUMNU, 2006

1.6.8 Análise espectrofotométrica no infravermelho (FTIR)

A radiação infravermelha corresponde à parte do espectro eletromagnético situado entre as regiões do visível e das micro-ondas, sendo a porção de maior utilidade para interpretação situada de 4000 a 666 cm^{-1} (SILVERSTEIN, BASSLER e MORRIL, 1979).

A análise por infravermelho permite o registro simultâneo de todas as frequências, melhorando deste modo a relação sinal/ruído. Desta forma possibilita-se o estudo de amostras pequenas ou de materiais com absorção pouco intensa fazendo uma varredura em tempo reduzido, o que permite a análise de muitas réplicas e possibilita realizar uma previsão do tipo de ligações presentes na amostra (CARVALHO, COSTA e MARTINS, 2009).

A interpretação dos espectros por infravermelho é feita pela comparação de um espectro desconhecido com o de uma amostra conhecida, o que constitui uma boa prova de identidade da amostra, visto que as bandas que ocorrem próximas a uma frequência caracterizam a presença de grupamentos químicos (SILVERSTEIN, BASSLER e MORRIL, 1979).

1.6.9 Morfologia e distribuição de tamanho

As imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) são utilizadas para obter dados a respeito da forma e tamanho de micropartículas (MAYYA, BHATTACHARYYA e ARGILLIER, 2003; LUO et al., 2010; QUISPE-CONDORI, SALDAÑA e TEMELLI, 2011; ZOU et al., 2013).

O tamanho é um atributo físico importante para alimentos, pode ser utilizado na triagem, classificação e avaliação da qualidade dos produtos. Além disto, o tamanho das partículas dos alimentos é um fator crítico relacionado à aglomeração, dissolução, capacidade de dispersão, retenção de água, taxa de cisalhamento, e liberação no caso de micropartículas (SAHIN e SUMNU, 2006; YANG e WASHINGTON, 2006).

A gama de tamanhos de partícula em alimentos depende da estrutura da célula e do grau de processamento (SAHIN e SUMNU, 2006). Já nas micropartículas, o tamanho pode estar relacionado com o tipo de material de parede, com o conteúdo de sólidos, a taxa de agitação, perfil de temperatura entre outros fatores presentes no desenvolvimento das partículas (FINCH, 1993).

A distribuição de tamanho de micropartículas sólidas pode ser obtida através de difração de feixe de laser ou através da medição por software utilizando as imagens obtidas por MEV (MACIEL, 2014).

1.6.10 Aplicação em óleo vegetal e análise de *Shaal Oven Test*

O Shaal Oven Test é considerado um índice de manutenção da qualidade e foi desenvolvido pelas indústrias de biscoito para avaliar a estabilidade dos *shortening* utilizados. Consiste em acelerar a oxidação do óleo em estufa e acompanhar a formação de peróxidos em um intervalo de tempo, a fim de conhecer a estabilidade do óleo e conseqüentemente sua vida de prateleira (JOYNER e McINTYRE, 1938; INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985).

A formação de peróxidos é acompanhada através da análise de índice de peróxidos, que indica o grau de oxidação de um óleo através da metodologia proposta pela *American Oil Chemists' Society* (AOCS). Embora a quantidade de peróxido não se constitua de um índice infalível das características de conservação, pode indicar até que ponto a oxidação progrediu (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985).

2 REFERÊNCIAS

ALTMANN, H. J.; WESTER, P. W.; MATTHIASCHK, G.; GRUNOW, W.; HEIJDEN, C. A. V. Induction of early lesions in the forestomach of rats by *-tert*-butyl-4-hydroxyanisole (BHA). **Food and Chemical Toxicology**, v.23, p. 723-731, 1985.

ALTMANN, H.J.; GRUNOW, W.; MOHR, U.; RICHTER-REICHHHELM, H.B.; WESTER, P.W. Effects of bha and related phenols on the forestomach of rats. **Food and Chemical Toxicology**, v. 24, n.10/11, p. 1183-1188, 1986.

ARCAN, I.; YEMENUCIOGLU, A. Incorporating phenolic compounds opens a new perspective to use zein films as flexible bioactive packaging materials. **Food Research International** v.44, p.550–556, 2006.

ASOLINI, F.C. et al. Atividade Antioxidante e Antibacteriana dos Compostos Fenólicos dos Extratos de Plantas Usadas como Chás. **Brazilian Journal of Food Technology**, n. 252, 2006.

AWAD, T. S.; MOHARRAM, H. A.; SHALTOUT, O. E.; ASKER, D.; YOUSSEF, M. M. Applications of ultrasound in analysis, processing and quality control of food: A review. **Food Research International**, n.48, p.410–427, 2012.

AZEREDO, H. M. C. Encapsulação: aplicação a tecnologia de alimentos. **Alimentação e Nutrição**, v.16, n.1, p. 89-97, 2005.

BACKER, R. Controlled release of biologically active agents. John Wiley & Sons: New York, 1986. Apud: AZEREDO, H. M. C. Encapsulação: aplicação a tecnologia de alimentos. **Alimentação e Nutrição**, v. 16, n.1. p. 89-97, 2005.

BALASUNDRAM, N.; SUNDRAN, K.; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food Chemistry**, v. 99, p. 191–203, 2006.

BALMÉ, F. **Plantas Mediciniais**. Hemus: São Paulo, 1978.

BAUER, A. K.; DWYER-NIELD, L. D.; HANKIN, J. A.; MURPHY, R. C.;

MALKINSON, A. M. The lung tumor promoter, butylated hydroxytoluene (BHT), causes chronic inflammation in promotion-sensitive BALB/cByJ mice but not in promotion-resistant CXB4 mice. **Toxicology**, v. 169, p. 1-5. 2001.

BECK, M.I.; TOMKA, I.; WAYSEK, E. Physico-chemical characterization of zein as a film Polymer: A direct comparison with ethyl cellulose. Coating. **International Journal of Pharmaceutics**, v.141, p.137-150, 1996.

BICUDO, R. C; BICUDO, T.C.; FORATO, L.A.; COLNAGO, L.A.; LANÇAS, F.M. Análise de Zeínas a do Milho por LC-ESI-Q/TOF. Comunicado técnico, 77, Embrapa, São Carlos, SP, 2006.

BLOCK, J. M.; BARRERA-ARELLANO, D. Introduccion a La química de lípidios. In: BLOCK, J. M.; BARRERA-ARELLANO, D. **Temas selectos em aceites y grasas**. Blucher, SBOG, AOCS. V. 2, 2012.

BOBBIO, F.O. BOBBIO, P.A. **Introdução à química de alimentos**. Livraria Varela: São Paulo, 1989.

BOCKISCH, M. **Fat and oils Handbook**. 1998.

BORNEMAN, Z.; GOKMEN, V.; NIJHUIS, H.N. Selective removal of polyphenols and brown colour in apple juices using PES/PVP membranes in a single ultrafiltration process. **Separation and Purification Technology**, v. 22-23, p. 53-61, 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde, Conselho Nacional de Saúde; **Resolução nº 04, de 24 de novembro de 1988**; Aprovar a revisão das Tabelas I, III, IV e V referente a Aditivos Intencionais, bem como os Anexos I, II, III, IV e VII, todas do Decreto nº 55.871, de 26 de março de 1965, *Diário Oficial*, Brasília, 19 de dezembro de 1988, Seção I, p. 24716-24723.

BREWER, M.S. Natural antioxidants: sources, compounds, mechanisms of action, and potential applications. **Food Science and Food Safety**, v. 10, 2011.

CALIL, R.; AGUIAR, J. **Aditivos nos alimentos**. Varela: São Paulo, 1999.

CARVALHO, J. C. T.; GOSMANN, G.; SCHENKEL, E. P. Compostos fenólicos simples e heterosídicos. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMAN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5 ed. Editora da UFSC/UFRGS Editora. Florianópolis/ Porto Alegre. 2003.

CARVALHO, J. S. R.; COSTA, M. L. B.; MARTINS, M. M. **Encapsulamento de óleo essencial de Origanum virens L. em matrizes de gelatina e gelatina/sacarose** [Dissertação mestrado em Engenharia de Alimentos]. Instituto superior de agronomia, Universidade de Lisboa, Lisboa, 2009.

CHÁVEZ, A.E. **Desarrollo y caracterización de nanopartículas a base de zeína estabilizadas con pectina y beta-lactoglobulina**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidad Autónoma de Querétaro, México, Queretaro, 2013.

CHEN, H.; ZHANG, Y.; ZHONG, Q. Physical and antimicrobial properties of spray-dried zein-casein nanocapsules with co-encapsulated eugenol and thymol. [Journal of Food Engineering](#), v.144, p.93-102, 2015.

CODEX ALIMENTARIUS. Comisión Del Codex Alimentarius. **Informe de la 43ª reunión del comité del codex sobre aditivos alimentarios**. Xiamen, China 14-18 de marzo de 2011. Programa conjunto FAO/OMS sobre normas alimentarias: 34º Período de Sesiones Genebra, Suíça, 4 -9 de julho de 2011.

COZZOLINO, S. M. F.; SANT'ANA, L. S. **Biodisponibilidade de nutrientes: biodisponibilidade dos lipídios**. Manole: São Paulo, 2009.

CUPPARI, L. **Guia de nutrição: nutrição clínica no adulto**. Manole: São Paulo, 2005.

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

DEL RÉ, P.V.; JORGE, N. Especiarias como antioxidantes naturais: aplicações em alimentos e implicação na saúde. **Rev. Bras. Pl. Med.**, v.14, n.2, p.389-399, 2012.

DIVINUT. Pecan tea. Disponível em: <www.pecantea.com.br>
Acessado em: 27/04/2013.

FINCH, C.A. Industrial Microencapsulation: Polymers for Microcapsule Walls. In:

KARSA, D.R.; STEPHENSON, R.A. **Encapsulation and Controlled release**. The Royal Society of Chemistry: Cambridge, n. 38, 1993.

FORATO, L.A.; BRITTO, D.; SCRAMIN, J.A.; COLNAGO, L.A.; ASSIS, O.B.G. Mechanical and wetting properties of zein films extracted from from corn gluten meal. *Polímeros*, vol.23, no.1, São Carlos, 2012.

FORATO, L. A. Estudo das estruturas das Zeínas por RMN, FTIR e MFA. 2000. Tese (Doutorado) Instituto de Química de São Carlos, USP, São Carlos. Apud: BICUDO, R. C; BICUDO, T.C.; FORATO, L.A.; COLNAGO, L.A.; LANÇAS, F.M. Análise de Zeínas a do Milho por LC-ESI-Q/TOF. Comunicado técnico, 77, Embrapa, São Carlos, SP, 2006.

GIBBS, B. F.; KERMASHA, S.; ALLI, I.; MULLIGAN, C. N. Encapsulation in the food industry: a review (Abstract). **International Journal of food science and nutrition**, v. 50, n. 3, p. 213-224, 1999.

GRAMZA, A.; KORCZAK, J. Tea constituents (*Camellia sinensis* L.) as antioxidants in lipid systems. **Trends in Food Science & Technology**, V. 16, P.351–358, 2005.

GRUPO IBRAHIM ALOMRANI. Goma arábica da árvore. Disponível em: <<http://portuguese.alibaba.com/product-free/gum-arabic-tree-111607833.html>> Acessado em: 27/04/2013.

HELENO, S.A.; FERREIRA, I. C. F. R.; ESTEVES, A. P.; CIRIC, A. GLAMOCLJA, J.; MARTINS, A.; et al. Antimicrobial and demelanizing activity of *Ganoderma lucidum* extract, *p*-hydroxybenzoic and cinnamic acids and their synthetic acetylated glucuronide methyl esters. **Food and Chemical Toxicology**, v. 58, p. 95-100, 2013.

HOSENEY, R. C. **Principios de ciência y tecnologia de los cereales**. Zaragoza: Espanha, 1991.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: Métodos químicos e físicos para análise de alimentos**, v.1. O instituto: São Paulo, 1985.

JOYNER, N.T.; McINTYRE, J.E. **The oven test as an index of keeping quality**. [Oil & Soap](#), v. 15, p. 184-186, 1938.

KARSA, D. R.; STEPHENSON, R. A. **Encapsulation and controlled release**. Cambridge : Royal Society of Chemistry, 1993.

KIRCSCHENBAUER, H.G. **Grasas y Aceites: Química u Tecnologia**. Companhia Editorial Continental: New York, 1964.

KISSEL, T.; MAREYSCHKE, S.; PACKHAUSER, C.; SCHNIEDERS, J.; SEIDEL, N. Microencapsulation techniques for parenteral deport systems. In: BENITA, S.; FRANCIS, T. **Microencapsulation: Methods and industrial application**. 2 ed. 2006.

KOU, D.; MITRA, S. Extraction of semivolatle organic compounds from solid matrices. In: MITRA, S. **Sample Preparation Techniques in Analytical Chemistry**. John Wiley & Sons, 2003.

LIMA, V. L. A. G.; MELO, E. A.; MACIEL, M. I. S.; SILVA, G. S. B.; LIMA, D. E. S. Fenólicos totais e atividade antioxidante do extrato aquoso de broto de feijão-mungo (*Vigna radiata* L.). **Rev. Nutr.**, v.17, n.1, 2004.

LONGHINI, R.; RAKSA, S.M.; OLIVEIRA, A.C.P.O.; SVIDZINSKI, T.I.E; FRANCO, S.L. Obtenção de extratos de própolis sob diferentes condições e avaliação de sua atividade antifúngica. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v.17, n.3, p.388-395, 2007

LUO, Y.; ZHANS, B.; CHENG, W.; WANG, Q. Preparation, characterization and evaluation of selenite-loaded chitosan/TPP nanoparticles with or without zein coating. **Carbohydrate Polymers**, v. 82, p. 942–951, 2010.

LUO, Y.; ZHANG, B.; WHENT, M.; YU, L.; WANG, Q. Preparation and characterization of zein/chitosan complex for encapsulation of α -tocopherol, and its in vitro controlled release study. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v.85, p.145–152, 2011.

MAYYA, K.S.; BHATTACHARYYA, A.; ARGILLIER, J.F. Micro-encapsulation by complex coacervation: influence of surfactant. **Polymer International**, v. 52, p. 644-647, 2003.

MACIEL, M.V.O.B. **Micropartículas de zeína carregadas com timol: obtenção e caracterização**. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2014.

MAZZAFERA, P. Efeito alelopático do extrato alcoólico do cravo-da-índia e eugenol. **Revista Brasil. Bot.**, v.26, n.2, p.231-238, 2003.

MOITA NETO, J.M. Molhamento e ângulo de contato. Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado do Piauí: Teresina, 2006. Apud: IOST, C.A.R.; RAETANO, C.G. Dynamic surface tension and contact angle of water solutions with spray surfactants in artificial and natural surfaces. **Eng. Agríc.**, v.30, n.4, 2010.

MORETTO, E.; FETT, R. **Tecnologia de óleos e gorduras vegetais na indústria de alimentos**. Varela: São Paulo, 1998.

MULLER, L. G.; PASE, C. S.; RECKZIEGEL, P.; BARCELOS, R. C. S.; BOUFLEUS, N.; PRADO, A. C. P. et al. Hepatoprotective effects of pecan nut shells on ethanol-induced liver damage. **Experimental and Toxicologic Pathology**, vol. 65, p. 165–171, 2013.

NAWAR, W. W. Lipídios. In: FENNEMA, Owen R. **Química de los alimentos**. Acribia, S.A. Zaragoza: Espanha, 1993.

OMENA, C. M.; VALENTIM, I. B.; GUEDES, G. S.; RABELO, L. A.; MANO, C. M.; BECHARA, E. J. H.; SAWAYA, A. C. H. F.; TREVISAN, M. T. S.; COSTA, J. G.; PASIN, B. L.; AZÓN, C.G.; GARRIGA, A.M. Microencapsulacion com alginato em alimentos: técnicas y aplicaciones. **Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos**, v. 3, n.1, p. 130-151, 2012.

