



MATHEUS FELIPE SOUZA OLIVEIRA

**MICROENCAPSULAÇÃO DO EXTRATO DAS FLORES DE
HIBISCO VERMELHO (*HIBISCUS ROSA-SINENSIS*) POR
*SPRAY CHILLING***

**LAVRAS – MG
2023**

MATHEUS FELIPE SOUZA OLIVEIRA

**MICROENCAPSULAÇÃO DO EXTRATO DAS FLORES DE HIBISCO VERMELHO
(*HIBISCUS ROSA-SINENSIS*) POR *SPRAY CHILLING***

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, área de concentração em Ciência dos Alimentos, para a obtenção do título de Mestre

Profa. Dra. Soraia Vilela Borges

Orientadora

Dra. Jayne de Abreu Figueiredo

Coorientadora

**LAVRAS – MG
2023**

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Oliveira, Matheus Felipe Souza.

Microencapsulação do extrato das flores de hibisco vermelho (*hibiscus rosa-sinensis*) por *spray chilling*/ Matheus Felipe Souza Oliveira. - 2023.

87 p.: il.

Orientador(a): Soraia Vilela Borges.

Coorientador(a): Jayne de Abreu Figueiredo.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Lavras, 2023.

Bibliografia.

1. Spray chilling. 2. Hibiscus rosa-sinensis. 3. Cianidina-3-soforosídeo. I. Borges, Soraia Vilela. II. Figueiredo, Jayne de Abreu. Título.

MATHEUS FELIPE SOUZA OLIVEIRA

**MICROENCAPSULAÇÃO DO EXTRATO DAS FLORES DE HIBISCO VERMELHO
(*HIBISCUS ROSA-SINENSIS*) POR *SPRAY CHILLING***

**MICROENCAPSULATION OF RED HIBISCUS FLOWER EXTRACT (*HIBISCUS
ROSA-SINENSIS*) BY *SPRAY CHILLING***

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, área de concentração em Ciência dos Alimentos, para a obtenção do título de Mestre

APROVADA em 19 de janeiro de 2023.
Dra. Amanda Maria Teixeira Lago UFLA
Dra. Joyce Maria Gomes da Costa UFVJM

Profa. Dra. Soraia Vilela Borges
Orientadora

Dra. Jayne de Abreu Figueiredo
Coorientadora

**LAVRAS – MG
2023**

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Central de Análises e Prospecção Química (CAPQ) e ao Laboratório de Microscopia Eletrônica e Análise Ultraestrutural (LME) da Universidade Federal de Lavras; a Laís Bruno Norcino pelas ajudas nas análises de DSC, DRX e Tamanho de Partículas.

Ao programa de pós graduação em Ciência dos Alimentos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro.

Muito obrigado!

RESUMO GERAL

As flores do hibisco vermelho (*Hibiscus rosa-sinensis*) apresentam vitaminas, flavonoides, ácido ascórbico, niacina, riboflavina, tiamina e antocianinas, como a cianidina-3-soforosídeo. Devido à instabilidade das antocianinas após a extração, neste trabalho foram produzidas micropartículas de antocianinas do extrato das flores do hibisco vermelho por *spray chilling* e estudadas através caracterização, estudo de estabilidade e perfil de liberação gastrointestinal. A proporção de material de parede e extrato de hibisco foi de 70:30, utilizando formulações binárias lipídicas, contendo óleo de palma totalmente hidrogenado (OPTH) e manteiga de cacau (MC), homogeneizados no ultrassom-assistido nas proporções 100 OPTH: 0 MC (Controle), 75:25, 50:50, 60:40 e 40:60. As emulsões foram homogeneizadas no ultrassom-assistido por 240 segundos a 200 W. As micropartículas foram caracterizadas quanto ao comportamento térmico e polimórfico, presença de grupos funcionais, tamanho das partículas, índice de polidispersibilidade, morfologia, densidade aparente e compactada, índice de Carr e razão de Hausner, atividade de água, conteúdo de antocianinas, retenção de encapsulação, capacidade antioxidante e parâmetros de cor. Foi avaliada a estabilidade ao armazenamento das micropartículas a 35 °C na presença e ausência de luz. Também, foi definido o perfil de liberação destas antocianinas no trato gastrointestinal simulado *in vitro*. O aumento do conteúdo de MC reduz a temperatura de fusão e o comportamento polimórfico se torna mais instável, com características amorfas nas micropartículas, aumento da viscosidade e de aglomerações de partículas, com surgimento de orifícios, apresentando maiores valores para diâmetros médios, podendo afetar as características sensoriais e nutricionais dos produtos alimentícios. Os picos do extrato de flores do hibisco são visualizados nos espectros das micropartículas produzidas por *spray chilling*. Assim, as antocianinas não foram degradadas durante a microencapsulação. A capacidade antioxidante variou de 75 a 79 %, com melhor resultado para PLM_75:25. A MC, quando é utilizada em baixas proporções em mistura lipídica com o óleo de palma totalmente hidrogenado, como no tratamento PLM_75:25, aprimora as características das micropartículas, aumentando a atividade antioxidante e melhorando o perfil de liberação de antocianinas no sistema gastrointestinal simulado *in vitro*, com liberação controlada e reduzida no trato gástrico e intensa no trato intestinal para absorção dos compostos antioxidantes no intestino delgado. Também, no estudo de estabilidade, o tratamento PLM_75:25 teve a maior retenção de encapsulamento e reduziu a diferença total de cor. Ao que tudo indica, as micropartículas obtidas para todos os tratamentos são sensíveis à luz e a temperatura de 35 °C. É ideal que as micropartículas sejam armazenadas abaixo de 35 °C e sem presença de luz.

Palavras-chaves: *Hibiscus rosa-sinensis*. Cianidina-3-soforosídeo. *Spray chilling*.

GENERAL ABSTRACT

The flowers of the red hibiscus (*Hibiscus rosa-sinensis*) have vitamins, flavonoids, ascorbic acid, niacin, riboflavin, thiamin and anthocyanins, such as cyanidin-3 soforoside. Due to the instability of anthocyanins after extraction, in this work, microparticles of anthocyanins from red hibiscus flower extract were produced by spray chilling and studied through characterization, stability study and gastrointestinal release profile. The ratio of wall material and hibiscus extract was 70:30, using binary lipid formulations, containing fully hydrogenated palm oil (OPTH) and cocoa butter (MC), homogenized in the ultrasound-assisted at the ratios 100 OPTH: 0 MC (Control), 75:25, 50:50, 60:40 and 40:60. The emulsions were homogenized in the ultrasound-assisted for 240 seconds at 200 W. The microparticles were characterized for thermal and polymorphic behavior, presence of functional groups, particle size, polydispersity index, morphology, bulk and compact density, Carr's index and Hausner's ratio, water activity, anthocyanin content, encapsulation retention, antioxidant capacity and color parameters. The storage stability of the microparticles at 35 °C in the presence and absence of light was evaluated. Also, the release profile of these anthocyanins in the simulated gastrointestinal tract in vitro was defined. The increase in MC content reduces the melting temperature and the polymorphic behavior becomes more unstable, with amorphous characteristics in the microparticles, increased viscosity and particle agglomerations, with the appearance of holes, presenting higher values for average diameters, which may affect the sensory and nutritional characteristics of food products. The peaks of the hibiscus flower extract are visualized in the spectra of the microparticles produced by spray chilling. Thus, the anthocyanins were not degraded during microencapsulation. The antioxidant capacity ranged from 75 to 79 %, with the best result for PLM_75:25. MC, when it is used in low proportions in lipid mixture with the fully hydrogenated palm oil, as in PLM_75:25 treatment, improves the characteristics of the microparticles, increasing the antioxidant activity and improving the release profile of anthocyanins in the simulated gastrointestinal system in vitro, with controlled and reduced release in the gastric tract and intense in the intestinal tract for absorption of the antioxidant compounds in the small intestine. Also, in the stability study, the PLM_75:25 treatment had the highest encapsulation retention and reduced total color difference. It appears that the microparticles obtained for all treatments are sensitive to light and the temperature of 35 °C. Ideally, the microparticles should be stored below 35 °C and without light.

Keywords: *Hibiscus rosa-sinensis*; Cyanidin-3-soforoside; Spray chilling

SUMÁRIO

| | |
|--|-----------|
| PRIMEIRA PARTE | 8 |
| 1. INTRODUÇÃO | 8 |
| 2. REFERENCIAL TEÓRICO | 11 |
| 2.1. Hibisco vermelho (<i>Hibiscus rosa-sinensis</i>) | 11 |
| 2.2. Antocianinas | 12 |
| 2.3. Cianidina-3- soforosídeo | 15 |
| 2.4. Encapsulação | 17 |
| 2.5. <i>Spray chilling</i> | 17 |
| 2.5.1. Lipídios | 20 |
| 2.5.2. Cristalização e Polimorfismo | 21 |
| 2.5.3. Material de parede | 22 |
| 3. CONSIDERAÇÕES GERAIS | 25 |
| REFERÊNCIAS | 26 |
| SEGUNDA PARTE – ARTIGO | 33 |
| MICROENCAPSULAÇÃO DO EXTRATO DAS FLORES DE HIBISCO VERMELHO (<i>HIBISCUS ROSA-SINENSIS</i>) POR TÉCNICA <i>SPRAY CHILLING</i> UTILIZANDO ÓLEO DE PALMA TOTALMENTE HIDROGENADO E MANTEIGA DE CACAU | 34 |
| CONCLUSÃO GERAL | 94 |

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO

A opção por alimentos mais saudáveis, ambientalmente conscientes e que garantam acesso a alimentação adequada é um ato político. As plantas alimentícias não convencionais (PANC) são introduzidas a alimentação direta e também às indústrias de alimentos como sugestões, pois apresentam fatores econômicos e nutricionais significativos, devido ao baixo custo de cultivo e alto valor nutricional. O crescimento do mercado de PANC é promissor para o setor alimentício e farmacêutico, com destaque para as flores comestíveis por serem fontes de compostos bioativos que podem atuar como antioxidantes, antimicrobianos, corantes, saborizantes, dentro outras funções.

O hibisco vermelho (*Hibiscus rosa-sinensis*) apresenta flores comestíveis contendo vitaminas, flavonoides, ácido ascórbico, niacina, riboflavina, tiamina e a antocianina cianidina-3-soforosídeo. Esses compostos apresentam maior eficiência e menor custo quando comparados a suplementos sintéticos, com função de proteção do corpo contra danos oxidativos decorrentes do acúmulo de radicais livres no organismo humano. No entanto, a degradação das flores do hibisco começa após 2 dias do florescimento (PASCUAL *et al.*, 2017; SILVA, ANALÚ BARBOSA DA; WIEST; CARVALHO, 2016).

A microencapsulação é um processo físico-químico ou mecânico onde uma substância é recoberta de outro material (material de parede), com diferentes funções, como proteção, mascaramento de odor e sabor, aumento da estabilidade térmica, favorecimento da liberação controlada, melhoria da textura e proteção contra contaminação cruzada (ALEMZADEH *et al.*, 2020; YANG *et al.*, 2020). O *spray chilling* tem se destacado como técnica de microencapsulação por ser promissor na estabilização de compostos bioativos em matrizes lipídicas. Na técnica ocorre a dispersão do material ativo emulsificado ou solubilizado em uma matriz lipídica fundida. A mistura é atomizada até uma câmara contendo ar em temperatura abaixo do ponto de fusão da matriz lipídica, onde as gotículas se solidificam dando origem as partículas lipídicas sólidas (MAZZOCATO; THOMAZINI; FAVARO-TRINDADE, 2019).

A microencapsulação por *spray chilling* de extrato de flores do hibisco garante proteção, estabilidade e extensão do uso das antocianinas do hibisco vermelho. A técnica tem a vantagem de não usar solventes orgânicos e ser desenvolvidas em temperaturas mais brandas, fatores importantes para evitar a degradação dos compostos bioativos, bem como é caracterizada pelo baixo custo. Com isso, a microencapsulação e as tecnologias alimentares podem ser utilizadas

como alternativa, permitindo o desenvolvimento de alimentos e nutracêuticos, cuja biodisponibilidade e manutenção da funcionalidade dos ingredientes ativos sejam essenciais (ALEMZADEH *et al.*, 2020).

Dentre os lipídios utilizados como material de parede, o óleo de palma e a manteiga de cacau tem aceitação do consumidor e estão em alta demanda no mercado. O óleo de palma (OP) é um produto obtido da palma ou dendezeiro, que é constituído de ácido palmítico e oleico, principalmente. O ponto de fusão do OP varia na faixa de 32 a 40 °C. Para maiores pontos de fusão em óleos vegetais, é realizada a hidrogenação. Esse processo aumenta a estabilidade, reduz as insaturações e mantém a fluidez do óleo líquido. Com a hidrogenação catalítica total, óleos líquidos podem se transformar em gorduras saturadas. Através da adição de átomos de hidrogênio no OP, grupos funcionais insaturados (ácidos oleico, linoleico e linolênico) são convertidos em ácidos saturados (ácido palmítico e esteárico). A transformação ocorrida no óleo de palma (OP) dá origem ao óleo de palma totalmente hidrogenado (OPTH) de ponto de fusão entre 55 e 61 °C (O'BRIEN, 2009; PROCOPIO *et al.*, 2018).

