



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
CAMPUS LARANJEIRAS DO SUL
CURSO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS**

FERNANDA MENEGON ROSÁRIO

**MICROENCAPSULAÇÃO DE POLPA DE ARAÇÁ-VERMELHO (*Psidium
cattleyanum*): SELEÇÃO DE MATERIAL DE PAREDE E ESTABILIDADE DE
COMPOSTOS BIOATIVOS**

LARANJEIRAS DO SUL - PR

2017

FERNANDA MENEGON ROSÁRIO

**MICROENCAPSULAÇÃO DE POLPA DE ARAÇÁ-VERMELHO (*Psidium
cattleyanum*): SELEÇÃO DE MATERIAL DE PAREDE E ESTABILIDADE DE
COMPOSTOS BIOATIVOS**

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado com requisito para obtenção de grau Bacharel em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal da Fronteira Sul.

Orientadora: Prof^a. Dr^a Vânia Zanella Pinto
Coorientador: Prof. Dr. Luciano Tormen

**LARANJEIRAS DO SUL - PR
2017**

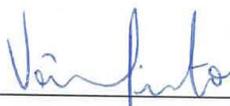
MICROENCAPSULAÇÃO DE POLPA DE ARAÇÁ-VERMELHO (*Psidium cattleyanum*): SELEÇÃO DE MATERIAL DE PAREDE E ESTABILIDADE DE COMPOSTOS BIOATIVOS

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado como requisito para obtenção do grau de Bacharel em Engenharia de Alimentos na Universidade Federal da Fronteira Sul – Campus Laranjeiras do Sul-PR.

Orientador: Professor Dr. Vânia Zanella Pinto

Este trabalho de conclusão de curso foi defendido e aprovado pela banca em: 01/12/2017

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Vânia Zanella Pinto



Prof. Dr. Luciano Tormen



Prof.^a Dr.^a Cátia Tavares dos Passos

PROGRAD/DBIB - Divisão de Bibliotecas

Rosário, Fernanda Menegon

MICROENCAPSULAÇÃO DE POLPA DE ARAÇÁ-VERMELHO (*Psidium cattleyanum*): SELEÇÃO DE MATERIAL DE PAREDE E ESTABILIDADE DE COMPOSTOS BIOATIVOS/ Fernanda Menegon Rosário. -- 2017.

54 f.

Orientador: Vânia Zanella Pinto.

Co-orientador: Luciano Tormen.

Trabalho de conclusão de curso (graduação) - Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso de Engenharia de Alimentos , Laranjeiras do Sul, PR, 2017.

1. Amido de pinhão. 2. Goma tara. 3. Goma arábica. 4. Capacidade antioxidante. 5. Micropartículas. I. Pinto, Vânia Zanella, orient. II. Tormen, Luciano, co-orient. III. Universidade Federal da Fronteira Sul. IV. Título.

Dedico à minha mãe Rita de Cássia, ao meu pai Osmar e ao meu irmão Álvaro Eduardo, por todo apoio, amor e carinho. Tudo que tenho eu devo a vocês. Amo-os acima de tudo!

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, gostaria de agradecer a Deus pela vida, por todas as bênçãos e por me dar força para chegar até aqui.

Agradeço imensamente aos meus pais, Rita de Cássia Menegon Kapasi e Osmar Alves Rosário, por todo amor, apoio, incentivo, proteção, carinho e confiança, pois todas as minhas conquistas eu devo a vocês. Obrigada por terem confiado em mim ao longo da minha jornada acadêmica e principalmente durante toda a minha vida. Vocês são as pessoas mais importantes pra mim, não consigo imaginar como seria se eu não tivesse a presença e apoio de vocês para chegar até aqui. Amo vocês!

Agradeço ao meu irmão Álvaro Eduardo Menegon Rosário pelos momentos de ajuda no laboratório, pelos momentos de diversão, pelo amor, carinho e amizade. Agradeço também pelos momentos de cuidado e proteção que você sempre teve comigo independente de ser meu irmão mais novo. Te amo muito!

Agradeço aos meus queridos amigos-irmão do “Quarteto Fantástico”, Eduardo Leonarski, Mayara Kuasnei e Thainara A. D. Vendruscolo. Vocês foram o melhor presente que a graduação me deu e tenho certeza que levarei vocês comigo para a vida toda. Vocês estiveram ao meu lado em todos os momentos bons e também os ruins, me apoiaram quando eu tive dificuldades, me deram muitos conselhos e foram pra mim minha segunda família. Espero que todos nós tenhamos um excelente futuro pela frente e que nunca percamos os laços criados e que nem a distância seja capaz de abalar nossa amizade. Amo Vocês!

Agradeço as minhas amigas Pollyana Pellenz e Tauana Mendes pelos momentos de carinho e compreensão que tivemos e desejo que vocês sejam muitos felizes nos outros caminhos que vocês escolheram. Também agradeço as minhas colegas e amigas Cintia Uliana, Flávia Letícia Sanches, Ana Camila Schmitz, por toda amizade, apoio e confiança durante esses cinco anos de graduação. Também agradeço ao Patrick Kenshin Oku pela ajuda para que esse trabalho fosse possível.

Agradeço a minha querida professora orientadora Vânia Zanella Pinto, por todo incentivo e apoio, por sempre estar à disposição para me auxiliar e não medir esforços para a realização deste trabalho. Obrigada por toda paciência, compreensão e conhecimentos compartilhados, tenho certeza que meu sucesso se deve pela ótima orientadora e amiga que tive.

Agradeço aos professores membros da banca, Luciano Tormen e Cátia Tavares dos Passos Francisco, pela presença, disponibilidade e também por toda ajuda para que este trabalho pudesse ser desenvolvido da melhor forma.

Agradeço aos professores que me apoiaram e instruíram durante a graduação, Andresa Freitas, Carlos Augusto Fernandes Dagnone, Cátia Tavares dos Passos Francisco, Eduarda Molardi Bainy, Gustavo Henrique Fidelis dos Santos, Larissa Canhadas bertan, Leda Battestin Quast, Luciano Tormen, Marcos Felicetti, Marjory Xavier Rodriguer, Thiago Bergler Bitencourt e Vânia Zanella Pinto. Meus mais sinceros agradecimentos por todos os conhecimentos transmitidos e experiências compartilhadas. Agradeço pelas palavras de conforto, pela confiança, apoio e incentivo, não tenho dúvidas que tive os melhores professores ao longo dessa caminhada.

Agradeço a empresa Metachem Industrial pela doação de materiais necessários para realização desse trabalho.

Agradeço a Universidade Federal da Fronteira Sul – EDITAL N° 840/GR/UFFS/2017 – PIBIC/UFFS, pela concessão da bolsa de iniciação científica 2017/2018.

RESUMO

A indústria alimentícia tem buscado cada vez mais por propriedades diversas em ingredientes alimentares e tais propriedades podem muitas vezes ser proporcionadas por meio da microencapsulação. A microencapsulação é uma técnica de embalagem que visa proteger e reter compostos sensíveis durante o processamento e armazenamento de produtos. Neste trabalho foi realizada a comparação de diferentes materiais de parede na microencapsulação de polpa de araçá-vermelho (material ativo) através da secagem por liofilização. A polpa de araçá-vermelho foi caracterizada quanto a sólidos solúveis (12°Brix), pH (3,51), acidez titulável (1,71 g ácido cítrico 100 g⁻¹) e atividade de água (0,973), compostos fenólicos totais (3098,04 mg ácido gálico 100 g⁻¹), antocianinas totais (18,08 mg 100 g⁻¹), carotenoides totais (156,29 µg de β-caroteno g⁻¹) e atividade antioxidante (AA) (1418,16% para o DPPH e 1156,24% para ABTS). Os polímeros utilizados como material de parede foram o amido de pinhão hidrolisado, a goma tara e a goma arábica. O amido de pinhão foi modificado por hidrólise ácida (HCl 2,2 mol L⁻¹), a 45°C durante um período de 10 horas. Após a etapa de modificação ácida do amido de pinhão, foram preparadas sete formulações para a microencapsulação de polpa de araçá, sendo fixada porcentagem de 50% de polpa de araçá (núcleo) e variando os materiais de parede: (i) 50% amido de pinhão modificado (A), (ii) 25% amido de pinhão modificado e 25% goma tara (AGT), (iii) 25% amido de pinhão modificado e 25% de goma arábica (AGA), (iv) 16,6% amido de pinhão modificado, 16,6% de goma tara e 16,6% de goma arábica (AGTGA), (v) 50% goma tara (GT), (vi) 50% goma arábica (GA) e (vii) 25% goma tara e 25% goma arábica (GTGA). As microcápsulas foram avaliadas quanto ao teor de umidade, atividade de água, eficiência de encapsulamento (EE), solubilidade em água, higroscopicidade, densidade aparente, compostos fenólicos totais, antocianinas totais, carotenoides totais, atividade antioxidante e estabilidade da atividade antioxidante durante 60 dias em diferentes condições ambientais. Na caracterização, as microcápsulas que possuíam amido em seu revestimento (A, AGT, AGA, AGTG) apresentaram maior teor de umidade, higroscopicidade e solubilidade. A eficiência de microencapsulação, em geral foi menor para antocianinas do que para os carotenoides, sendo que a maior EE foi de 80,42% para AGTGA. A amilose apresenta uma conformação hélice que contém em seu interior uma região hidrofóbica, favorecendo a interação com compostos lipofílicos. O maior teor de compostos fenólicos foi de 891,33 mg ácido gálico 100 g⁻¹ para a amostra A e a maior AA foi para a A, sendo de 817,86 % de inibição do radical DPPH[•] e 739,74% de inibição do radical ABTS^{•+}. A atividade antioxidante e os compostos fenólicos totais apresentaram grande correlação, indicando que as amostras que apresentaram maior teor de compostos fenólicos também apresentaram maior atividade antioxidante. Durante o armazenamento, a AA mais estável durante os primeiros 30 dias independente das condições de armazenamento. Portanto, conclui-se que o uso do amido de pinhão em conjunto com as gomas, gera propriedades benéficas como o aumento da estabilidade e aumento da eficiência de encapsulamento, trazendo grande potencial do uso da polpa de araçá microencapsulada em sistemas alimentares.

Palavras chave:

Amido de pinhão, goma tara, goma arábica, capacidade antioxidante, micropartículas

ABSTRACT

The food industry has increasingly sought out various properties in food ingredients and such properties can often be provided through microencapsulation. A microencapsulation is a packaging technique that aims to protect and retain sensitive compounds during the processing and storage of products. In this work, a comparison of different wall materials in the microencapsulation of red guava pulp (active material) was carried out through lyophilization drying. A red apple pulp was characterized as soluble solids (12 ° Brix), pH (3.51), titratable acidity (1.71 g citric acid 100 g⁻¹) and water activity (0.973 total phenolic compounds (3098,04 mg 100 g⁻¹), total carotenoids (156,29 µg β-carotene g⁻¹) and antioxidant activity (AA) (1418.16% for DPPH and 1156.24% for ABTS.) The polymers used as the wall material were hydrolyzed pinhão starch, tara gum and gum arabic. The pinhão starch was modified by acid hydrolysis (2.2 M HCl) at 45°C for a period of 10 hours. After the acid modification stage of the pinhão starch, seven formulations were prepared for the microencapsulation of red guava pulp, being fixed percentage of 50% of red guava pulp (core) and varying wall materials: (i) 50% modified pinhão starch (A), (ii) 25% modified pinhão starch and 25% tara gum (AGT), (iii) 25% modified pinhao starch and 25% gum arabic (AGA), (iv) 16,6% modified pinhão starch, 16% tara gum and 16,6% arabic gum (AGTGA), (v) 50% tara gum (GT), (vi) 50% gum arabic (GA), (vii) 25% tara gum and 25% gum arabic (GTGA). The microcapsules were evaluated for moisture content, aw, encapsulation efficiency (EE), water solubility, hygroscopicity, bulk density, total phenolics, total anthocyanins, total carotenoids, antioxidant activity and stability of antioxidant activity for 60 days in different environmental conditions. In the characterization, the microcapsules with starch in their coating (A, AGT, AGA, AGTG) presented higher moisture content, hygroscopicity and solubility. The efficiency of microencapsulation was generally lower for anthocyanins than for carotenoids, and the highest EE was 80.42% for AGTGA. The amylose presents a helix conformation which contains in its interior a hydrophobic region, favoring the interaction with lipophilic compounds. The highest content of phenolic compounds was 891.33 g citric acid 100 g⁻¹ for sample A and the highest AA was A, being 817.86% inhibition of the radical DPPH and 739.74% inhibition of the ABTS. The antioxidant activity and the total phenolic compounds presented at high correlation, indicating that the higher content of phenolic compounds presented higher antioxidant activity. During storage, the AA is more stable during the first 30 days regardless of storage conditions. Therefore, it is concluded that the use of starch modified in conjunction the gums, generates beneficial properties such as increased stability and increased encapsulation efficiency, bringing great potential of the use of microencapsulated red guava pulp in food systems.