OWENS, D.K.; WENDT, R.C. Estimation of the surface free energy of polymers. *Journal of applied polymer Science*. V.13, p. 1741-1747, 1969.

PASIN, B.L.; AZÓN, C.G.; GARRIGA, A.M. Microencapsulation in alginate for food. Technologies and applications. **Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos**, v.3, n.1, p.130-151, 2012.

POMERANZ, Y. **Modern Cereal Science and technology**. VCH Publishers: New York, 1987.

PRADO, A. C. P. **Avaliação da atividade antioxidante da casca e torta de noz-pecã**. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008.

PRADO, A. C. P. **Identificação e avaliação da atividade antioxidante e antimicrobiana de compostos fenólicos da casca de noz-pecã [*Carya illinoensis* (Wangenh.) C. Koch]**. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2013.

PRADO, A. C. P.; MANION, B. A.; SEETHARAMAN, K.; DESCHAMPS, F. C.; ARELLANO, D. B.; BLOCK, J. M. Relationship between antioxidant properties and chemical composition of the oil and the Shell of pecan nuts. **Industrial Crops and Products**, v. 45, p. 64-73, 2013.

PRADO, A.C.P.; ARAGÃO, A.M.; FETT, R.; BLOCK, J.M. Antioxidant properties of pecan nut Shell infusion. **Grasas Aceites**,v. 60, p. 330-335, 2009b.

PRADO, A.C.P.; ARAGÃO, A.M.; FETT, R.; BLOCK, J.M. Phenolic compounds and antioxidant activity of pecan [*Carya illinoensis*

(*Wangenh.*) *C. Koch*] shell extracts. **Braz. J. Food Technol.**, v. 12, n. 4, p. 323-332, 2009a.

PRUDÊNCIO, A. P. A.; PRUDÊNCIO, E. S.; AMBONI, R. D. M. C.; MURAKAMI, A. N. N.; MARASCHIN, M.; PETRUS, J. C. C.; OGLIARI, P. J.; LEITE, R. S. Phenolic composition and antioxidant activity of the aqueous extract of bark from residues from mate tree (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) bark harvesting concentrated by nanofiltration. **Food and Bioproducts Processing**, v. 90, p. 399-405, 2012.

QUISPE-CONDORI, S., SALDAÑA, M.D.A.; TEMELLI, F. Microencapsulation of flax oil with zein using spray and freeze drying. **Food Science and Technology**, v.44, p.1880-1887, 2011.

RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 755-760, 2006.

REBELLO, F. F. P. Revisão: Microencapsulação de ingredientes alimentícios. **Revista Agrogeoambiental**, p. 134-144, 2009.

RECKZIEGEL, P.; BOUFLER, N.; BARCELOS, R. C. S.; BENVENU, D. M.; PASE, C. S.; MULLER, L. G. Oxidative stress and anxiety-like symptoms related to withdrawal of passive cigarette smoke in mice: Beneficial effects of pecan nut shells extract, a by-product of the nut industry. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 74, p. 1770–1778, 2011.

REGITANO-D'ARCE, M. A. B. Deterioração de lipídios – Ranço. In: OETTERER, M.; REGITANO-D'ARCE, M. A. B.; SPOTO, M. H. F. **Fundamentos de ciência e tecnologia de alimentos**. Manole: São Paulo, 2006.

RIBEIRO, E. P.; SERAVALLI, E. A. G. **Química de Alimentos**. 2 ed. Blucher: São Paulo, 2007.

ROESLER, R.; MALTA, L. G.; CARRASCO, L. C.; HOLANDA, R. B.; SOUSA, C. A. S.; PASTORE, G. M. Atividade antioxidante de frutas do cerrado. **Ciênc. Tecnol. Aliment**, v. 27, n.1, 2007.

ROSEIRO, L. B.; DUARTE, L. C.; OLIVEIRA, D. L.; ROQUE, R.; BERNARDO-GIL, M. G.; MARTINS, A. I.; SEPÚLVEDA, C.; ALMEIDA, J.; MEIRELESS, M.; GÍRIO, F. M.; RAUTER, A. P. Supercritical, ultrasound and conventional extracts from carob (*Ceratonia siliqua* L.) biomass: Effect on the phenolic profile and antiproliferative activity. **Industrial Crops and Products**, v. 47, p. 132-138, 2013.

SAHIN, S; SUMNU, S.G. **Physical Properties of Foods**. Ed. Springer Science Business Media: New York, USA, 2006.

SANCHEZ, R. Nogueira Pecan. Disponível em: <<http://ocultivoavida.blogspot.com.br/2012/02/nogueira-pecan.html>> Acessado em: 27/04/2013.

SCRIMGEOUR, C. Chemistry of Fatty Acids. In: SHAHIDI, F. **Bailey's Industrial Oil and Fat Products: Chemistry, Properties and Health Effects**. 6 ed., v.1, EUA, Wiley, Interscience, 2005.

SHEMESH, M. Nozes pecã. Disponível em: <<http://www.publicdomainpictures.net/view-image.php?image=19263&picture=nozes-pecan&jazyk=PT>> Acessado em: 27/04/2013.

SHUKLA, R.; CHERYAN, M. Zein: the industrial protein from corn. **Industrial Crops and Products**, v.13, p. 171-192, 2001.

SICA, F. Disponível em: <<http://felippesica.blogspot.com.br/2010/09/torta-de-noz-pecan-com-chocolate-branco.html> 2010> Acessado em: 27/04/2013.

SILVA, F. A. M.; BORGES, M. F. M.; FERREIRA, M. A. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. **Química Nova**, v. 22, n.1, 1999.

SILVA, W.A.; PEREIRA, J.; CARVALHO, C.W.P.; FERRUA, F.Q. . Determination of color, topographic superficial image and contact angle of the biofilms of different starch sources. **Ciência e agrotecnologia**, v. 31, n. 1, 2007.

SILVERSTEIN, Robert M.; BASSLER, G. Clayton; MORRIL, Terence C. Espectrometria no infravermelho. In: SILVERSTEIN, Robert M.; BASSLER, G. Clayton; MORRIL, Terence C. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 1979.

SINGANUSONG, R.; MASON, R. L.; D'ARCI, B. R.; NOTTINGHAM, S. M. Compositional Changes of Australia-Grown Western Schley Pecans [*Carya illinoensis* (Wangenh.) K. Koch] during Maturation. **J. Agric. Food Chem.**, v. 51, p. 406-412, 2003.

TACO. **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos**. Versão II - 2 ed. NEPA-UNICAMP: Campinas, São Paulo, 2006.

TAKEMOTO, E.; FILHO, J. T.; GODOY, H. T. Validação de metodologia para a determinação simultânea dos antioxidantes sintéticos em óleos vegetais, margarinas e gorduras hidrogenadas por clae/uv. **Química Nova**, v. 32, n. 5, p. 1189-1194, 2009.

TAYLOR, J.; TAYLOR, J.R.N.; BELTON, P.S.; MINNAAR, A. Kafirin Microparticle Encapsulation of Catechin and Sorghum Condensed Tannins. **J. Agric. Food Chem**, v.57, p. 7523–7528, 2009.

TEWES, F.; BOURY, F.; BENOIT, J. Biodegradable microspheres: advances in production technology. In: BENITA, S.; FRANCIS, T. **Microencapsulation: Methods and industrial application**. 2 ed. 2006.

TREVIZOL, F.; BENVEGNO, D. M.; BARCELOS, R. C. S.; PASE, C. S.; SEGAT, H. J.; DIAS, V. T.; DOLCI, G. S. et al. Comparative study between two animal models of extrapyramidal movement disorders: Prevention and reversion by pecan nut shell aqueous extract. **Behavioural Brain Research**, v. 221, p. 13–18, 2011.

TURATTI, J. M.; GOMES, R. A. R.; ATHIÉ, I. **Lipídios: aspectos funcionais e novas tendências**. CIAL: Campinas, 2002.

VELASCO, J.; MARMESAT, S.; DOBARGANES, C.; MARQUEZ-RUIZ, G. Heterogeneous Aspects of Lipid Oxidation in Dried Microencapsulated Oils. **J. Agric. Food Chem.**, v. 54, n. 5, p. 1722-1729, 2006.

VILKHU, K.; MAWSON, R.; SIMONS, L.; BATES, D. Applications and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry — A review. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 9, p. 161–169, 2008.

VILLARREAL-LOZOYA, J. E.; LOMBARDINI, L.; CISNEROS-ZEVALLOS, L. Phytochemical constituents and antioxidant capacity of different peca [*Carya illinoensis* (Wangenh.) K. Koch] cultivars. **Food Chemistry**, 2007.

XIA, T.; SHI, S.; WAN, X. Impact of ultrasonic-assisted extraction on the chemical and sensory quality of tea infusion. **Journal of Food Engineering**, v. 74, p. 557–560, 2006.

XU, C.; ZHANG, Y.; WANG, J.; LU, J. Extraction, distribution and characterisation of phenolic compounds and oil in grapeseeds. **Food Chemistry**, v. 122, p. 688–694, 2010.

XUE, F.; LI, C.; LIU, Y.; ZHU, X.; PAN, S.; WANG, L. Encapsulation of tomato oleoresin with zein prepared from corn gluten meal. **Journal of Food Engineering**, v.119, p. 439–445, 2013.

WANASUNDARA, P.K.P.D.; SHAHIDI, F. Antioxidants: Science, Technology and Applications. In: SHAHIDI, F. **Bailey's Industrial Oil and Fat Products: Chemistry, Properties and Health Effects**. 6 ed., v.1, EUA, Wiley, Interscience, 2005.

WANG, Q; LIU, Y; CUI, J; DU, J; CHEN, G; LIU, H. Optimization of ultrasonic-assisted extraction for herbicidal activity of chicory root extracts. **Industrial Crops and Products**, v. 34, p. 1429–1438, 2011.

WHITTLESEY. Pecan Shell Mulch. Disponível em: <<http://www.989rock.com/products/mulches/pecan-shell-mulch.html>> Acessado em: 27/04/2013.

WILLIAMS, P.A.; PHILLIPS, G.O. Gum Arabic. In: WILLIAMS, P.A.; PHILLIPS, G.O. **Handbook of hydrocolloids**. Woodhead Publishing Limited and CRC Press LLC, 2000.

WILLIAMS, P.A.; PHILLIPS, G.O. Introduction to food hydrocolloids. In:

WILLIAMS, P.A.; PHILLIPS, G.O. **Handbook of hydrocolloids**. Woodhead Publishing Limited and CRC Press LLC, 2000.

YANG, S.; WASHINGTON, C. Drug release from microparticulate systems. In:
BENITA, S.; FRANCIS, T. **Microencapsulation: Methods and industrial application**. 2 ed. 2006.

ZHENG, W.; WANG, S. Y. Antioxidant Activity and Phenolic Compounds in Selected Herbs. **J. Agric. Food Chem**, v. 49, p.5165-5170, 2001.

ZILLER, S. **Grasas y Aceites Alimentarios**. Zaragoza.1994.

ZOU, T.; LI, Z.; PERCIVAL, S.S.; BONARD, S.; GU, L. Fabrication, characterization, and cytotoxicity evaluation of cranberry procyanidins-zein nanoparticles. **Food Hydrocolloids**, v.27, p.293-300, 2012.

CAPÍTULO II

OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE MICROPARTÍCULAS DE ZEÍNA CARREGADAS COM EXTRATOS ANTIOXIDANTES DE CASCA DE NOZ-PECÃ [*Carya illinoensis* (wangenh) C. Koch]

RESUMO

Este trabalho teve por objetivo produzir e caracterizar micropartículas de zeína carregadas de extratos de casca de noz-pecã [*Carya Illinoensis* (Wangenh) C. Koch] obtidas por *spray-dryer*. Extratos aquosos e hidroalcoólicos de casca de noz-pecã foram obtidos através de extração assistida por ultrassom e a atividade antioxidante dos mesmos foi determinada através das metodologias ABTS e DPPH. Para a microencapsulação dos extratos por *spray dryer* foi utilizado o biopolímero zeína como material de parede e nas formulações com maior rendimento e eficiência de encapsulação foram avaliados a liberação de compostos fenólicos, a densidade, ângulo de contato, a cor através do sistema CIE Lab, o comportamento térmico por *Differential Scanning Calorimeter* (DSC), espectrofotometria no infravermelho (FTIR) e, a morfologia e distribuição de tamanho das partículas por MEV. As micropartículas também foram adicionadas a óleo de palma e girassol e a estabilidade dos mesmos foi avaliada através do Shaal Oven Test. Os teores mais significativos ($p < 0,05$) para fenólicos totais, taninos condensados e atividade antioxidante ABTS e DPPH foram observados no extrato hidroalcoólico ($275,24 \text{ mg GAE.g}^{-1}$; $319,08 \text{ mg CE.g}^{-1}$; $1207,62 \text{ mol TEAC.g}^{-1}$ e $1191,69 \text{ mg TEAC.g}^{-1}$, respectivamente). As formulações contendo 10g de zeína e 0,4g de extrato aquoso e, 5g zeína e 0,6g de extrato hidroalcoólico apresentaram maior rendimento e eficiência de encapsulação. As micropartículas de zeína com extrato aquoso (MAQ) obtiveram melhor perfil de liberação de compostos fenólicos e menor densidade. A determinação do ângulo de contato indicou que as micropartículas são hidrofóbicas, apesar do núcleo hidrofílico. A análise térmica mostrou que as micropartículas apresentam comportamento amorfo até a temperatura de $200 \text{ }^\circ\text{C}$ e a análise espectrofotométrica indicou encapsulação dos extratos, com predomínio dos grupamentos da zeína. Através da análise microscópica foi possível observar que as

micropartículas apresentaram forma esférica, de superfície lisa, amassada e com concavidades, sem porosidades, fissuras ou fendas. As partículas de zeína com extrato aquoso e hidroalcoólico apresentaram tamanhos médios de 4,93µm e 4,81µm respectivamente, indicando que se encontram na escala micrométrica, sendo a distribuição de tamanho unimodal. Os resultados para o Shaal Oven Test indicaram que as micropartículas de zeína com extrato aquoso protegeram melhor o óleo contra as reações de oxidação.

Palavras-chave: casca de noz-pecã, atividade antioxidante, micropartículas, zeína, *spray dryer*.

1 INTRODUÇÃO

As reações de oxidação em lipídios são espontâneas e inevitáveis e podem prejudicar a qualidade organoléptica dos alimentos, com implicação direta no valor comercial dos produtos (NAWAR, 1993; SILVA, BORGES e FERREIRA, 1998). Contudo, estas reações não são uma preocupação exclusiva das indústrias alimentícias, seu estudo é também amplamente necessário para evitar efeitos indesejáveis na saúde humana (DEL RÉ e JORGE, 2012).

Desde os anos 80 há o interesse em encontrar antioxidantes naturais a fim de substituir os antioxidantes sintéticos, que devem ser restringidos devido ao potencial de toxicidade (DEGÁSPARI e WASZCZYNSKYJ, 2004). Segundo Del Ré e Jorge (2012), a adição de extratos de plantas de diferentes tipos e formas pode evitar a deterioração oxidativa em vários sistemas. Entre os extratos estudados pode-se citar: sálvia, orégano, manjerição (ZHENG e WANG, 2001), genipapo, umbu, siriguela (OMENA et al., 2012), alfarroba (ROSEIRO et al., 2013), casca da árvore de erva mate (PRUDÊNCIO et al., 2012) e casca de noz-pecã (PRADO et al., 2013).

A noz-pecã é comercializada descascada, gerando uma grande quantidade de cascas que são usadas como combustível de caldeira ou comercializadas para o preparo de chá. Sabe-se que as cascas possuem maior quantidade de fenólicos totais e taninos condensados do que as nozes e os extratos obtidos a partir das mesmas apresentam elevada capacidade antioxidante (VILLARREAL-LOZOYA et al., 2007; PRADO et al., 2013).