A manteiga de cacau (MC) é caracterizada, predominantemente, por três ácidos graxos principais: palmítico (C16:0), esteárico (C18:0) e oleico (C18:1), que correspondem a três triacilgliceróis (TAG): glicerol-1, 3-dipalmitato-2-oleato, glicerol-1-palmitato-2-oleato-3-estearato e glicerol-1,3-diestearato-2-oleato. As características de fusão, comportamento térmico e polimórfico da MC é definido pelos TAG. A MC é tem cerca de 70% do conteúdo de gordura sólida a 20°C e se funde entre 30 e 35 °C. Apresenta formas polimórficas complexas, sendo relatadas seis diferentes formas polimórficas com diferentes pontos de fusão. No Brasil, a MC tem maciez superior às MC encontradas na África e Malásia devido ao baixo conteúdo de TAG monoinsaturados e conteúdo alto de TAG di-insaturados. Com isso, a MC brasileira tem menor resistência ao calor (BISWAS *et al.*, 2018; LE RÉVÉREND *et al.*, 2010; MIYASAKI *et al.*, 2016).

Para o processo de microencapsulação, a utilização de apenas um lipídio, líquido ou sólido), como material de parede produz micropartículas ineficazes. Se somente um lipídio líquido for utilizado para microencapsulação, as micropartículas terão aspecto arenoso com lipídios parcialmente secos formando aglomerações. Se somente um lipídio sólido for utilizado para microencapsulação, as micropartículas apresentarão cadeias aproximadas devido à falta de insaturações, com estrutura mais compacta, densa e ordenada, reduzindo o espaço disponível para o composto encapsulado. Nos dois casos a retenção do composto nas micropartículas vai ser baixa e/ou a liberação vai ser antecipada. A mistura de dois lipídios com diferentes

moléculas forma uma matriz lipídica sólida menos ordenada, favorecendo a retenção do material encapsulado dentro das micropartículas (ORIANI *et al.*, 2018; PROCOPIO *et al.*, 2018).

Durante a obtenção de micropartículas lipídicas sólidas por *spray chilling*, deve ocorrer a fusão do lipídeo ou mistura lipídica, formando as partículas por atomização, seguida de resfriamento para fixação da forma das micropartículas. Para facilitar o aprisionamento do material encapsulado, é realizada mistura lipídica de óleo de palma totalmente hidrogenado (OPTH) e manteiga de cacau (MC). Assim sendo, este trabalho teve como objetivo avaliar a influência de diferentes proporções de misturas binárias entre óleo de palma totalmente hidrogenado livre em trans e manteiga de cacau nas características físico-químicas de partículas lipídicas microestruturadas antociânicas obtidas por *spray chilling*, bem como avaliar a estabilidade das micropartículas formadas em diferentes condições de armazenamento e o perfil de liberação das antocianinas ao sistema gastrointestinal simulado *in vitro*.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Hibisco vermelho (*Hibiscus rosa-sinensis*)

O hibisco vermelho da espécie *Hibiscus rosa-sinensis* é uma planta nativa de regiões tropicais e subtropicais do mundo pertencente à família *Malvaceae*. É geralmente plantada para fins ornamentais, mas exerce papel de destaque na saúde humana devido a presença de compostos bioativos em sua composição (VASTRAD; BYADGI, 2018). Essa planta tem uma das flores mais cultivadas, fornecendo tonalidades diferentes entre branco, amarelo, roxo, rosa, vermelho-púrpura, sendo a coloração vermelha a mais usual. As flores do hibisco duram de 1 a 2 dias após o surgimento e a planta produz flores de forma contínua durante o ano (PASCUAL *et al.*, 2017; SILVA, ANALÚ BARBOSA DA; WIEST; CARVALHO, 2016). As flores do hibisco são plantas alimentícias não convencionais (PANC) na alimentação alternativa, cujo consumo deve ser valorizado (KINUPP; LORENZI, 2014). As pétalas apresentam sabor cítrico, podendo ser usadas em saladas, infusões, geleias, licores, chás, entre outros (SILVA, ANALÚ BARBOSA DA; WIEST; CARVALHO, 2016).

O hibisco também é utilizado na indústria alimentícia e farmacêutica. Por exemplo, na indústria farmacêutica, é utilizado para tratamentos de epilepsia, hanseníase e diabetes. O extrato do hibisco também pode ser utilizado como agente redutor e estabilizante quando presente na dieta ou aplicado em alimentos e fármacos (DINESH; PRAMOD; CHAKMA, 2020; TRIVELLINI *et al.*, 2014).

Além disso, na indústria de alimentos, o hibisco é utilizado como corante natural. O extrato de hibisco já é empregado em alimentos e bebidas como corante e aromatizante (TRIVELLINI *et al.*, 2014; VANKAR; SHUKLA, 2011). O potencial do corante obtido do extrato da flor do *Hibiscus rosa-sinensis* não foi totalmente explorado mesmo apresentando alto teor de antocianinas e disponibilidade de flores da espécie durante o ano todo (PASCUAL *et al.*, 2017).

“Os principais compostos responsáveis pelo padrão de coloração heterogêneo característico das flores do hibisco em cultivares vermelhas são as antocianinas, acumulando-se preferencialmente nos cálices. Mais especificamente, as principais antocianinas descritas em *Hibiscus spp.* são derivados de delphinidina e cianidina glicosilados com várias frações de açúcar e ocasionalmente acilados com ácidos orgânicos e outros compostos fenólicos também presentes nos órgãos florais” (TRIVELLINI *et al.*, 2014, p. 1).

O conteúdo das flores de hibisco apresenta vitaminas, flavonoides, ácido ascórbico, niacina, riboflavina e tiamina. Esses compostos apresentam maior eficiência e menor custo em comparação aos suplementos sintéticos, com função de proteção do corpo contra danos

oxidativos decorrentes do acúmulo de radicais livres no organismo humano (PASCUAL *et al.*, 2017; SILVA; WIEST; CARVALHO, 2016). Os autores Silva, Wiest e Carvalho (2016), apresentaram dados sobre o percentual médio da composição centesimal, pectina e valor calórico total das flores do hibisco vermelho (*Hibiscus rosa-sinensis*), com valores expressos em base seca (b. s.) e úmida (b. u.), e também a média dos compostos fitoquímicos da espécie de *Hibiscus rosa-sinensis*. Dentre os compostos fitoquímicos, o conteúdo de antocianinas foi de 85,17 mg/100g.

É fundamental que a antocianina em estudo seja identificada para avaliar o potencial corante da planta utilizada, bem como a aplicabilidade e sua influência na aceitação do consumidor e na agregação de valor ao produto (MARÇO; POPPI, 2008). Durante o processo de degradação ocorrem mudanças químicas que afetam não só a cor como também alteram as atividades biológicas de alimentos enriquecidos com antocianinas. A estabilidade também está ligada a estrutura das antocianinas (CHIEN *et al.*, 2019).

2.2 Antocianinas

Dentro do grupo dos flavonoides, os compostos fenólicos conhecidos como antocianinas representam os pigmentos vegetais que são utilizados como corantes naturais hidrossolúveis com potencial para obtenção de alimentos funcionais, com atividade antioxidante que ajuda, por exemplo, na prevenção de doenças neurais e cardiovasculares, câncer e diabetes. As antocianinas são uma classe de polifenóis que podem ser encontradas em frutas macias ricas em antioxidante, flores e em certos vegetais. A atividade antioxidante de compostos fenólicos, como a antocianina, é devida as suas propriedades inibitórias que permitem a ação como redutores e doadores de hidrogênio. É estimado que o consumo diário de antocianinas é de 200 mg/dia, sendo similar ao de antioxidantes mais conhecidos. Porém, as antocianinas, assim como outros corantes naturais obtidos de plantas, são instáveis e susceptíveis a degradação devido à sensibilidade quanto a luz, oxigênio, água, entre outros (ALIZADEH; FATTAHI, 2021; DUTHIE *et al.*, 2005; JUSOH *et al.*, 2018; PÉREZ-OROZCO *et al.*, 2019; ROSA, 2017).

A palavra antocianina deriva da palavra grega *anthoskianos*, que significa “flor azul” (anthos = flores; kianos = azul), porém com o tempo foi percebido, observando as diferentes colorações em flores, frutos, folhas, caules e raízes, que os compostos bioativos responsáveis pela pigmentação tinham estruturas químicas similares, sendo todos estes compostos

denominados de antocianinas. Os corantes naturais hidrossolúveis obtidos pelas antocianinas variam de cor entre laranja, rosa, vermelho, violeta e azul nas flores e frutos das plantas. O teor de antocianinas contidas nos vegetais é determinado através de atividades biosintéticas, estabilidade dos compostos em vacúolos e processos de degradação. A síntese de antocianinas ocorre no lado citoplasmático do retículo endoplasmático e transportadas para os vacúolos para armazenamento. As antocianinas, por serem membros dos metabólitos secundários das plantas, apresentam diversas funções biológicas, sendo elas sinalização visual para insetos polinizadores, proteção contra diferentes tipos de estresses, atividade hormonal, etc. Por isso, as antocianinas são consideradas eficientes compostos bioativos, além de pigmentos naturais e inócuos encontrados nos alimentos de origem vegetal. Em faixas de pH entre 1,5 e 3, as antocianinas são estáveis. A coloração em pH 1 está entre vermelho e roxo. Em pH entre 2 e 4, ocorre a coloração azul e em pH entre 5 e 6, colorações menos intensas. Acima do pH 7 as antocianinas são degradadas, produzindo coloração de tons amarronzados (MARÇO; POPPI, 2008; ROSA, 2017; TRIVELLINI *et al.*, 2014; VANKAR; SHUKLA, 2011; XIE *et al.*, 2021).

As antocianinas são glicosídeos compostos por açúcares e agliconas, denominadas antocianidinas. Estas por sua vez não possuem grupos glicosídicos e possuem, em sua maioria, hidroxilas nas posições 3, 5 e 7. As antocianinas são pigmentos mais solúveis e estáveis que as antocianidinas devido ao açúcar presente em suas moléculas. Estão presentes nos alimentos as antocianidinas: cianidina, delphinidina, perlagonidina, peonidina, petunidina e malvidina. Essas antocianidinas diferem entre si pelo número de hidroxilas na molécula, grau de metilação, quantidade e posição de açúcares ligados à molécula, natureza e número de ácidos alifáticos e/ou aromáticos ligados a estes açúcares. São estruturalmente constituídas pela presença de 15 átomos de carbono na forma C6–C3–C6 e absorvem fortemente a região do espectro, podendo produzir diversas colorações. A figura abaixo (FIGURA 1) apresenta a estrutura das antocianinas e a tabela (TABELA 1) apresenta algumas das antocianinas encontradas nos vegetais (BENVENUTI; BRIGHENTI; PELLATI, 2018; MARÇO; POPPI, 2008; ROSA, 2017).

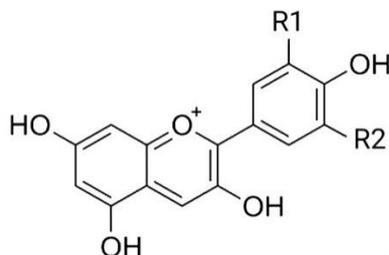
Tabela 1 - Algumas antocianidinas encontradas em partes de vegetais

| Antocianidinas | Grupo em R1 | Grupo em R2 |
|-----------------------|--------------------|--------------------|
| Cianidina | OH | H |
| Pelargonidina | H | H |
| Malvidina | OCH ₃ | OCH ₃ |
| Petunidina | OH | OCH ₃ |

| | | |
|-------------|------------------|----|
| Peonidina | OCH ₃ | H |
| Delfinidina | OH | OH |

Fonte: adaptado de Rosa (2017).

Figura 1 - Estrutura química de algumas antocianidinas comuns em vegetais.



Fonte: Do autor, 2022.

Além da utilização de antocianinas como corantes naturais, a capacidade antioxidante é relevante pois exerce papel na prevenção de doenças neuronais e cardiovasculares, câncer, diabetes e também previnem o envelhecimento precoce. Desta forma, devido sua redução no estresse oxidativo, as antocianinas evitam ou desaceleram a oxidação de substratos, mantendo a integridade das células e reparando lesões causadas por radicais livres. Assim, as antocianinas presentes nos extratos de flores, frutos, caules e raízes são ótimos agentes redutores. Além disso, devido a conferência de coloração e ação antioxidante, as antocianinas são consideradas compostos de interesse para indústria de alimentos e fármacos pelo potencial nutracêutico e sensorial (ARCHANA *et al.*, 2021; SILVA, ANALÚ BARBOSA DA; WIEST; CARVALHO, 2016; TRIVELLINI *et al.*, 2014; VANKAR; SHUKLA, 2011).

Estes compostos são degradados facilmente devido sua instabilidade e solubilidade em água. Segundo Xie *et al.* (2021), diversos estudos concluíram que o conteúdo de antocianinas decai de acordo com a degradação em resposta a mudanças ambientais e de desenvolvimento. O contato direto das antocianinas com a luz acelera a degradação. Enzimas endógenas também podem degradar as antocianinas gerando coloração amarronzada (ROSA, 2017). Os estudos atuais procuram solucionar problemas associados ao isolamento e estabilidade das antocianinas, a purificação, identificação e usos finais, pois existe interesse em diversas áreas sobre o grande potencial como fármaco, aditivo alimentar e como produto químico (MARÇO; POPPI, 2008; VANKAR; SHUKLA, 2011).