Keywords:

Pinhão starch, tara gum, gum arabic, antioxidant capacity, microparticles

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Formulações para a microencapsulação de polpa de araçá utilizando amido de pinhão modificado, goma tara e goma arábica.	10
Tabela 2. Caracterização físico-química da polpa de araçá-vermelho	15
Tabela 3. Compostos bioativos presentes em polpa de araçá e atividade antioxidante... 16	
Tabela 4. Resultados quanto ao teor de umidade e atividade de água das microcápsulas.	19
Tabela 5. Eficiência de microencapsulação das amostras de polpa de araçá microencapsulada.	21
Tabela 6. Resultados obtidos para higroscopicidade, solubilidade e densidade aparente das micropartículas	22
Tabela 7. Quantificação dos compostos bioativos encapsulados na polpa de araçá-vermelho	23
Tabela 8. Atividade antioxidante dos encapsulados de polpa de araçá-vermelho em relação a porcentagem de inibição dos radicais DPPH [•] e ABTS ^{•+}	25
Tabela 9. Equações de regressão e coeficiente de correlação (R^2) para cada material de parede e condição de armazenamento.	33

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Tipos de microcápsulas. (A) microesfera(B) microcápsula simples (C) microcápsula simples irregular (D) microcápsula de duas paredes (E) microcápsula com vários núcleos (F) agrupamento de microcápsulas. Fonte: Flemming, 2012	3
Figura 2. Curvas de hidrolise de amido a 40 e 45°C.....	18
Figura 3. (a) Correlação entre o teor de compostos fenólicos totais (mg ácido gálico 100g ⁻¹), com a atividade antioxidante, determinada pelo método ABTS e (b) método DPPH. (c)Correlação entre o teor de carotenoides totais (µg de β-caroteno g ⁻¹), com a atividade antioxidante, determinada pelo método ABTS e (d) método DPPH,na polpa de aração-vermelho encapsulada.....	26
Figura 4. Luminosidade das microcápsulas no inicio e no fim do armazenamento. Fonte: O autor, 2017.....	28
Figura 6. Ângulo Hue (tonalidade) das microcápsulas no inicio e no fim do armazenamento. Fonte: O autor, 2017.	29
Figura 5. Cromo (intensidade de cor) das microcápsulas no inicio e no fim do armazenamento. Fonte: O autor, 2017.	30
Figura 7. Estabilidade dos diferentes revestimentos frente às quatro condições de armazenamento. (a) 5°C sem luz; (b) 5°C com luz; (c) 30°C sem luz; (d) 30°C com luz.	32

Sumário

1. INTRODUÇÃO	2
2. MATERIAS E MÉTODOS	6
2.1. Materiais	6
2.2. Caracterização da polpa de araçá.....	6
2.2.1. Composição química	6
2.2.2. Compostos fenólicos totais.....	6
2.2.2.1. Antocianinas totais.....	7
2.2.2.2. Carotenoides totais.....	7
2.2.2.3. Atividade antioxidante pelo sequestro dos radicais DPPH [•] e ABTS ^{•+} ..	8
2.3. Modificação ácida do amido de pinhão para obtenção de material de parede ..	9
2.4. Elaboração das microcápsulas	10
2.4.1. Umidade e atividade de água (a _w)	11
2.4.2. Eficiência de microencapsulação (EE).....	11
2.4.3. Solubilidade das microcápsulas.....	12
2.4.4. Higroscopicidade das microcápsulas.....	12
2.4.5. Densidade aparente.....	13
2.4.6. Compostos fenólicos totais.....	13
2.4.7. Antocianinas totais	13
2.4.8. Carotenoides totais	13
2.4.9. Atividade Antioxidante	13
2.5. Estabilidade das microcápsulas	14
2.6. Análise estatística	14
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	15
3.1. Caracterização da polpa de araçá.....	15
3.1.1. Caracterização físico-química.....	15
3.1.2. Compostos Bioativos	16
3.2. Modificação ácida do amido de pinhão para obtenção de material de parede	18
3.3. Caracterização das microcápsulas	19
3.3.1. Umidade e atividade de água.....	19
3.3.2. Eficiência de microencapsulação (EE).....	20
3.3.3. Solubilidade, higroscopicidade e densidade aparente	22
3.3.4. Compostos Bioativos.....	23
3.3.5. Atividade Antioxidante	25
4. CONCLUSÃO	35
REFERÊNCIAS	37

ESPECIFICAÇÕES DA REVISTA QUE SERÁ ALVO PARA A SUBMISSÃO

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi redigido em forma de um artigo de acordo com as normas da revista International Journal of Biological Macromolecules (ISSN: 0141-8130). As normas das revistas que foram utilizadas como base para a formatação e se encontram no ANEXO I.

RED GUAVA (*Psidiumcattleyanum*) PULP MICROENCAPSULATION: WALL MATERIAL AND BIOACTIVE COMPOUNDS STABILIZATION

HIGHLIGHTS

- A polpa de araçá-vermelho apresenta altos teores de compostos fenólicos;
- A polpa de araçá-vermelho foi microencapsulada utilizando amido de pinhão hidrolisado, goma tara, goma arábica e suas respectivas misturas;
- A microencapsulação da polpa de araçá-vermelho utilizando a mistura dos três revestimentos, tem grande eficiência em relação aos carotenoides;
- O amido de pinhão melhorou as características das microcápsulas;
- As microcápsulas de polpa de araçá-vermelho apresentam boa estabilidade até 30 dias de armazenamento independente de luminosidade e temperaturas (avaliadas à 5 e 30°C).

1. INTRODUÇÃO

Um dos grandes problemas na transformação de alimentos é a degradação de compostos variados pela alta instabilidade dos mesmos em função do processamento e das condições ambientais [1]. A maioria destes compostos com sensibilidade é essencial para a produção de alimentos tais como, aromatizantes, corantes naturais e pigmentos, vitaminas, antioxidantes e outros. Como uma forma de manter as propriedades destes compostos sensíveis, a microencapsulação é empregada como forma de revestimento evitando a sua degradação por reações adversas e volatilização. Além disso, esta tecnologia pode fornecer barreiras entre os materiais bioativos sensíveis e o ambiente e, assim, permitir a permanência de sabores e aromas nos produtos, além de mascarar sabores e odores fortes, estabilizar ingredientes ou aumentar a sua biodisponibilidade [2].

A microencapsulação é uma tecnologia de embalagem, na qual o material de parede tem como principal objetivo proteger o conteúdo das cápsulas ou “coração” (core), contra condições ambientais adversas, tais como luz, oxigênio, temperatura e umidade. Desta forma o núcleo das microcápsulas são menos suscetíveis à degradação e ocorrem menos modificações nas características físicas e químicas do material encapsulado [3].

A utilização de compostos microencapsulados consiste em uma estratégia promissora para resolver problemas enfrentados pelas indústrias de alimentos. Os maiores desafios para obter compostos estáveis são selecionar a técnica apropriada de microencapsulação e os agentes encapsulantes adequados. A maior parte dos compostos encapsulados disponíveis é proveniente das indústrias farmacêuticas e cosméticas, sendo os mesmos produzidos e aplicados com muito sucesso. A microencapsulação na

indústria de alimentos ainda está em fase de desenvolvimento e precisa ser estudada para que essa tecnologia seja amplamente utilizada em outros setores e possa resultar na produção mais eficiente, na fortificação de alimentos, na preservação de propriedades sensoriais e no desenvolvimento de novos produtos [3].

As cápsulas podem ser classificadas como microcápsulas e microesferas. As microcápsulas são as que o núcleo é concentrado na região central, protegido por um filme contínuo de material de parede. Nas microesferas, existem pequenos núcleos uniformemente disperso em uma matriz. Apesar disso, o termo microencapsulação pode ser utilizado para os dois grupos. Na Figura 1 são mostrados alguns dos principais tipos de microencapsulação [5].

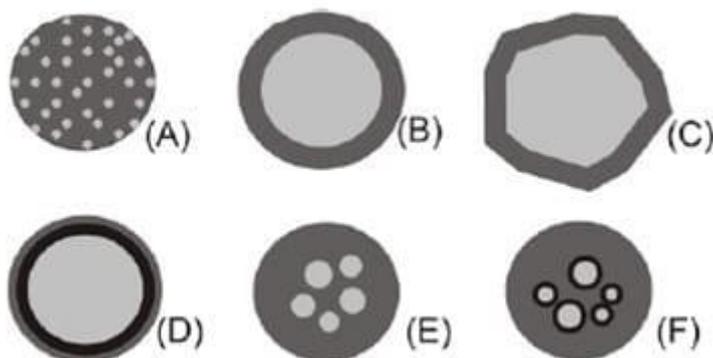


Figura 1. Tipos de microcápsulas. (A) microesfera, (B) microcápsula simples, (C) microcápsula simples irregular, (D) microcápsula de duas paredes, (E) microcápsula com vários núcleos e (F) agrupamento de microcápsulas. Fonte: Flemming [5].

Os compostos bioativos formam uma das principais classes de metabólitos secundários das plantas com uma grande variedade de funções e apresentam diversos efeitos biológicos, incluindo atividade antioxidante [6]. Os extratos brutos de frutas, ervas, vegetais e cereais são cada vez mais de interesse na indústria alimentar, pois podem retardar a degradação oxidativa dos alimentos, melhorando assim a qualidade e o valor nutricional dos mesmos [7]. Como esses compostos são muito sensíveis à degradação, pois em geral possuem poder antioxidante, a microencapsulação se torna

uma alternativa viável para preservação dos compostos bioativos presentes na polpa de frutas, como o araçá.

O araçá (*Psidium cattleianum*) é uma planta medicinal e aromática pertencente à família *Myrtaceae*, no qual o fruto é caracterizado pelo elevado teor de compostos fenólicos e baixo teor de açúcares [8]. Em um estudo de Medina et al. [9], os autores avaliaram as propriedades do araçá e observaram que o fruto tem grande potencial como fonte de compostos antioxidantes naturais e antimicrobianos. Os autores também observaram que o fruto apresenta altos níveis de ácido gálico, ácido cumárico, ácido ferúlico, miricetina e quercetina.

Existe enorme desafio para preservar as características do núcleo das microcápsulas, e assim resultarem em produtos de qualidade superior, inclusive na indústria de alimentos. O material de revestimento utilizado deve ser capaz de formar uma película com o material do núcleo sem reagir com o mesmo e, deve apresentar boas propriedades de revestimento, tais como, resistência, flexibilidade, impermeabilidade e estabilidade [10]. Entre os diversos materiais existentes, os principais para aplicações alimentares são os polissacarídeos. O amido e os seus derivados, além de outros carboidratos como as gomas são bastante usados [11–15].

O amido de pinhão vem sendo bastante estudado por diversos autores como uma boa fonte de carboidratos complexos, além de apresentar baixos teores de proteína (3%), lipídios (1%) e açúcares solúveis (2,4%) e de fácil isolamento [16]. No estudo de Spada et al. [13], o amido de pinhão foi um excelente material de revestimento para β -caroteno, mostrando que existe um grande potencial de uso, mas que também são necessários outros estudos de suas características.

As gomas arábicas e tara têm sido usadas como material encapsulante em processos de secagem por pulverização e liofilização. Isto se deve principalmente à boa

capacidade de emulsão de ambas as gomas, o que auxilia o processo de secagem para obtenção das microcápsulas [17]. A goma tara é um galactomanano extraído do endosperma da semente de *Caesalpinia spinosa* [18]. Em solução, a goma de tara apresenta característica de ser solúvel em água fria e de alcançar viscosidade (máxima) em alguns min. A goma tara também atua de maneira sinérgica com κ -carragenana, ágar e xantana para aumentar a força do gel, fazendo com que este seja menos propenso à sinérese [19].

A goma arábica é um heteropolissacarídeo complexo que possui estrutura altamente ramificada, com uma cadeia principal formada por unidades de D-galactopyranose unidas por ligações β -D-glicosídicas (1-3)[17]. A goma arábica possui alta solubilidade em água e produz soluções de baixa viscosidade em altas concentrações de sólidos. Também é capaz de formar uma matriz seca em torno de compostos em processos de desidratação, pois os aprisiona e evita a perda de compostos voláteis e o contato com o ar. Essas características da goma arábica têm facilitado sua utilização como encapsulante para retenção e proteção de compostos reativos e voláteis[11].

Portanto, a utilização da microencapsulação dos compostos bioativos presentes na polpa de araquê pode ser uma estratégia para preservação dos mesmos, a fim de posteriormente, empregá-los como possíveis agentes antioxidantes em alimentos e embalagens. Esses compostos podem gerar características vantajosas para a indústria de alimentos com sua utilização em diversos produtos alimentícios.

Frente ao exposto, objetivou-se caracterizar e microencapsular polpa de araquê utilizando amido de pinhão hidrolisado, goma arábica e goma tara como material de parede e, avaliar a estabilidade dos compostos bioativos da polpa encapsulada.

2. MATERIAS E MÉTODOS

2.1. Materiais

A polpa de araçá foi obtida pelo despulpamento mecânico (DMJI-05, HauberMacanuda - Joinville, Brasil) de frutos adquiridos por doação na cidade de Laranjeiras do Sul, PR e mantida em ultrafreezer (IULT335D/590U) até o encapsulamento. O amido de pinhão foi extraído de sementes da araucária segundo descrito por Pinto et al. [20] com 98% de pureza. A goma arábica e goma tara foram gentilmente doadas pela Metachem Industrial Comercial Ltda, SP. Todos os demais reagentes químicos utilizados neste estudo eram de grau analítico.

2.2. Caracterização da polpa de araçá

2.2.1. Composição química

O teor de sólidos solúveis, em°Brix, foi determinado através de leitura direta em refratômetro de bancada (Hanna Instrumentes, HI 96801). O pH foi obtido através da medida potenciométrica direta utilizando peagâmetro (Hanna Instruments, HI221) [21]. A acidez titulável foi realizada através da titulação da amostra com solução de hidróxido de sódio ($0,1 \text{ mol l}^{-1}$) até o ponto de equivalência pela medida do pH 8,2 da suspensão [21]. O teor de umidade foi determinado pela secagem em estufa a 105°C até massa constante e o resíduo mineral fixo foi obtido por incineração em mufla a 550°C . A Atividade de água (a_w) foi medida através da leitura direta a 25°C em analisador de A_w (Novasina, LabMaster AW NEO).

2.2.2. Compostos fenólicos totais

Em tubos de ensaio protegidos com papel alumínio, foram acrescentados 0,5 mL do extrato de araçá, 4 mL de água e 4 mL de reagente de Folin-Ciocalteu (0,25N).

Após 5 min, foi adicionado 2 mL de carbonato de sódio 7,5% (m/v) e completado o volume com água destilada em balão de 25 mL. A solução foi deixada em repouso, ao abrigo da luz, por 2 horas. Posteriormente, foi realizada a leitura no espectrofotômetro a 725 nm [22]. As leituras das absorbâncias foram comparadas com a dos padrões de ácido gálico com concentrações de 0; 0,25; 0,5; 1,0; 2,5; 5,0. O teor de compostos fenólicos totais foi expresso em mg de ácido gálico por 100 g de massa seco da amostra, através da média \pm desvio padrão para três repetições.