A infusão das cascas a 100 °C é capaz de extrair os compostos fenólicos da casca de noz-pecã e torná-los disponíveis para o consumo

(PRADO et al., 2009; RECKZIEGEL et al., 2011; MULLER et al., 2013). A infusão de misturas de variedades de casca de noz-pecã analisada por Prado et al. (2013) apresentaram alta capacidade antioxidante ($1723,6 \mu\text{g/g}^{-1}$ de equivalentes em Trolox), teores significativos de fenólicos totais ($145,41 \text{ mg/g}^{-1}$ de equivalentes de ácido gálico) e de taninos condensados ($39,9 \text{ mg/g}^{-1}$ de catequinas equivalentes). Resultados semelhantes foram obtidos por Villarreal-Lozoya et al. (2007). Na medicina popular o chá de casca de noz-pecã é empregado para efeito diurético, digestivo, desintoxicante e hipocolesterolêmico (DIVINUT, 2013). Assim como a extração aquosa, a extração alcoólica é uma alternativa simples e eficiente para extrair compostos fenólicos de vegetais tais como: arruda, camomila, macela, alcachofra, erva-mate, tanchagem, malva, sálvia, capim-limão, alecrim (ASOLINI et al., 2006), cravo (MAZZAFERA, 2003) entre outros.

A extração assistida por ultrassom é um método simples, barato, com baixo gasto de energia, capaz de extrair com eficiência compostos bioativos de plantas, como por exemplo, os compostos fenólicos, cafeína e aminoácidos (Xia, Shan e Wan, 2006; VILKHU et al., 2008; WANG et al., 2011; AWAD et al., 2012).

Contudo os compostos fenólicos são instáveis e facilmente oxidáveis, havendo a necessidade de proteger estes compostos ativos do calor, umidade e aumentar sua estabilidade e viabilidade de uso (GIBBS et al., 1999; CARVALHO, GOSMANN e SCHENKEL, 2003; REBELLO, 2009). A encapsulação dos extratos ricos em compostos fenólicos pode ser uma alternativa viável para que sejam protegidos e as propriedades antioxidantes mantidas, otimizando e viabilizando seu uso em alimentos (GIBBS et al., 1999; REBELLO, 2009).

A encapsulação pode ser descrita como o empacotamento de uma substância ativa (enzimas, pigmentos, nutrientes), considerada o núcleo da cápsula (REBELLO, 2009). A parte externa ao núcleo, chamada de coroa, é formada por um polímero ou uma mistura de polímeros que recobrirão o núcleo (KARSA e STEPHENSON, 1993). O polímero de encapsulação pode ter origem natural, semissintética ou sintética (FINCH, 1993).

A escolha do polímero encapsulante está intimamente ligada à qualidade das cápsulas e dependerá da finalidade, devendo promover a liberação controlada da substância ativa no meio desejado (FINCH, 1993). Um exemplo de polímero natural para encapsulação de substâncias ativas e formação de micropartículas por spray dryer é a zeína, uma prolamina presente no endosperma do milho (HOSENEY,

1991; QUISPE-CONDORI, SALDAÑA E TEMELLI, 2011; XUE et al., 2013).

As micropartículas com compostos antioxidantes são de grande interesse tanto na farmacologia quanto na tecnologia de alimentos, já que desta forma os compostos ativos ficam protegidos do meio circundante e não sofrem degradação por meio da ação de catalisadores oxidantes como a luz, o calor e enzimas, ampliando-se a uma gama de possibilidade de emprego como antioxidante natural (CARVALHO, GOSMANN e SCHENKEL, 2003; PASIN, AZÓN e GARRIGA, 2012). Em alimentos com elevado teor de ácidos graxos insaturados o uso de micropartículas antioxidantes podem prolongar e manter a qualidade sensorial, as propriedades nutricionais e benéficas à saúde por um período maior de tempo (WANASUNDARA e SHAHIDI, 2005; PASIN, AZÓN e GARRIGA, 2012; PRADO et al., 2013). Dessa forma, este trabalho teve como objetivo produzir e caracterizar micropartículas de zeína com extratos de casca de noz-pecã [*Carya Illinoensis* (Wangenh) C. Koch] obtidas por *spray-dryer*. As micropartículas obtidas foram adicionadas a óleos de palma e girassol e a estabilidade oxidativa dos mesmos foi determinada pelo Shaal Oven Test.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Matéria prima

Cascas de noz-pecã da variedade Barton, colheita de 2013, oriunda de lavouras localizadas na região central do estado do Rio Grande do Sul.

Zeína de milho comercializada pela Sigma-Aldrich, Brasil.

Óleos de soja e palma fornecidos por empresas produtoras.

Reagentes químicos: Reagente fenólico Folin-Ciocalteu, ácido gálico, ABTS [2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)], DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), Trolox e vanilina. Os demais reagentes e solventes utilizados neste experimento foram de grau analítico obtidos da Vetec Química Fina e Sigma-Aldrich.

2.2 Procedimento experimental

2.2.1 Obtenção do pó da casca de noz-pecã para o preparo dos extratos

As cascas de noz-pecã foram trituradas em processador de alimentos e secas a 40 °C em estufa com circulação de ar (modelo 400/D 200 °C da marca Nova Ética®) por 1 hora. Após a secagem as cascas foram moídas em moinho analítico de laboratório (modelo A-11 da marca IKA Works®) e o pó foi peneirado a 60 mesh ASTM com abertura de 250µm (PRADO et al., 2009a). O pó obtido foi torrado a 100 °C por 1 hora em estufa com circulação de ar (modelo 400/D 200 °C da marca Nova Ética®) para otimização da extração de compostos fenólicos, conforme sugerido por Rodrigues e Pinto (2007) e após, foi armazenado em frascos âmbar, com atmosfera de nitrogênio, em freezer a -24 °C, afim de, preservar as características do pó para análises posteriores.

2.2.2 Obtenção dos extratos (aquoso e hidroalcoólico) de casca de noz-pecã

Para a obtenção do extrato aquoso de casca de noz-pecã foi utilizado o método de infusão assistida por ultrassom sugerido por Xia, Shi, Wan (2006): 3 gramas do pó da casca de noz-pecã foram adicionados a 300ml de água destilada, a uma temperatura de 60 °C e deixados em infusão por 60 minutos em ultrassom EGS 5HD (Enge Solutions®) em frequência de 40kHz e 250W de potência.

A obtenção do extrato hidroalcoólico de casca de noz-pecã foi realizada através do método sugerido por Xia, Shi, Wan (2006) com modificações: onde 3 gramas do pó da casca de noz-pecã foram adicionados a 300ml contendo a proporção de 20% de água e 80% álcool 95%, a uma temperatura de 60 °C e deixados por 60 minutos em ultrassom EGS 5HD (Enge Solutions®) em frequência de 40kHz e 250W de potência.

Após estes procedimentos cada mistura foi colocada em banho de gelo, filtrada sob vácuo em papel filtro, marca Whatman 541, 125 mm e concentrada em rota evaporador. O extrato foi seco por *spray dryer* da marca BUCHI modelo B-290 (Buchi, Perdizes, São Paulo, Brazil) com temperatura de entrada e saída de 150 °C e 50 °C respectivamente, com aspirador fixado a 100% e bomba a 25% como proposto por Prado et al. (2009).

2.2.2.1 Compostos fenólicos totais

O conteúdo de compostos fenólicos totais foi determinado utilizando o método colorimétrico de Folin-Ciocalteu com algumas modificações (BEAL, 2006; BUDINI, TONELLI e GIROTTI, 1980). Aliquotas (100 µL) de diluições de 2,5 g/l dos extratos foram oxidadas com 500 µL do reagente de Folin-Ciocalteu, a reação foi neutralizada com carbonato de sódio saturado (75g/L; 1,5 ml) e os volumes completados até 10 ml através da adição de água deionizada. Após incubação por 2 horas no escuro, à temperatura ambiente, a absorbância da solução azul resultante foi medida em espectrofotômetro (modelo Spectrophotometer SP 2000 UV, marca Bel Photonics®) a 764 nm. A quantificação foi feita com base em uma curva analítica de ácido gálico. Os resultados foram expressos em mg GAE/g⁻¹ (equivalente de ácido gálico). A análise foi realizada em triplicata.

2.2.2.2 Atividade antioxidante

Metodo ABTS

O método ABTS [2,2'-azino-bis-(3- etilbenzotiazolona-6-acido sulfônico)] foi realizado de acordo com Ré et al. (1999) com algumas modificações. Após o preparo do radical ABTS (7mM - 0,03836g do reativo ABTS dissolvido em 10 ml de água deionizada), foi preparada uma solução de persulfato potássico (2,45 mM - 10 ml de ABTS e 10 ml de persulfato misturados, homogeneizados e mantidos num frasco âmbar pelo mínimo 16 horas protegido da luz). Para o ensaio da amostra, foi pipetada uma alíquota de 200 µl do radical formado e diluído em 10 ml de etanol 96° P.A. Medidas de absorbância em cubetas de 10 mm e em espectrofotômetro (modelo Spectrophotometer SP 2000 UV, marca Bel Photonics®) a 734 nm, foram realizadas para certificação da densidade óptica em torno de $0,700 \pm 0,05$. Uma alíquota de 980 µl do radical diluído foi pipetada e transferida para uma cubeta de 10 mm (1 ml) procedendo a medida da absorbância ($A_{754}=A_0$) adicionando imediatamente 20 µl da amostra e homogeneizando e agitando por alguns segundos. Trolox foi utilizado como padrão (15 µM=0,13209g/500 ml). O cálculo da porcentagem de inibição do radical foi realizado pela seguinte fórmula: % de inibição do radical = $(1 - A_f/A_0) \times 100$, onde, "A₀" e a absorbância inicial e "A_f" e a absorbância final. Os cálculos foram realizados para cada concentração de amostras analisadas de forma que ao obter os resultados se pode realizar uma

curva dose-resposta. Os resultados foram expressos em $\mu\text{mol TEAC.g}^{-1}$ (capacidade antioxidante equivalente em Trolox) através de uma curva padrão, onde a equação de regressão foi a seguinte: $y=0,0726x+1,6476$ ($R^2=1$). A análise foi realizada em triplicata.

Método DPPH

O método DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), foi realizado de acordo com Brand-William, Cuvelier e Berset (1995) seguido de modificações conforme Prado et al. (2009a). Após o preparo do radical (0,1 mM - 0,03943g do reativo DPPH dissolvido em 10 ml de metanol a 80%), foi pipetada uma alíquota de 2,9 ml do mesmo e colocados para reagir em tubos de ensaio adicionados de 0,1 ml do extrato. Os tubos de ensaio foram mantidos ao abrigo da luz e, as medidas de absorbância foram realizadas em espectrofotometro (modelo Spectrophotometer SP 2000 UV, marca Bel Photonics®) a 515 nm após 30 minutos e 24 horas. Trolox foi utilizado como padrão (150 mg/L). O cálculo da porcentagem de inibição do radical foi realizado pela seguinte formula: % de inibição do radical = $(1 - A_f/A_o) \times 100$, onde, “ A_o ” e a absorbância inicial e “ A_f ” e a absorbância final. Os cálculos foram realizados para cada concentração de amostras analisadas de forma que ao obter os resultados se pode realizar uma curva dose-resposta. Os resultados expressos em mg TEAC.g^{-1} (capacidade antioxidante equivalente em Trolox) através de uma curva padrão, onde a equação de regressão foi a seguinte: $y=0,0693x+8,3479$ ($R^2=0,9922$). A análise foi realizada em triplicata.

2.2.2.3 Taninos condensados

A determinação do teor de taninos condensados foi realizada de acordo com Price, Vanscoyoc e Butter (1978) e adaptado por Villarreal-Lozoya, Lombardini e Cisneros-Zevallos (2007). Foram coletadas alíquotas de 1 ml de diluições de 10g/l dos extratos e colocadas em 2 tubos de ensaio separados (1 para a amostra e outro para o branco). Após foram adicionados 5 ml do reagente Vanilina (0,5 g de reagente e 200 ml de HCl 4%/metanol) para as amostras, e HCl 4%/metanol para o branco. Os tubos de ensaio foram mantidos ao abrigo da luz por um período de 20 minutos e as medidas das absorbâncias foram realizadas em espectrofotômetro (modelo Hitachi UV specthophotometer, U-1800) a 500nm. Os resultados foram expressos em mg CE.g^{-1} (mg equivalente de catequina/ g amostra desengordurada) através de uma curva padrão, onde a equação de regressão foi a seguinte: $y=0,0004x+0,0187$ ($R^2=0,9924$). A análise foi realizada em triplicata.

2.2.3 Formulação das Micropartículas de zeína com extratos de casca de noz-pecã

2.2.3.1 Planejamento experimental

Para a formulação das micropartícula de zeína com extrato de casca de noz-pecã seguiu-se um planejamento fatorial 2^2 , com dois fatores (concentração de zeína e extrato para 100 ml de etanol 85%) e dois níveis principais (-1 e +1) com triplicata do ponto central, totalizando 7 experimentos para cada extrato, finalizando em 14 experimentos. Os níveis codificados e a distribuição dos experimentos para secagem em *spray dryer* são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Níveis codificados e distribuição dos experimentos para realização no *spray dryer*.

Fatores	Níveis		
	-1	0	+1
Zeína*	5	10	15
Extratos*	0,2	0,4	0,6

Amostras	Zeína	Extratos	Zeína	Extratos
1	-1	-1	5	0,2
2	1	-1	15	0,2
3	-1	1	5	0,6
4	1	1	15	0,6
5	0	0	10	0,4
6	0	0	10	0,4
7	0	0	10	0,4

*Massa de zeína + Massa de extrato por 100ml de etanol 85%.

2.2.3.2 Microencapsulação por *Spray dryer*

O processo de microencapsulação foi realizado utilizando a técnica de secagem por *spray dryer*. Para isto, solubilizou-se primeiramente a zeína em 80 ml de etanol 85% em agitador magnético por 18 horas; o extrato seguiu em agitador com 20 ml de etanol 85% por 30 minutos. A mistura da zeína e do extrato previamente solubilizados em álcool foi homogeneizados em Ultra-turrax (modelo T25 digital, marca IKA) a 5000 RPM por 4 minutos, como o descrito por Quispe-Condori, Saldaña e Temelli (2011) com modificações.

A mistura, sob agitação magnética, foi seca em *spray dryer* utilizando um mini atomizador da marca BUCHI modelo B-290 (Buchi, Perdizes, São Paulo, Brazil) com temperatura de entrada de 120 °C, 40 °C de saída e bomba a 30%. Após o procedimento de secagem as amostras foram armazenadas em vidros âmbar em freezer a temperatura de - 24 °C.

Os experimentos foram realizados de forma aleatória em dois dias para minimizar a chance de erros sistemáticos.

2.2.4 Caracterização das micropartículas obtidas

2.2.4.1 Rendimento de obtenção do processo

O rendimento do processo foi determinado através da massa de micropartículas obtida em função da massa total de ingredientes utilizados, como o proposto por Mayya, Bhattacharyya e Argillier (2003) através da equação (1):

$$\text{Rendimento} = (\text{massa micropartículas} / \text{massa total}) * 100 \quad (1)$$

2.2.4.2 Eficiência de encapsulação

Para verificar a eficiência da incorporação do extrato às micropartículas de zeína, foi utilizado o método de Follin-Ciocalteu conforme o proposto por Saénz et al. (2009). A eficiência de encapsulação (EM) foi calculada através da equação (2) proposta por Velasco et al. (2006):

$$\text{EM} = (\text{extrato encapsulado} / \text{total de extrato}) * 100 \quad (2)$$

Onde: Extrato encapsulado = extrato total – extrato superficial

Determinação do extrato superficial

Para a extração do extrato superficial, as micropartículas foram submetidas a uma lavagem em acetona, que possui afinidade com os extratos e não com a zeína. Desta forma, foram pesados 0,05 gramas das micropartículas e acondicionadas em filtro marca Whatman 541, 125 mm e lavadas com 1 ml de acetona quatro vezes. O filtrado foi utilizado para a determinação do extrato superficial, obtido pela quantidade de ácido gálico encontrado na amostra pelo método de Follin Ciacoulteau utilizando um aparelho espectrofotômetro (modelo Spectrophotometer SP 2000 UV, marca Bel Photonicsem) em um comprimento de onda 754 nm e relacionado com uma curva de calibração previamente obtida onde a concentração de ácido gálico foi linear em uma faixa de 0 a 1000 mg/l e a equação de regressão da curva de calibração média foi a seguinte: $y = 0,0011x - 0,0299$ ($R^2=0,9974$). Todas as amostras foram feitas em triplicata.