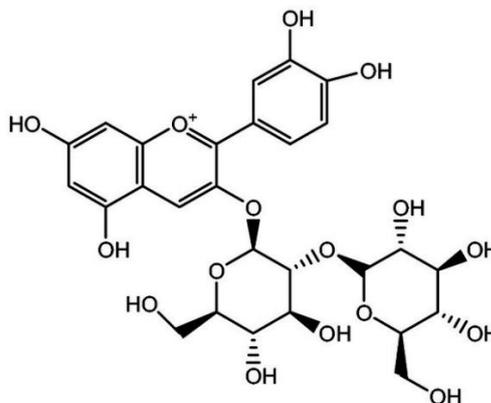
Assim, as antocianinas atraem atenção crescente como agentes eficientes contra o estresse oxidativo e corante alimentar natural. Contudo, o uso das antocianinas como corante natural e/ou antioxidante apesar de estimulado, ainda é limitado pelo rápido processo de degradação devido à instabilidade e também às baixas porcentagens de extração. A degradação das antocianinas pode envolver também degradação enzimática ativa ou degradação química não enzimática. Os corantes naturais derivados das antocianinas apresentam sensibilidade à luz, pH, enzimas, oxidação, variação de temperatura, entre outras condições adversas durante o armazenamento de alimentos. Desta forma, as antocianinas tem seu uso restringido por suas limitações através da disponibilidade de matéria-prima fonte de antocianinas, pelos desajustes que ocorrem durante os processos de obtenção, instabilidade e menor poder corante do que produtos sintéticos (CHIEN *et al.*, 2019; JOVANSKA *et al.*, 2022; MARÇO; POPPI, 2008; ROSA, 2017; VANKAR; SHUKLA, 2011; XIE *et al.*, 2021).

2.3 Cianidina-3- soforosídeo

A utilização do hibisco como corante natural ocorre pelo alto teor de antocianinas, em particular a antocianina de pigmentação vermelha denominada cianidina, que pode ser um substituinte de corantes sintéticos. A cianidina é a antocianina mais comum encontrada e possui cinco grupos auxocromo. O hibisco da espécie *Hibiscus rosa-sinensis* tem suas antocianinas compostas, principalmente, pela cianidina-3-soforosídeo (C₂₇H₃₁O₁₆), com massa molar de 611,2 g/mol (FIGURA 2) (ARCHANA *et al.*, 2021; JOVANSKA *et al.*, 2022; TRIVELLINI *et al.*, 2014; VANKAR; SHUKLA, 2011).

Segundo Gouvêa (2015), a cianidina-3-soforosídeo é a antocianina majoritária no perfil antociânico do hibisco vermelho, representando cerca de 84% do total de antocianinas. A framboesa, mangostão, arroz-preto e flor de erythrina são outros vegetais fonte dessa antocianina. A cianidina-3-soforosídeo atua como agente redutor e também tem potencial encapsulante orgânico (ARCHANA *et al.*, 2021). Segundo Da Silva, Wiest e Carvalho (2016), existe forte correlação entre conteúdo de fenólicos e atividade antioxidante em extratos de flores. Também, é conhecido que o efeito antioxidante isolado pode ter sinergia com outros compostos presentes no meio para potencializar a função redutora. Além disso, como informa Jovanska *et al.* (2022), é importante não confundir as espécies de hibisco vermelho (*Hibiscus rosa-sinensis*) com do hibisco *Roselle* (*Hibiscus sabdariffa*), que é a espécie comumente associada a produção de chá de hibisco, pois está apresenta como principais antocianinas a cianidina-3-sambudiósido e delfinidina-3-sambudiósido.

Figura 2 - Estrutura da cianidina-3-soforosídeo.



Fonte: ARCHANA et al., 2019.

Ademais, o extrato antociânico apresenta baixa toxicidade, podendo ser utilizado como ingrediente alimentício. Também, esse extrato apresenta compostos que estão ligados na copigmentação, como a rutina, ácido gálico, isoquercetina, kaempferol, quercetina, podendo servir como estabilizantes de antocianinas contra possíveis degradações e/ou mantendo a coloração mais estável do extrato de antocianinas da espécie *Hibiscus rosa-sinensis* (IFTIKHAR *et al.*, 2022; JOVANSKA *et al.*, 2022).

Segundo os autores Vastrad e Byadgi (2018) e Archana *et al.* (2021), os principais fitoquímicos presentes no *Hibiscus rosa-sinensis* são o ácido pentanóico, 2- (amino oxi)- (78,47%), tetradecano, 1-cloro- (7,21%), ácido metano carbotiólico (7,16%) e ácido metoxiacético, pentil éster (7,14%). Estes fitoquímicos são utilizados como fármacos para promover atividade anti-fertilidade, antioxidante, antimicrobiana, antimutagênica, anti-inflamatória, anticancerígena, hepatoprotetora, diurética, antiasmática, analgésica, antitérmica, propriedades antitumor, etc. É por estes fitoquímicos que o hibisco vermelho apresenta valor medicinal.

A fim de desenvolver corantes naturais a partir das antocianinas do hibisco vermelho, é importante avaliar técnicas de manutenção da estabilidade e proteção das antocianinas, conseqüentemente, garantindo que corantes naturais obtidos com extrato de hibisco não sejam instáveis durante armazenamento (FEKETEA; TSABOURI, 2017; JUSOH *et al.*, 2018). Em complemento, a incorporação de compostos antioxidantes em alimentos apresenta algumas

desvantagens quando diretamente aplicados devido à baixa estabilidade, a interação com a matriz dos componentes alimentícios e o sabor desagradável (TULINI *et al.*, 2017). Além disso, o uso de corantes naturais na indústria de alimentos tem aumentado o questionamento sobre os efeitos tóxicos dos corantes sintéticos, fortalecendo o consumo consciente em busca de dietas saudáveis, que promovem a saúde humana (PÉREZ-OROZCO *et al.*, 2019).

2.4 Encapsulação

Uma maneira de garantir a proteção e estabilidade das antocianinas é através do processo de encapsulação de compostos bioativos. Encapsulação é um processo físico-químico ou mecânico onde uma substância é recoberta de outro material (material de parede), formando partículas que variam de tamanho em escala milimétrica ou nanométrica (YANG *et al.*, 2020). As técnicas de encapsulação são separadas em três grupos: (1) métodos físicos: *spray-drying*, *spray chilling*, liofilização, precipitação de fluido supercrítico e evaporação de solventes; (2) métodos físico-químicos: coacervação, gelificação de lipossomas e íons; (3) métodos químicos: polimerização interfacial e complexação molecular (OZKAN *et al.*, 2019). A técnica de encapsulação também pode proteger os compostos bioativos encapsulados das alterações de condições do trato gastrointestinal liberando os compostos dentro do intestino para absorção pelo sistema circulatório (TULINI *et al.*, 2017).

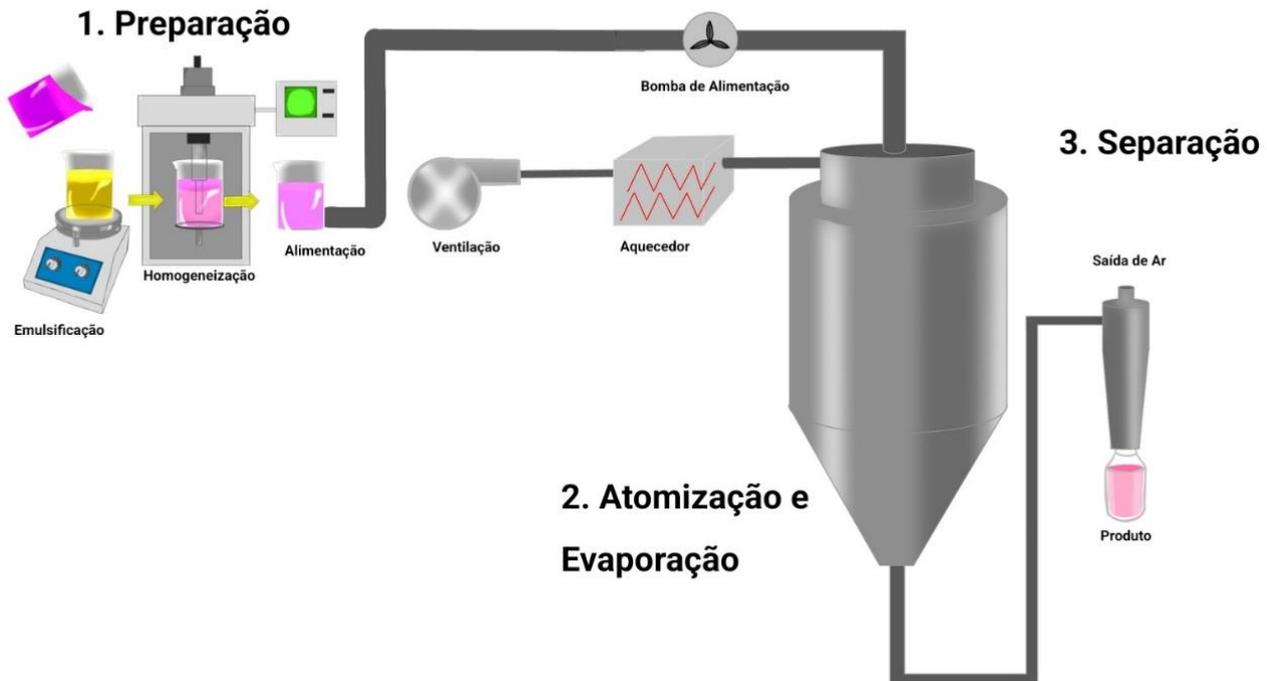
O desenvolvimento da produção de cápsulas necessita de poucos equipamentos, custo reduzido de produção e o processo é ambientalmente consciente. Os produtos da encapsulação, ou seja, as cápsulas, são amplamente utilizadas no setor farmacêutico e são recomendadas para a indústria alimentícia por proporcionar benefícios como o aumento da estabilidade térmica, proteção de bioativos, favorecimento da liberação controlada, proteção de odores indesejáveis, melhora a textura e evita a contaminação cruzada (ALEMZADEH *et al.*, 2020; YANG *et al.*, 2020). Para o uso na indústria de alimentos os materiais usados como materiais de parede e o composto bioativo devem ser verificados garantindo os padrões de segurança alimentar e qualidade nutricional.

2.5 *Spray chilling*

Dentre as técnicas citadas para encapsulação, a técnica *spray chilling* tem se destacado por ser promissora na estabilização de compostos bioativos em matrizes lipídicas. A técnica consiste na atomização de soluções/ emulsões/ dispersões em baixas temperaturas contendo a

substância de interesse e o material de parede. Sob condições controladas de atomização, ocorre a solidificação formando partículas esféricas (MAZZOCATO; THOMAZINI; FAVARO-TRINDADE, 2019).

Figura 3 - Etapas para a produção das micropartículas lipídicas.



Fonte: Do autor, 2022.

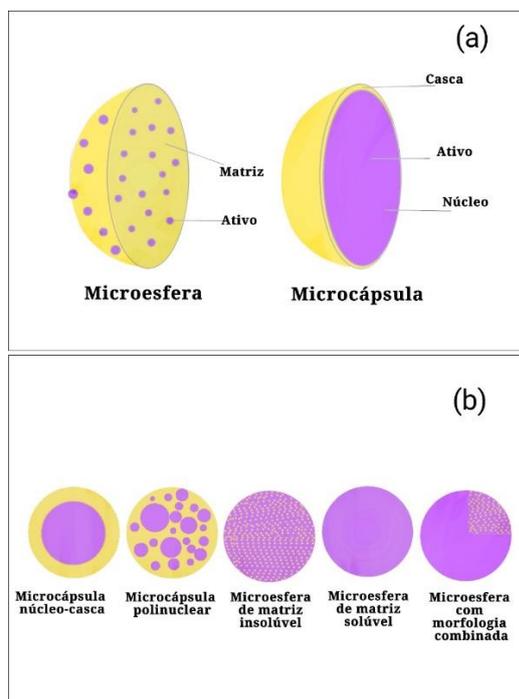
Esse processo usa gordura vegetal previamente derretida como material de parede. O composto ativo é adicionado ao carreador seguido de homogeneização mecânica. Com a mistura pronta, ocorre a atomização em câmara de resfriamento produzindo micropartículas contendo compostos bioativos em toda sua estrutura. O equipamento *spray chiller* pode ser visualizado na Figura 3.

Micropartícula é o nome generalizado para denominar qualquer partícula sólida com tamanho entre 1 e 1000 μm , podendo ser classificadas como microcápsulas (sistema de reservatório) ou microesferas (sistemas matriciais) (NORDSTIERNA *et al.*, 2010). processo pelo *spray chiller*, as micropartículas produzidas são microesferas (Figura 4a). No sistema matricial da microesfera, o material ativo fica homogeneamente disperso, dissolvido ou suspenso homogeneamente. Já as microcápsulas, obtidas no *spray dryer* são partículas heterogêneas com membrana envolvendo o material ativo, formando um reservatório (LENGYEL *et al.*, 2019).

Dessa forma, a técnica *spray chilling* se tornou uma estratégia promissora para estabilização e proteção de compostos sensíveis em matrizes lipídicas. Sob condições de operação de atomização controlada, o material de parede solidifica instantaneamente formando microesferas, que podem ser solúveis, insolúveis ou de morfologia combinada (FIGURA 4b). A técnica de *spray chilling* forma uma parede lipídica que age como uma barreira protegendo a mistura (CUTRIM; ALVIM; CORTEZ, 2019; TULINI *et al.*, 2017). Os componentes encapsulados podem ser chamados de diferentes maneiras como agente ativo, material base, núcleo, preenchimento e fase interna. Já os componentes encapsulantes podem ser chamados de material de parede, cobertura, veículo, membrana e casca.