2.2.2.1. Antocianinas totais

Em tubo de polipropileno de 50 mL protegidos da luz, foi medido 1 g de polpa de araçá, acrescentados 30 mL de metanol acidificado (pH 1,0) e homogeneizados durante 2 min, a cada 5 min em um intervalo de 1 hora. Após esse tempo a solução foi centrifugada em centrífuga (Sigma® 3-16KL) e então realizada a leitura do sobrenadante foi realizada em espectrofotômetro a 520 nm [23]. Os teores de antocianinas totais foram expressos em mg 100 g⁻¹ através da média \pm desvio padrão para três repetições.

$$\textit{Antocianinas Totais} = \frac{\textit{Abs} \times \textit{Volume}}{\textit{massa} \times 98,2} \times 100 \quad \text{Equação (1)}$$

2.2.2.2. Carotenoides totais

Em tubo de polipropileno de 50 mL protegidos da luz, foram medidos 2,5 g de amostra, adicionados 15 mL da solução extratora, hexano:acetona:etanol absoluto:tolueno, na proporção de 10:7:6:7 v/v e homogeneizado por 30 segundos em vortex (NA162, Marconi-Piracicaba, Brasil). Após a homogeneização, foi adicionado 1mL de hidróxido de potássio 10% (m/v) em metanol e homogeneizado em vortex por 1 minuto. A mistura foi deixada por 20 min em banho-maria a 56 °C e então mantidos

em temperatura ambiente em capela de exaustão por 1 hora. Logo após, foi adicionado aos tubos 15 mL de éter de petróleo e homogeneizado em vortex por 30 s. O volume foi completado com solução de sulfato de sódio 10 % em água (m/v) e mantido 1 hora em repouso [24]. A leitura da absorbância do sobrenadante foi realizada em espectrofotômetro no comprimento de onda de 450 nm [23]. Os teores de carotenoides totais foram expressos em μg de β -caroteno g^{-1} de amostra, em base seca, através da média \pm desvio padrão para três repetições.

$$\text{Carotenoides totais} = \frac{\text{abs} \times \text{volume do extrato} \times 10^6}{2500 \times 100 \times \text{massa de amostra}} \quad \text{Equação (2)}$$

2.2.2.3. Atividade antioxidante pelo sequestro dos radicais DPPH[•] e ABTS^{•+}

A atividade antioxidante foi determinada através da capacidade dos compostos presentes nas amostras em sequestrar os radicais estáveis DPPH[•] e ABTS^{•+}.

Para ambas as análises, o extrato da polpa de araçá foi obtido com uma solução de metanol 50% (v/v) e acetona 70% (v/v). Inicialmente, foram adicionados 4 mL da solução (1:1) de metanol 50% (v/v) e água e 0,1 g de amostra em um tubo de tubo de polipropileno protegido da luz. As amostras foram homogeneizadas em agitador vortex e permaneceram em repouso por 60 min à temperatura ambiente. Após esse período, as amostras foram centrifugadas por 15 min a 5500 g e então o sobrenadante foi transferido para um balão volumétrico de 10 mL. A partir do resíduo da primeira extração, foram adicionados 4 mL de acetona 70% (v/v) e repetiram-se as etapas de homogeneização e centrifugação [25].

Uma solução 0,06 mmol L⁻¹ em metanol foi preparada para o preparo do radical DPPH[•]. Para a solução de ABTS, o radical foi preparado a partir da reação de 5 mL de uma solução estoque de ABTS com 88 μL de solução de persulfato de potássio 16 horas

antes da utilização. Essa solução foi diluída em etanol até obter uma absorvância de $0,70 \pm 0,05$ a 734 no dia da análise [26,27].

Na atividade antioxidante utilizando radical DPPH[•], foram transferidos para uma microplaca 7 μ L de extrato e 273 μ L da solução de DPPH[•] 0,06 mmol L⁻¹. Após 30 min foram realizadas leituras em espectrofotômetro, no comprimento de onda de 517 nm e calculada a AA através da equação 3 [27].

Na atividade antioxidante utilizando o radical ABTS^{•+}, foram transferidos para uma microplaca, 2,8 μ L do extrato e 280 μ L do radical ABTS^{•+}. A leitura foi realizada em espectrofotômetro no comprimento de onda de 734 nm e então utilizada a equação 3 para o cálculo[26].

$$AA = \left[100 - \left(\frac{abs_{amostra} \times 100}{abs_{controle}} \right) \right] \times \frac{V_{total}}{V_{usado} \times massa_{amostra}} \quad \text{Equação (3)}$$

2.3. Modificação ácida do amido de pinhão para obtenção de material de parede

A hidrólise do amido de pinhão foi realizada conforme metodologia descrita por Mun e Shin [28], com modificações. Para a hidrólise, foram dispersos 10 g de amido de pinhão nativo em 40 mL de solução de HCl 2,2 mol l⁻¹ e incubados em estufa com homogeneização constante com auxílio de um agitador magnético (150 rpm). As hidrólises foram realizadas à 40°C e 45°C, durante 10 horas. Após a hidrólise, o pH da suspensão foi ajustado para $5,5 \pm 0,2$ por adição lenta de NaOH 0,1 mol l⁻¹. A suspensão foi centrifugada (13000 g, por 5 min) e lavada com água destilada, seguida por uma nova centrifugação. O pH da suspensão de amido foi ajustado para $7,5 \pm 0,2$ por adição lenta de NaOH 0,1 mol l⁻¹. O amido foi seco em estufa a 45°C até atingir umidade de 11-13% e foi moído em um moinho de martelos e armazenado a temperatura ambiente em sacos de polietileno de baixa densidade, até a utilização [13].

O percentual de hidrólise (H%) foi determinado pela quantificação dos carboidratos solúveis formados durante a reação. A cada 2 horas foi coletado 1 mL de amostra e centrifugada a 13000 g por 5 min. Deste, foi coletado 0,1 mL do sobrenadante e diluído em 0,9 mL de água destilada. Após a diluição, 0,5 mL foram utilizados para quantificar os carboidratos totais pela reação de fenol-ácido sulfúrico [29]. A porcentagem de hidrólise (H%) dos amidos de pinhão foi obtida através da equação 4.

$$H\% = \frac{\text{Teor total de açúcar do sobrenadante} \times 0,9}{\text{Quantidade total de amido (bs)}} \quad \text{Equação (4)}$$

2.4. Elaboração das microcápsulas

Para a microencapsulação da polpa de araçá foi utilizado uma proporção de 1:1 de polpa com o material de parede, sete diferentes formulações de material de parede, utilizando amido de pinhão modificado, goma tara e goma arábica, que estão descritas na Tabela 1.

Tabela 1. Formulações para a microencapsulação de polpa de araçá utilizando amido de pinhão modificado, goma tara e goma arábica.

Designação	Núcleo		Material de Parede	
	Polpa de araçá	Amido de pinhão modificado	Goma Tara	Goma Arábica
A	50%	50%	0%	0%
AGT	50%	25%	25%	0%
AGA	50%	25%	0%	25%
GT	50%	0%	50%	0%
GA	50%	0%	0%	50%
GTGA	50%	0%	25%	25%
AGTGA	50%	16,6%	16,6%	16,6%

Bs: base seca; A: Amido de pinhão modificado; AGT: Amido de pinhão modificado+Goma tara; AGA: Amido de pinhão modificado+Goma arábica; GT: Goma tara, GA: Goma arábica; GTGA: Goma tara + Goma arábica; AGTGA: Amido de pinhão modificado + Goma tara + Goma arábica.

Para a elaboração das micropartículas, primeiramente o amido foi gelatinizado em banho-maria durante 10 min à 90 °C e após a gelatinização a mistura foi resfriada e homogeneizada em ultraturrax (IKA, T10 basic). A polpa e/ou os demais materiais de

parede foram adicionados ao gel de amido seguindo as proporções descritas na Tabela 1. As misturas foram homogeneizadas por 10 min em homogeneizador mecânico (Marconi MA259/50A2000), e posteriormente congeladas a -80°C em ultrafreezer e em seguida, liofilizadas em um liofilizador da marca Líotop (São Carlos - SP) modelo L101.

2.4.1. Umidade e atividade de água (a_w)

O teor de umidade foi determinado pela secagem em estufa a 105°C até massa constante e a atividade de água foi verificada através da leitura direta a 25°C em analisador de A_w .

2.4.2. Eficiência de microencapsulação (EE)

Como a polpa de araçá-vermelho tem a presença de compostos bioativos lipossolúveis e hidrossolúveis, a eficiência de microencapsulação foi realizada levando em consideração o teor de carotenoides totais e de antocianinas totais.

Para quantificar o teor de carotenoides totais na superfície das microcápsulas, foi utilizada a metodologia de Sutter, Buera e Elizalde[30], com modificações. Para a análise, foram adicionados em tubo de polipropileno protegido da luz, 0,1 g das microcápsulas e 5 mL de solução extratora de carotenoides e homogeneizado em vortex durante 10 segundos. Após a homogeneização, a mistura foi centrifugada 3420 g por 5 min, recolhendo-se o sobrenadante. Para a quantificação do total de carotenóides (superficial e encapsulados), 0,1 g da amostra foi dispersa em 5 mL de solução extratora e homogeneizada durante 2 min em vortex. Os tubos foram levados para banho ultrassônico para total rompimento das partículas durante 10 min. Os tubos foram centrifugados a 3420 g por 5 min e então sobrenadante foi coletado. Ambas as frações

foram avaliadas espectrofotometricamente em 470 nm quanto ao teor total de carotenoides, conforme descrito no item 2.2.2.2.

Para quantificar o conteúdo superficial de antocianinas, foram adicionados em tubos de polipropileno, 0,1 g das microcápsulas e 5 mL de metanol acidificado pH 1. A mistura foi agitada em vortex e centrifugada 3420 g por 5 min e recolhendo o sobrenadante. Para a quantificação total de antocianinas (superficial e encapsulado), 0,1 g da amostra foi dispersa em 3 mL de metanol acidificado pH 1 e 2 mL de água destilada, a mistura foi homogeneizada durante 2 min em vortex. Os tubos foram levados para banho ultrassônico durante 10 min para total rompimento das partículas. Os tubos foram centrifugados a 3420 g por 5 min e o sobrenadante foi coletado. Ambas as frações foram avaliadas espectrofotometricamente em 520 nm quanto ao teor de antocianinas conforme descrito no item 2.2.2.1.

A eficiência de ambas foi avaliada pela Equação 5, pela diferença entre o total de antocianinas ou carotenoides presentes nas microcápsulas e a quantidade presente na superfície das mesmas.

$$\%EE = \frac{total - superficial}{total} \times 100 \quad \text{Equação (5)}$$

2.4.3. Solubilidade das microcápsulas

A solubilidade em água das microcápsulas foi determinada através da homogeneização constante da amostra (25°C) com água em vortex durante 5 min. Após a homogeneização a amostra foi seca em estufa a 105°C durante 5 horas e calculada por diferença de massa [31].

2.4.4. Higroscopicidade das microcápsulas

A higroscopicidade foi determinada utilizando aproximadamente 2 g de amostra de cada pó em placas de petri e mandidas a 25°C em um dessecador preenchido com solução saturada de Na₂SO₄ durante 7 dias. Após esse período, a higroscopicidade foi expressa como massa (gramas) de umidade por 100 g de sólidos secos (%) [32].

2.4.5. Densidade aparente

A densidade aparente das microcápsulas foi determinada medindo 10 g de amostra em uma proveta graduada de 100 mL. A proveta foi homogeneizada em vortex durante 3 min. O volume foi anotado e usado para calcular a densidade aparente em g mL⁻¹[32].

2.4.6. Compostos fenólicos totais

O conteúdo total de compostos fenólicos das amostras de polpa de araquá microencapsulada foi determinado utilizando reativo Folin Ciocauteau e leitura em espectrofotômetro no comprimento de onda 760 nm, conforme descrito no item 2.4.1.

2.4.7. Antocianinas totais

O teor de antocianinas totais da polpa de araquá microencapsulada foi realizado conforme o descrito no item 2.4.2, com leitura em espectrofotômetro a 520 nm.

2.4.8. Carotenoides totais

O teor de carotenoides totais da polpa de araquá microencapsulada foi realizado conforme item 2.4.3.com leitura em espectrofotômetro no comprimento de onda de 450 nm.

2.4.9. Atividade Antioxidante

A análise da atividade antioxidante da polpa de araçá encapsulada foi realizada conforme descrito no item 2.4.4, através da inibição dos radicais livres DPPH[•] e ABTS^{•+}.

2.5. Estabilidade das microcápsulas

Para o estudo de estabilidade, 5 g de amostra de cada formulação foi medida em recipientes de vidro e armazenadas em câmaras com luminosidade 24 horas por dia e temperatura controlada (5°C e 30°C). A atividade antioxidante (radical DPPH) foi avaliada durante 60 dias, sendo coletadas amostras nos tempos de 0; 5; 15; 30 e 60 dias de armazenamento.

A cor do pó obtido após a liofilização e após os 60 dias de armazenamento foi determinada usando Colorímetro de bancada (Minolta, CR400). As amostras foram acondicionadas em uma placa para a medida dos parâmetros L (Luminosidade), a* e b* para o cálculo do ângulo *Hue* (tonalidade) e do Croma (saturação da cor).

2.6. Análise estatística

As análises foram realizadas em triplicata com o cálculo da média e desvio padrão dos resultados seguidos da análise de variância (ANOVA) e teste de média através do teste de Tukey com 95% de confiança ($p > 0,05$).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Caracterização da polpa de araçá

3.1.1. Caracterização físico-química

Na Tabela 2 são mostrados os resultados da caracterização físico-química da polpa de araçá em relação ao teor de umidade, atividade de água (a_w), cinzas, acidez titulável (AT), pH e sólidos solúveis (SS).

Tabela 2. Caracterização físico-química da polpa de araçá-vermelho.

Parâmetro	Média
Umidade (%)	84,1 ± 0,2
Sólidos totais (%)	15,9 ± 0,2
Atividade de água (A_w)	0,97 ± 0,01
Cinzas (%)	0,7 ± 0,1
Acidez titulável (g ácido cítrico 100 g ⁻¹)	1,71 ± 0,02
pH	3,51 ± 0,02
Sólidos Solúveis (°Brix)	12,00 ± 0,01

Fonte: O autor, 2017.

A polpa de araçá-vermelho apresenta alto teor de umidade e alta atividade de água. O teor de cinzas na polpa foi baixo, teor típico para polpas de fruta.

Além disso, a polpa de araçá-vermelho apresentou acidez titulável elevada e baixo pH. Como durante o amadurecimento os ácidos orgânicos sofrem oxidação no ciclo de Krebs, é esperado que as frutas apresentem teores de acidez menores, porém em alguns frutos como o araçá, esse teor aumenta com o amadurecimento reduzindo-se somente na senescência [33]. O aumento da acidez está relacionado com a liberação de precursores da biossíntese de ácidos durante o processo de degradação da parede celular [34]. Andrade, Aragão e Ferreira [35] descreveram a avaliação de polpa integral de araçá-vermelho sendo o pH 3 e a AT 1,87 g ácido cítrico 100 g⁻¹, teores semelhantes aos deste estudo.