Determinação do extrato total

Para a extração total do extrato contido nas micropartículas foi utilizado o método modificado de Velascos et al. (2006) e de Quispe-Condori, Saldaña e Temelli (2011). A micropartículas foram abertas em etanol: 0,05 gramas das micropartículas foram transferidas para um tubo e adicionado 2 ml de etanol 85% (capaz de solubilizar a zeína). O tubo foi transferido para ultrassom EGS 5HD (Enge Solutions®) em frequência de 40kHz e 250W de potência por 15 minutos a uma temperatura de 40 °C. Após, foi realizada a evaporação a vácuo do etanol por rota evaporador a 20 RPM e 60 °C. Com as micropartículas abertas, adicionou-se 4 ml de acetona para a extração do extrato contido na amostra e deixadas 15 minutos em repouso. A parte líquida foi retirada com o auxílio de uma pipeta e foi utilizada para a determinação do extrato total, obtida pela quantidade de ácido gálico encontrado na amostra pelo método de Follin Ciacoulteau utilizando um aparelho espectrofotômetro (modelo Spectrophotometer SP 2000 UV, marca Bel Photonicsem) em um comprimento de onda 754 nm e relacionado com uma curva de calibração previamente obtida onde a concentração de ácido gálico foi linear em uma faixa de 0 a 1000 mg/l e a equação de regressão da curva de calibração média foi a seguinte: $y=0,0011x - 0,0299$ ($R^2=0,9974$). Todas as amostras foram feitas em triplicata.

2.2.4.3 Liberação

O teste de liberação das micropartículas foi determinado pelo conteúdo de fenólicos liberados em um intervalo de 19 dias, quando houve equilíbrio na concentração de fenólicos.

Conforme o proposto por Arcan e Yemenicioğlu (2011), foi utilizada uma concentração de 3500 ppm de micropartículas em água destilada a 20 ± 2 °C (temperatura ambiente) em um becker protegido da luz e mantidos em agitação por agitador magnético (80 RPM). Aliquotas de 100µl da solução foram retiradas diariamente para análise pelo método de Follin Ciacoulteau utilizando um aparelho espectrofotômetro (modelo Spectrophotometer SP 2000 UV, marca Bel Photonicsem) em um comprimento de onda 754 nm e relacionado com uma curva de calibração previamente obtida onde a concentração de ácido gálico foi linear em uma faixa de 0 a 1000 mg/l e a equação de regressão da curva de calibração média foi a seguinte: $y=0,0011x - 0,0299$ ($R^2=0,9974$).

2.2.4.4 Análise de cor

A análise da cor foi realizada no Laboratório de Propriedades Físicas dos Alimentos (PROFI), Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina. Através de colorímetro (Mini Scan EZ, modelo 4500 L, Hunter Lab) previamente calibrado. A escala de cor CIELab foi usada para medir os parâmetros L^* , a^* e b^* . Na escala CIELab, o parâmetro L^* varia de 0 a 100, indicando uma variação de cor do preto ao branco. Já o parâmetro a^* mostra a variação do vermelho ao verde [-80 até zero = verde ($-a^*$), de zero a +100 = vermelho ($+a^*$)], enquanto o b^* pode variar do amarelo ao azul [-100 até zero = azul ($-b^*$), de zero a +70 = amarelo ($+b^*$)]. Também foram determinados o C^* (chroma), que indica a saturação da cor (proporção que a cor está misturada com o branco, preto ou cinza) e, H, que corresponde a tonalidade ou matriz, expressa em ângulos (0° = vermelho, 90° = amarelo, 180° = verde e 270° = azul, equivalentes ao +a, +b, -a e -b respectivamente).

2.2.4.5 Densidade

A densidade das micropartículas foi determinada no Laboratório de Termodinâmica e Extração Supercrítica (LATESC) do Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos da

Universidade Federal de Santa Catarina; através de Picnometria por gás Hélio em equipamento Micromeritics Accu Pyc II 1340 Gas Picnometer® com uso do Software 1340 Accu Pyc®. Foram pesados entre 2– 3,5 g de amostra, preenchendo 2/3 da cápsula de alumínio e compactando a amostra com auxílio de um bastão de vidro.

2.2.4.6 Ângulo de contato

Produção de pastilhas contendo as micropartículas

Foi necessária a produção de pastilhas das micropartículas para a determinação do ângulo de contato, desta forma, obteve-se uma superfície plana para a deposição dos solventes líquidos testados no goniômetro. Para a produção de pastilhas, foi utilizado aproximadamente 200 mg de amostra submetida a uma prensa a uma pressão de 1 tonelada por 1 minuto. As pastilhas foram feitas no Laboratório de Controle de Qualidade, do Programa de Pós-Graduação em Farmácia, da Universidade Federal de Santa Catarina.

Determinação do Ângulo de Contato

A determinação do ângulo de contato foi realizada no Laboratório de Reologia de Alimentos, do Programa de Pós-graduação em Ciência dos Alimentos, da Universidade Federal de Santa Catarina. O método utilizado para medir o ângulo de contato das micropartículas de zeína e extratos de casca de noz-pecã foi o da gota séssil, onde por meio de uma seringa, uma gota do líquido padrão foi aplicada sobre a superfície da pastilha de micropartículas a ser caracterizada. O ângulo estático que esta gota realizou com a superfície, através da inclinação da tangente, foi calculado. A média dos ângulos esquerdo e direito de cada gota foi obtida para o valor do ângulo de contato. Foi utilizado o goniômetro modelo OCA 15EC (Filderstadt, Germany) acoplado com sistema processador de imagem de alta resolução Data Physics Instruments.

Foram utilizadas uma gota de cada líquido padrão: água deionizada ($\gamma^T = 72,8 \text{ mN/m}$, $\gamma^d = 21,8 \text{ mN/m}$, $\gamma^p = 51,0 \text{ mN/m}$), formamida ($\gamma^T = 58,0 \text{ mN/m}$, $\gamma^d = 39,0 \text{ mN/m}$, $\gamma^p = 19,0 \text{ mN/m}$) e diiodometano ($\gamma^T = 50,8 \text{ mN/m}$, $\gamma^d = 50,8 \text{ mN/m}$, $\gamma^p = 0 \text{ mN/m}$), no volume de 5 μL , 4 μL e 0,8 μL , respectivamente. Os ensaios foram realizados em temperatura ambiente e em triplicata.

Determinação da Energia Livre Superficial

A energia livre superficial e suas componentes (polar e dispersiva) foram calculadas pelo modelo de Owens-Wendt, conforme a Equação 3. A energia livre superficial total de um sólido, pode ser expressa como a soma do componente dispersivo, γ_S^d , e polar, γ_S^p (Equação 4).

$$\gamma_L(1 + \cos \theta) = 2 \left(\sqrt{\gamma_S^d \gamma_L^d} + \sqrt{\gamma_S^p \gamma_L^p} \right) \quad (3)$$

Onde γ_L é a tensão superficial do líquido.

$$\gamma_S^T = \gamma_S^d + \gamma_S^p \quad (4)$$

2.2.4.7 Análise térmica dos extratos hidroalcoólico e aquoso e zeína por Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

Os estudos de calorimetria exploratória diferencial (DSC) foram realizados no Laboratório de Controle de Qualidade, do Programa de Pós-Graduação em Farmácia, da Universidade Federal de Santa Catarina.

As curvas de DSC foram obtidas em um equipamento Shimadzu DSC-60 *Differential Scanning Calorimeter* (Shimadzu®, Kyoto, Japão) calibrado com padrão referência de índio puro (99,99%). Aproximadamente 2 mg das amostras em pó foram pesadas em cápsulas de alumínio. Para os extratos foi feita uma varredura no intervalo de 25-500 °C, com fluxo de calor de 10 °C/min, sob atmosfera de ar de 100ml/min conforme o proposto por Barbosa Júnior (2007) com modificações. As amostras com zeína foram submetidas a um pré-aquecimento a 120 °C para eliminação da história térmica. A amostra foi aquecida novamente até 200 °C com uma taxa de aquecimento de 10 °C/min e fluxo de nitrogênio de 100mL/min, conforme Corradini (2004) com modificações.

2.2.4.8 Análise espectrofotométrica no infravermelho (FTIR)

A análise de FTIR foi realizada na Central de Análises do Departamento de Química, na Universidade Federal de Santa Catarina.

Espectros das amostras de extratos (hidroalcoólico e aquoso), micropartículas de zeína carregadas com os extratos e da zeína pura foram obtidos em um espectrofotômetro FT-IR / NIR *Spectrometer Frontier* (PerkinElmer®) na faixa de 4000-650cm⁻¹ na região espectral do infravermelho, em temperatura ambiente.

2.2.4.9 Morfologia e tamanho das micropartículas

A morfologia da superfície das amostras e o tamanho das micropartículas foram avaliados através de um microscópio eletrônico de varredura (MEV) Philips XL-30. As amostras foram aderidas a stubs e previamente recobertas com uma fina camada de ouro antes da obtenção das micrografias. A tensão utilizada foi de 5 a 15 kV nos aumentos de 500, 1500 e 3000. A distribuição de tamanho foi obtida por análise das micrografias por MEV com auxílio do *software Quantikov Image Analyzer*.

2.2.4.10 Aplicação das micropartículas em óleo vegetal e análise de *Shaal Oven Test*

A atividade antioxidante das micropartículas de extratos de casca de noz-pecã com zeína foi verificada comparando-as com a ação do antioxidante sintético (TBHQ – tercbutilhidroquinona) através do Shaal Oven Test. Foram adicionados em óleo de palma e de girassol o antioxidante sintético TBHQ nas proporções de 100 ppm e 200 ppm, teor máximo permitido em óleos conforme a legislação brasileira (BRASIL, 2005); o valor em ppm das micropartículas foi calculado com base no estudo de Ribeiro (2013) para 1000 ppm de extrato em cada amostra. Os resultados obtidos foram comparados com um tratamento controle sem a adição de micropartículas ou antioxidante sintético.

Teste de estufa (oxidação acelerada – Shall Oven Test)

As amostras de óleo (140 gramas) foram mantidas dentro de um béquer em estufa com circulação de ar a 65°C durante 15 dias, onde foram retiradas alíquotas de amostras em intervalos de tempo estabelecido de 2 dias. Foram determinados os parâmetros de oxidação

através da análise do índice de peróxidos, determinado através do método da AOCS (2004), Cd 8 – 53, nos tempos 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 e 14 dias.

2.2.5 Análise estatística

A análise estatística dos dados foi realizada através do *software Statistica®*. Os dados foram submetidos à análise de variância de comparação de médias ANOVA/ testes de Tukey ($p < 0,05$). Todos os ensaios foram realizados em triplicata.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Compostos fenólicos totais, Taninos condensados e Atividade antioxidante (ABTS e DPPH)

Na Tabela 2 podem ser observados os resultados obtidos para compostos fenólicos totais, taninos condensados e capacidade antioxidante nos extratos aquoso e hidroalcoólico da casca de noz-pecã.

Tabela 2. Teor de compostos fenólicos totais, taninos condensados e capacidade antioxidante nos extratos aquoso e hidroalcoólico de casca de noz-pecã.

	Extrato Aquoso	Extrato Hidroalcoólico
FT (mg GAE.g⁻¹)	186,02 ± 2,31 ^a	275,24 ± 41,88 ^b
TC (mg CE.g⁻¹)	35,16 ± 0,72 ^a	319,08 ± 16,49 ^b
CA^{ABTS} (mol TEAC.g⁻¹)	1108,5 ± 27,77 ^a	1207,62 ± 7,68 ^b
CA^{DPPH} (mg TEAC.g⁻¹)	1130,79 ± 6,037 ^a	1191,69 ± 10,18 ^b

FT = Fenólicos totais – mg GAE.g⁻¹ (equivalentes em ácido gálico); TC = Taninos Condensados - mg CE.g⁻¹ (equivalentes de catequina); CA^{ABTS} = Capacidade Antioxidante (ABTS) - mol TEAC.g⁻¹ (atividade antioxidante equivalente em Trolox); e CA^{DPPH} = Capacidade Antioxidante (DPPH) - mol TEAC.g⁻¹ (atividade antioxidante equivalente em Trolox). Letras iguais na mesma linha não apresentam diferença significativa ($p < 0,05$) no teste de Tukey.

O extrato hidroalcoólico apresentou valores significativamente maiores para o teor de fenólicos totais, taninos condensados e

capacidade antioxidante por ABTS e DPPH quando comparado ao extrato aquoso.

Ribeiro (2013) e Prado (2013) analisaram o conteúdo de compostos fenólicos totais do extrato aquoso de casca de noz-pecã e obtiveram 93 mg GAE.g⁻¹ e 590,78 mg GAE.g⁻¹, respectivamente, e o presente estudo 186,02 mg GAE.g⁻¹, indicando variações nos teores de fenólicos. Conforme Singanusong et al.(2003), podem ser encontradas variações dos valores de composição das nozes pela variedade, maturação e localização geográfica da noqueira.

Villarrreal-Lozoya, Lombardini e Cisneros-Zevallos (2007), reportaram teor para extração de fenólicos totais com acetona e água (70:30, v/v) da casca de noz-pecã de 80,64 mg GAE.g⁻¹. Esse valor foi inferior ao encontrado tanto para o extrato aquoso e hidroalcoólico no presente trabalho e nos estudos de Prado (2008, 2013).

Com relação ao teor de taninos condensados, Prado (2013) obteve 48,7 mg CE.g⁻¹; Prado (2008) obteve 43,4 mg CE.g⁻¹; e Ribeiro (2013) 46 mg CE.g⁻¹, resultados superiores ao encontrado no extrato aquoso deste estudo (35,16 mg CE.g⁻¹), porém inferiores ao encontrado no extrato hidroalcoólico (319,08 mg CE.g⁻¹), sugerindo que a presença do álcool aumentou significativamente a extração de taninos condensados da matriz de casca de noz-pecã. Resultados semelhantes para taninos condensados da casca de noz-pecã foram encontrados por Villarrreal-Lozoya, Lombardini e Cisneros-Zevallos (2007), que obteve 42 CE.g⁻¹ na extração aquosa e 634 CE.g⁻¹ utilizando a extração com acetona e água.

Prado (2013) avaliou a atividade antioxidante da infusão de casca de noz-pecã da variedade Barton, safra 2010 e obteve resultados superiores aos encontrados neste estudo para a capacidade antioxidante por ABTS e DPPH (4124,83 mol TEAC.g⁻¹ e 1210,97 mg TEAC.g⁻¹ respectivamente). No estudo de Prado (2008) foram reportados teores de 385,1 mg TEAC.g⁻¹ (infusão 30 minutos) e 572,2 mg TEAC.g⁻¹ (infusão 24 horas) para a capacidade antioxidante por DPPH do chá de casca de noz-pecã, valores inferiores aos encontrados no presente estudo.

Ribeiro (2013) também avaliou a atividade antioxidante do extrato aquoso de casca de noz-pecã e reportou valores inferiores ao do presente estudo para capacidade antioxidante por DPPH (293 mg TEAC.g⁻¹). Já para capacidade antioxidante por ABTS, o teor encontrado por Ribeiro (2013) (1257 mol TEAC.g⁻¹) esteve próximo ao encontrado no extrato hidroalcoólico deste estudo.

3.2 Rendimento de obtenção do processo

Na Tabela 3 podem ser observados os resultados para o rendimento do processo de secagem por *spray dryer* da zeína com extratos aquoso e hidroalcoólicos.

Tabela 3. Rendimento do processo de secagem por *spray dryer*.