No *spray chiller* existe a vantagem de não usar solventes orgânicos e ser desenvolvidas em temperaturas mais brandas, que são fatores importantes para evitar a degradação dos compostos bioativos. Dessa forma, essa técnica é muito empregada na estabilização de ingredientes funcionais e por ser uma técnica de baixo custo operacional. Em adição, as partículas produzidas no *spray-chiller* têm potencial de mercado para produtos de confeitaria e misturas secas para sopa (TULINI *et al.*, 2017; YIN; CADWALLADER, 2018).

Figura 4 - Morfologia das microesferas e microcápsulas (a) Recorte de uma microesfera e uma microcápsula; (b) Diferentes morfologias de microcápsulas e microesferas.



Fonte: Adaptado de Figueiredo *et al.*, 2022.

Os materiais de parede utilizados na técnica *spray chilling* são de base lipídica devido o poder de solidificação em baixas temperaturas. Alinhando ao extrato de hibisco e produção desejada, as partículas a base de lipídios produzidas serão desenvolvidas em escala micrométrica e serão partículas lipídicas microestruturadas (PLM). As PLM são fabricadas a partir de emulsões água em óleo (A/O) com temperaturas acima do ponto de fusão da mistura lipídica e que resfriem induzindo a cristalização. O uso das MLS favorece a retenção e proteção de compostos bioativos, também favorecendo a liberação controlada de bioativos (ALEMZADEH *et al.*, 2020; MCCLEMENTS, 2020). Com o uso da mistura lipídica ocorre o polimorfismo, favorecendo na estabilidade do material de parede e com isso a estabilidade e proteção do composto bioativo.

2.5.1 Lipídios

A classe dos lipídios contém em sua estrutura hidrocarbonetos alifáticos de cadeia longa e seus derivados. Os lipídios são compostos insolúveis em água, mas solúveis em solventes orgânicos. Esses compostos podem conferir brilho, sabor, dureza ou suavidade, lubrificação, espalhabilidade, textura, saciedade, reologia e também função nutricional nos alimentos. Amplamente empregados em confeitaria, manteiga/pastas, sorvetes, entre outras, sendo muito estudados para seu uso como material de parede na microencapsulação por *spray chilling*. Os materiais lipídicos se dividem em hidrocarbonetos, ácidos graxos, acilgliceróis, esteróis e ésteres de esteróis, ceras, fosfolipídios, plasmalogênios, esfingolipídios, terpenos, entre outros (BAYÉS-GARCÍA *et al.*, 2015; CONSOLI *et al.*, 2016a; ORIANI *et al.*, 2018; SATÖ, 2018).

A divisão mais estudada sobre lipídios é entre óleos e gorduras, que indica se o estado físico dos lipídios é líquido ou sólido, respectivamente, a temperatura ambiente. Os triacilgliceróis (TAG) são as estruturas lipídicas, compostas por três moléculas de ácidos graxos e uma molécula de glicerol e representam 98% da composição dos lipídios. Assim, são responsáveis pela definição do comportamento térmico e polimórfico, agindo sobre a estabilidade, estrutura e características sensoriais dos lipídios (CARVALHO *et al.*, 2019; CONSOLI *et al.*, 2016; PROCOPIO *et al.*, 2018).

Os ácidos graxos (AG) que compõem os lipídios podem ser saturados ou insaturados. Os AG saturados apresentam apenas ligações simples. Os AG insaturados apresentam uma ou mais duplas ligações. O ponto de fusão do TAG depende do tamanho da cadeia carbônica, ramificação e grau de insaturação dos AG que constituem o sistema e suas posições na molécula

de glicerol. Devido a linearidade da cadeia dos AG saturados, os TAG são melhor empacotados, aumentando as interações moleculares e, conseqüentemente, apresentam ponto de fusão elevado, sendo sólidos em temperatura ambiente. AG insaturados, por sua vez, apresentam baixo ponto de fusão e se encontram em estado líquido à temperatura ambiente. A funcionalidade dos lipídios e a cristalização são influenciadas pelo estado físico em que os lipídios estão quando processados (CARVALHO *et al.*, 2019; CONSOLI *et al.*, 2016; SATÖ, 2018).

Misturas lipídicas apresentam diversos pontos de fusão, de forma a fusão dos lipídios presentes ocorra na ordem crescente de temperatura de fusão das estruturas presentes. Por essa variedade de características, é necessário compreender o comportamento térmico e as propriedades físicas dos lipídios utilizados. Na microencapsulação por *spray chilling* as características físico-químicas dos lipídios utilizados influenciam nas micropartículas formadas e na liberação do ativo. As micropartículas formadas devem ser dispersas, estáveis após atomização e com forma polimórfica estável para que ocorra encapsulação eficaz e retenção do ativo nas micropartículas durante o armazenamento (ORIANI *et al.*, 2018; SATÖ, 2018).

2.5.2 Cristalização e Polimorfismo

A cristalização e hábito polimórfico constituem discussão importante sobre as propriedades físicas dos lipídios nos alimentos. As propriedades físico-químicas e a cristalização dos lipídios são de complicado entendimento, mas podem ser delineadas através do estudo do comportamento térmico e pelos AG presentes, que podem ser determinados pelo polimorfismo (BAYÉS-GARCÍA *et al.*, 2015).

Lipídios submetidos processos térmicos com temperaturas abaixo do seu ponto de fusão formam cristais. Dentre os fatores que influenciam a cristalização de lipídios, os principais são a taxa de resfriamento e a temperatura de cristalização que o lipídio se submete a partir do seu estado líquido. Esse processo interfere nas propriedades físico-químicas e sensoriais, podendo apresentar variações nas estruturas cristalinas formadas (CARVALHO *et al.*, 2019; PROCOPIO *et al.*, 2018).

O processo de cristalização é exotérmico, pois a energia é liberada quando as moléculas se agrupam e ocorre redução da intensidade das interações moleculares. A cristalização ocorre em duas etapas: formação do núcleo e crescimento de cristais. A partir da colisão entre moléculas agrupadas (*clusters*) ocorre interações moleculares que as ligam formando um

pequeno cristal (núcleo). Através de colisões entre cristal e novas moléculas, acontece o crescimento do cristal. Estes processos podem ocorrer ao mesmo tempo (CARVALHO *et al.*, 2019; ORIANI *et al.*, 2018).

A especificidade dos cristais formados pelo lipídio ou mistura lipídica se relaciona com o comportamento polimórfico e/ou às interações moleculares. O polimorfismo é a aptidão de um composto de rearranjo em diferentes estruturas cristalinas. A maioria dos lipídios têm diferentes estruturas cristalinas sob diferentes condições térmicas ao qual são submetidos. As formas polimórficas α , β e β' são típicas encontradas em lipídios (ORIANI *et al.*, 2018; PROCOPIO *et al.*, 2018; SATÖ, 2018).

Transformações polimórficas podem ocorrer durante o processo de cristalização e também após a finalização. A velocidade dessas transformações depende do grau de homogeneidade dos TAG, ou seja, quanto menor a variedade de TAG, mais rápida é a transformação para formas mais estáveis. A formulação, velocidade de resfriamento e o calor de cristalização são fatores que definem o número de cristais formados e suas formas polimórficas. Como no *spray chilling* é aconselhável a utilização de lipídios de diferentes composições moleculares como material de parede, para melhor encapsulação e retenção de ativo durante produção e armazenamento, diferentes formas polimórficas podem coexistir (CARVALHO *et al.*, 2019; SATÖ, 2018).

2.5.3 Material de parede

O material de parede selecionado depende do ativo a ser encapsulado, pois se o ativo for sensível a altas temperaturas, o ideal é escolher lipídeos que apresentem ponto de fusão que não interfira nas propriedades do material encapsulado, sendo capaz de protegê-lo contra o ambiente externo (BERTONI; ALBERTINI; PASSERINI, 2019). O material de parede protege o núcleo de variações de temperatura, oxigênio e umidade durante processamento e armazenamento. Ele protege o núcleo pelo trato gastrointestinal e as variações de pH, liberando a substância para ser absorvida no intestino delgado (YANG *et al.*, 2020).

Diversos materiais podem ser utilizados para o preparo de microcápsulas (*spray drying*) e microesferas (*spray chilling*), incluindo polissacarídeos, proteínas, lipídios e outras fontes naturais (YANG *et al.*, 2020). Para a técnica de *spray chilling*, os materiais de parede são os lipídios. Para a obtenção das micropartículas lipídicas sólidas por *spray chilling* é necessário que, inicialmente, ocorra a fusão do lipídeo, formando as partículas por atomização, seguida de

resfriamento para fixação da forma das micropartículas. Para facilitar proporcionar o aprisionamento do material encapsulado, é realizada mistura de óleo de palma totalmente hidrogenado e manteiga de cacau.

O óleo de palma (OP) é um produto obtido da palma ou dendezeiro, que é constituído de ácido palmítico e oleico, principalmente. O ponto de fusão do OP varia na faixa de 32 a 40 °C. Para maiores pontos de fusão em óleos vegetais, é realizada a hidrogenação. Esse processo aumenta a estabilidade, reduz as insaturações e mantém a fluidez do óleo líquido. Com a hidrogenação catalítica total, óleos líquidos podem se transformar em gorduras saturadas. Através da adição de átomos hidrogênio no OP, grupos funcionais insaturados (ácidos oleico, linoleico e linolênico) são convertidos em ácidos saturados (ácido palmítico e esteárico). A transformação ocorrida no óleo de palma (OP) dá origem ao óleo de palma totalmente hidrogenado (OPTH) de ponto de fusão entre 55 e 61 °C (O'BRIEN, 2009; PROCOPIO *et al.*, 2018).

A manteiga de cacau (MC) é caracterizada, predominantemente, por três ácidos graxos principais: palmítico (C16:0), esteárico (C18:0) e oleico (C18:1), que correspondem a três triacilgliceróis (TAG): glicerol-1, 3-dipalmitato-2-oleato, glicerol-1-palmitato-2-oleato-3-estearato e glicerol-1,3-diestearato-2-oleato. As características de fusão, comportamento térmico e polimórfico da MC é definido pelos TAG. A MC é tem cerca de 70% do conteúdo de gordura sólida a 20°C e se funde entre 30 e 35 °C. A MC tem formas polimórficas complexas, sendo relatadas seis diferentes formas polimórficas com diferentes pontos de fusão (PF): γ com PF em 14 °C e *short spacing* (SS) em 4,18 Å; α com PF em 20 °C e SS 4,20 Å; β' com PF a 22 °C e SS 4,20 Å; β' com PF 24 °C e SS em 3,13 e 4,32 Å; β com PF em 30 °C e SS 4,58 Å; e β com PF em 32 °C e SS 4,59 Å. No Brasil, a MC tem maciez superior às MC encontradas na África e Malásia devido ao baixo conteúdo de TAG monoinsaturados e conteúdo alto de TAG di-insaturados. Com isso, a MC brasileira tem menor resistência ao calor (BISWAS *et al.*, 2018; LE RÉVÉREND *et al.*, 2010; MIYASAKI *et al.*, 2016).

Para o processo de microencapsulação, a utilização de apenas um lipídio, líquido ou sólido), como material de parede produz micropartículas ineficazes. Se somente um lipídio líquido for utilizado para microencapsulação, as micropartículas terão aspecto arenoso com lipídios parcialmente secos formando aglomerações. Se somente um lipídio sólido for utilizado para microencapsulação, as micropartículas apresentarão cadeias aproximadas devido à falta de insaturações, com estrutura mais compacta, densa e ordenada, reduzindo o espaço disponível para o composto encapsulado. Nos dois casos a retenção do composto nas micropartículas vai

ser baixa e/ou a liberação vai ser antecipada. A mistura de dois lipídios com diferentes moléculas forma uma matriz lipídica sólida menos ordenada, favorecendo a retenção do material encapsulado dentro da micropartícula (ORIANI *et al.*, 2018; PROCOPIO *et al.*, 2018). Assim, a adição de um outro material lipídico para a formação de micropartículas potencializa a incorporação do composto bioativo no interior da micropartícula, bem como retarda a difusão dos compostos hidrofílicos.

Para a obtenção das micropartículas lipídicas sólidas por *spray chilling* é necessário que, inicialmente, ocorra a fusão do lipídeo, formando as partículas por atomização, seguida de resfriamento para fixação da forma das micropartículas. Para facilitar proporcionar o aprisionamento do material encapsulado, é realizada mistura de óleo de palma totalmente hidrogenado (OPTH) e manteiga de cacau (MC). A escolha dos materiais de parede é feita pela boa aceitabilidade da manteiga de cacau e óleo de palma totalmente hidrogenado em produtos alimentícios, além de serem matérias primas de alta demanda de mercado.