O conteúdo de sólidos solúveis foi de $12,00 \pm 0,01^\circ\text{Brix}$, esta concentração de SS foi superior ao verificado por Medina et al. [9] na caracterização de araçá-vermelho e araçá-amarelo, sendo que os autores descreveram variações entre 3,1 e $3,7^\circ\text{Brix}$. O maior teor de SS está relacionado ao processo de transpiração dos frutos e degradação da parede celular, normalmente constituída por celulose, hemicelulose, lignina e pectina [34,36].

3.1.2. Compostos Bioativos

Na Tabela 3 são mostrados os resultados de compostos bioativos presentes na polpa de araçá-vermelho.

Tabela3. Compostos bioativos presentes em polpa de araçá e atividade antioxidante.

	Concentração
Compostos fenólicos (mg ácido gálico 100 g ⁻¹)	3098± 11
Antocianinas (mg 100 g ⁻¹)	18,1±0,4
Carotenoides totais (µg de β-caroteno g ⁻¹)	156± 1
Inibição DPPH (%)	1418± 3
Inibição ABTS (%)	1154± 2

Conforme apresentado na Tabela 1, o araçá-vermelho apresenta alto teor de compostos fenólicos, sendo esse de 3098mg ácido gálico 100 g⁻¹. Esse teor foi maior do que o descrito por Andrade, Aragão e Ferreira [35],(1279 mg ácido gálico 100 g⁻¹) na caracterização de polpa integral de araçá-vermelho. Fetteret al. [37] avaliaram diferentes genótipos de araçá e reportaram teores entre 298,51 e 1851,38 mg ácido gálico 100 g⁻¹.

Para as antocianinas, a polpa de araçá-vermelho apresentou 18,mg 100 g⁻¹. Segundo Pereira et al. [38], o teor de antocianinas nos araçás pode apresentar discrepância entre as espécies. Os mesmos autores observaram grande variação de antocianinas totais (2,31 até 72,97 mg 100 g⁻¹) os quais eram dependentes da variedade

do araçá estudado. Os teores também são dependendo do ponto de colheita, pois com o amadurecimento dos frutos, o teor de antocianinas tende a aumentar.

O teor de carotenoides totais foi de 156 μg de β -caroteno g^{-1} . Na literatura, alguns autores que avaliaram o teor de carotenoides totais em araçá de diferentes espécies, descreveram teores menores do que o observado neste estudo, variando entre 0,103 até 11,34 μg de β -caroteno g^{-1} . Essa diferença pode estar relacionada com o estágio de amadurecimento e condições climáticas de cada estudo. [9,37–39].

As porcentagens de inibição dos radicais DPPH \bullet e ABTS \bullet^+ foram de 1418 e 1155%, respectivamente. Os compostos responsáveis pela atividade antioxidante são as antocianinas, carotenoides e compostos fenólicos, cada um agindo de uma forma diferente frente aos radicais. Cada radical livre tem maior afinidade com um antioxidante diferente, sendo assim, ao analisar a atividade frente ao DPPH \bullet e ABTS \bullet^+ , é possível notar o grande poder antioxidante da polpa de araçá-vermelho, independente do radical empregado.

Ao analisar os resultados para a caracterização de compostos bioativos presentes no araçá-vermelho, pode-se notar que existe grande variabilidade nos teores dos mesmos ao comparar com dados da literatura. A biossíntese destes compostos depende de diversos fatores extrínsecos como o cultivar, radiação solar, sazonalidade, localização geográfica, época e tipo de colheita, pré-processamento entre outros. [38,40].

Além disso, esses fatores não têm interferência apenas isoladamente e sim apresentam correlação entre si, como por exemplo, o desenvolvimento e sazonalidade; temperatura e altitude, e outros [41].

3.2. Modificação ácida do amido de pinhão para obtenção de material de parede

Os resultados do estudo da hidrólise ácida do amido de pinhão com HCl 2,2 mol L⁻¹ durante 10 horas à 40 e 45°C, estão representados na Figura 2.

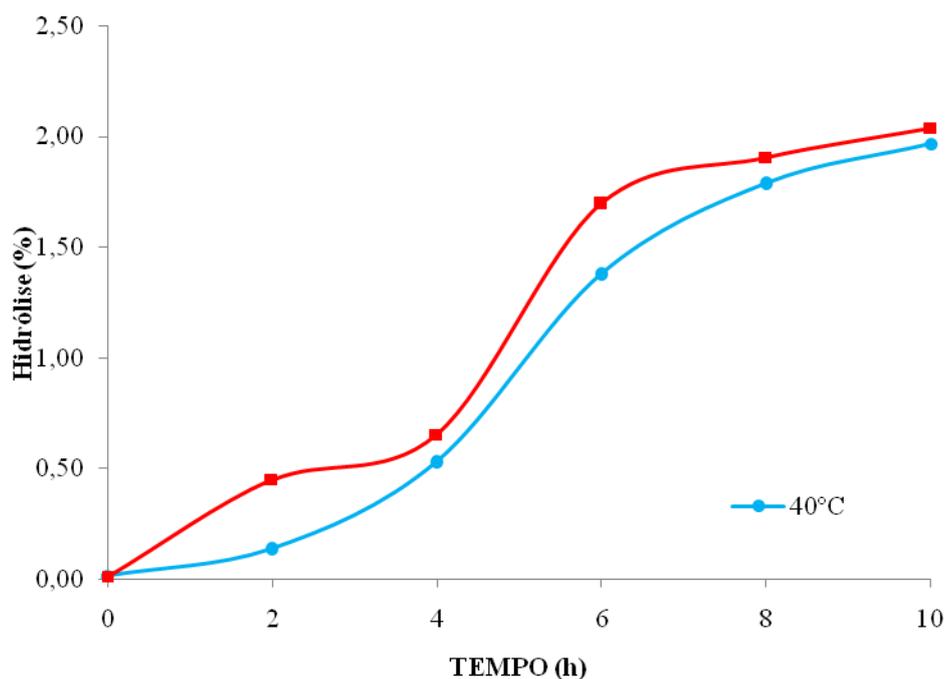


Figura 2. Curvas de hidrólise de amido a 40 e 45°C.

Fonte: O autor, 2017.

Observa-se que a hidrólise do amido foi relativamente menor nas primeiras 4 horas de estudo, enquanto que, nos tempos subsequentes, a hidrólise foi intensa. Esse comportamento já foi observado por Pinto [42] na hidrólise de amido de pinhão para produção de nanocristais, pois devido à estrutura do grânulo de amido, sua hidrólise tende a demonstrar este comportamento. Apesar da pouca diferença entre 6 e 10 horas, o tempo de 10 horas foi escolhido para a hidrólise do amido por resultar em maior quantidade de material hidrolisado.

Pode ser observado que a porcentagem de hidrólise do amido para temperatura de 45°C foi maior do que a de 40°C (Figura 2). Spada [13] analisaram a hidrólise amido de pinhão durante 12 horas com HCl 3 mol L⁻¹ nas temperaturas de 30 e 44°C. Os autores também obtiveram percentuais mais elevados na maior temperatura, sendo de 0,31% para 30°C e 2,35% para 44°C. Desta forma, a temperatura de 45°C foi a mais adequada para a modificação ácida do amido de pinhão para posterior utilização deste como material de parede no encapsulamento de polpa de araçá-vermelho.

3.3. Caracterização das microcápsulas

3.3.1. Umidade e atividade de água

O teor de umidade e a atividade de água estão demonstrados na Tabela 4. Pode ser observado que o teor de umidade da polpa de araçá microencapsulada para todas as formulações foi baixo, variando de 3,50% a 7,15%. Enquanto que a atividade de água variou de 0,055 até 0,379.

Tabela 4. Resultados quanto ao teor de umidade e atividade de água das microcápsulas.

	Umidade (%)	Atividade de água (Aw)
A	5,24 ± 0,2 ^{bc}	0,219 ± 0,001 ^b
AGT	7,15 ± 0,1 ^a	0,379 ± 0,008 ^a
AGA	6,04 ± 0,1 ^{ab}	0,134 ± 0,004 ^c
AGTGA	4,46 ± 1,0 ^{bcd}	0,115 ± 0,004 ^d
GT	3,63 ± 0,1 ^{cde}	0,133 ± 0,002 ^c
GA	2,50 ± 0,1 ^e	0,055 ± 0,001 ^e
GTGA	2,93 ± 0,1 ^{de}	0,057 ± 0,002 ^e

A: Amido de pinhão modificado, AGT: Amido de pinhão modificado+Goma tara, AGA: Amido de pinhão modificado+Goma arábica, AGTGA: Amido de pinhão modificado+Gomatara+Goma arábica, GT: Goma tara, GA: Goma arábica, GTGA: Goma tara+Goma arábica. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Fonte: O autor, 2017.

A variação no teor de umidade pode ter sido influenciada pelas características do material de parede dos encapsulados, uma vez que as condições de secagem foram

iguais para todos os ensaios (Tabela 4). Em geral, as amostras que contêm amido, a umidade foi maior do que as que apresentavam apenas gomas [13,14]. Este fato ocorre pela maior exposição dos grupos hidroxilas do amido modificado e maior interação com a água presente na polpa. Apesar das gomas também possuírem elevado número de ramificações com grupos hidrofílicos, a interação delas com o amido hidrolizado resultou em maior facilidade de ligação das moléculas de água com o encapsulado [14]. O baixo teor de umidade é um fator importante, pois ele está associado à estabilidade, qualidade e composição do produto, podendo afetar seu armazenamento, embalagem e processamento. Como as microcápsulas apresentaram teores de no máximo 6,04%, a perecibilidade do produto é diminuída significativamente pela baixa quantidade de água residual da secagem [12,43,44].

Assim como na umidade, a atividade de água se mostrou maior para as formulações contendo o amido de pinhão modificado. Apesar disso, a interpretação da atividade de água é diferente, pois ela determina a disponibilidade de água livre em um alimento, sendo essa a responsável por todas as reações bioquímicas, enquanto o teor de umidade representa o conteúdo de água em um sistema alimento [12,43,44].

3.3.2. Eficiência de microencapsulação (EE)

Os resultados referentes à eficiência de microencapsulação das antocianinas e carotenoides presentes na polpa de araçá-vermelho são mostrados na Tabela 5.

A eficiência de encapsulação variou tanto em função do material de parede quanto do composto encapsulado. Para os carotenoides, as maiores eficiências foram observadas nas formulações contendo amido modificado, variando entre 75,18 e 80,42% (Tabela 5). Isto já era esperado, além do amido modificado ter maior disponibilidade de grupos hidroxilas, a amilose também apresenta conformação em

hélice que contém em seu interior uma região hidrofóbica, favorecendo a interação com compostos lipofílicos. Outro fator é que, com a hidrólise do amido, a amilose tende a formar uma rede contínua com ligações de hidrogênio, resultando em um gel que consegue manter os carotenóides retidos nessa estrutura [13]. A interação do amido com as gomas tara e arábica gera uma boa capacidade de formação de filme. Portanto a presença de altos níveis de amilose juntamente com as gomas, acarreta em vantagens na formação de uma película torno do composto encapsulado, evitando a perda deste durante o processo de secagem [11,13].

Tabela 5. Eficiência de microencapsulação das amostras de polpa de araçá microencapsulada.

	Eficiência de encapsulamento(%)	
	Antocianinas	Carotenoides totais
A	64 ± 1 ^b	76,9 ± 0,9 ^b
AGT	37 ± 1 ^d	75,1 ± 0,8 ^b
AGA	33 ± 2 ^d	64,2 ± 0,9 ^c
AGTGA	45 ± 1 ^c	80,4 ± 0,0 ^a
GT	22 ± 1 ^e	23,0 ± 0,6 ^f
GA	66 ± 2 ^b	38,5 ± 0,1 ^e
GTGA	76 ± 1 ^a	56,2 ± 0,5 ^d

A: Amido de pinhão modificado, AGT: Amido de pinhão modificado + Goma tara, AGA: Amido de pinhão modificado + Goma arábica, AGTGA: Amido de pinhão modificado + Goma tara + Goma arábica, GT: Goma tara, GA: Goma arábica, GTGA: Goma tara+Goma arábica. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Fonte: O autor, 2017.

No caso das antocianinas, o revestimento que apresentou melhor eficiência foi quando ocorreu a associação das gomas tara e arábica (GTGA), resultando em 76%. A formulação contendo apenas a goma tara apresentou a menor eficiência, mostrando que ela sozinha não tem boa capacidade de aprisionamento dos compostos. Enquanto que a formulação contendo apenas a goma arábica resultou em 66%, sendo esta superior à goma tara. A goma arábica é um heteropolímero altamente ramificado que atua como um excelente agente formador de filme e tem se mostrado um bom aprisionando decompostos encapsulados [11,14]. A união das duas gomas gerou um hidrogel

eficiente para a encapsulação de antocianinas e portanto mais eficiente o que o uso delas isoladamente [45].

3.3.3. Solubilidade, higroscopicidade e densidade aparente

A higroscopicidade, a solubilidade e a densidade aparente das microcápsulas de polpa de araçá-vermelho são mostradas na Tabela 6.

Tabela 6. Resultados obtidos para higroscopicidade, solubilidade e densidade aparente das micropartículas.

	Higroscopicidade (%)	Solubilidade (%)	Densidade aparente (g/cm ³)
A	52,50 ± 0,02 ^b	99,3 ± 0,9 ^a	0,0360 ± 0,0001 ^b
AGT	62,50 ± 0,00 ^{ab}	98,7 ± 0,8 ^a	0,0360 ± 0,0001 ^b
AGA	66,50 ± 0,03 ^a	97,9 ± 0,6 ^a	0,0320 ± 0,0003 ^c
AGTGA	53,00 ± 0,01 ^b	98,1 ± 0,1 ^a	0,0260 ± 0,0002 ^e
GT	17,50 ± 0,01 ^d	99,0 ± 0,8 ^a	0,0310 ± 0,0005 ^d
GA	39,50 ± 0,05 ^c	97,8 ± 1,2 ^a	0,0240 ± 0,0005 ^f
GTGA	19,50 ± 0,01 ^d	98,1 ± 0,6 ^a	0,0410 ± 0,0001 ^a

A: Amido de pinhão modificado, AGT: Amido de pinhão modificado + Goma tara, AGA: Amido de pinhão modificado+Goma arábica, AGTGA: Amido de pinhão modificado + Goma tara + Goma arábica, GT: Goma tara, GA: Goma arábica, GTGA: Goma tara+Goma arábica. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Fonte: O autor, 2017.