Micropartículas de zeína e extrato hidroalcoólico		Micropartículas de zeína e extrato aquoso	
Amostra	Rendimento	Amostra	Rendimento
<u>1AL</u>	68,31% ^a	<u>1AQ</u>	68,03% ^a
<u>2AL</u>	52,35% ^a	<u>2AQ</u>	59,55% ^a
<u>3AL</u>	66,43% ^a	<u>3AQ</u>	65,80% ^a
<u>4AL</u>	56,71% ^a	<u>4AQ</u>	53,55% ^a
<u>5AL</u>	63,63% ^a	<u>5AQ</u>	68,55% ^a
<u>6AL</u>	64,60% ^a	<u>6AQ</u>	74,28% ^a
<u>7AL</u>	64,83% ^a	<u>7AQ</u>	75,87% ^a

AQ: Amostras contendo extrato aquoso de casca de noz-pecã; AL: Amostras contendo extrato hidroalcoólico de casca de noz-pecã. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ($p < 0,05$) quando analisados pelo teste de Tukey.

De acordo com a análise estatística não foi observada diferença significativa entre os rendimentos obtidos para as amostras estudadas.

Quispe-Condori, Saldaña e Temelli (2011) reportaram valores de eficiência entre 65,8 e 78,76% na microencapsulação de óleo de linhaça com zeína em *spray dryer*, resultados semelhantes obtidos no presente estudo. Xue et al. (2013) obteve rendimentos entre 67,4 e 76,1% para microencapsulação de oleorresina de tomate utilizando zeína como material de parede. Zou et al. (2012) reportaram rendimentos entre 55,5 a 82,2% na nanoencapsulação de procianidinas de oxicoco com zeína.

3.3 Eficiência de Encapsulação

A eficiência de encapsulação, assim como os resultados da extração superficial e total das micropartículas de zeína com extrato aquoso (AQ) e hidroalcoólico (AL) estão descritos na Tabela 4.

Tabela 4. Resultados da extração superficial, extração total e eficiência de encapsulação das micropartículas de zeína com extrato aquoso (AQ) e hidroalcoólico (AL).

Amostra	Ácido gálico superficial (mg de ác. gálico por 0,05g de amostra)	Ácido gálico total (mg de ác. gálico por 0,05g de amostra)	EE (%)
1 AQ	1,071 ± 0,24	1,40 ± 0,09	23,74 ^a
2 AQ	0,78 ± 0,20	1,22 ± 0,14	36,19 ^{ab}
3 AQ	0,88 ± 0,23	1,16 ± 0,12	24,38 ^{ab}
4 AQ	0,70 ± 0,14	0,98 ± 0,08	28,88 ^{ab}
5 AQ	0,66 ± 0,06	1,14 ± 0,08	41,86 ^{ab}
6 AQ	0,71 ± 0,10	1,22 ± 0,23	41,43 ^{ab}
7 AQ	0,56 ± 0,03	1,41 ± 0,09	59,90 ^b
1 AL	0,77 ± 0,16	1,24 ± 0,07	37,92 ^{ab}
2 AL	0,65 ± 0,07	1,04 ± 0,02	37,28 ^{ab}
3 AL	0,73 ± 0,06	1,62 ± 0,22	54,53 ^{ab}
4 AL	0,64 ± 0,10	1,41 ± 0,06	54,14 ^{ab}
5 AL	0,63 ± 0,11	1,53 ± 0,06	58,57 ^{ab}
6 AL	0,69 ± 0,04	1,47 ± 0,25	52,74 ^{ab}
7 AL	0,87 ± 0,18	1,39 ± 0,17	37,44 ^{ab}

AQ: Amostras contendo extrato aquoso de casca de noz-pecã; AL: Amostras contendo extrato hidroalcoólico de casca de noz-pecã; EE: Eficiência e encapsulação. Valores apresentados com média ± desvio padrão. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ($p < 0,05$) quando analisados pelo teste de Tukey.

De acordo com os resultados obtidos as amostras a amostra 7AQ apresentou eficiência de encapsulação significativamente maior que as demais (59,9%). A amostra 1AQ apresentou eficiência de encapsulação significativamente menor que as demais e as amostras restantes não apresentaram diferenças significativas quando comparadas

com as amostras 7AQ e 1AQ. Desta forma as amostras que apresentaram a maior eficiência (7AQ, e 3AL) foram caracterizadas.

Maciel (2014) reportou, para micropartículas de zeína carregadas de timol e obtidas por *spray dryer* valores de eficiência de microencapsulação inferiores aos encontrados no presente estudo (entre 13,5 e 27%).

Quispe-Condori, Saldaña e Temelli (2011) obtiveram resultados superiores para a eficiência de encapsulação de micropartículas de zeína carregadas com óleo de linhaça, (entre 32,68 e 93,26%). Luo et al. (2008) na microencapsulação de alfa tocoferol com zeína e quitosana, reportaram 76,6 a 87,7% de eficiência de encapsulação e, Xue et al. (2013) com microencapsulação de oleorresina de tomate e zeína obtiveram valores de eficiência superiores ao presente estudo (entre 74,1 e 91,5%).

3.4 Liberação

Os perfis de liberação das micropartículas de zeína contendo extrato aquoso e hidroalcoólico de casca de noz-pecã foram avaliados em meio aquoso através da quantificação de compostos fenólicos pelo método de Follin Ciacoulteau e os resultados obtidos podem ser observados na Figura 1.

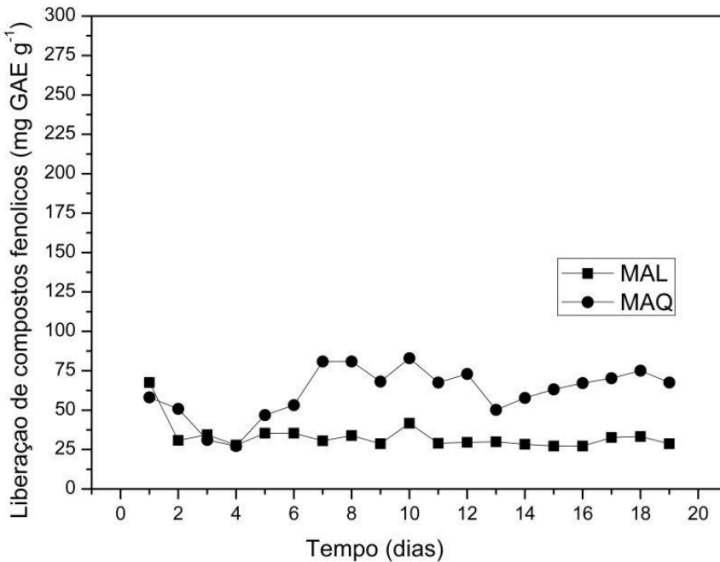


Figura 1. Perfil de liberação de compostos fenólicos das MAL e MAQ ao longo de 19 dias. Onde MAL: Micropartículas de zeína com extrato hidroalcoólico de casca de noz-pecã; MAQ: Micropartículas de zeína com extrato aquoso de casca de noz-pecã.

O perfil de liberação dos compostos fenólicos das micropartículas de zeína com extrato aquoso e hidroalcoólico de casca de noz-pecã pode ser caracterizado como bifásico, ou seja, de duas etapas, uma rajada inicial, ou lançamento cumulativo, seguido por subsequente liberação contínua. Nota-se liberação de compostos fenólicos acentuada no dia 1, principalmente nas MAL. Entre os dias 3 e 4 foi observado um equilíbrio na liberação, sendo esta fase inicial atribuída aos extratos presentes na superfície das micropartículas.

Um aumento na liberação de fenólicos é observado após o quarto dia principalmente nas MAQ, que liberaram 2,35 vezes mais compostos fenólicos quando comparadas as MAL.

O platô de liberação ocorreu a partir do 11º dia para as MAL e, a partir do 16º dia para as MAQ. No estudo de liberação de fenólicos de Arcan e Yemenicioglu (2011) para filmes de zeína carregados de compostos fenólicos, os filmes mantiveram liberação até o 13º dia. Conforme estudo de Luo et al. (2011), a quantidade de zeína utilizada na formulação das micropartículas está relacionada com o perfil de

liberação, sendo que menores proporções de zeína resultam em lançamento cumulativo superior. Estes resultados estão de acordo com o obtido no presente estudo, uma vez que as MAL, com metade da quantidade de zeína apresentada pelas MAQ, obtiveram liberação superior nos primeiros dias de ensaio.

3.5 Cor

Na Tabela 5 podem ser os dados obtidos para a análise instrumental da cor das micropartículas de zeína contendo extrato aquoso (MAQ), micropartículas de zeína contendo extrato hidroalcoólico (MAL), extrato aquoso, extrato hidroalcoólico e zeína pura.

Tabela 5. Análise instrumental da cor das micropartículas de zeína contendo extrato aquoso (MAQ), micropartículas de zeína contendo extrato hidroalcoólico (MAL), extrato aquoso, extrato hidroalcoólico e zeína pura.

Parâmetro de cor	Zeína	Extrato aquoso	Extrato hidroalcoólico	MAQ	MAL
L*	78,77 ± 0,30 ^b	47,39 ± 0,08 ^{ac}	50,45 ± 0,21 ^c	74,44 ± 0,33 ^{ab}	71,31 ± 0,20 ^{ab}
a*	7,60 ± 0,04 ^a	16,42 ± 0,02 ^b	15,34 ± 0,06 ^c	6,09 ± 0,09 ^d	7,14 ± 0,13 ^e
b*	49,74 ± 0,20 ^a	22,41 ± 0,01 ^b	19,93 ± 0,09 ^c	24,29 ± 0,12 ^d	22,18 ± 0,07 ^b
C*	50,32 ± 0,21 ^a	27,79 ± 0,02 ^b	25,15 ± 0,11 ^c	25,04 ± 0,14 ^c	23,30 ± 0,11 ^d
H*	81,31 ± 0,02 ^a	53,76 ± 0,03 ^b	52,41 ± 0,03 ^c	75,92 ± 0,16 ^d	72,15 ± 0,24 ^e

MAQ: Micropartículas de zeína com extrato aquoso de casca de noz-pecã; MAL: Micropartículas de zeína com extrato hidroalcoólico de casca de noz-pecã. Valores com letras iguais na mesma linha não apresentam diferença significativa (Tukey, $p < 0,05$).

De acordo com os resultados obtidos, a zeína e as micropartículas MAQ e MAL apresentaram valor de luminosidade (L*) sem diferença significativa ($p < 0,05$) e maiores que os extratos aquoso e hidroalcoólico, sugerindo que a zeína oferece variação de coloração mais próxima ao branco às micropartículas. Pode-se observar também que a zeína não sofre alteração na luminosidade após a secagem por *spray dryer*, como é o caso das micropartículas.

Para variação de cor verde ao vermelho (a*), todas as amostras situam-se nos tons avermelhados, sendo os extratos as amostras mais vermelhas. Conforme Senter e Forbus (1978) e Prado (2008) a coloração vermelho-marrom da noz-pecã tem relação a presença de flabeno

(pigmento vermelho) derivado dos taninos condensados, e a mudança de tons está relacionada a oxidação desses pigmentos.

Para a variação da cor azul ao amarelo (b*), as amostras tenderam ao amarelo. A zeína pura apresentou maior tendência ao amarelo quando comparada as demais amostras. A zeína é a proteína do milho, e segundo Graner (1946) a coloração amarela do milho é oferecida pelas xantofilas, pigmento pertencente aos carotenoides.

Com relação a saturação da cor (C*) a amostra de zeína pura obteve o valor superior (50,32) e as amostras de extrato hidroalcoólico e as micropartículas de zeína com extrato aquoso (MAQ) não apresentaram diferença significativa.

Através da análise do parâmetro H, indicador da tonalidade ou matriz, a amostra de zeína pura (81,31) obteve o maior ângulo, seguida pelas micropartículas aquosa (75,92) e hidroalcoólica (72,15). Prado et al. (2013) obteve 54,73 para o parâmetro de cor H do extrato aquoso de casca de noz-pecã Barton seco por *spray dryer*, valor semelhante ao encontrado no presente estudo para o mesmo extrato (53,76), além disto, houve semelhança para o parâmetro L*, indicando que os extratos aquosos de ambos os estudos se encontram em proximidade de tonalidade e luminosidade.

3.6 Densidade

Na Tabela 6 podem ser observados os dados obtidos para o volume médio e densidade média para as micropartículas obtidas em *spray dryer*, para os extratos aquoso e hidroalcoólico, e para a zeína pura.

Tabela 6. Valores de volume e densidade para as micropartículas, extratos e zeína.

Amostra	Volume médio (cm³)	Densidade média (g/cm³)
Extrato hidroalcoólico	1,4305 ± 0,0034 ^a	1,4784 ± 0,0035 ^a
Extrato aquoso	2,0634 ± 0,0019 ^a	1,5425 ± 0,0015 ^b
MAL	1,7705 ± 0,0028 ^a	1,2873 ± 0,0020 ^c
MAQ	1,8588 ± 0,0019 ^a	1,2625 ± 0,0013 ^d
Zeína	2,3380 ± 0,0007 ^a	1,2868 ± 0,0004 ^c

MAL: Micropartículas de zeína com extrato hidroalcoólico de casca de noz-pecã; MAQ: Micropartícula de zeína com extrato aquoso de casca de noz-pecã. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ($p < 0,05$) quando analisados pelo teste de Tukey.

De acordo com a Tabela 7, as micropartículas com extrato aquoso apresentaram valor significativamente inferior ($p < 0,05$) para densidade. Não houve diferença entre a densidade das micropartículas contendo extrato hidroalcoólico ($1,28 \text{ g/cm}^3$) e a zeína pura ($1,28 \text{ g/cm}^3$), indicando que a densidade maior encontrada nos extratos ($1,47$ e $1,54 \text{ g/cm}^3$) não interferiu na formação de micropartículas menos densas, o que pode ser observado também nas micropartículas contendo extrato aquoso ($1,26 \text{ g/cm}^3$).

Em relação ao volume médio, não houve diferença significativa entre as micropartículas, os extratos e a zeína.

3.7 Ângulo de Contato

A medida do ângulo de contato entre a superfície das micropartículas com líquidos de diferentes polaridades pode indicar a hidrofobicidade ou a hidrofiliabilidade do material. Na Tabela 7 é possível observar os ângulos de contato e a energia livre superficial das micropartículas de zeína com extrato aquoso e hidroalcoólico de casca de noz-pecã.

Tabela 7. Resultados para o ângulo de contato, energia livre superficial total, dispersiva e polar utilizando o modelo de Owens-Wendt.

Amostra	Ângulo de Contato			Modelo Owens-Wendt		
	H ₂ O	Formamida	Diiodometano	γ^T (Mn/m)	γ^D (Mn/m)	γ^P (Mn/m)
MAL	$88,54 \pm 3,50^a$	$62,44 \pm 1,42^a$	$40,80 \pm 2,06^a$	39,34	1,31	38,04
MAQ	$88,48 \pm 2,89^a$	$56,66 \pm 1,44^b$	$41,95 \pm 1,87^a$	40,72	1,35	39,36

MAL: Micropartículas de zeína com extrato hidroalcoólico de casca de noz-pecã; MAQ: Micropartículas de zeína com extrato aquoso de casca de noz-pecã. γ^T : energia livre superficial total; γ^D : componente dispersivo; γ^P : componente polar. Valores apresentados como média \pm desvio padrão. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ($p < 0,05$) quando analisados pelo teste de Tukey.

Observando a Tabela 7, podemos considerar que as micropartículas de zeína com extrato aquoso e hidroalcoólico de casca de noz-pecã são pouco hidrofílicas por apresentarem ângulo de contato para a água iguais a $88,54 \pm 3,5$ e $88,48 \pm 2,89$ para MAL e MAQ, respectivamente.