3 CONSIDERAÇÕES GERAIS

O hibisco vermelho da espécie *Hibiscus rosa-sinensis* é uma PANC e, apesar de sua adaptação em território brasileiro e de florescer durante o ano, o tempo de aproveitamento de seus compostos nutricionais é de até 2 dias. Dentre os compostos bioativos do hibisco vermelho, as antocianinas despertam interesse por ter potencial como corante natural, ter capacidade antioxidante e enriquecer nutricionalmente produtos alimentícios e fármacos. Contudo, as antocianinas são instáveis após sua extração de fontes vegetais. A microencapsulação é uma técnica considerada eficiente na estabilização de antocianinas e dentre as formas de encapsular um ativo, o *spray chilling* vem se destacando como tecnologia emergente com aplicação de temperaturas de processamento mais baixas. Muitos estudos asseguram a eficácia da microencapsulação de antocianinas por *spray chilling*, pois a técnica garante boa retenção dos compostos nas micropartículas, aumentando a estabilidade durante o armazenamento, bem como reduz a taxa de degradação das antocianinas. Além disso, a técnica garante a liberação controlada das antocianinas no intestino delgado, órgão onde os compostos bioativos são absorvidos no organismo humano, reduzindo o estresse oxidativo pela capacidade antioxidante das antocianinas. O uso das micropartículas de antocianinas de extrato de hibisco vermelho é uma alternativa viável na substituição de corantes sintéticos ou de origem animal, bem como podem agregar valor nutricional em produtos alimentícios ou fármacos.

REFERÊNCIAS

- ALEMZADEH, I. *et al.* **Encapsulation of food components and bioactive ingredients and targeted release.** *International Journal of Engineering, Transactions A: Basics*, v. 33, n. 1, p. 1–11, 2020. Acesso em: 12 ago. 2021
- ALIZADEH, Zeinab; FATTAHI, Mohammad. **Essential oil, total phenolic, flavonoids, anthocyanins, carotenoids and antioxidant activity of cultivated Damask Rose (*Rosa damascena*) from Iran: With chemotyping approach concerning morphology and composition.** *Scientia Horticulturae*, v. 288, n. December 2020, p. 110341, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110341>>. Acesso em: 15 ago. 2021
- ARCHANA, K. M. *et al.* **Application of green synthesised copper iodide particles on cotton fabric-protective face mask material against COVID-19 pandemic.** *Journal of Materials Research and Technology*, v. 15, p. 2102–2116, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jmrt.2021.09.020>>. Acesso em: 10 fev. 2022
- BAYÉS-GARCÍA, Laura *et al.* **Lipid crystallization kinetics-roles of external factors influencing functionality of end products.** *Current Opinion in Food Science*, v. 4, p. 32–38, 2015. Acesso em: 16 mar. 2022
- BENVENUTI, Stefania; BRIGHENTI, Virginia; PELLATI, Federica. **High-performance liquid chromatography for the analytical characterization of anthocyanins in *Vaccinium myrtillus* L. (bilberry) fruit and food products.** *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, v. 410, n. 15, p. 3559–3571, 2018. Acesso em: 12 jan. 2022
- BERTONI, Serena; ALBERTINI, Beatrice; PASSERINI, Nadia. **Spray congealing: An emerging technology to prepare solid dispersions with enhanced oral bioavailability of poorly water soluble drugs.** *Molecules*, v. 24, n. 19, p. 1–21, 2019. Acesso em: 11 jul. 2022
- BHAT, Rajeev; ALIAS, Abd Karim; PALIYATH, Gopinadhan. **Progress in Food Preservation.** [S.l.: s.n.], 2012. Acesso em: 07 mai. 2022
- BISWAS, Nirupam *et al.* **Physicochemical Properties of Enzymatically Produced Palm-Oil-Based Cocoa Butter Substitute (CBS) With Cocoa Butter Mixture.** *European Journal of Lipid Science and Technology*, v. 120, n. 3, p. 1–9, 2018. Acesso em: 07 mai. 2022
- BRESSON, S. *et al.* **Comparative structural and vibrational investigations between cocoa butter (CB) and cocoa butter equivalent (CBE) by ESI/MALDI-HRMS, XRD, DSC, MIR and Raman spectroscopy.** *Food Chemistry*, v. 363, n. January, p. 130319, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130319>>. Acesso em: 07 mai. 2022
- BUARKI, F. *et al.* **Green Synthesis of Iron Oxide Nanoparticles Using *Hibiscus rosa sinensis* Flowers and Their Antibacterial Activity.** *Journal of Nanotechnology*, v. 2022, p. 1–6, 2022. Acesso em: 07 abr. 2022
- CALLIGARIS, Guilherme A. *et al.* **On the quantitative phase analysis and amorphous content of triacylglycerols materials by X-ray Rietveld method.** *Chemistry and Physics of Lipids*, v. 212, n. January, p. 51–60, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.chemphyslip.2018.01.003>>. Acesso em: 06 abr. 2022
- CAMPELO-FELIX, Pedro Henrique *et al.* **Prebiotic carbohydrates: Effect on reconstitution, storage, release, and antioxidant properties of lime essential oil microparticles.** *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 65, n. 2, p. 445–453, 2017. Acesso em: 03 jun. 2022

CARMO, Eloá Lourenço *et al.* **Co-encapsulation of anthocyanins extracted from grape skins (*Vitis vinifera* var. Syrah) and α -tocopherol via spray drying.** *Journal of Food Processing and Preservation*, v. 45, n. 12, p. 1–11, 2021. Acesso em: 03 jun. 2022

CARVALHO, Juliana Domingues dos Santos *et al.* **Characterization of ascorbic acid microencapsulated by the spray chilling technique using palm oil and fully hydrogenated palm oil.** *Lwt*, v. 101, n. March 2018, p. 306–314, 2019a. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.11.043>>. Acesso em: 03 jun. 2022

CARVALHO, Juliana Domingues dos Santos *et al.* **Characterization of ascorbic acid microencapsulated by the spray chilling technique using palm oil and fully hydrogenated palm oil.** *LWT*, v. 101, n. March 2018, p. 306–314, mar. 2019b. Acesso em: 04 jun. 2022

CARVALHO, Luciedry Matheus Souza *et al.* **Improvement of the bioaccessibility of bioactive compounds from Amazon fruits treated using high energy ultrasound.** *Ultrasonics Sonochemistry*, v. 67, n. March, p. 105148, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105148>>. Acesso em: 13 mar. 2022

CHEN, Jin yu *et al.* **Degradation kinetics and pathways of red raspberry anthocyanins in model and juice systems and their correlation with color and antioxidant changes during storage.** *Lwt*, v. 128, n. April, p. 109448, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109448>>. Acesso em: 08 ago. 2022

CHIEN, Shih Yung *et al.* **Combination Effect of High-Pressure Processing and Essential Oil (*Melissa officinalis* Extracts) or Their Constituents for the Inactivation of *Escherichia coli* in Ground Beef.** *Food and Bioprocess Technology*, v. 12, n. 3, p. 359–370, 2019. Acesso em: 02 jan. 2022

CONSOLI, Larissa *et al.* **Gallic acid microparticles produced by spray chilling technique: Production and characterization.** *LWT - Food Science and Technology*, v. 65, p. 79–87, 2016a. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2015.07.052>>. Acesso em: 07 set. 2022

CSERHALMI, Zs *et al.* **Study of pulsed electric field treated citrus juices.** *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, v. 7, n. 1–2, p. 49–54, 2006. Acesso em: 07 set. 2022

CUTRIM, Camila Sampaio *et al.* **Microencapsulation of green tea polyphenols by ionic gelation and spray chilling methods.** *Journal of Food Science and Technology*, v. 56, n. 8, p. 3561–3570, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s13197-019-03908-1>>. Acesso em: 07 out. 2022

DA SILVA, Gisláine Correa *et al.* **Towards the cosmetic application of *passiflora coccinea* (Aubl.): Antioxidant activity and photo protective capacity of the methanolic and glycolic leaf extracts.** *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 56, p. 1–13, 2020. Acesso em: 13 set. 2022

DECLERCK, Arnout *et al.* **Characterisation of fat crystal polymorphism in cocoa butter by time-domain nmr and dsc deconvolution.** *Foods*, v. 10, n. 3, p. 1–18, 2021. Acesso em: 14 mar. 2022

DINESH, G. Kumaravel; PRAMOD, Malavika; CHAKMA, Sankar. **Sonochemical synthesis of amphoteric Cu0-Nanoparticles using *Hibiscus rosa-sinensis* extract and their applications for degradation of 5-fluorouracil and lovastatin drugs.** *Journal of Hazardous Materials*, v. 399, n. April, p. 123035, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123035>>. Acesso em: 10 mar. 2022

DO CARMO, Eloá Lourenço *et al.* **Co-encapsulation of anthocyanins extracted from grape skins (*Vitis vinifera* var. Syrah) and α -tocopherol via spray drying.** *Journal of Food Processing and Preservation*, v. 45, n. 12, p. 1–11, 2021. Acesso em: 18 fev. 2022

DUTHIE, Susan J. *et al.* **DNA stability and lipid peroxidation in vitamin E-deficient rats in vivo and colon cells in vitro: Modulation by the dietary anthocyanin, cyanidin-3-glycoside.** *European Journal of Nutrition*, v. 44, n. 4, p. 195–203, 2005. Acesso em: 18 fev. 2022

ELEMIKE, Elias E.; ONWUDIWE, Damian C.; MBONU, Justina I. **Facile synthesis of cellulose–ZnO-hybrid nanocomposite using Hibiscus rosa-sinensis leaf extract and their antibacterial activities.** *Applied Nanoscience (Switzerland)*, v. 11, n. 4, p. 1349–1358, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s13204-021-01774-y>>. Acesso em: 08 jun. 2022

FEKETE, Gabriela; TSABOURI, Sophia. **Common food colorants and allergic reactions in children: Myth or reality?** [S.l.: s.n.], 2017. v. 230. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.03.043>>. Acesso em: 10 jul. 2022

FIGUEIREDO, Jayne *et al.* **Stability of camu-camu encapsulated with different prebiotic biopolymers.** *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 100, n. 8, p. 3471–3480, 2020. Acesso em: 10 jul. 2021

FIGUEIREDO, Jayne de Abreu *et al.* **Microencapsulation by spray chilling in the food industry: Opportunities, challenges, and innovations.** *Trends in Food Science and Technology*, v. 120, n. December 2021, p. 274–287, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.12.026>>. Acesso em: 11 out. 2022

FLORES, Floirendo P. *et al.* **Total phenolics content and antioxidant capacities of microencapsulated blueberry anthocyanins during in vitro digestion.** *Food Chemistry*, v. 153, p. 272–278, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.12.063>>. Acesso em: 23 ago. 2021

FONGIN, Suwalee *et al.* **Effects of water and maltodextrin on the glass transition temperature of freeze-dried mango pulp and an empirical model to predict plasticizing effect of water on dried fruits.** *Journal of Food Engineering*, v. 210, p. 91–97, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.04.025>>. Acesso em: 22 jul. 2021

GOUVÊA, Ana Cristina Miranda Senna. **Extração, isolamento e caracterização de antocianinas de fontes naturais e a sua aplicação na análise de alimentos por cromatografia líquida.** Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2015. 1576–1580 f. Acesso em: 28 jul. 2022

IFTIKHAR, Neelam *et al.* **Effects of polyphenol-rich traditional herbal teas on obesity and oxidative stress in rats fed a high-fat–sugar diet.** *Food Science and Nutrition*, v. 10, n. 3, p. 698–711, 2022. Acesso em: 11 nov. 2022

JEYARANI, T.; REDDY, S. Yella. **Heat-resistant cocoa butter extenders from mahua (*Madhuca latifolia*) and kokum (*Garcinia indica*) fats.** *JAACS, Journal of the American Oil Chemists' Society*, v. 76, n. 12, p. 1431–1436, 1999. Acesso em: 19 jul. 2021

JOSHI, B.L.; ZIELBAUER, B.I.; VILGIS, T.A. **Comparative Study on Mixing Behavior of Binary Cocoa Butter / Coconut Oil (CB / CO).** *Foods*, v. 9, p. 327, 2020. Acesso em: 14 set. 2021

JOVANSKA, Lavernchy *et al.* **Development of a PCL-PEO double network colorimetric pH sensor using electrospun fibers containing Hibiscus rosa sinensis extract and silver**

nanoparticles for food monitoring. *Food Chemistry*, v. 368, n. August 2021, p. 130813, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130813>>. Acesso em: 29 dez. 2021

JUSOH, Yanti M.M. *et al.* **Effect of solvent pH, microwave power and extraction time on microwave-assisted extraction of hibiscus rosa-sinensis.** *Chemical Engineering Transactions*, v. 63, p. 541–546, 2018. Acesso em: 15 nov. 2021

KINUPP, V. F.; LORENZI, Harri; **Plantas alimentícias não convencionais no Brasil.** [S.l.]: Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2014. Acesso em: 17 jul. 2021

KUCK, Luiza Siede; WESOLOWSKI, Júlia Lerina; NOREÑA, Caciano Pelayo Zapata. **Effect of temperature and relative humidity on stability following simulated gastro-intestinal digestion of microcapsules of Bordo grape skin phenolic extract produced with different carrier agents.** *Food Chemistry*, v. 230, p. 257–264, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.03.038>>. Acesso em: 18 jan. 2021

LE RÉVÉREND, Benjamin J.D. *et al.* **A method to qualify and quantify the crystalline state of cocoa butter in industrial chocolate.** *JAOCs, Journal of the American Oil Chemists' Society*, v. 87, n. 3, p. 239–246, 2010. Acesso em: 02 ago. 2022

LENGYEL, Miléna *et al.* **Microparticles, microspheres, and microcapsules for advanced drug delivery.** *Scientia Pharmaceutica*, v. 87, n. 3, 2019. Acesso em: 17 jul. 2021

LOPES, Julice Dutra *et al.* **Solid lipid microparticles of hardfats produced by spray cooling as promising crystallization modifiers in lipid systems.** *European Journal of Lipid Science and Technology*, v. 117, n. 11, p. 1733–1744, 2015. Acesso em: 21 set. 2021