Na Tabela 6, pode ser observado que a higroscopicidade foi superior nas formulações contendo amido de pinhão hidrolisado, do que nas amostras contendo apenas as gomas tara e arábica, isoladas ou combinadas. Esta maior absorção de água é resultado da presença de um grande número de ramificações presentes nas moléculas de amilopectina presentes no amido, além da hidrólise do amido favorecer o aumento de grupos hidroxila nas cadeias [13]. A maior higroscopicidade foi verificada na amostra contendo amido hidrolisado e goma arábica, uma vez que essa é a goma com maior presença de ramificações [13,17]. O estudo da higroscopicidade de encapsulados tem grande importância, pois a partir desses dados é possível planejar as aplicações e as melhores condições de armazenamento do produto a fim de evitar possíveis degradações e liberação dos compostos de forma prematura [44].

Nas medidas da solubilidade em água, não foram verificadas diferenças entre as amostras ($p < 0,05$), sendo que todas apresentaram altos teores, chegando até no máximo 99,30%. A solubilidade de micropartículas em água normalmente é maior, sendo na maior parte das vezes superior a 90% quando os materiais de parede são hidrofílicos. Visto que grande parte dos materiais de revestimento utilizados são de alta solubilidade em água, é esperado que as cápsulas também sejam solúveis [13,14,31]. A pesquisa quanto à solubilidade em água do material da parede é uma característica importante, pois esta característica está relacionada à integridade da parede das microcápsulas e a liberação dos compostos ativos, uma vez que a água é o solvente mais utilizado na indústria de alimentos [13].

3.3.4. Compostos Bioativos

Os resultados em relação aos compostos fenólicos totais, antocianinas totais e carotenoides totais podem ser observados na Tabela 7.

O teor de compostos fenólicos totais variou em relação ao material de parede utilizado, em exceção a formulação com apenas amido (A) e a com apenas goma arábica (AGA), na qual não verificou-se diferenças ($p < 0,05$). As formulações elaboradas com apenas gomas tara e arábica foram menos eficientes para a encapsulação dos compostos fenólicos, demonstrando que a interação das gomas com o amido hidrolisado tem boa relação com o aprisionamento destes compostos.

Tabela 7. Quantificação dos compostos bioativos encapsulados na polpa de araçá-vermelho.

	Compostos fenólicos totais ¹	Antocianinas totais ²	Carotenoides Totais ²
A	891,33 ± 3,26 ^a	8,77 ± 0,44 ^a	21,13 ± 0,42 ^b
AGT	803,59 ± 3,25 ^b	4,77 ± 0,10 ^c	19,18 ± 1,21 ^b
AGA	884,76 ± 3,25 ^a	4,43 ± 0,04 ^{cd}	15,24 ± 0,83 ^c
AGTGA	748,12 ± 1,86 ^c	4,95 ± 0,12 ^c	27,6 ± 0,38 ^a
GT	301,17 ± 3,62 ^f	4,06 ± 0,02 ^d	6,75 ± 0,09 ^e

GA	455,43 ± 3,65 ^d	2,04 ± 0,44 ^e	5,49 ± 0,08 ^e
GTGA	366,23 ± 1,75 ^e	5,96 ± 0,06 ^b	13,43 ± 0,14 ^d

¹Expresso em: mg ácido gálico 100 g⁻¹. ²Expresso em: mg 100 g⁻¹. ³Expresso em: µg de β-caroteno g⁻¹. A: Amido de pinhão modificado, AGT: Amido de pinhão modificado + Goma tara, AGA: Amido de pinhão modificado + Goma arábica, AGTGA: Amido de pinhão modificado + Goma tara + Goma arábica, GT: Goma tara, GA: Goma arábica, GTGA: Goma tara+Goma arábica. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Fonte: O autor, 2017.

Quanto às antocianinas totais, as formulações A e AGT não diferiram entre si (p<005). Todos os dados quanto às antocianinas foram condizentes com a eficiência de microencapsulação, como as formulações A e GTGA apresentaram maior eficiência de encapsulamento (Tabela 5), essas também foram as que demonstraram maior teor de antocianinas totais.

O teor de carotenoides totais, as maiores concentrações foram observadas nas formulações que continham amido de pinhão hidrolisado, indicando boa relação e confiabilidade na eficiência de microencapsulação, uma vez que essas foram as amostras com maior EE (Tabela 5). O maior teor de carotenoides foi observado na formulação AGTGA assim como essa também foi a que obteve maior EE. Em geral para os carotenoides totais, os resultados foram dependentes das características de material de parede, apresentando diferenças estatísticas entre eles (p<0,05).

Os resultados apresentados na Tabela 7 são importantes para determinar os materiais de revestimento que fornecem melhor estabilidade aos compostos bioativos presentes na polpa de araçá (fenólicos totais, antocianinas totais e carotenoides totais). Na quantificação dos compostos fenólico totais da polpa de araçá-vermelho, foi verificado 3098,04 mg ácido gálico 100 g⁻¹, enquanto que o teor de antocianinas totais foi 18,08 mg 100 g⁻¹ e para os carotenoides totais foi 156,26 µg de β-caroteno g⁻¹ (Tabela 3). A partir desses resultados, é possível observar que independentemente do composto bioativo, o amido de pinhão hidrolisado foi fundamental para a estabilidade destes

durante o processo de secagem, demonstrando que tem grande potencial para utilização como revestimento de componentes de diferentes polaridades [13].

3.3.5. Atividade Antioxidante

Os dados expressos na Tabela 8 são resultados da avaliação da atividade antioxidante através da inibição dos radicais DPPH[•] e ABTS^{•+} da polpa de araçá-vermelha microencapsulada. Em relação à inibição de ambos os radicais livres, houve diferenças na atividade antioxidante ($p < 0,05$), demonstrando que a polpa de araçá-vermelho é potencialmente adequada para impedir a reação de diferentes radicais.

Tabela 8. Atividade antioxidante dos encapsulados de polpa de araçá-vermelho em relação a porcentagem de inibição dos radicais DPPH[•] e ABTS^{•+}.

	% Inibição DPPH [•]	% Inibição ABTS ^{•+}
A	817,86 ± 1,4 ^a	739,74 ± 3,1 ^a
AGT	754,42 ± 1,8 ^b	536,17 ± 2,5 ^c
AGA	567,02 ± 8,3 ^d	520,66 ± 1,6 ^d
AGTGA	615,59 ± 3,4 ^c	570,50 ± 3,2 ^b
GT	524,00 ± 3,4 ^e	222,12 ± 3,2 ^e
GA	319,26 ± 2,0 ^f	118,49 ± 1,4 ^f
GTGA	290,13 ± 2,7 ^g	118,79 ± 3,3 ^f

A: Amido de pinhão modificado, AGT: Amido de pinhão modificado + Goma tara, AGA: Amido de pinhão modificado + Goma arábica, AGTGA: Amido de pinhão modificado + Goma tara + Goma arábica, GT: Goma tara, GA: Goma arábica, GTGA: Goma tara + Goma arábica. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Fonte: O autor, 2017.

Cada radical tem uma maior afinidade reativa com antioxidantes diferentes, desta forma a comparação dos resultados traz um melhor perfil antioxidante do sistema estudado [1,26].

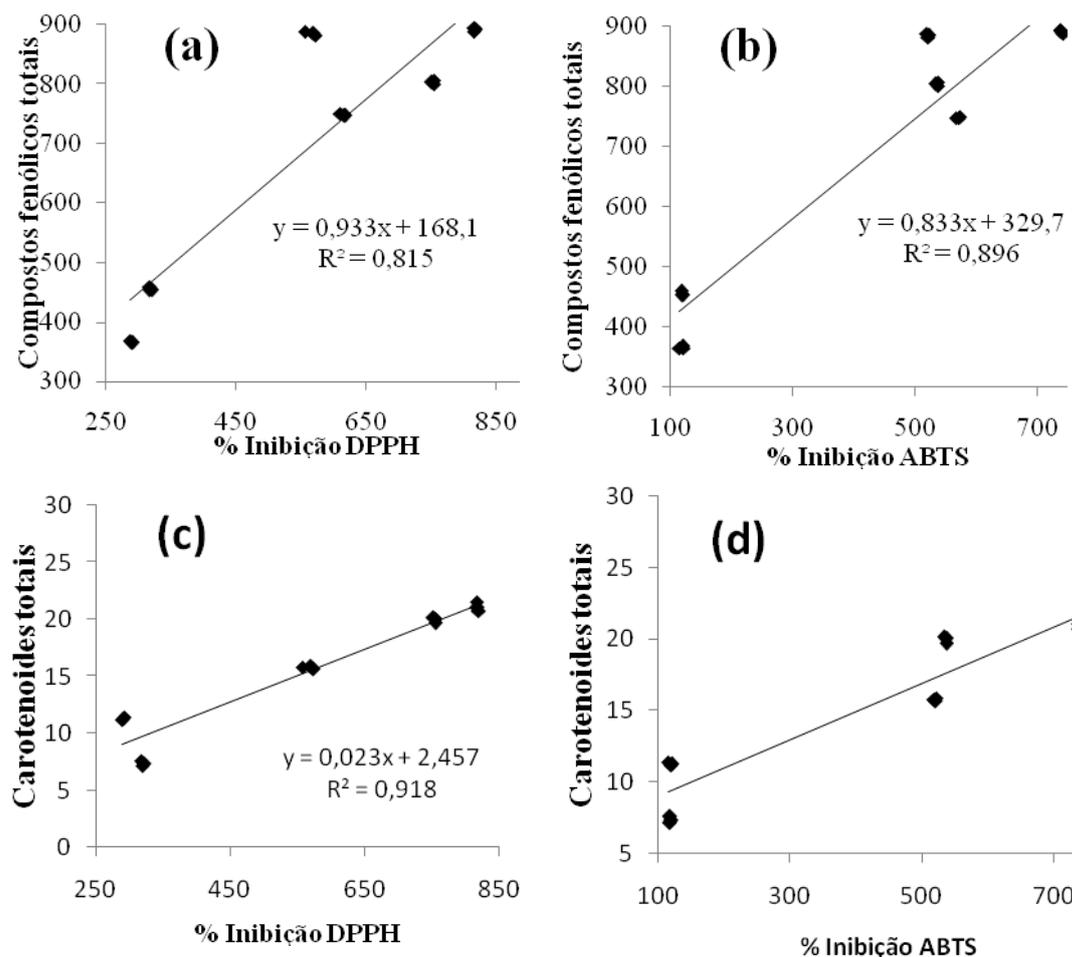


Figura 3. (a) Correlação entre o teor de compostos fenólicos totais (mg ácido gálico 100 g⁻¹), com a atividade antioxidante, determinada pelo método ABTS e (b) método DPPH. (c) Correlação entre o teor de carotenoides totais (μg de β-caroteno g⁻¹), com a atividade antioxidante, determinada pelo método ABTS e (d) método DPPH, na polpa de araçá-vermelho encapsulada. Fonte: O autor, 2017.

A partir da correlação entre a atividade antioxidante através dos métodos empregando os radicais DPPH[•] e ABTS^{•+} e o teor de compostos fenólicos totais (Figura 3), observou-se que o coeficiente de correlação foi de $r^2 = 0,815$ para o DPPH[•] e de $r^2 = 0,896$ para o ABTS^{•+}. Essa correlação demonstra que o teor de compostos fenólicos tem ligação com o potencial antioxidante do araçá-vermelho, quanto maior a concentração de fenólicos, maior será a atividade antioxidante[37]. No caso deste estudo, os compostos fenólicos apresentaram maior correlação com o radical ABTS^{•+}, isto

geralmente ocorre pelo fato do alto teor de pigmentos com afinidade por esse radical [46].

As antocianinas totais apresentaram correlações abaixo de 0,2 independente do radical usado, demonstrando sua pouca atividade frente aos radicais analisados [37].

Para a correlação entre atividade antioxidante e carotenoides totais, os valores foram de $r^2 = 0,9182$ para o DPPH[•] e de $r^2=0,8808$ para o ABTS^{•+}. Assim como os compostos fenólicos totais, os carotenoides totais apresentam forte correlação com a atividade antioxidante. Os carotenoides totais geralmente apresentam forte correlação com a atividade atioxidante devido a sua alta capacidade de sequestrar radicais livres, e com isso muitos estudos estão realizados para a melhoria de sua estabilidade [1,6,9,13,30,45,46]. Em específico, o beta-caroteno é um dos carotenoides com maior instabilidade, isso ocorre devido ao seu alto grau de insaturação que o torna mais susceptível a degradações [30]. Desta forma, o estudo de estabilidade das microcápsulas avaliou a atividade antioxante através da inibição do radical DPPH[•], e com isso foi possível avaliar melhor sobre a estabilidade dos carotenoides .

3.4. Estabilidade das microcápsulas

3.4.1. Análise de Cor

A estabilidade dados parâmetros de cor (L^* , ângulo *hue*, croma) das microcápsulas foi verificada comparando-se o primeiro e o 60° dia de armazenamento em quatro diferentes condições ambientais (presença e ausência de luz/temperatura de 5 e 30°C) e estão dispostas nas Figuras 4, 5 e 6.

Em relação ao parâmetro L^* , observa-se que as amostras que continham amido de pinhão hidrolisado no revestimento indicaram um padrão semelhante no início e ao final do armazenamento, todas apresentaram redução na luminosidade (L^*) (Figura 4).

Ao contrário deste padrão, as amostras elaboradas somente com as gomas tara e arábica apresentaram aumento significativo na luminosidade durante o armazenamento (Figura 4).