Os valores de ângulo de contato com a água estão de acordo com a literatura para a zeína. De acordo com Shukla e Cheryan (2001) a

zeína apresenta hidrofobicidade a água e conforme Maciel (2014) o ângulo de contato da zeína com a água é de $93,71^\circ$, o que confirma a característica hidrofóbica. Estes resultados demonstram que a presença dos extratos nas micropartículas e o processo de *spray dryer* pouco influenciam nas medidas de ângulo de contato, preservando as características da zeína.

As características hidrofóbicas das micropartículas são confirmadas através dos ângulos de contato obtidos para a formamida e para o diiodometano. O mesmo ocorre nos valores encontrados para a energia livre superficial calculada pelo modelo Owens-Wendt, que apresentou valores superiores para o componente dispersivo (apolar) tanto para as micropartículas de zeína com extrato aquoso (39,36) e hidroalcoólico (38,04). Estes dados estão em consonância com o estudo de Maciel (2014) que obteve 37,1 para o componente dispersivo de micropartículas de zeína carregadas com timol.

3.8 Análise térmica por Calorimetria Diferencial Exploratória (DSC)

As medidas para obtenção das curvas de DSC da zeína, micropartículas e extratos foram realizadas em um calorímetro e os resultados estão dispostos na Figura 2.

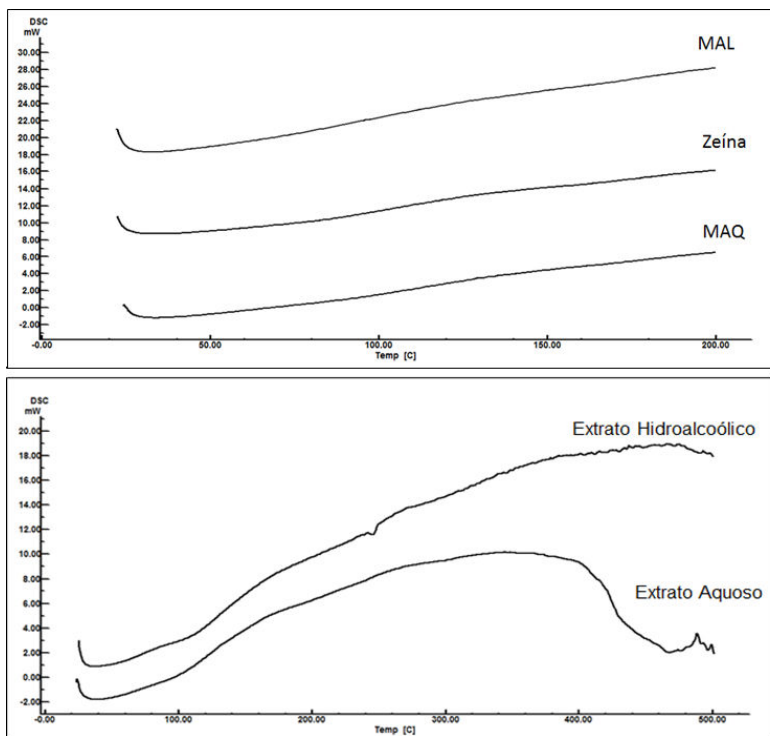


Figura 2. Curvas de DSC para a zeína pura, MAL, MAQ, extrato aquoso e extrato hidroalcoólico de casca de noz-pecã. Onde: MAL= Micropartículas de zeína com extrato hidroalcoólico de casca de noz-pecã; MAQ= Micropartículas de zeína com extrato aquoso de casca de noz-pecã.

Analisando os resultados obtidos para o DSC, é possível observar que a zeína demonstra-se um pó amorfo, estável termicamente, em consonância com Shukla e Cheryan (2001). O DSC da zeína foi similar ao das micropartículas de zeína com extrato aquoso e hidroalcoólico de casca de noz-pecã, indicando a estabilidade térmica dos compostos fenólicos presentes nos extratos microencapsulados até 200 °C. Este fato é confirmado quando realizado o DSC apenas para os extratos.

Os extratos de casca de noz-pecã mantiveram-se íntegros termicamente até aproximadamente 240 °C. Ambos os extratos obtiveram uma endoterma próximo a 100 °C relativo a evaporação de

água. O extrato hidroalcoólico apresentou um pico endotérmico próximo a 250 °C indicando o ponto de fusão e, a exoterma observada após esta temperatura pode ser atribuída à fusão e oxidação do material evaporado. Já o extrato aquoso apresentou uma endoterma seguida de picos exotérmico próximo aos 490 °C o que pode indicar o ponto de cristalização.

Barbosa Junior (2007) no estudo do uso de taninos na síntese de polímeros fenólicos reforçados com material vegetal, identificou através de análise de DSC, Termogravimetria (TG) e Termogravimetria Derivada (dTG) que a decomposição de fenólicos ocorre entre 500 e 600 °C, a dos anéis fenólicos dos taninos começam a 450 °C e a matriz celulósica a partir de 200 °C. Resultados condizentes aos encontrados neste estudo nos extratos aquoso e hidroalcoólico de casca de noz-pecã, que possuem matriz vegetal rica em compostos fenólicos e taninos condensados.

3.9 Análise espectrofotométrica no infravermelho (FTIR)

Na figura 3 podem ser observados os espectros de FTIR (*Fourier transform infrared spectroscopy*) para a zeína pura, extrato hidroalcoólico de casca de noz-pecã, micropartículas de zeína com extrato hidroalcoólico (MAL), extrato aquoso e micropartículas de zeína com extrato aquoso de casca de noz-pecã (MAQ).

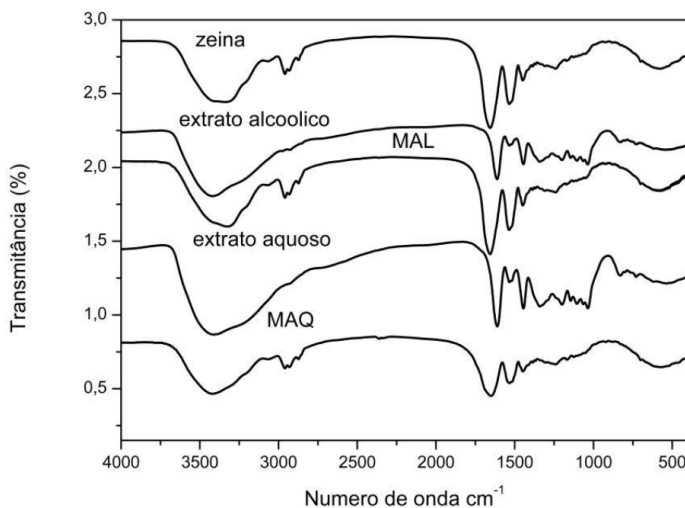


Figura 3. Espectro FTIR da zeína, extrato hidroalcoólico, MAL: Micropartículas de zeína com extrato hidroalcoólico de casca de noz-pecã, extrato aquoso e MAQ: Micropartículas de zeína com extrato aquoso de casca de noz-pecã.

Através da análise de FTIR observou-se que os extratos apresentaram de forma geral espectros semelhantes entre si, sugerindo a presença dos mesmos componentes químicos nos dois tipos de extração. Os espectros dos extratos do presente estudo foram semelhantes ao de Prado (2013) para o extrato aquoso de casca de noz-pecã, com presença de uma banda pronunciada na região $3000\text{-}3500\text{cm}^{-1}$ atribuída ao grupamento OH, e diversos picos nas regiões de 1800 a 1000cm^{-1} , podendo ser indicativos de: 1800 a 1600cm^{-1} relacionado a ligações C=O; 1600cm^{-1} ao grupo fenil, C=C, e ligações de anéis aromáticos; $1400\text{-}1000\text{cm}^{-1}$ a ligações C-O normalmente atribuídos a carboidratos ou compostos fenólicos (SILVERSTEIN, 2000).

Conforme Naumann (2000) apud Forato et al. (2013), existem principais regiões de absorção em espectros FTIR em proteínas, que podem ser observadas no espectro obtido para a zeína e micropartículas, sendo elas a região espectral 3100 a 2800cm^{-1} relacionada a ligações C-H geralmente de ácidos graxos e aminoácidos; 1800 a 1500cm^{-1} bandas intensas de amida I e II; 1300 a 1500cm^{-1} estiramentos predominantemente de =CH₂ e -CH de lipídios e proteínas, sendo

1400 cm^{-1} atribuída ao grupo $-\text{COO}^-$ da cadeia lateral de aminoácidos; e 1200 a 1000 cm^{-1} com presença de uma sequência complexa de picos relacionados a oligo e polissacarídeos (amidos), como é possível observar no espectro FTIR da zeína e micropartículas na Figura XX, em consonância com o espectro obtido para a zeína por Luo et al. (2011), Forato et al. (2013) e Maciel (2014).

Os espectros das micropartículas foram análogos ao da zeína pura, indicando que a zeína não sofre alteração térmica quando submetida ao *spray dryer*. Além disto, este fato pode ser atribuído a efetiva microencapsulação dos extratos aquoso e hidroalcoólico, pela sobreposição das bandas dos extratos pelas da zeína. Outra hipótese para a semelhança dos espectros FTIR contendo zeína é que, a proporção extrato/zeína utilizada na formulação das micropartículas tenha influenciado o resultado, a zeína em maior quantidade (>90%) predominou nos espectros.

3.10 Morfologia

As imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura para os extratos aquoso e hidroalcoólico de casca de noz-pecã e para a zeína podem ser vistas na Figura 4.

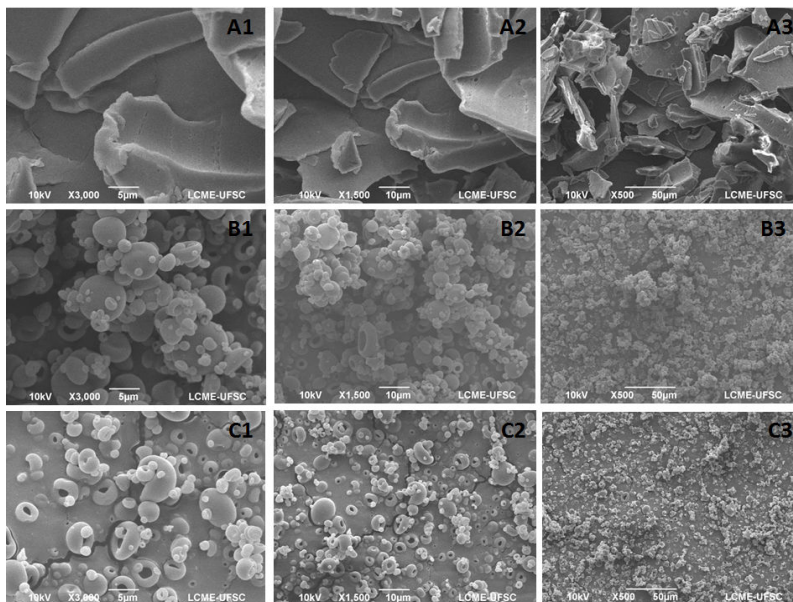


Figura 4. Micrografias da zeína pura (A) e extratos hidroalcoólico (B) e aquoso (C) de casca de noz-pecã. Onde 1: representa uma magnificação de 3000 vezes, 2: aumento de 1500 vezes e 3: aumento de 500 vezes.

As imagens obtidas para a zeína pura (A1, A2, A3) mostram estruturas irregulares e de superfície lisa. Segundo Shukla e Cheryan (2001) este tipo de polímero é capaz de formar recobrimentos duros, brilhantes, hidrofóbicos, impermeáveis, flexíveis e compressíveis.

O extrato hidroalcoólico (B1, B2, B3) e o extrato aquoso (C1, C2, C3) de casca de noz-pecã apresentaram estrutura granulosa, com grânulos lisos e arredondados, de formato côncavo e aproximadamente 5 μm de diâmetro. Prado (2013) obteve o mesmo padrão para microscopias do extrato aquoso de casca de noz-pecã, porém encontrou diâmetros variando de 2,5 a 15 μm .

Na Figura 5 são apresentadas as imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) das micropartículas de zeína com extrato aquoso (MAQ) e hidroalcoólico (MAL).

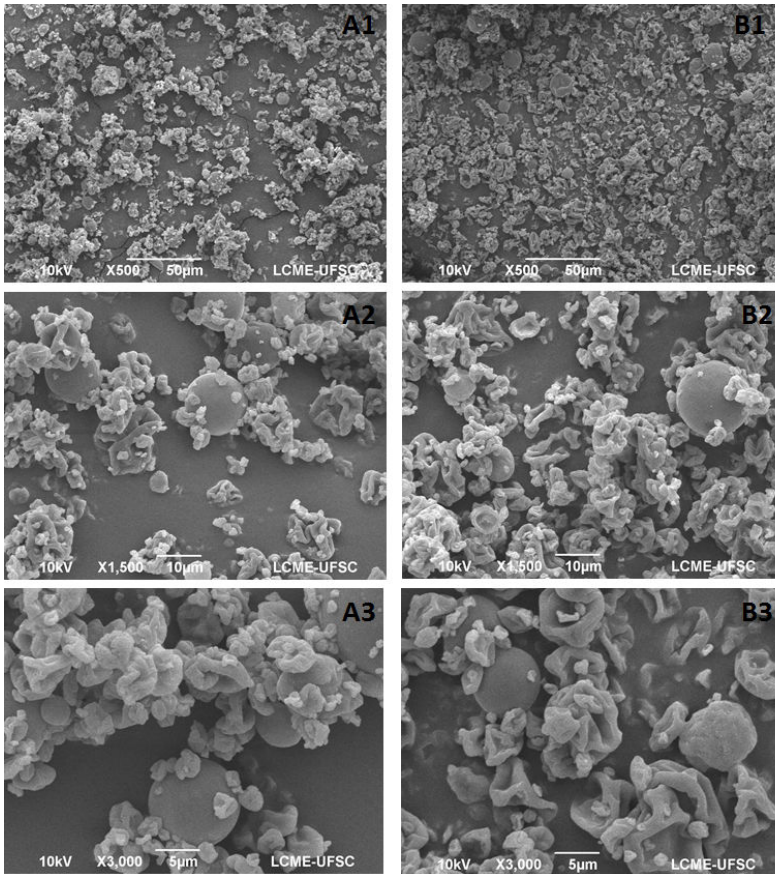


Figura 5. Micrografias das micropartículas de zeína com extrato hidroalcoólico de casca de noz-pecã (A) e micropartículas com extrato aquoso de casca de noz-pecã (B). Onde 1: representa uma magnificação de 500 vezes, 2: aumento de 1500 vezes e 3: aumento de 3000 vezes.

As micropartículas de zeína com extrato hidroalcoólico (A1, A2, A3) assim como as com extrato aquoso (B1, B2, B3) apresentaram forma esférica, de superfície lisa, amassada com concavidades, sem porosidades, fissuras ou fendas. Segundo Tonon, Grosso e Hubinger (2011) essas características são importantes para proporcionar uma menor permeabilidade a gases, uma melhor proteção e retenção do núcleo.

As concavidades conforme [Fritzen-Freire et al. \(2012\)](#) e Tonon, Grosso e Hubinger (2011) são típicas de materiais produzidos por

secagem por atomização. Saézn et al. (2009) relatou que a formação de concavidades na superfície de micropartículas atomizadas pode ser atribuída ao encolhimento das micropartículas durante o processo de secagem, devido à rápida evaporação do líquido. Estas mesmas características foram encontradas por Chen, Zhang e Zhong (2015) no estudo morfológico de nanopartículas de zeína, caseína, timol e eugenol em *spray dryer*.

Foi observada uma tendência à aglomeração das micropartículas, fato que conforme Bhandari et al. (1993) pode ser favorecido devido a presença do material de recheio (extratos) em seus interstícios.

3.10.1 Distribuição de tamanho

A distribuição do tamanho das partículas foi determinada pelo software Quantikov através das imagens obtidas pelo MEV e está demonstrada na Figura 6.