MARÇO, Paulo Henrique; POPPI, Ronei Jesus. **Procedimentos analíticos para identificação de antocianinas presentes em extratos naturais.** v. 31, n. 5, p. 1218–1223, 2008. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/qn/a/PXt7HhKcLRN7GMSSRt4dyKP/?lang=pt>>. Acesso em: 04 out. 2022

MAZZOCATO, Marcella; THOMAZINI, Marcelo; FAVARO-TRINDADE, Carmen S. **Improving stability of vitamin B12 (Cyanocobalamin) using microencapsulation by spray chilling technique.** *Food Research International*, v. 126, n. May, p. 108663, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108663>>. Acesso em: 06 jun. 2021

MCCLEMENTS, David Julian. **Advances in nanoparticle and microparticle delivery systems for increasing the dispersibility, stability, and bioactivity of phytochemicals.** *Biotechnology Advances*, v. 38, n. May 2018, p. 107287, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.08.004>>. Acesso em: 15 abr. 2021

MELO, Filipe de Oliveira *et al.* **Desenvolvimento de balas de gelatina de morango enriquecida com extrato de hibisco (Hibiscus Sabdarifa L.).** *Brazilian Journal of Development*, v. 6, n. 7, p. 47561–47571, 2020. Acesso em: 15 abr. 2021

MENSAH-DARKWA, Kwadwo *et al.* **Dye-sensitized solar cells based on graphene oxide and natural plant dye extract.** *Materials Today: Proceedings*, v. 38, n. xxxx, p. 514–521, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.02.391>>. Acesso em: 23 abr. 2021

MINEKUS, M. *et al.* **A standardised static in vitro digestion method suitable for food-an international consensus.** *Food and Function*, v. 5, n. 6, p. 1113–1124, 2014. Acesso em: 15 abr. 2021

MIYASAKI, Eriksen Koji *et al.* **Acceleration of polymorphic transition of cocoa butter and cocoa butter equivalent by addition of d-limonene.** *European Journal of Lipid Science and*

Technology, v. 118, n. 5, p. 716–723, 2016. Acesso em: 11 abr. 2021

MÜLLER, R. H.; RADTKE, M.; WISSING, S. A. **Solid lipid nanoparticles (SLN) and nanostructured lipid carriers (NLC) in cosmetic and dermatological preparations.** *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 54, n. SUPPL., p. 131–155, 2002. Acesso em: 12 abr. 2021

MUNAJAD, Abi; SUBROTO, Cahyo; SUWARNO. **Study on the effects of thermal aging on insulating paper for high voltage transformer composite with natural ester from palm oil using fourier transform infrared spectroscopy (ftir) and energy dispersive x-ray spectroscopy (EDS).** *Energies*, v. 10, n. 11, 2017. Acesso em: 15 ago. 2021

MUTLU, Ceren; KOÇ, Andaç; ERBAŞ, Mustafa. **Some physical properties and adsorption isotherms of vacuum-dried honey powder with different carrier materials.** *Lwt*, v. 134, n. July, 2020. Acesso em: 04 jun. 2021

NOORZYANNA, Yanty *et al.* **Composition and thermal analysis of ternary mixtures of avocado fat:palm stearin:cocoa butter (Avo:PS:CB).** *International Journal of Food Properties*, v. 20, n. 2, p. 465–474, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1080/10942912.2016.1166130>>. Acesso em: 09 set. 2021

NORDSTIERNA, Lars *et al.* **Comparison of release behaviour from microcapsules and microspheres.** *Progress in Organic Coatings*, v. 69, n. 1, p. 49–51, 2010. Acesso em: 12 abr. 2022

O'BRIEN, R.D. *Fats and Oils: Formulating and Processing for Applications, Third Edition (3rd ed.)*. [S.l.: s.n.], 2009. Acesso em: 05 mai. 2021

OBAIDAT, Rana *et al.* **Development and Evaluation of Cocoa Butter Taste Masked Ibuprofen Using Supercritical Carbon Dioxide.** *AAPS PharmSciTech*, v. 22, n. 3, p. 1–13, 2021. Acesso em: 10 mai. 2022

ORIANI, Vivian Boesso *et al.* **Solid lipid microparticles produced by spray chilling technique to deliver ginger oleoresin: Structure and compound retention.** *Food Research International*, v. 80, p. 41–49, 2016. Acesso em: 15 abr. 2021

ORIANI, Vivian Boesso *et al.* **The influence of the storage temperature on the stability of lipid microparticles containing ginger oleoresin.** *Food Research International*, v. 109, n. April, p. 472–480, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.04.066>>. Acesso em: 11 abr. 2021

OZKAN, Gulay *et al.* **A review of microencapsulation methods for food antioxidants: Principles, advantages, drawbacks and applications.** *Food Chemistry*, v. 272, n. August 2018, p. 494–506, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.07.205>>. Acesso em: 15 mai. 2021

PASCUAL, Alangelico O.San *et al.* **Characterization, pollen behavior and propagation of five selected Hibiscus hybrids (Hibiscus rosa-sinensis Linn.).** *Australian Journal of Crop Science*, v. 11, n. 12, p. 1508–1519, 2017. Acesso em: 08 jan. 2022

PELLISSARI, Julio R. *et al.* **Production of solid lipid microparticles loaded with lycopene by spray chilling: Structural characteristics of particles and lycopene stability.** *Food and Bioproducts Processing*, v. 98, p. 86–94, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.fbp.2015.12.006>>. Acesso em: 15 abr. 2021

PÉREZ-OROZCO, J.P. *et al.* **Kinetics of solid-liquid extraction of anthocyanins obtained**

from **Hibiscus rosa-sinensis**. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, v. 19, n. 2, p. 813–826, 1 ago. 2019. Disponível em: <<http://rmiq.org/ojs311/index.php/rmiq/article/view/830>>. Acesso em: 09 nov. 2022

PIERACCI, Ylenia *et al.* **Hibiscus rosa-sinensis as flavoring agent for alcoholic beverages**. *Applied Sciences (Switzerland)*, v. 11, n. 21, 2021. Acesso em: 04 out. 2022

PROCOPIO, Fernanda Ramalho *et al.* **Solid lipid microparticles loaded with cinnamon oleoresin: Characterization, stability and antimicrobial activity**. *Food Research International*, v. 113, n. March, p. 351–361, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.07.026>>. Acesso em: 06 jun. 2022

PUGLIESE, Alessandro *et al.* **Physical characterization of whole and skim dried milk powders**. *Journal of Food Science and Technology*, v. 54, n. 11, p. 3433–3442, 2017. Acesso em: 09 jul. 2022

ROSA, Jéssica Righi. **Microencapsulação de compostos antociânicos extraídos do mirtilo (*Vaccinium spp.*) por spray dryer: caracterização, estudo da estabilidade e condições gastrointestinais simuladas**. 2017. 1–83 f. Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), 2017. Acesso em: 10 nov. 2022

SAIDIN, Nor Maziah *et al.* **Skin barrier modulation by *Hibiscus rosa-sinensis* L. mucilage for transdermal drug delivery**. *Polymer Bulletin*, v. 79, n. 5, p. 3099–3115, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s00289-021-03658-1>>. Acesso em: 10 nov. 2022

SATAPATHY, Monalisha *et al.* **Preparation and characterization of cocoa butter and whey protein isolate based emulgels for pharmaceutical and probiotics delivery applications**. *Journal of Dispersion Science and Technology*, v. 41, n. 3, p. 426–440, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/01932691.2019.1583577>>. Acesso em: 03 jan. 2022

SATÖ, Kiyotaka. **Crystallization of Lipids - Fundamentals and Applications in Food, Cosmetics, and Pharmaceuticals**. First edit ed. Hiroshima: Wiley Blackwell, 2018. Acesso em: 30 nov. 2022

SILVA, Analú Barbosa; WIEST, José Maria; CARVALHO, Heloisa Helena Chaves. **Compostos químicos e atividade antioxidante analisados em *Hibiscus rosa-sinensis* L. (mimo-de-vênus) e *Hibiscus syriacus* L. (hibisco-da-síria)**. *Brazilian Journal of Food Technology*, v. 19, n. 0, 2016. Acesso em: 03 fev. 2022

SONG, Chunfang *et al.* **Mass transfer during osmotic dehydration and its effect on anthocyanin retention of microwave vacuum-dried blackberries**. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 100, n. 1, p. 102–109, 2020. Acesso em: 10 nov. 2022

TAGLIAZUCCHI, Davide *et al.* **In vitro bio-accessibility and antioxidant activity of grape polyphenols**. *Food Chemistry*, v. 120, n. 2, p. 599–606, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.10.030>>. Acesso em: 10 abr. 2021

TRIVELLINI, Alice *et al.* **Effect of salt stress in the regulation of anthocyanins and color of *Hibiscus* flowers by digital image analysis**. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 62, n. 29, p. 6966–6974, 2014. Acesso em: 10 nov. 2022

TULINI, Fabrício L. *et al.* **Evaluation of the release profile, stability and antioxidant activity of a proanthocyanidin-rich cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*) extract co-encapsulated with α -tocopherol by spray chilling**. *Food Research International*, v. 95, p. 117–124, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2017.03.010>>. Acesso em: 10 nov. 2022

em: 19 fev. 2022

VANKAR, Padma S.; SHUKLA, Dhara. **Natural Dyeing with Anthocyanins from Hibiscus rosa-sinensis Flowers**. *Wiley Online Library*, p. 1–8, 2011. Acesso em: 10 nov. 2022

VASTRAD, Jyoti; BYADGI, Shameebanu. **Phytochemical Screening and Antibacterial Activity of Hibiscus rosa-sinensis Leaf Extracts**. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, v. 7, n. 03, p. 3329–3337, 2018. Acesso em: 25 ago. 2021

XIE, Sha *et al.* **Anthocyanin degradation and the underlying molecular mechanism in a red-fleshed grape variety**. *Lwt*, v. 151, n. 22, p. 112198, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112198>>. Acesso em: 27 ago. 2022

YANG, Mingyi *et al.* **Microencapsulation Delivery System in Food Industry - Challenge and the Way Forward**. *Advances in Polymer Technology*, v. 2020, 2020. Acesso em: 10 mai. 2021

YIN, Yun; CADWALLADER, Keith R. **Spray-chilling encapsulation of 2-acetyl-1-pyrroline zinc chloride complex using hydrophobic materials: Feasibility and characterization of microcapsules**. *Food Chemistry*, v. 265, n. May, p. 173–181, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.05.079>>. Acesso em: 03 jul. 2021

ZHANG, Kunming *et al.* **Ultrasonic assisted water-in-oil emulsions encapsulating macromolecular polysaccharide chitosan: Influence of molecular properties, emulsion viscosity and their stability**. *Ultrasonics Sonochemistry*, v. 64, n. October 2019, p. 105018, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105018>>. Acesso em: 02 fev. 2021

SEGUNDA PARTE – ARTIGO**MICROENCAPSULAÇÃO DO EXTRATO DAS FLORES DE HIBISCO VERMELHO
(*HIBISCUS ROSA-SINENSIS*) POR *SPRAY CHILLING* UTILIZANDO ÓLEO DE
PALMA TOTALMENTE HIDROGENADO E MANTEIGA DE CACAU**Matheus Felipe Souza Oliveira¹

Artigo formatado com base na NBR 6022 (ABNT, 2018), conforme é orientado no Manual de Normalização da UFLA.

¹ matheusf439@gmail.com – Mestre em Ciência dos Alimentos

MICROENCAPSULAÇÃO DO EXTRATO DAS FLORES DE HIBISCO VERMELHO (*HIBISCUS ROSA-SINENSIS*) POR TÉCNICA *SPRAY CHILLING* UTILIZANDO ÓLEO DE PALMA TOTALMENTE HIDROGENADO E MANTEIGA DE CACAU

RESUMO

Neste trabalho, foram avaliados a caracterização, estudo de estabilidade e perfil de liberação gastrointestinal das micropartículas de antocianinas das flores do hibisco vermelho (*Hibiscus rosa-sinensis*), com a utilização de óleo de palma totalmente hidrogenado e manteiga de cacau como materiais de parede, produzidas por *spray chilling*. A proporção de material de parede foi de 70 para 30 de extrato de hibisco e a utilização de formulações binárias lipídicas, contendo óleo de palma totalmente hidrogenado (OPTH) e manteiga de cacau (MC), preparadas no ultrassom-assistido nas proporções de 100 OPTH (Controle), 75/25, 50/50, 60/40 e 40/60. As emulsões foram homogeneizadas no ultrassom-assistido com tempo de permanência de 240 s com potência de 200 W. O aumento do conteúdo de manteiga de cacau reduziu a temperatura de fusão, aumentou o comportamento polimórfico instável, apresentando características amorfas das micropartículas. A viscosidade foi aumentada, aglomerações ficaram mais visíveis, teve surgimento de orifícios na superfície e maiores diâmetros médios, o que pode causar diferenças sensoriais e nutricionais em produtos com a adição destas micropartículas. Os picos característicos do extrato de flores do hibisco são visualizados nos espectros das micropartículas produzidas por *spray chilling*, concluindo que as antocianinas não foram destruídas durante a microencapsulação. A capacidade antioxidante das antocianinas do hibisco vermelho variou de 75 a 79 %, com melhor resultado do tratamento PLM_75:25. A manteiga de cacau como material de parede em mistura com o óleo de palma totalmente hidrogenado, se utilizada em baixas proporções como no tratamento PLM_75:25, apresenta atividade antioxidante elevada e o perfil de liberação de antocianinas no sistema gastrointestinal simulado *in vitro* tem liberação controlada e reduzida no trato gástrico e mais intensa no trato intestinal para absorção eficaz dos compostos antioxidantes no intestino delgado. Também, no estudo de estabilidade, o tratamento PLM_75:25 teve a maior retenção de encapsulamento e reduziu a diferença total de cor. De maneira geral, as micropartículas obtidas para todos os tratamentos são sensíveis à luz e a temperatura de 35 °C. É ideal que estas micropartículas sejam armazenadas abaixo dessa temperatura e sem contato com a luz para sua utilização eficaz como corante natural de produtos alimentícios.