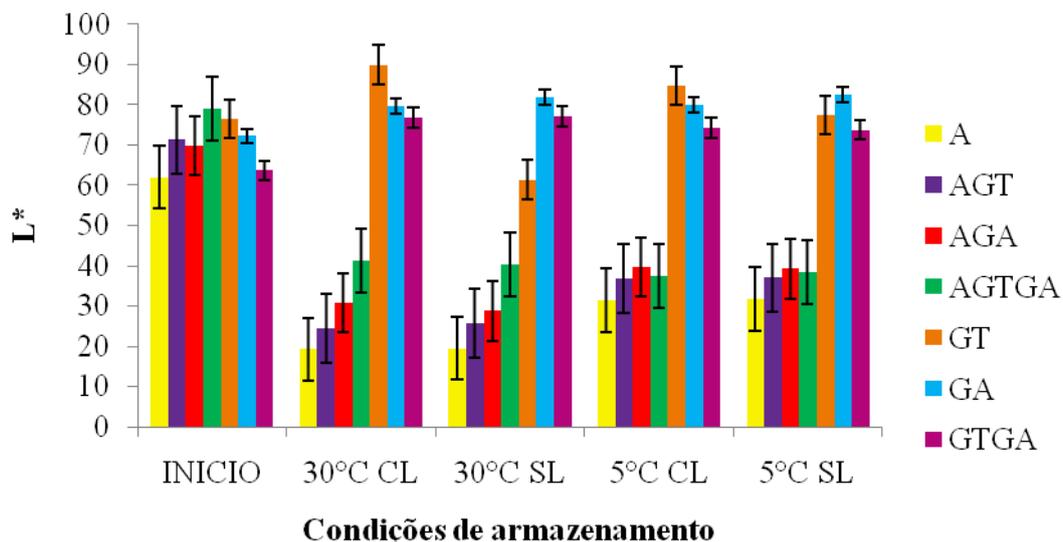


Figura 4. Luminosidade das microcápsulas no início e no fim do armazenamento. A: Amido de pinhão modificado, AGT: Amido de pinhão modificado + Goma tara, AGA: Amido de pinhão modificado + Goma arábica, AGTGA: Amido de pinhão modificado + Goma tara + Goma arábica, GT: Goma tara, GA: Goma arábica, GTGA: Goma tara + Goma arábica. CL: Com luz, SL: Sem luz. Fonte: O autor, 2017.

Tanto a redução quanto o aumento em L^* , estão relacionados com a degradação das antocianinas e carotenoides durante o armazenamento, uma vez que esses são pigmentados. A presença de luz durante o armazenamento e as diferentes temperaturas, não apresentaram influência no parâmetro L^* das amostras, demonstrando boa estabilidade a temperaturas e luminosidades distintas. O parâmetro L^* das microcápsulas teve apenas influência das características de cada material de parede, sendo que as amostras encapsuladas que continham amido na formulação do material de parede (A, AGT, AGA, AGATA) ficaram mais escuras, enquanto que as demais não sofreram alterações (Figura 4).

Outro parâmetro para avaliação da estabilidade da cor é o ângulo *hue*, ele corresponde à tonalidade da cor das amostras, e é expresso em graus, podendo variar do

vermelho (0°) até azul (180°). A estabilidade do ângulo *hue* das microcápsulas estão apresentados na Figura 5.

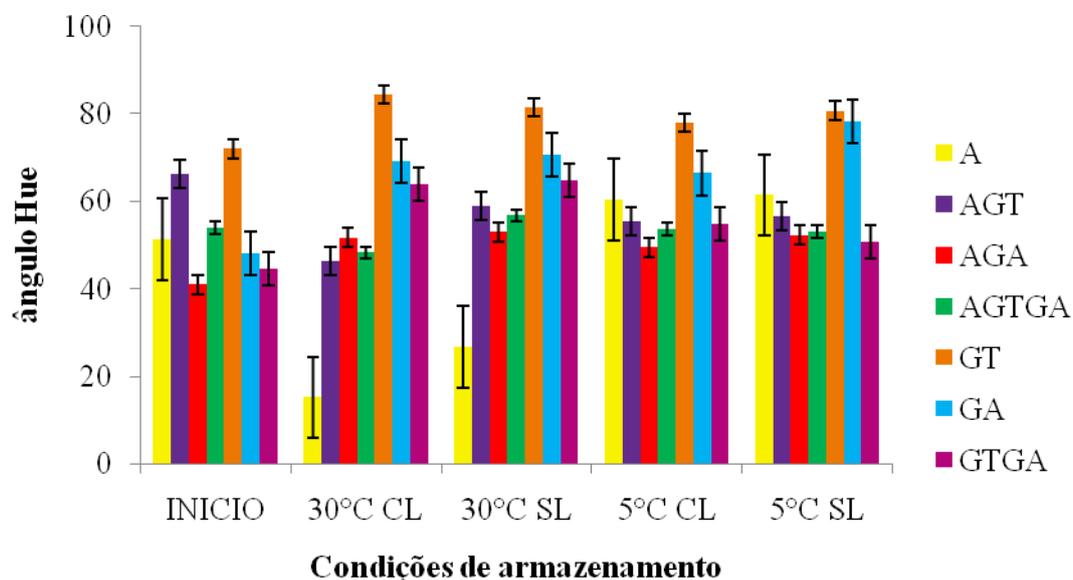


Figura 5. Ângulo *Hue* (tonalidade) das microcápsulas no início e no fim do armazenamento. A: Amido de pinhão modificado, AGT: Amido de pinhão modificado+Goma tara, AGA: Amido de pinhão modificado+Goma arábica, AGTGA: Amido de pinhão modificado+Gomatará+Goma arábica, GT: Goma tara, GA: Goma arábica, GTGA: Goma tara+Goma arábica. CL: Com luz, SL: Sem luz. Fonte: O autor, 2017.

O ângulo *hue* dos encapsulados, independente do material de parede, ficou entre 45 e 65 (Figura 5). Esse ângulo representa a tonalidade vermelha/alaranjada, coloração típica da polpa de araçá, indicando que os revestimentos promoveram a manutenção da cor avermelhada da polpa com o encapsulamento. Mesmo ao final do armazenamento, é possível notar que as microcápsulas ainda mantêm o ângulo *hue* próximo à tonalidade inicial, preservando as suas características.

Conforme mostra a Figura 5, apesar de todos os revestimentos terem mantido a tonalidade da polpa de araçá-vermelho, a intensidade dessa coloração obteve variações significativas ao longo do armazenamento.

O parâmetro croma é responsável pela intensidade da cor, sendo que quanto maior o valor, mais intensa é a cor. As amostras encapsuladas com GA e GTGA

promoveram melhor estabilidade da intensidade de coloração, independente de presença ou ausência de luz e temperatura de armazenamento.

Porém as amostras encapsuladas com A, AGT e AGTGA apresentaram pequena queda na intensidade da cor durante o armazenamento à 30°C, resultando em amostras escura, devido a degradação dos compostos. No armazenamento à 5°C, a intensidade da cor vermelha teve melhor estabilidade, ficando próxima da original (Figura 6). Entre o armazenamento com luz e sem luz não foi possível observar diferenças na intensidade da cor.

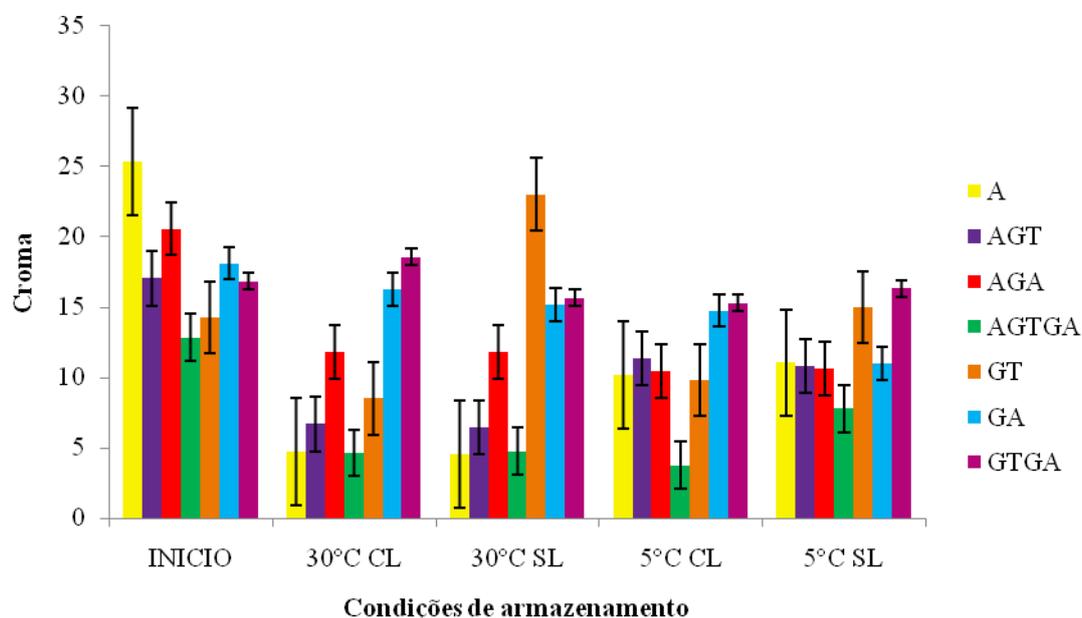


Figura6. Cromo (intensidade de cor) das microcápsulas no início e no fim do armazenamento. A: Amido de pinhão modificado, AGT: Amido de pinhão modificado+Goma tara, AGA: Amido de pinhão modificado+Goma arábica, AGTGA: Amido de pinhão modificado+Gomatarara+Goma arábica, GT: Goma tara, GA: Goma arábica, GTGA: Goma tara+Goma arábica. CL: Com luz, SL: Sem luz. Fonte: O autor, 2017.

Na estabilidade da amostra AGA, houve perda de intensidade da coloração vermelha em todas as condições de armazenamento, porém essa queda foi igual para todas as variações, sem obter diferenças relacionadas à presença de luz e temperatura de armazenamento.

3.4.2. Atividade antioxidante

O estudo da estabilidade da atividade antioxidante das microcápsulas armazenadas na presença e ausência de luz, e nas temperaturas de 5°C e 30°C, está disposto na Figura 7 e na Tabela 9.

A atividade antioxidante, através da inibição do radical DDPH^{*}, das micropartículas apresentou redução gradativa durante o período de 60 dias de armazenamento, na presença e ausência de luz e nas duas temperaturas analisadas (Figura 7).

A redução foi maior após 30 dias de armazenamento, independente da condição ambiental estudada. Antes desse período a atividade antioxidante indicou boa estabilidade para a maior parte das amostras, exceto a amostra AGA, que apresentou grande perda de atividade antioxidante antes desse período. A amostra AGA apresentou 72,68% de perdas com apenas 15 dias de armazenamento em 5°C, enquanto com outras amostras apresentaram entre 15 e 30% de perdas no mesmo período (Figura 7).

A amostra contendo apenas amido como material de parede apresentou cerca de 32% a 34% de perda de atividade antioxidante nos primeiros 30 dias dependendo da condição de armazenamento, enquanto que com 60 dias já houve perda que variaram entre 95 e 98,64%. Com 60 dias de armazenamento houve praticamente perda total de potencial antioxidante de todas as amostras (Figura 7).

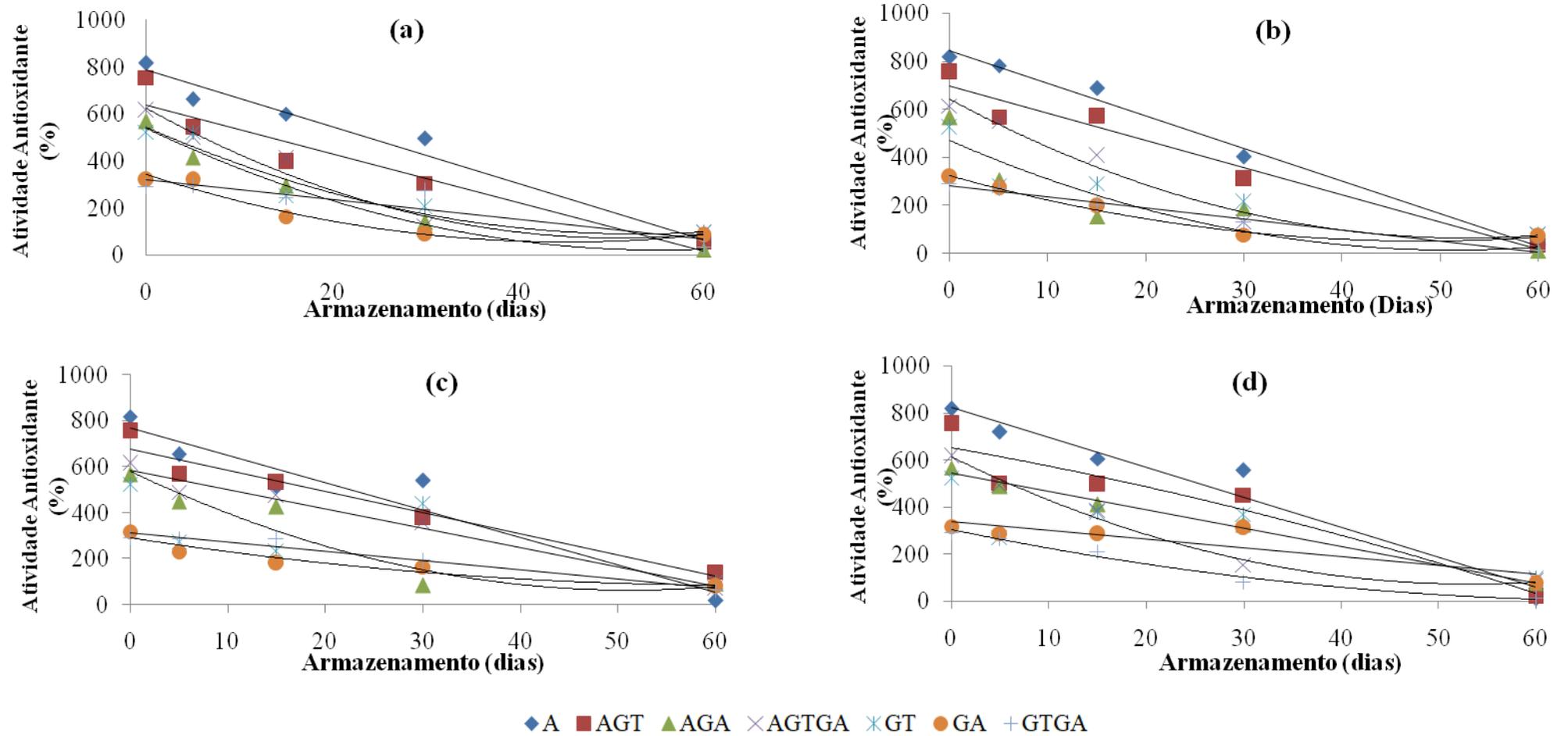


Figura 7. Estabilidade dos diferentes revestimentos frente às quatro condições de armazenamento. (a) 5°C sem luz; (b) 5°C com luz; (c) 30°C sem luz; (d) 30°C com luz. A: Amido de pinhão modificado, AGT: Amido de pinhão modificado+Goma tara, AGA: Amido de pinhão modificado+Goma arábica, AGTGA: Amido de pinhão modificado+Goma tara+Goma arábica, GT: Goma tara, GA: Goma arábica, GTGA: Goma tara+Goma arábica. Fonte: O autor, 2017.