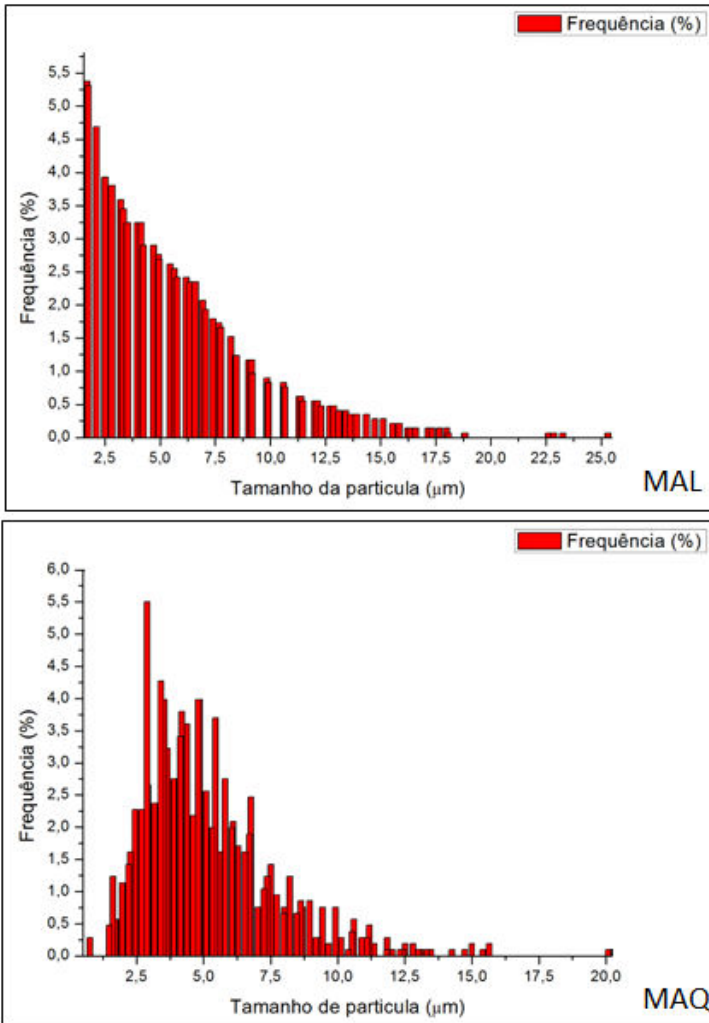


Figura 6. Distribuição de tamanho das micropartículas de zeína contendo extrato aquoso (MAQ) e hidroalcoólico (MAL) de casca de noz-pecã.

As micropartículas apresentaram distribuição de tamanho unimodal, conforme a Figura 6, e as micropartículas com extrato hidroalcoólico e aquoso obtiveram maior frequência de tamanho na

faixa de 2,6 e 5 μ m, com 48,01% e 35,74%, respectivamente, como pode ser observado na Tabela 8.

Tabela 8. Distribuição de frequência por faixas de tamanho das micropartículas contendo extrato aquoso (MAQ) e hidroalcoólico (MAL).

Tamanho (μ m)	Frequência (%)	
	MAQ	MAL
0-2,5	19,32	9,01
2,6-5,0	35,74	48,01
5,1-7,5	20,49	27,42
7,6-10	13,25	10,82
10,1-12,5	5,72	3,23
12,6-15	3,10	1,14
>15	2,33	0,38

MAQ: Micropartículas de zeína com extrato aquoso de casca de noz-pecã; MAL: Micropartículas de zeína com extrato hidroalcoólico de casca de noz-pecã.

O tamanho médio das micropartículas foi determinado através da análise cumulativa, como mostra a Figura 7.

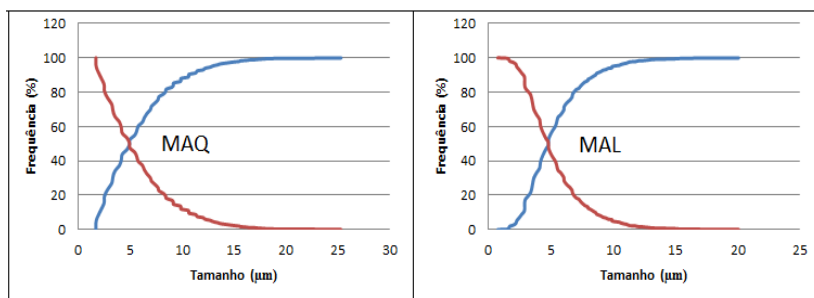


Figura 7. Gráfico cumulativo das micropartículas de zeína com extratos aquoso (MAQ) e hidroalcoólico (MAL) de casca de noz-pecã.

As micropartículas de zeína com extrato aquoso e hidroalcoólico obtiveram tamanho médio de 4,93 μm e 4,81 μm respectivamente, indicando que as mesmas se encontram em escala micrométrica. Maciel (2014) obteve tamanho médio superior ao do presente estudo, de 7 μm para micropartículas de zeína e timol secas por *spray dryer*, assim como Fritzen-Freire et al. (2012) que obteve tamanho entre 14,45 e 18,78 μm para micropartículas de oligofrutose e prebióticos por *spray dryer*.

Conforme Fang e Bhandari (2010) são esperados para micropartículas obtidas através de secagem por atomização, tamanhos que podem variar entre 10 e 100 μm . No entanto, as micropartículas produzidas com zeína do presente estudo, assim como dos estudos de Maciel (2014), e estudos de nanopartículas utilizando como material de parede a zeína como o de Luo et al. (2010), Zou et al. (2012), Wang et al. (2013) e Chen, Zhang e Zhong (2015), indicam que o biopolímero zeína é capaz de formar partículas menores que 10 μm por *spray dryer*.

3.11 Aplicação em óleo vegetal (*Shaal Oven Test*)

Os índices de peróxido determinados ao longo do tempo em óleo de girassol e palma adicionados de micropartículas com 1000 ppm de extrato de noz-pecã podem ser observados na Tabela 9.

Tabela 9. Determinação do índice de peróxidos, ao longo de 14 dias, na avaliação da liberação dos compostos bioativos presentes nas micropartículas contendo extratos aquoso e hidroalcoólico de casca de noz-pecã em óleos de girassol e palma.

Tempo (dias)	TBHQ 100	TBHQ 200	MAQ	MAL	Controle
Óleo de Girassol					
0	0,32±0,11 ^{Aa}	0,19±0,19 ^{Ac}	0,26±0,29 ^{Aa}	0,26±0,11 ^{Aa}	0,19±0,00 ^{Ae}
2	0,65±0,11 ^{ABab}	0,91±0,11 ^{ABCac}	1,10±0,29 ^{BCab}	0,58±0,00 ^{Ca}	2,74±0,33 ^{Da}
4	0,97±0,19 ^{ABCDbc}	1,50±0,11 ^{BCDab}	1,24±0,22 ^{CDb}	0,65±0,11 ^{Da}	4,49±0,70 ^{Eab}
6	1,36±0,19 ^{BCCc}	1,50±0,11 ^{Cab}	3,71±0,39 ^{DC}	3,45±0,27 ^{Db}	4,95±0,57 ^{Ebc}
8	2,08±0,11 ^{ACd}	1,82±0,22 ^{Cb}	5,08±0,18 ^{Dd}	4,24±0,22 ^{Eb}	6,77±0,28 ^{Fc}
10	4,51±0,32 ^{Ca}	4,39±0,10 ^{Dd}	23,72±0,50 ^{Ea}	26,29±0,86 ^{Fc}	48,91±0,60 ^{Gd}
12	11,44±0,28 ^{Df}	8,33±0,24 ^{De}	24,47±0,14 ^{Ee}	29,88±0,81 ^{Fd}	48,78±1,83 ^{Gd}
14	13,83±0,11 ^{Dg}	9,85±0,60 ^{Df}	29,08±0,24 ^{Ef}	33,88±0,19 ^{Fe}	56,05±0,29 ^{Gf}
Óleo de Palma					
0	0,06±0,11 ^{Aa}	0,13±0,22 ^{Aa}	0,19±0,19 ^{Aa}	0,00±0,00 ^{Aa}	0,06±0,11 ^{Aa}
2	0,32±0,11 ^{Aab}	0,25±0,11 ^{Aa}	0,45±0,11 ^{Aa}	0,39±0,00 ^{Aab}	0,26±0,11 ^{ABa}
4	0,25±0,11 ^{Aab}	0,19±0,00 ^{Aba}	0,65±0,11 ^{ABCab}	0,84±0,29 ^{ABCabc}	0,58±0,00 ^{ABCa}
6	0,71±0,11 ^{Abc}	0,65±0,11 ^{Aab}	0,97±0,19 ^{ABab}	1,04±0,11 ^{ABbc}	1,82±0,27 ^{ABCb}
8	0,97±0,19 ^{Bc}	0,91±0,22 ^{Bb}	1,69±0,22 ^{ABb}	1,49±0,11 ^{Ac}	2,47±0,41 ^{ACb}
10	1,19±0,19 ^{ACd}	0,97±0,19 ^{Ab}	4,52±0,37 ^{Bc}	5,81±0,47 ^{Bd}	7,40±0,29 ^{Bc}
12	1,55±0,38 ^{Ad}	1,10±0,11 ^{Ab}	5,72±0,92 ^{Bd}	6,99±0,18 ^{BCa}	10,9±0,78 ^{Cd}
14	2,47±0,11 ^{Ae}	1,76±0,39 ^{Ac}	8,09±0,29 ^{Ba}	10,11±0,63 ^{Bf}	16,18±0,59 ^{BCa}

Letras maiúsculas iguais na mesma linha e letras minúsculas iguais na mesma coluna não apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$) quando analisados pelo teste de Tukey. MAQ: Micropartículas de zeína com extrato aquoso de casca de noz-pecã; MAL: Micropartículas de zeína com extrato hidroalcoólico de casca de noz-pecã; TBHQ 100: Antioxidante sintético Terc-butil-hidroquinona a 100 ppm; TBHQ 200: Antioxidante sintético Terc-butil-hidroquinona a 200 ppm.

O óleo de girassol obteve melhor estabilidade a oxidação acelerada quando adicionado de TBHQ a 200 ppm (9,85 meq/kg), seguido pelo TBHQ a 100 ppm (13,83 meq/kg). O antioxidante sintético também demonstrou menores índices de peróxido no óleo de palma, 1,76 meq/kg para a concentração de 200 ppm e 2,47 meq/kg para 100 ppm.

O óleo de palma mostrou-se mais estável ao teste de oxidação acelerada se comparado ao óleo de girassol. Isto se deve a composição dos óleos, o óleo de palma possui 40,7% de ácido palmítico (C16:0),

42% de ácido oleico (C18:1) e 10,2% de ácido linoleico (C18:2), enquanto que o óleo de girassol é composto principalmente por 21,09% de ácido oleico, 67,78% de ácido linoleico e 0,15% de ácido linolênico (JORGE et al., 2005; GRIMALDI, GONÇALVEZ e ANDO, 2005). Desta forma, observa-se que o óleo de palma é mais estável por possuir menor teor de ácidos graxos insaturados se comparado ao óleo de girassol.

Relacionando aos controles (óleo apenas), o uso das micropartículas de zeína com extratos aquoso e hidroalcoólico demonstrou proteção contra a oxidação tanto nos óleos de girassol e palma.

A Resolução RDC Nº 482, de 23 de setembro de 1999 da ANVISA assim como o Regulamento técnico para óleos e gorduras vegetais da ANVISA (2004) prevê um índice de peróxido máximo de 10 meq/kg para os óleos refinados. Conforme esta resolução, o óleo de girassol em 14 dias de oxidação acelerada apenas manteve a qualidade com o uso do antioxidante TBHQ a 200 ppm (9,85 meq/kg). As micropartículas de zeína com extrato aquoso (5,08 meq/kg) e hidroalcoólico (4,24 meq/kg) possibilitaram a integridade do óleo de girassol até o oitavo dia de oxidação acelerada. O óleo de palma por sua vez, manteve-se íntegro ao consumo conforme a resolução em todas as amostras, exceto no controle (16,18 meq/kg). As micropartículas de zeína com extrato aquoso (8,09 meq/kg) e hidroalcoólica (10,11 meq/kg) foram capazes de inibir a formação de peróxidos além do preconizado, no óleo de palma, demonstrando capacidade antioxidante natural pela liberação de compostos fenólicos.

As micropartículas de zeína com extrato aquoso apresentaram melhor desempenho antioxidante se comparadas as micropartículas com extrato hidroalcoólico nos óleos de girassol e palma, confirmando os resultados de liberação realizados no presente estudo, onde as MAQ liberaram compostos fenólicos até em torno do 15º dia, enquanto que as MAL tiveram liberação até o 10º dia. Apesar do extrato hidroalcoólico de casca de noz-pecã apresentar maior teor em compostos fenólicos e taninos condensados, depois de microencapsulado com zeína obteve resultados inferiores relacionados a atividade antioxidante no teste de oxidação acelerada. Fato que pode estar relacionado a proporção de zeína utilizada na formulação das micropartículas, como descrito por Luo et al. (2011).

Prado (2013) em estudo do Shaal Oven Test com micropartículas (mistura de maltodextrina, goma arábica e 1- α -fosfadilcolina) contendo extrato aquoso de casca de noz-pecã 1000 ppm

obteve índice de peróxido final ao 14º dia de 11,29 meq/kg em óleo de soja. Resultado superior ao encontrado no presente estudo com as micropartículas de zeína e extrato aquoso em óleo de girassol (29,08 meq/kg), que possui composição semelhante ao óleo de soja; este resultado sugere que o material de parede utilizado para a formação de micropartículas influencia na liberação dos compostos bioativos presentes no extrato.

4 CONCLUSÃO

Com base nos dados é possível concluir que:

- A extração hidroalcoólica assistida por ultrassom foi mais eficiente para extração de compostos fenólicos, e apresentou teor 9 vezes superior em taninos condensados quando comparada a infusão assistida por ultrassom. A atividade antioxidante, medidas pelos sistemas ABTS e DPPH também foram superiores no extrato hidroalcoólico.

- As micropartículas de zeína atomizadas por spray drying que obtiveram melhor rendimento e eficiência foram as formulações contendo: 10g de zeína e 0,4g de extrato aquoso (7AQ); e de 5g de zeína com 0,6g de extrato hidroalcoólico (3AL).

- As micropartículas de zeína com extrato aquoso obtiveram melhor perfil de liberação, liberando 2,35 vezes mais compostos fenólicos em 1,45 vezes mais tempo se comparadas as micropartículas com extrato hidroalcoólico, que obtiveram maior lançamento cumulativo inicial.

- Microscopicamente as micropartículas são semelhantes, apresentando superfície lisa com concavidades, mas sem fissuras ou rachaduras. Encontram-se na escala micrométrica e tem distribuição de tamanho unimodal.

- A análise térmica DSC demonstrou que as micropartículas são estáveis termicamente até 200 °C. Não há degradação da zeína após secagem em *spray dryer*. A partir do DSC apenas dos extratos observou-se que há degradação térmica após os 200 °C, sugerindo que deve ser realizada uma análise térmica das micropartículas até 500 °C, afim de, verificar se a zeína é capaz de proteger os compostos bioativos dos extratos a temperaturas mais elevadas.

- Os resultados obtidos através da análise espectrofotométrica no infravermelho (FTIR) indicaram a possível encapsulação dos extratos pela zeína.

- Através da análise de cor, foi possível notar semelhança entre as micropartículas, que tenderam a luminosidade da zeína.

- As micropartículas de zeína com extrato aquoso demonstraram-se pouco menos densas que as com extrato hidroalcoólico, mas não apresentaram diferença significativa no volume.

- A partir da medida do ângulo de contato e pelo cálculo da energia livre superficial foi possível observar que a hidrofobicidade da zeína foi mantida em ambas as micropartículas, apesar da hidrofiliabilidade dos extratos.

- Apesar do extrato hidroalcoólico obter maiores teores de compostos fenólicos, taninos condensados e atividade antioxidante, no teste de oxidação acelerada (Shaal Oven Test) as micropartículas de zeína com extrato aquoso demonstraram maior atividade antioxidante nos óleos de girassol e palma. Fato evidenciado também no estudo de liberação, que pode estar relacionado com a proporção de zeína utilizada.