Palavras-chaves: *Hibiscus rosa-sinensis*. Cianidina-3-Soforosídeo. *Spray chilling*.

1 INTRODUÇÃO

O crescimento do mercado de plantas alimentícias não convencionais (PANC) é promissor para o setor alimentício e farmacêutico, com destaque para as flores comestíveis, fontes de compostos bioativos como as antocianinas e outros compostos que atuam como antioxidantes, antimicrobianos, dentre outras funções. Uma das flores comestíveis mais populares no Brasil é a da espécie *Hibiscus rosa-sinensis*, planta conhecida como hibisco vermelho, com flores contendo vitaminas, flavonoides, ácido ascórbico, niacina, riboflavina, tiamina e a antocianina cianidina-3-soforosídeo. Esses compostos apresentam maior eficiência e menor custo quando comparados a suplementos sintéticos, com função de proteção do corpo contra danos oxidativos decorrentes do acúmulo de radicais livres no organismo humano. No entanto, as flores do hibisco duram de 1 a 2 dias após desabrochar (PASCUAL *et al.*, 2017; SILVA, WIEST, CARVALHO, 2016). Portanto, faz-se necessário estudar novas formas de aproveitamento desta PANC e seus compostos bioativos, garantindo condições de armazenamento adequadas para a extensão da utilização.

Uma alternativa de garantir a proteção e estabilidade de compostos bioativos é por meio de técnicas de microencapsulação. A microencapsulação é um processo físico-químico ou mecânico onde uma substância é recoberta de outro material (material de parede), com diferentes funções, como proteção, mascaramento de odor e sabor, aumento da estabilidade térmica, favorecimento da liberação controlada, melhoria da textura e proteção contra contaminação cruzada (ALEMZADEH *et al.*, 2020; YANG *et al.*, 2020). Dentre as técnicas para microencapsulação, a técnica *spray chilling* tem se destacado por ser promissora na estabilização de compostos bioativos em matrizes lipídicas. A técnica consiste na dispersão do material ativo emulsificado ou solubilizado em uma matriz lipídica fundida. A mistura é atomizada até uma câmara contendo ar em temperatura abaixo do ponto de fusão da matriz lipídica, onde as gotículas se solidificam dando origem as partículas lipídicas sólidas (MAZZOCATO; THOMAZINI; FAVARO-TRINDADE, 2019). A microencapsulação por *spray chilling* de extrato de hibisco por meio de material de parede lipídico garante proteção, estabilidade e extensão do uso das antocianinas do hibisco vermelho. A metodologia *spray chilling* tem a vantagem de não usar solventes orgânicos e ser desenvolvidas em temperaturas mais brandas, fatores importantes para evitar a degradação dos compostos bioativos, bem como é caracterizada pelo baixo custo. Com isso, a microencapsulação e as tecnologias alimentares podem ser utilizadas como alternativa, permitindo o desenvolvimento de alimentos e

nutracêuticos, cuja biodisponibilidade e manutenção da funcionalidade dos ingredientes ativos sejam essenciais (ALEMZADEH *et al.*, 2020).

Para o processo de microencapsulação, a utilização de apenas um lipídio, líquido ou sólido), como material de parede produz micropartículas ineficazes. Se somente um lipídio líquido for utilizado, as micropartículas terão aspecto arenoso com lipídios parcialmente secos formando aglomerações. Se somente um lipídio sólido for utilizado, as micropartículas apresentarão cadeias aproximadas devido à falta de insaturações, com estrutura mais compacta, densa e ordenada, reduzindo o espaço disponível para o composto encapsulado. Nos dois casos a retenção do composto nas micropartículas vai ser baixa e/ou a liberação vai ser antecipada. A mistura de dois lipídios com diferentes moléculas forma uma matriz lipídica sólida menos ordenada, favorecendo a retenção do material encapsulado dentro da micropartícula (ORIANI *et al.*, 2018; PROCOPIO *et al.*, 2018). Para a obtenção das micropartículas lipídicas sólidas por *spray chilling* é necessário que, inicialmente, ocorra a fusão do lipídeo, formando as partículas por atomização, seguida de resfriamento para fixação da forma das micropartículas. Para proporcionar o aprisionamento do material encapsulado, é realizada mistura de óleo de palma totalmente hidrogenado (OPTH) e manteiga de cacau (MC). A escolha dos materiais de parede é feita pela boa aceitabilidade da manteiga de cacau e óleo de palma totalmente hidrogenado em produtos alimentícios, além de serem matérias primas de alta demanda de mercado.

Desta forma, o objetivo deste trabalho é produzir micropartículas lipídicas sólidas das antocianinas das flores hibisco vermelho (*Hibiscus rosa-sinensis*), obtidas pela técnica *spray chilling*, usando óleo de palma totalmente hidrogenado (OPTH) e a manteiga de cacau (MC) como materiais de parede em diferentes proporções para caracterizar e avaliar as micropartículas quanto comportamento térmico, polimorfismo e características físico-químicas. Também, as micropartículas foram avaliadas quanto a estabilidade durante o armazenamento a 35 °C, com presença e ausência de luz, caracterizadas pela retenção de encapsulação, diferença total de cor e análises de grupos funcionais. Ademais, é objetivo deste trabalho definir o perfil de liberação de antocianinas do hibisco contidas nas micropartículas no trato gastrointestinal simulado *in vitro*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material

As flores de hibisco desidratadas da espécie *Hibiscus rosa-sinensis*, utilizados como material ativo no processo de encapsulação, foram adquiridas em comércio de produtos naturais (Lavras, Minas Gerais, Brasil). Como materiais de parede, foram utilizados o óleo de palma totalmente hidrogenado livre em *trans* (OPTH; ponto de fusão 55-61 °C, Agropalma, Limeira, São Paulo, Brasil) e a manteiga de cacau (MC; ponto de fusão 32-35 °C, Indústria Brasileira de Cacau, Rio das Pedras, São Paulo, Brasil), bem como foi empregado o emulsificante polirricinoleato de poliglicerol (Grinsted® PGPR Super, Cotia, São Paulo, Brasil).

2.2 Extração das antocianinas do Hibisco

As metodologias de Kuck, Wesolowski e Noreña (2017) e Melo *et al.* (2020), foram utilizadas com adaptação para obtenção do extrato das flores do hibisco foram utilizadas com adaptações. As antocianinas foram extraídas por meio de solução aquosa acidificada (pH= 2,5) com ácido cítrico (1%), na proporção hibisco desidratado: solvente de 2:5 (p/p), com posterior maceração. A mistura foi repousada no escuro por um período de 24 h para garantir melhor estabilidade da cor das antocianinas extraídas, que pode ser afetada pela presença da luz. O EH obtido foi filtrado em organza e centrifugado a 1610 RCF por 5 min para retenção de resíduos sólidos. Em seguida, o extrato filtrado e centrifugado foi armazenado a 5°C até o uso imediato.

2.3 Seleção das proporções dos materiais de parede

As cinco formulações, com diferentes proporções de óleo de palma totalmente hidrogenado (OPTH) e manteiga de cacau (MC), empregadas nessa pesquisa foram: 100% OPTH (PLM_100:0, Controle), PLM_75:25 (3 OPTH: 1 MC), PLM_50:50 (1 OPTH: 1 MC), PLM_60:40 (3 OPTH: 2 MC) e PLM_40:60 (2 OPTH: 3MC).

2.4 Preparo das emulsões

Inicialmente, os materiais lipídicos nas diferentes proporções foram fundidos em banho maria a 65 °C. Após fusão total dos lipídios, o emulsificante polirricinoleato de poliglicerol (PGPR) foi adicionado na proporção de 4% em relação aos materiais lipídicos, definida em testes preliminares. A fase oleosa foi então homogeneizada em agitador magnético por 120 s a 45 RCF e temperatura controlada entre 70 e 80 °C. Posteriormente, o EH foi adicionado à fase lipídica em uma proporção de 30% em relação aos lipídios e a mistura foi agitada por mais 120

s. A proporção entre EH e os materiais de parede foi definida em pré-testes através de teste de estabilidade após homogeneização da mistura.

Após a homogeneização em agitador magnético, as emulsões foram submetidas ao ultrassom (Modelo 450 – Branson Ultrasonic, USA), com a probe (\varnothing 13 mm) imersa 24 mm nas emulsões, por um período de 240 s e potência de 200 watts. As condições foram definidas de acordo com pré-testes feitos no laboratório que indicaram melhora significativa na estabilidade das emulsões. Por fim, imediatamente após homogeneização em ultrassom, as emulsões formadas foram atomizadas para produção das partículas lipídicas microestruturadas (PLM).

2.5 Produção das PLM no *spray chiller*

As PLM foram preparadas em um *spray chiller* (Labmaq do Brasil, modelo MSD 1.0, Ribeirão Preto, SP, Brasil). A alimentação das emulsões até o bico atomizador (modelo duplo-fluído com 3,0 mm de diâmetro) foi feita pela abertura da válvula no suporte de aquecimento de vazão da amostra com vazão de 10 mL/ min. As temperaturas da amostra e do ar comprimido foram em 67 °C e 77 °C, respectivamente. A vazão do ar comprimido foi de 35 L/h e a temperatura do ar de resfriamento foi cerca de -1°C. No final do processo, as amostras produzidas foram recolhidas no pote coletor e armazenadas em *zip lock* metalizado hermeticamente fechado e mantidas a -18°C até a realização das análises. Os ensaios foram conduzidos em triplicata.

2.6 Caracterização dos materiais lipídicos puros e das PLM

2.6.1 Comportamento Térmico (DSC)

Os materiais lipídicos puros e as PLM foram analisadas quanto ao comportamento térmico por Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) em um calorímetro modelo 2920 (TA Instruments, New Castle, Delaware, USA). Foram pesadas amostras (~10 mg) em cápsulas de mistura de alumínio seladas hermeticamente. As condições de operação foram: aquecimento até 80 °C por 10 min, resfriamento até -70 °C (10 °C/min) durante 30 min seguido novamente de aquecimento a taxa de 10 °C/min até atingir 80 °C, mantendo essa temperatura por 10 min. As curvas de fusão foram obtidas no segundo aquecimento. O software Origin Pro 9.0 foi utilizado para obtenção das curvas térmicas e para definir os parâmetros de cristalização e fusão.

2.6.2 Polimorfismo (DRX)

As formas polimórficas dos materiais lipídicos e das PLM produzidos foram determinadas pelo método **AOCS (2004) Cj 2-9527**. As amostras foram analisadas em um difratômetro de Raios-X utilizando a geometria de Bragg - Bretano ($\theta:2\theta$) com radiação Cu-K α ($k=1.5418 \text{ \AA}$, tensão de 40 KV e corrente de 30 mA). As medidas foram tomadas com intervalo em ângulo 2θ de 5 a 40° , com tamanho de passos de $0,02^\circ$ a cada 2 s. As formas polimórficas foram identificadas a partir de *short spacings* característicos.

2.6.3 Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

Medidas de FTIR foram realizadas para o extrato de hibisco, o OPTH, a MC e as PLMs a 25°C na região de 4000 a 400 cm^{-1} , com resolução de 4 cm^{-1} e acúmulo de 64 varreduras em um espectrômetro com acessório Total Attenuated Reflectance (ATR) (Jasco 4100, Tokyo, Japan).

2.6.4 Morfologia (MEV)

A análise morfológica das PLMs foi realizada, por meio da observação de imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura (MEV). As amostras foram montadas em *stubs* de alumínio com fita dupla-face de carbono, metalizadas em aparelho evaporador de ouro (SCD 050) e observadas no microscópio eletrônico de varredura (LEO EVO 40 XVP, Carl Zeiss).

2.6.5 Diâmetro médio e índice de polidispersibilidade (Span)

Para dispersar as PLM foi utilizado água destilada e um sonificador (Modelo S-450D, Branson Ultrasonics Corporation, Danbury, EUA). A mistura contendo as PLM foi homogeneizada por 1 min a uma potência de 200 watts. O diâmetro médio de Brouckere ($D_{4,3}$) e o índice de polidispersão (*Span*) foram determinados usando um Mastersizer (Modelo 3000E, Malvern Instruments Inc., Worcestershire, U.K.). Equações (1 e 2), respectivamente.

$$[D_{4,3}] = \frac{\sum ni}{\sum ni}$$

$$Span = \frac{(d_{90} - d_{50})}{d_{50}}$$

Onde $[D_{4,3}]$ é o diâmetro volumétrico das micropartículas (μm), d é o diâmetro das micropartículas (μm), n é o número adimensional de micropartículas entre dois diâmetros

consecutivos. Span indica a polidispersão e as variáveis, d_{90} , d_{10} e d_{50} são diâmetros das micropartículas (μm) a 10%, 50% e 90% do volume acumulado, respectivamente.