Tabela 9. Equações de regressão e coeficiente de correlação (R^2) para cada material de parede e condição de armazenamento.

Material de parede	Condição de armazenamento	Equação	R^2
5°C sem luz	A	$y = -12,04x + 787,7$	0,969
	AGT	$y = -10,34x + 638,3$	0,909
	AGA	$y = 0,169x^2 - 18,76x + 539,1$	0,988
	AGTGA	$y = 0,212x^2 - 21,59x + 622,7$	0,970
	GT	$y = 0,165x^2 - 17,38x + 545,2$	0,934
	GA	$y = 0,141x^2 - 12,76x + 341,3$	0,958
	GTGA	$y = -4,148x + 318,4$	0,823
5°C com luz	A	$y = -13,504x + 842,85$	0,990
	AGT	$y = -11,333x + 697,71$	0,959
	AGA	$y = 0,1732x^2 - 17,793x + 472,93$	0,816
	AGTGA	$y = 0,2088x^2 - 21,967x + 643,16$	0,979
	GT	$y = 0,093x^2 - 11,51x + 444,1$	0,821
	GA	$y = 0,1183x^2 - 11,367x + 325,82$	0,991
	GTGA	$y = -4,6335x + 283,81$	0,991
30°C sem luz	A	$y = -11,91x + 771,1$	0,920
	AGT	$y = -9,222x + 677,8$	0,947
	AGA	$y = 0,196x^2 - 20,14x + 579,1$	0,912
	AGTGA	$y = -8,450x + 586,7$	0,972
	GT	$y = -0,059x^2 - 0,914x + 391,3$	0,437
	GA	$y = 0,052x^2 - 6,560x + 289,6$	0,911
	GTGA	$y = -3,982x + 312,0$	0,955
30°C com luz	A	$y = -12,70x + 821,6$	0,954
	AGT	$y = 0,050x^2 - 7,329x + 653,9$	0,899
	AGA	$y = -7,773x + 544,6$	0,990
	AGTGA	$y = 0,190x^2 - 20,28x + 612,3$	0,989
	GT	$y = -5,247x + 442,1$	0,638
	GA	$y = -3,653x + 336,8$	0,755
	GTGA	$y = 0,059x^2 - 8,499x + 302,4$	0,982

A: Amido de pinhão modificado, AGT: Amido de pinhão modificado+Goma tara, AGA: Amido de pinhão modificado+Goma arábica, AGTGA: Amido de pinhão modificado+Gomatara+Goma arábica, GT: Goma tara, GA: Goma arábica, GTGA: Goma tara+Goma arábica. Fonte: O autor, 2017.

Ao final do período de armazenamento foram observadas pequenas diferenças entre as microcápsulas armazenadas na ausência e presença de luz, demonstrando que todos os materiais de parede apresentam a mesma estabilidade à luz. Também foi verificada pequena diferença na atividade antioxidante entre as temperaturas de estudo,

indicando também que os materiais de parede podem ser eficientes às temperaturas ambientais.

Na Tabela 9, observa-se que o coeficiente de correlação para todas as amostras em diferentes condições de armazenamento foi elevado, indicando valores entre 0,8 e 0,99, exceto para a amostra GT, sendo que a equação gerada pela curva de regressão representa no mínimo 80% dos dados. A partir das correlações, é possível prever qual o melhor tempo de armazenamento, nas devidas condições estudadas, para cada tipo de material de parede, auxiliando assim em futuras aplicações do mesmo.

4. CONCLUSÃO

A polpa de araçá-vermelho apresentou elevado teor de compostos fenólicos totais, antocianinas totais carotenoides totais e atividade antioxidante, demonstrando seu grande potencial de uso destes compostos bioativos em diferentes aplicações.

Na modificação ácida do amido de pinhão, a temperatura de 45°C e o tempo de 10 horas de processo foram os melhores parâmetros para se obter um material hidrolisado, com potencial para encapsular polpa de araçá-vermelho.

As microcápsulas que possuem amido em seu revestimento (A, AGT, AGA, AGTG) apresentaram maior teor de umidade, higroscopicidade e solubilidade, uma vez que o amido hidrolisado possui grande número de grupos hidroxilas disponíveis para formarem ligações de hidrogênio com a água.

Para as antocianinas, em geral a eficiência de encapsulamento foi menor do que para os carotenoides totais. Devido a suas características hidrofóbicas, faz com que haja a interação destes com o material de parede hidrofílico resultando em um aprisionamento mais eficiente.

A atividade antioxidante e os compostos fenólicos totais apresentaram grande correlação, indicando que as amostras que apresentaram maior teor de compostos fenólicos também apresentam maior atividade antioxidante;

A correlação dos compostos fenólicos totais e a atividade antioxidante demonstraram que a porcentagem de inibição pelo radical ABTS^{•+} apresenta r^2 superior e isso pode estar relacionado à maior inibição deste radical pelos sistemas hidrofóbicos, hidrofílicos e com pigmentação elevada. Durante o armazenamento, o L* das amostras com amido presente no revestimento teve que perda considerável, enquanto as com apenas gomas teve estabilidade ou ganho de L*.

A intensidade da cor (croma) reduziu para a maioria das amostras, indicando que o armazenamento favoreceu coloração menos intensa.

A atividade antioxidante durante o armazenamento apresentou pouca alteração durante os primeiros 30 dias, independente das condições de luz, temperatura e material de parede. Após os 30 dias, houve praticamente perda total de atividade antioxidante das microcápsulas.

Portanto, o amido de pinhão hidrolisado melhora as características de microencapsulamento, sendo uma boa alternativa de material de revestimento. O seu uso em conjunto com outros materiais como as gomas, traz propriedades benéficas como o aumento da estabilidade, aumento da eficiência de encapsulamento, e outros.

A aplicação da polpa de arará-vermelho microencapsulada em sistemas alimentares ainda precisa ser estudada, sendo um possível alvo de futuros estudos. Apesar disso, é possível concluir que ela apresenta um potencial de aplicação devido a presença de compostos bioativos e coloração acentuada, os quais, são de interesse da indústria de alimentos e fármacos, bem como de pesquisadores.

REFERÊNCIAS

- [1] C.D. Nora, C.D.R. Müller, G.S. de Bona, A. de O. Rios, P.F. Hertz, A. Jablonski, E.V. De Jong, S.H. Flôres, Effect of processing on the stability of bioactive compounds from red guava (*Psidium cattleianum* Sabine) and guabiju (*Myrcianthes pungens*), *J. Food Compos. Anal.* 34 (2014) 18–25.
- [2] V. Nedovi, Kalusevic, V. Manojlovi, S. Levic, B. Bugarski, An overview of encapsulation technologies for food applications, *Procedia Food Sci.* 1 (2011) 1816–1820.
- [3] K.G.H. Desai, H. Jin Park, Recent Developments in Microencapsulation of Food Ingredients, *Dry. Technol.* 23 (2005) 1361–1394. doi:10.1081/DRT-200063478.
- [4] S. Gouin, Microencapsulation: Industrial appraisal of existing technologies and trends, *Trends Food Sci. Technol.* 15 (2004) 330–347.
- [5] J.S. Flemming, Microencapsulação Nutrientes, (2012). <https://pt.engormix.com/avicultura/artigos/microencapsulacao-nutrientes-t37526.htm>.
- [6] K. Robards, P.D. Prenzler, G. Tucker, P. Swatsitang, W. Glover, Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits, *Food Chem.* 66 (1999)
- [7] M.P. Kähkönen, a I. Hopia, H.J. Vuorela, J.-P. Rauha, K. Pihlaja, T.S. Kujala, M. Heinonen, Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds., *J. Agric. Food Chem.* 47 (1999) 3954–62.
- [8] N.J. Jun, A. Mosaddik, J.Y. Moon, K.C. Jang, D.S. Lee, K.S. Ahn, S.K. Cho, Cytotoxic activity of ??-caryophyllene oxide isolated from Jeju Guava (*Psidium cattleianum* Sabine) leaf, *Rec. Nat. Prod.* 5 (2011) 242–246.
- [9] A.L. Medina, L.I.R. Haas, F.C. Chaves, M. Salvador, R.C. Zambiasi, W.P. Da Silva, L. Nora, C.V. Rombaldi, Araçá (*Psidium cattleianum* Sabine) fruit extracts with antioxidant and antimicrobial activities and antiproliferative effect on human cancer cells, *Food Chem.* 128 (2011) 916–922.
- [10] S.S. Bansode, S.K. Banarjee, D.D. Gaikwad, S.L. Jadhav, R.M. Thorat, Microencapsulation: A review, *Int. J. Pharma Bio Sci.* 3 (2012) P509–P531.
- [11] V. Kaushik, Y.H. Roos, Limonene encapsulation in freeze-drying of gum Arabic-sucrose-gelatin systems, *LWT - Food Sci. Technol.* 40 (2007) 1381–1391.
- [12] A. Gharsallaoui, G. Roudaut, O. Chambin, A. Voilley, R. Saurel, Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview, *Food Res.*
- [13] J.C. Spada, L. Damasceno, F. Marczak, I.C. Tessaro, C.P. Zapata, Microencapsulation of b-carotene using native pinhão starch, modified pinhão starch and gelatin by freeze-drying, *Int. J. Food Sci. Technol.* 47 (2012) 186–194.
- [14] S. Akhavan Mahdavi, S.M. Jafari, E. Assadpoor, D. Dehnad, Microencapsulation optimization of natural anthocyanins with maltodextrin, gum Arabic and gelatin, *Int. J. Biol. Macromol.* 85 (2016) 379–385.
- [15] C. Wandrey, A.B. Bartkowiak, S.E. Harding, *Materials for Encapsulation*, 2010.
- [16] B.R. Cordenunsi, E.W. De Menezes, M.I. Genovese, C. Colli, A. Gonçalves De Souza, F.M. Lajolo, Chemical composition and glycemic index of Brazilian pine (*Araucaria angustifolia*) seeds, *J. Agric. Food Chem.* 52 (2004) 3412–3416.
- [17] A.L. Gabas, V.R.N. Telis, P.J.A. Sobral, J. Telis-Romero, Effect of maltodextrin and arabic gum in water vapor sorption thermodynamic properties of vacuum dried pineapple pulp powder, *J. Food Eng.* 82 (2007) 246–252.
- [18] M.A. Pollard, P. Fischer, Partial aqueous solubility of low-galactose-content galactomannans-What is the quantitative basis?, *Curr. Opin. Colloid Interface*

- Sci. 11 (2006) 184–190.
- [19] D.R. Picout, S.B. Ross-Murphy, K. Jumel, S.E. Harding, Pressure cell assisted solution characterization of polysaccharides. 2. Locust bean gum and tara gum, *Biomacromolecules*. 3 (2002) 761–767. doi:10.1021/bm025517c.
- [20] V.Z. Pinto, N.L. Vanier, B. Klein, E.D.R. Zavareze, M.C. Elias, L.C. Gutkoski, E. Helbig, A.R.G. Dias, Physicochemical, crystallinity, pasting and thermal properties of heat-moisture-treated pinhão starch, *Starch/Staerke*. 64 (2012) 855–863.
- [21] P. Zenebon, O.; Pascuet, N. S.; Tiglea, 1^a Edição Digital, Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, 2008.
- [22] J.A.R. V. L. Singleton, Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents, *Am. J. Enol. Vitic.* 16 (1965) 144–158.
- [23] F.. Lee, D.H., Francis, Standardization of Pigment Analyses in Cranberries, *HortScience*. (1972) 83–84.
- [24] AOAC, Official methods of analysis of the Association Analytical Chemists, 14th ed., Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, 2005.
- [25] J.A. Larrauri, P. Rupérez, F. Saura-Calixto, Effect of drying temperature on the stability of polyphenols and antioxidant activity of red grape pomace peels., *J. Agric. Food Chem.* 45 (1997) 1390–1393.
- [26] N. Nenadis, L.-F. Wang, M. Tsimidou, H.-Y. Zhang, Estimation of Scavenging Activity of Phenolic Compounds Using the ABTS ^{•+} Assay, *J. Agric. Food Chem.* 52 (2004) 4669–4674.
- [27] W. Brand-Williams, M.E. Cuvelier, C. Berset, Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity, *LWT - Food Sci. Technol.* 28 (1995) 25–30.
- [28] S.H. Mun, M. Shin, Mild hydrolysis of resistant starch from maize, *Food Chem.* 96 (2006) 115–121.
- [29] M. Dubois, K.A. Gilles, J.K. Hamilton, P.A. Rebers, F. Smith, Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances, *Anal. Chem.* 28 (1956) 350–356.
- [30] S.C. Sutter, M.P. Buera, B.E. Elizalde, β -Carotene encapsulation in a mannitol matrix as affected by divalent cations and phosphate anion, *Int. J. Pharm.* 332 (2007) 45–54.
- [31] M. Cano-Chauca, P.C. Stringheta, A.M. Ramos, J. Cal-Vidal, Effect of the carriers on the microstructure of mango powder obtained by spray drying and its functional characterization, *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 6 (2005) 420–428.
- [32] Y.Z. Cai, H. Corke, Production and properties of 2,3-butanediol, *J. Sens. Nutr. Qual. Food.* 65 (2000) 1248–1252.
- [33] J.S. Rocha, A. Cecília, M. De Aguiar, C.G. Rodrigues, G.P. Mizobutsi, Caracterização química da casca dos frutos de araçá (*Psidium* sp.) no semiárido mineiro .Fórum FEPEG. (1990) 4–6.
- [34] M.G.B. Koblitz, *Bioquímica de Alimentos - Teoria e aplicações práticas*, 1st ed., Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2010.
- [35] J. de S. Andrade, C.G. Aragão, S.A. do N. Ferreira, Caracterização física e química dos frutos de araçá-pera (*Psidium acutangulum*D.C.), *Acta Amaz.* 23 (1993) 213–217.
- [36] P. maria Pinto, A.P. Jacomino, F.C. Cavalini, L.C. Cunha Junior, K.N. Inoue, Estádios de maturação de goiabas ' Kumagai ' e “ Pedro Sato” para o processamento mínimo, *Ciência Rural.* (2008).
- [37] M. Da Rosa Fetter, M. Vizzotto, D. Dutra Corbelini, T. Nogueira Gonzalez, Propriedades funcionais de araçá-amarelo, araçá-vermelho (*Psidium cattleianum*