- Estudos com o objetivo de melhorar o perfil de liberação de micropartículas de zeína e extrato hidroalcoólico de casca de noz-pecã devem ser realizados, considerando os teores de antioxidantes presentes neste extrato e sua potencialidade como substituto a antioxidantes sintéticos em alimentos.

5 AGRADECIMENTOS

Às empresas Divinut Indústria de Nozes LTDA. (Cachoeira do Sul – RS) e Triângulo alimentos pelo fornecimento da matéria prima e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos para Itamara Kureck. Aos estudantes: Matheus Brisola Maciel, Cleonice Gonçalves da Rosa do Laboratório de Reologia de polímeros; Gislaine Kuminek do Laboratório de Controle de qualidade; Lindomar Lerin e Leno Soares do Laboratório de física dos alimentos; Gláucia Medeiros do Laboratório de termodinâmica e extração supercrítica; Priscila Policarpi, Karina Rie Ishida e Natália Mortele do Laboratório de óleos e gorduras pela assistência nas análises químicas. Ao Gustavo Althoff (PhD em Estudos de Tradução da Universidade Federal de Santa Catarina) pela tradução do artigo. Este trabalho foi financiado pelo CNPq – número de processo: 480407/2013-4.

6 REFERÊNCIAS

ANVISA. Resolução RDC nº 482, de 23 de setembro de 1999 - Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Óleos e Gorduras Vegetais. Publicação: D.O.U. - Diário Oficial da União; Poder Executivo, de 13 de outubro de 1999.

ANVISA. Regulamento técnico para óleos e gorduras vegetais. Publicação: D.O.U. - Diário Oficial da União; Poder Executivo, de 17 de dezembro de 2004.

ARCAN, I.; YEMENUCIOGLU, A. Incorporating phenolic compounds opens a new perspective to use zein films as flexible bioactive packaging materials. **Food Research International** v.44, p.550–556, 2006.

ASOLINI, F.C. et al. Atividade Antioxidante e Antibacteriana dos Compostos Fenólicos dos Extratos de Plantas Usadas como Chás. **Brazilian Journal of Food Technology**, n. 252, 2006.

AWAD, T. S.; MOHARRAM, H. A.; SHALTOU, O. E.; ASKER, D.; YOUSSEF, M. M. Applications of ultrasound in analysis, processing and quality control of food:

BACKER, R. Controlled release of biologically active agents. John Wiley & Sons: New York, 1986. Apud: AZEREDO, H. M. C. Encapsulação: aplicação a tecnologia de alimentos. **Alimentação e Nutrição**, v. 16, n.1. p. 89-97, 2005.

BARBOSA JUNIOR, V. **Taninos como macromônômeros na síntese de polímeros fenólicos visando a preparação de compósitos reforçados com material de origem vegetal**. Dissertação (Mestrado em Ciências físico-químicas) - Universidade de São Paulo, São Carlos, 2007.

BEAL, B.H. **Atividade antioxidante e identificação dos ácidos fenólicos do gengibre (*Zingiber officinale Roscoe*)**. 87 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, [2006].

BHANDARI, B.R. et al. Spray drying of concentrated fruit juices. **Drying technology**, v.11, n.5, p.1081-1092, 1993.

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

BUDINI, R.; TONELLI, D.; GIROTTI, S. Analysis of total phenols using the Prussian blue method. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 28, 1236-1238, 1980.

CARVALHO, J. C. T.; GOSMANN, G.; SCHENKEL, E. P. Compostos fenólicos simples e heterosídicos. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMAN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5 ed. Editora da UFSC/UFRGS Editora. Florianópolis/ Porto Alegre. 2003.

CHEN, H.; ZHANG, Y.; ZHONG, Q. Physical and antimicrobial properties of spray-dried zein–casein nanocapsules with co-encapsulated eugenol and thymol. **Journal of Food Engineering**, v.144, p.93-102, 2015.

CORRADINI, E. **Desenvolvimento de blendas poliméricas de zeína e amido de milho**. Tese (Doutorado em Ciências e Engenharia de Materiais) - Universidade de São Paulo, São Carlos, 114p., 2004.

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

DEL RÉ, P.V.; JORGE, N. Especiarias como antioxidantes naturais: aplicações em alimentos e implicação na saúde. **Rev. Bras. Pl. Med.**, v.14, n.2, p.389-399, 2012.

DIVINUT. Pecan tea. Disponível em: <www.pecantea.com.br> Acessado em: 27/04/2013.

FINCH, C.A. Industrial Microencapsulation: Polymers for Microcapsule Walls. In: KARSA, D.R.; STEPHENSON, R.A. **Encapsulation and Controlled release**. The Royal Society of Chemistry: Cambridge, n. 38, 1993.

FORATO, L.A. et al. Propriedades mecânicas e molhabilidade de filmes de zeínas extraídas de glúten de milho. **Polímeros**, v. 23, n. 1, p. 42-48, 2013.

FRITZEN-FREIRE, C.B. et al. Microencapsulation of bifidobacteria by spray drying in the presence of prebiotics. [**Food Research International**](#), v.45, p.306-312, 2012.

FANG, B.Z.; BHANDARI, B. Encapsulation of polyphenols: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v.21, p.510-523, 2010.

GIBBS, B. F.; KERMASHA, S.; ALLI, I.; MULLIGAN, C. N. Encapsulation in the food industry: a review (Abstract). **International Journal of food science and nutrition**, v. 50, n. 3, p. 213-224, 1999.

GRANER, E.A. **A influência dos pigmentos amarelo-laranja da semente de milho na coloração da gema de ovo de galinha**. Anais da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, p.426-436, 1946.

GRIMALDI, R.; GONÇALVES, L.A.G.; ANDO, M.Y. Otimização da reação de interesterificação química do óleo de palma. **Química Nova**, v. 28, n. 4, p.633-636, 2005.

HOSENEY, R. C. **Principios de ciência y tecnología de los cereales**. Zaragoza: Espanha, 1991.

JORGE, N.; SOARES, B.B.P.; LUNARDI, V.M.; MALACRIDA, C.R.M. Alterações físico-químicas dos óleos de girassol, milho e soja em frituras. **Química Nova**, v. 28, n.6, p.947-951, 2005.

KARSA, D. R.; STEPHENSON, R. A. **Encapsulation and controlled release**. Cambridge : Royal Society of Chemistry, 1993.

LUO, Y.; ZHANG, B.; CHENG, W.; WANG, Q. Preparation, characterization and evaluation of selenite-loaded chitosan/TPP nanoparticles with or without zein coating. **Carbohydrate Polymers**, v. 82, p. 942–951, 2010.

LUO, Y.; ZHANG, B.; WHENT, M.; YU, L.; WANG, Q. Preparation and characterization of zein/chitosan complex for encapsulation of α -tocopherol, and its in vitro controlled release study. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v.85, p.145–152, 2011.

MAYYA, K.S.; BHATTACHARYYA, A.; ARGILLIER, J.F. Micro-encapsulation by complex coacervation: influence of surfactant. **Polymer International**, v. 52, p. 644-647, 2003.

MACIEL, M.V.O.B. **Micropartículas de zeína carregadas com timol: obtenção e caracterização**. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2014.

MAZZAFERA, P. Efeito alelopático do extrato alcoólico do cravo-da-índia e eugenol. **Revista Brasil. Bot.**, v.26, n.2, p.231-238, 2003.

MULLER, L. G.; PASE, C. S.; RECKZIEGEL, P.; BARCELOS, R. C. S.; BOUFLEUS, N.; PRADO, A. C. P. et al. Hepatoprotective effects of pecan nut shells on ethanol-induced liver damage. **Experimental and Toxicologic Pathology**, vol. 65, p. 165–171, 2013.

NAUMANN, D. Infrared spectroscopy in microbiology. In: MEYERS, R.A. Encyclopedia of analytical chemistry: applications, theory and instrumentation. John Wiley & Sons Ltd, Chichester, U.K., p. 102 (2000). Apud FORATO, L.A. et al. Propriedades mecânicas e molhabilidade de filmes de zeínas extraídas de glúten de milho. **Polímeros**, v. 23, n. 1, p. 42-48, 2013.

NAWAR, W. W. Lipídios. In: FENNEMA, Owen R. **Química de los alimentos**. Acribia, S.A. Zaragoza: Espanha, 1993.

OMENA, C. M.; VALENTIM, I. B.; GUEDES, G. S.; RABELO, L. A.; MANO, C. M.; BECHARA, E. J. H.; SAWAYA, A. C. H. F.; TREVISAN, M. T. S.; COSTA, J. G.; PASIN, B. L.; AZÓN, C.G.; GARRIGA, A.M. Microencapsulacion com alginato em alimentos: técnicas y aplicaciones. **Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos**, v. 3, n.1, p. 130-151, 2012.

PASIN, B.L.; AZÓN, C.G.; GARRIGA, A.M. Microencapsulation in alginate for food. Technologies and applications. **Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos**, v.3, n.1, p.130-151, 2012.

PRADO, A. C. P. **Avaliação da atividade antioxidante da casca e torta de noz-pecã**. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008.

PRADO, A. C. P. **Identificação e avaliação da atividade antioxidante e antimicrobiana de compostos fenólicos da casca de noz-pecã [*Carya illinoensis* (Wangenh.) C. Koch]**. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2013.

PRADO, A. C. P.; MANION, B. A.; SEETHARAMAN, K.; DESCHAMPS, F. C.; ARELLANO, D. B.; BLOCK, J. M. Relationship between antioxidant properties and chemical composition of the oil and the Shell of pecan nuts. **Industrial Crops and Products**, v. 45, p. 64-73, 2013.

PRADO, A.C.P.; ARAGÃO, A.M.; FETT, R.; BLOCK, J.M. Antioxidant properties of pecan nut Shell infusion. **Grasas Aceites**, v. 60, p. 330-335, 2009b.

PRADO, A.C.P.; ARAGÃO, A.M.; FETT, R.; BLOCK, J.M. Phenolic compounds and antioxidant activity of pecan [*Carya illinoensis* (Wangenh.) C. Koch] shell extracts. **Braz. J. Food Technol.**, v. 12, n. 4, p. 323-332, 2009a.

PRICE, M.L.; VAN SCOYOC, S.; BUTLER, L.G.A. Critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.26, p.1214-1218, 1978.

PRUDÊNCIO, A. P. A.; PRUDÊNCIO, E. S.; AMBONI, R. D. M. C.; MURAKAMI, A. N. N.; MARASCHIN, M.; PETRUS, J. C. C.; OGLIARI, P. J.; LEITE, R. S. Phenolic composition and antioxidant activity of the aqueous extract of bark from residues from mate tree (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) bark harvesting concentrated by nanofiltration. **Food and Bioproducts Processing**, v. 90, p. 399-405, 2012.

QUISPE-CONDORI, S., SALDAÑA, M.D.A.; TEMELLI, F. Microencapsulation of flax oil with zein using spray and freeze drying. **Food Science and Technology**, v.44, p.1880-1887, 2011.

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

REBELLO, F. F. P. Revisão: Microencapsulação de ingredientes alimentícios. **Revista Agrogeoambiental**, p. 134-144, 2009.

RECKZIEGEL, P.; BOUFLER, N.; BARCELOS, R. C. S.; BENVENU, D. M.; PASE, C. S.; MULLER, L. G. Oxidative stress and anxiety-like symptoms related to withdrawal of passive cigarette smoke in mice: Beneficial effects of pecan nut shells extract, a by-product of the nut industry. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 74, p. 1770–1778, 2011.

RIBEIRO, P.C. E. **Avaliação da qualidade oxidativa de margarinas adicionadas de extratos de casca de noz-pecã [*Carya illinoensis* (Wangenh) C. Koch] e de alecrim [*Rosmarinus Officinallis*]**. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2013.

RODRIGUES, S.; PINTO, G.A.S. Ultrasound extraction of phenolic compounds from coconut (*Cocos nucifera*) shell powder. **Journal of Food Engineering**, v.80, p.869-872, 2007.

ROSEIRO, L. B.; DUARTE, L. C.; OLIVEIRA, D. L.; ROQUE, R.; BERNARDO-GIL, M. G.; MARTINS, A. I.; SEPÚLVEDA, C.; ALMEIDA, J.; MEIRELES, M.; GÍRIO, F. M.; RAUTER, A. P. Supercritical, ultrasound and conventional extracts from carob (*Ceratonia siliqua* L.) biomass: Effect on the phenolic profile and antiproliferative activity. **Industrial Crops and Products**, v. 47, p. 132-138, 2013.

SAÉNZ, C. et al. Microencapsulation by spray drying of bioactive compounds from cactus pear (*Opuntia ficus-indica*). **Food Chemistry**, v.114, p.616–622, 2009.

SENER, S.D.; FORBUS, J.W.R. Leucoanthocyanidin oxidation in pecan kernels: relation to discoloration and kernel quality. **Journal of Food Science**, v.43, p. 128-134, 1978.

SHUKLA, R.; CHERYAN, M. Zein: the industrial protein from corn. **Industrial Crops and Products**, v.13, p. 171-192, 2001.

SILVA, F. A. M.; BORGES, M. F. M.; FERREIRA, M. A. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. **Química Nova**, v. 22, n.1, 1999.

SILVERSTEIN, R.M.; WEBSTER, F.X. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. 6 ed. LTC – Livros técnicos e científicos Editora S.A.: Rio de Janeiro, 2000.

SINGANUSONG, R.; MASON, R. L.; D'ARCI, B. R.; NOTTINGHAM, S. M. Compositional Changes of Australia-Grown Western Schley Pecans [*Carya illinoensis* (Wangenh.) K. Koch] during Maturation. **J. Agric. Food Chem.**, v. 51, p. 406-412, 2003.

TONON, R.V.; GROSSO, C.R.F.; HUBINGER, M.D. Influence of emulsion composition and inlet air temperature on the microencapsulation of flaxseed oil by spray drying. **Food Research International**, v.44, p.282-289, 2011.

VELASCO, J.; MARMESAT, S.; DOBARGANES, C.; MARQUEZ-RUIZ, G. Heterogeneous Aspects of Lipid Oxidation in Dried Microencapsulated Oils. **J. Agric. Food Chem.**, v. 54, n. 5, p. 1722-1729, 2006.

VILKHU, K.; MAWSON, R.; SIMONS, L.; BATES, D. Applications and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry — A review. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 9, p. 161–169, 2008.

VILLARREAL-LOZOYA, J. E.; LOMBARDINI, L.; CISNEROS-ZEVALLOS, L. Phytochemical constituents and antioxidant capacity of

different peca [*Carya illinoensis* (Wangenh.) K. Koch] cultivars. **Food Chemistry**. 2007.

XIA, T.; SHI, S.; WAN, X. Impact of ultrasonic-assisted extraction on the chemical and sensory quality of tea infusion. **Journal of Food Engineering**, v. 74, p. 557–560, 2006.

XUE, F.; LI, C.; LIU, Y.; ZHU, X.; PAN, S.; WANG, L. Encapsulation of tomato oleoresin with zein prepared from corn gluten meal. **Journal of Food Engineering**, v.119, p. 439–445, 2013.

WANG, Y. et al. Characterization of core–shell structures formed by zein. **Food Hydrocolloids**, v.30, p.487-494, 2013.

WANG, Q; LIU, Y; CUI, J; DU, J; CHEN, G; LIU, H. Optimization of ultrasonic-assisted extraction for herbicidal activity of chicory root extracts. **Industrial Crops and Products**, v. 34, p. 1429–1438, 2011.

ZHENG, W.; WANG, S. Y. Antioxidant Activity and Phenolic Compounds in Selected Herbs. **J. Agric. Food Chem**, v. 49, p.5165-5170, 2001.

ZILLER, S. **Grasas y Aceites Alimentarios**. Zaragoza.1994.

ZOU, T.; LI, Z.; PERCIVAL, S.S.; BONARD, S.; GU, L. Fabrication, characterization, and cytotoxicity evaluation of cranberry procyanidins-zein nanoparticles. **Food Hydrocolloids**, v.27, p.293-300, 2012.