- Sabine) e araçá-pera (*P. acutangulum* D.C.) cultivados em Pelotas/RS, Brazilian J. Food Technol. 13 (2010) 92–95.
- [38] S. Pereira, M.V. Schiavon, E. Konzgen, R.C. Franzon, M. Vizzotto, Antioxidante em genótipos de araçá (*Psidium*), Soc. Bras. Recur. Genéticos. (2015) 238.
- [39] C. Damiani, Caracterização e agregação de valor aos frutos do cerrado: Araçá (*Psidium guineensis* Sw.) e marolo (*Annona crassiflora* Mart.), Tese, Universidade Federal de Lavras, 2009.
- [40] L.S. Huber, D.B. Rodriguez-amaya, Flavonóis E Flavonas : Fontes Brasileiras E Fatores Que Influenciam a Composição Em, Aliment. Nutr. 19 (2008) 97–108.
- [41] L. Gobbo-Neto, N.P. Lopes, Plantas medicinais: Fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários, Quim. Nova. 30 (2007) 374–381.
- [42] V.Z. Pinto, Pré-tratamentos na produção de nanocristais de amido de pinhão e feijão, Tese, Universidade Federal de Pelotas, 2014.
- [43] C. Yamashita, M.M.S. Chung, C. dos Santos, C.R.M. Mayer, I.C.F. Moraes, I.G. Branco, Microencapsulation of an anthocyanin-rich blackberry (*Rubus* spp.) by-product extract by freeze-drying, LWT - Food Sci. Technol. 84 (2017) 256–262..
- [44] L. R.G. Kumar, N.S. Chatterjee, C.S. Tejpal, K. V. Vishnu, K.K. Anas, K.K. Asha, R. Anandan, S. Mathew, Evaluation of chitosan as a wall material for microencapsulation of squalene by spray drying: Characterization and oxidative stability studies, Int. J. Biol. Macromol. 104 (2016) 1986–1995.
- [45] J.K. Rutz, R.C. Zambiasi, C.D. Borges, F.D. Krumreich, S.R. Da Luz, N. Hartwig, C.G. Da Rosa, Microencapsulation of purple Brazilian cherry juice in xanthan, tara gums and xanthan-tara hydrogel matrixes, Carbohydr. Polym. 98 (2013) 1256–1265.
- [46] A. Floegel, D.O. Kim, S.J. Chung, S.I. Koo, O.K. Chun, Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods, J. Food Compos. Anal. 24 (2011) 1043–1048.

Anexo 1

GUIDE FOR AUTHORS

INTRODUCTION

AIMS AND SCOPE

International Journal of Biological Macromolecules is an established international journal of research into **chemical** and **biological** aspects of all **natural macromolecules**. It presents the latest findings of studies on the molecular structure and properties of proteins, macromolecular carbohydrates, glycoproteins, proteoglycans, lignins, biological poly-acids, and nucleic acids. These findings must be new and novel rather than a repeat of earlier or analogous published work. The scope includes biological activities and interactions, molecular associations, chemical and biological modifications, and functional properties. Papers on related model systems, structural conformational studies, theoretical developments and new analytical techniques are also welcome. All papers are required to focus primarily on at least one named **biological macromolecule**. This naming should appear in the title, the abstract and the text of the paper.

Examples of papers which are not appropriate for *International Journal of Biological Macromolecules* include:

papers where the biological macromolecule has not been characterized by modern analytical techniques (including molecular weight) rather than historical methods. e.g. colorimetric assays.
papers which focus on biological, physiological and pharmacological aspects of non-macromolecules attached to, or mixed with, biological macromolecules.
papers on the materials science of biocomposites where there is no mention of any specific biological macromolecule.
papers where the structure or role of the biological macromolecule is not the major proportion of the study.
routine studies of extraction of macromolecules without purification and characterization of the extracted molecule.
applications of macromolecules where the structure of the macromolecule is completely unknown.
Papers where the molecular weight of the biological molecule is less than five thousand.
Paper which are majorly about clinical studies and animal trials, where a biological macromolecule is not the biologically active agent, and/or the biological macromolecule is not the major focus of the study.

Introductory information

Please follow the Guide For Authors instructions carefully to ensure that the review and publication of your paper is as swift and efficient as possible. These notes may be copied freely.

All contributions are read by two or more referees to ensure both accuracy and relevance, and revisions to the script may thus be required. On acceptance, contributions are subject to editorial amendment to suit house style.

When a manuscript is returned for revision prior to final acceptance, the revised version must be submitted as soon as possible after the author's receipt of the referee's reports. Revised manuscripts returned after four months will be considered as new submissions subject to full re-review.

Types of paper

Contributions falling into the following categories will be considered for publication:

Regular Papers • Original high-quality research papers (preferably no more than 20 double-line-spaced manuscript pages, including tables and illustrations)

Review Papers • Authors interested in writing review articles for the *International Journal of Biological Macromolecules* should contact the appropriate Editor-in-Chief before submitting their contribution. Review articles are typically contributions focusing on one topic within the scope of the journal. Review articles are meant to survey a particular topic of interest and present a position on current and future directions of research for the community.

Contact details for submission

Articles should be submitted to http://www.evis.com/evis/faces/pages/navigation/NavController.jspx?JRNL_ACR=IJBIOMAC. For queries, please refer to our support page at service.elsevier.com.

Submission checklist

You can use this list to carry out a final check of your submission before you send it to the journal for review. Please check the relevant section in this Guide for Authors for more details.

Article Structure

You should arrange your contribution in the following order:

1. The paper title should be short, specific and informative. All author's names and affiliations should be clearly indicated. Please also indicate which author will deal with correspondence and supply full postal address, telephone and fax numbers, and e-mail address.
2. Self contained abstract of approximately 200 words, outlining in a single paragraph the aims, scope and conclusions of the paper.
3. Three keywords, for indexing purposes;
4. *The text* suitably divided under headings.
5. *Acknowledgments* (if any).
6. *References* (double spaced, and following the journal style).
7. *Appendices* (if any).
8. *Tables* (each on a separate sheet).
9. *Captions* to illustrations (grouped on a separate sheet or sheets).
10. *Illustrations*, each on a separate sheet containing no text, and clearly labelled with the journal title, author's name and illustration number.

Subdivision - numbered sections

Divide your article into clearly defined and numbered sections. Subsections should be numbered 1.1 (then 1.1.1, 1.1.2, ...), 1.2, etc. (the abstract is not included in section numbering). Use this numbering also for internal cross-referencing: do not just refer to 'the text'. Any subsection may be given a brief heading. Each heading should appear on its own separate line.

Essential title page information

- **Title.** Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.
- **Author names and affiliations.** Please clearly indicate the given name(s) and family name(s) of each author and check that all names are accurately spelled. You can add your name between parentheses in your own script behind the English transliteration. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lower-case superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the e-mail address of each author.
- **Corresponding author.** Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. This responsibility includes answering any future queries about Methodology and Materials. **Ensure that the e-mail address is given and that contact details are kept up to date by the corresponding author.**
- **Present/permanent address.** If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent address') may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

Abstract

A concise and factual abstract is required. The abstract should state briefly the purpose of the research, the principal results and major conclusions. An abstract is often presented separately from the article, so it must be able to stand alone. For this reason, References should be avoided, but if essential, then cite the author(s) and year(s). Also, non-standard or uncommon abbreviations should be avoided, but if essential they must be defined at their first mention in the abstract itself.

Keywords

Immediately after the abstract, provide a maximum of 6 keywords, using American spelling and avoiding general and plural terms and multiple concepts (avoid, for example, 'and', 'of'). Be sparing with abbreviations: only abbreviations firmly established in the field may be eligible. These keywords will be used for indexing purposes.

Formatting of funding sources

List funding sources in this standard way to facilitate compliance to funder's requirements:

Funding: This work was supported by the National Institutes of Health [grant numbers xxxx, yyyy]; the Bill & Melinda Gates Foundation, Seattle, WA [grant number zzzz]; and the United States Institutes of Peace [grant number aaaa].

It is not necessary to include detailed descriptions on the program or type of grants and awards. When funding is from a block grant or other resources available to a university, college, or other research institution, submit the name of the institute or organization that provided the funding.

If no funding has been provided for the research, please include the following sentence:

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

Math formulae

Please submit math equations as editable text and not as images. Present simple formulae in line with normal text where possible and use the solidus (/) instead of a horizontal line for small fractional terms, e.g., X/Y. In principle, variables are to be presented in italics. Powers of e are often more conveniently denoted by exp. Number consecutively any equations that have to be displayed separately from the text (if referred to explicitly in the text).

Figures (to be uploaded as separate file(s), see below) and tables should be numbered in Arabic numerals. In the text they should be referred to as Fig. 1, Table 2, e.g. 3 etc. (not as fig. 1, figure 1; tab. 2, table 2). A calibration bar should be given on all micrographs.

Artwork

Electronic artwork

General points

- Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.
- Embed the used fonts if the application provides that option.
- Aim to use the following fonts in your illustrations: Arial, Courier, Times New Roman, Symbol, or use fonts that look similar.
- Number the illustrations according to their sequence in the text.
- Use a logical naming convention for your artwork files.
- Provide captions to illustrations separately.
- Size the illustrations close to the desired dimensions of the published version.
- Submit each illustration as a separate file.

A detailed [guide on electronic artwork](#) is available.

You are urged to visit this site; some excerpts from the detailed information are given here.

Formats

If your electronic artwork is created in a Microsoft Office application (Word, PowerPoint, Excel) then please supply 'as is' in the native document format.

Regardless of the application used other than Microsoft Office, when your electronic artwork is finalized, please 'Save as' or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below):

EPS (or PDF): Vector drawings, embed all used fonts.

TIFF (or JPEG): Color or grayscale photographs (halftones), keep to a minimum of 300 dpi.

TIFF (or JPEG): Bitmapped (pure black & white pixels) line drawings, keep to a minimum of 1000 dpi.

TIFF (or JPEG): Combinations bitmapped line/half-tone (color or grayscale), keep to a minimum of 500 dpi.

Please do not:

- Supply files that are optimized for screen use (e.g., GIF, BMP, PICT, WPG); these typically have a low number of pixels and limited set of colors;
- Supply files that are too low in resolution;

- Submit graphics that are disproportionately large for the content.

Color artwork

Please make sure that artwork files are in an acceptable format (TIFF (or JPEG), EPS (or PDF), or MS Office files) and with the correct resolution. If, together with your accepted article, you submit usable color figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in color online (e.g., ScienceDirect and other sites) regardless of whether or not these illustrations are reproduced in color in the printed version. **For color reproduction in print, you will receive information regarding the costs from Elsevier after receipt of your accepted article.** Please indicate your preference for color: in print or online only. [Further information on the preparation of electronic artwork.](#)

Tables

Please submit tables as editable text and not as images. Tables can be placed either next to the relevant text in the article, or on separate page(s) at the end. Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text and place any table notes below the table body. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in them do not duplicate results described elsewhere in the article. Please avoid using vertical rules and shading in table cells.

References

Citation in text

Please ensure that every reference cited in the text is also present in the reference list (and vice versa). Any references cited in the abstract must be given in full. Unpublished results and personal communications are not recommended in the reference list, but may be mentioned in the text. If these references are included in the reference list they should follow the standard reference style of the journal and should include a substitution of the publication date with either 'Unpublished results' or 'Personal communication'. Citation of a reference as 'in press' implies that the item has been accepted for publication.

Data references

This journal encourages you to cite underlying or relevant datasets in your manuscript by citing them in your text and including a data reference in your Reference List. Data references should include the following elements: author name(s), dataset title, data repository, version (where available), year, and global persistent identifier. Add [dataset] immediately before the reference so we can properly identify it as a data reference. The [dataset] identifier will not appear in your published article.

References in a special issue

Please ensure that the words 'this issue' are added to any references in the list (and any citations in the text) to other articles in the same Special Issue.

Reference management software

Most Elsevier journals have their reference template available in many of the most popular reference management software products. These include all products that support [Citation Style Language styles](#), such as [Mendeley](#) and [Zotero](#), as well as [EndNote](#). Using the word processor plug-ins from these products, authors only need to select the appropriate journal template when preparing their article, after which citations and bibliographies will be automatically formatted in the journal's style. If no template is yet available for this journal, please follow the format of the sample references and citations as shown in this Guide.

Reference style

Text: Indicate references by number(s) in square brackets in line with the text. The actual authors can be referred to, but the reference number(s) must always be given.

Example: '..... as demonstrated [3,6]. Barnaby and Jones [8] obtained a different result'

List: Number the references (numbers in square brackets) in the list in the order in which they appear in the text.

Examples:

Reference to a journal publication:

[1] J. van der Geer, J.A.J. Hanraads, R.A. Lupton, The art of writing a scientific article, *J. Sci. Commun.* 163 (2010) 51–59.

Reference to a book:

[2] W. Strunk Jr., E.B. White, *The Elements of Style*, fourth ed., Longman, New York, 2000.

Reference to a chapter in an edited book:

[3] G.R. Mettam, L.B. Adams, How to prepare an electronic version of your article, in: B.S. Jones, R.Z. Smith (Eds.), *Introduction to the Electronic Age*, E-Publishing Inc., New York, 2009, pp. 281–304.

Reference to a website:

[4] Cancer Research UK, *Cancer statistics reports for the UK*. <http://www.cancerresearchuk.org/aboutcancer/statistics/cancerstatsreport/>, 2003 (accessed 13 March 2003).

Reference to a dataset:

[dataset] [5] M. Oguro, S. Imahiro, S. Saito, T. Nakashizuka, Mortality data for Japanese oak wilt disease and surrounding forest compositions, *Mendeley Data*, v1, 2015. <https://doi.org/10.17632/xwj98nb39r.1>.