2.6.6 Densidade aparente, densidade compactada, fluidez e coesividade

A densidade das PLM foi medida tanto como densidade aparente (solta/derramada) quanto densidade batida. A densidade aparente foi medida pesando-se uma proveta graduada de 10 mL preenchido com as PLM cuidadosamente nivelado, sem compactação, até um nível estabelecido, e expresso como densidade aparente = peso das PLM (kg)/volume do pó (m^3). A densidade compactada foi medida na proveta contendo as PLM que foi suavemente batido em uma mesa até que uma diferença insignificante de volume entre as medidas sucessivas fosse observada. O novo volume obtido após a batida foi lido na proveta graduada, e expresso como densidade compactada = peso das PLM (kg)/volume de PLM batidas (m^3). A fluidez e a coesividade foram expressas em termos de índice de Carr (IC), também chamado de índice de compressibilidade, e razão de Hausner (RH), respectivamente, usando as seguintes expressões (PUGLIESE *et al.*, 2017):

$$\text{IC} = ((\text{Densidade compactada} - \text{Densidade aparente}) / \text{Densidade compactada});$$

$$\text{RH} = \text{Densidade compactada} / \text{Densidade aparente}.$$

2.6.7 Atividade de água (a_w)

A atividade de água (a_w) das micropartículas foi determinada por um equipamento de medição de atividade de água (AquaLab 4TE, Decagon, Pullman, EUA) a $25\text{ }^\circ\text{C} \pm 0,5\text{ }^\circ\text{C}$.

2.6.8 Conteúdo total de antocianinas nas PLM

As antocianinas totais foram determinadas pela metodologia adaptada de Kuck, Wesolowski e Noreña (2017) e Jusoh *et al.* (2018). Para a extração das antocianinas, 3,0 g das PLM foram misturados em 10 mL de etanol e homogeneizadas por 1 min em vórtex. A seguir a mistura foi deixada em banho ultrassônico a temperatura ambiente ($25\text{ }^\circ\text{C}$) por 1 h e homogeneizadas em vórtex por 30 s a cada meia hora. A mistura foi centrifugada (2 min/1610 RCF) para decantar o material sólido. O sobrenadante foi misturado com solução tampão de pH 1,0. A absorbância foi medida em espectrofotômetro - UNICO Spectrophotometer 2800UV/VIS (United Products & Instruments Inc., New Jersey, EUA) a 535 nm. As leituras

foram feitas em triplicata. Os resultados foram expressos em mg de cianidina-3-glicosídeo por 100 g de amostra em base úmida, usando a capacidade de absorção molar (ϵ) de 26900 L/cm.mg e peso molecular (PM) de 449,2 g/mol (Equações 3 e 4). Não houve necessidade de expressar o conteúdo total de antocianinas em base seca por não ocorrer evaporação de solvente na técnica de *spray chilling*.

$$An(mg/L) = Abs \times 1000 \times FD \times PM / \epsilon \times L \quad (3)$$

Abs é o valor da absorbância obtido, FD é o fator de diluição e L o comprimento da cubeta.

$$CTA (mg/g) = An(mg/L) \times V \div m \quad (4)$$

V é o volume da amostra na cubeta e m é a massa de amostra utilizada para análise.

2.6.9 Retenção de encapsulação inicial em relação ao conteúdo de antocianinas (RE)

Após o cálculo das antocianinas totais, a retenção de encapsulação total de antocianinas foi determinada pela relação entre o conteúdo de antocianinas totais presentes nas micropartículas (CTA_M), e o conteúdo de antocianinas totais presentes no extrato de hibisco (CTA_E), de acordo com metodologia proposta por Figueiredo et al. (2020) e Song et al. (2020). O resultado é apresentado em porcentagem de retenção, conforme descrito na Equação 5.

$$RE(\%) = ((CTA_M \div CTA_E) \times 100 \quad (5)$$

2.6.10 Capacidade Antioxidante total pela captura do radical livre (DPPH)

A capacidade antioxidante das PLM foi avaliada por ensaio DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil (Sigma-Aldrich, EUA) de acordo com a metodologia de Campelo-Felix *et al.* (2017) com modificações. Para determinar a capacidade antioxidante das PLM 0,5g de amostras foram misturadas em 7 mL de etanol acidificado (HCl 0,1%, v/v), homogeneizados por 1 min em vórtex, a seguir a mistura foi levada para o banho ultrassônico a temperatura ambiente (25°C) por 1 h e homogeneizadas em vórtex por 30 s a cada 30 min durante seu período no banho ultrassônico. A mistura foi centrifugada (2 min/1610 RCF) para decantar o material sólido. 1 mL da solução com as micropartículas foi adicionado a 3,9 mL da solução estoque de DPPH e agitados em vórtex por 30 s; em seguida foram armazenadas no escuro por 1 h para facilitar a reação do radical DPPH com o extrato da casca de uva contido nas PLM. O branco foi preparado substituindo a solução das PLM por 1 mL de etanol puro. Os valores de

absorbância da solução em branco e das amostras foram medidos em um comprimento de onda de 515 nm. A capacidade antioxidante (CA) das micropartículas foi determinada usando a Equação 6, onde A0 é a absorbância do branco e AE é a absorbância da amostra.

$$CA(\%) = ((A0 - AE) \div A0) \times 100 \quad (6)$$

2.6.11 Parâmetros de cor

Os parâmetros de cor Hunter L*c*h° das PLM foram medidos com colorímetro portátil (CR-10, Konica Minolta, Japão). A cor das amostras foi descrita por meio dos parâmetros L* (0 = preto, 100 = branco, que indica a luminosidade da amostra), c* (saturação de cor) e h° (matiz: de 0° ou 360° = cor vermelha, 90° = amarelo, 180° = verde e 270° = azul).

2.7 Estabilidade acelerada das PLM

Foi realizado um estudo da estabilidade acelerada das PLM armazenadas no período de 60 dias a 35 °C na ausência e presença de luz. Assim, 3 g de cada tratamento foram acondicionadas em embalagens plásticas de polipropileno transparentes com *zip lock* (dimensão 55 x 55mm). O primeiro ambiente consistiu em uma incubadora com temperatura controlada (B.O.D.) a 35 °C, onde as PLM não foram expostas a luz. No segundo ambiente as micropartículas foram acondicionadas em incubadora com emissão de luz direta durante todo o período de armazenamento.

O intuito dessa análise foi avaliar as mudanças ocorridas nas PLM, quando ao submetidas a diferentes ambientes. No período de armazenamento, as micropartículas foram submetidas às análises de retenção de encapsulação total (seção 2.6.9), diferença total de cor (delta E, Equação 7) nos intervalos de tempo de 0; 4; 8; 12; 20; 30; 45 e 60. A diferença total de cor foi classificada de acordo com Cserhalmi *et al.*, (2006). Além disso, espectros de FTIR do tempo inicial e final e imagens das PLM também foram avaliados.

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2)} \quad (7)$$

2.8 Perfil de liberação gastrointestinal *in vitro* das PLM

Os fluidos gástrico e intestinal foram preparados conforme descrito por Flores *et al.* (2014). O pH dos fluidos digestivos foi ajustado com HCl 1M ou NaOH 1M. Antes da digestão simulada, as antocianinas foram determinadas no extrato de hibisco e PLM conforme descrito na Seção 2.6.8. Foram pesadas 2 g das amostras e colocadas em frascos Erlenmeyer de 250 mL

e adicionados 25 mL de fluido gástrico simulado. O pH foi ajustado para 1,3 com HCl 1M e a solução foi incubada a 37 °C em banho com agitação regulada para 4 RCF por 2 h. Em tempos diferentes, alíquotas (1 mL) foram retiradas para análise de antocianina e substituídas pela mesma quantidade de meio fresco, e a reação foi interrompida resfriando os tubos de ensaio em gelo. Ao final da digestão gástrica, o pH foi ajustado para 8,1 com NaOH 1M antes da adição da solução de pancreatina e sais biliares. A solução com cada amostra foi incubada a 37 °C em banho agitado por mais 2 h. Em tempos diferentes, alíquotas foram retiradas para análise de antocianina e a reação foi interrompida por resfriamento dos tubos de ensaio em gelo. As amostras colhidas durante a digestão intestinal foram imediatamente acidificadas em pH 2,0 para garantir a estabilidade das antocianinas presentes na mistura reacional (MINEKUS *et al.*, 2014; TAGLIAZUCCHI *et al.*, 2010). Os tubos de ensaio foram então centrifugados a 1610 RCF por 5 min e os sobrenadantes foram removidos para a determinação da concentração de antocianinas. Para isso, 1 mL do sobrenadante foi misturado com 2 mL de etanol acidificado (HCl 0,1%, v/v) e a mistura foi centrifugada (1610 RCF/ 2 min). A absorbância do sobrenadante foi medida em um espectrofotômetro UNICO 2800UV/VIS (United Products & Instruments Inc., New Jersey, EUA) a 535 nm. Para determinar a perda percentual, o teor inicial de antocianinas das amostras foi comparado com a perda de antocianinas durante o estudo de liberação.

2.9 Análises estatísticas

O experimento foi conduzido com três repetições, e as medidas das análises foram realizadas em triplicata em um delineamento inteiramente casualizado. Os fatores foram submetidos ao teste ANOVA para avaliação do efeito significativo de cada nível analisado, ao nível de significância de 5%. Na consideração da significância entre os tratamentos, o teste de comparação de média de Duncan foi aplicado. O *software* Statistica (ver. 8.0, Stat. Soft. Inc., Tulsa, EUA) foi utilizado para todas as análises estatísticas.

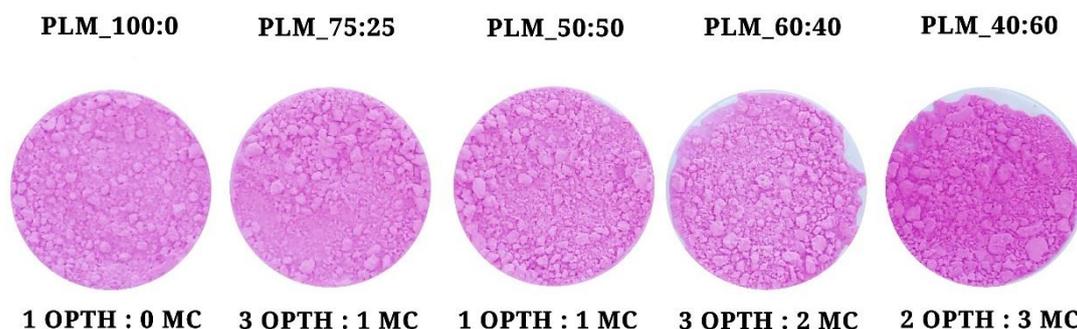
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Caracterização dos materiais lipídicos puros e das PLM

A Figura 1 apresenta o aspecto dos pós obtidos para cada tratamento formulados de partículas lipídicas microestruturadas (PLM) obtidas pela técnica *spray chilling*. O tratamento PLM_100:0 apresentou pó mais fino e mais luminoso, isso devido a utilização do óleo de palma

totalmente hidrogenado (OPTH) como único material de parede, produzindo micropartículas de diâmetros menores e por apresentar coloração amarelada, resultou ao pó mais claro. Os tratamentos PLM_50:50, PLM_60:40 e PLM_40:60 apresentaram maiores aglomerações devido ao alto conteúdo de manteiga de cacau, sendo que PLM_40:60 apresentou as maiores aglomerações e baixa luminosidade, apresentando micropartículas viscosas e mais escuras.

Figura 1 – Fotos das partículas lipídicas microestruturadas obtidas por *spray chilling*.



Legenda: PLM_100:0: 100 de OPTH para 0 de MC; PLM_75:25: 75 de OPTH para 25 de MC; PLM_50:50: 50 de OPTH para 50 de MC; PLM_60:40: 60 de OPTH para 40 de MC; PLM_40:60: 40 de OPTH para 60 de MC.

3.1.1 Comportamento Térmico (DSC)

Segundo Procopio *et al.* (2018), o *spray chilling* produz micropartículas estáveis a partir de materiais de parede com temperatura de fusão acima de 45 °C, garantindo baixa aderência das partículas ao equipamento e, conseqüentemente, maior rendimento. As curvas de fusão e cristalização dos materiais de parede, MC e OPTH, utilizados nesse projeto são apresentadas abaixo pelas Figuras 2a e 2b, respectivamente.

Foram obtidos dois picos para o óleo de palma totalmente hidrogenado (OPTH), em 51,16 °C e 59,66 °C. Na produção de micropartículas de ácido gálico pela técnica *spray chilling* utilizando óleo de soja e OPTH como material de parede, Consoli *et al.* (2016) encontrou na análise de comportamento térmico picos de temperatura de fusão de 53,1 °C e 62,6 °C. Esses valores são similares ao encontrado no estudo de Lopes *et al.*, (2015) que ao avaliar micropartículas produzidas no *spray chiller* com diferentes gorduras totalmente hidrogenadas (*hardfats*), encontrou para o OPTH temperatura de pico máximo de 60,37 °C, justificando que este resultado é encontrado pois os ácidos graxos são, em quase totalidade, de cadeia longa em suas composições. Procopio *et al.* (2018) ao produzir micropartículas lipídicas contendo

oleoresina de casca de canela, encontrou de picos próximos na curva de fusão do OPTH, de 48,94 °C e 58,02 °C. Em estudos analisados por Consoli *et al.* (2016), autores afirmam que o primeiro pico de menor intensidade obtido nas curvas de fusão do OPTH está associado à transição dos cristais de triestearina da forma polimórfica α para a β . Já o segundo pico de maior intensidade da curva de fusão está associado com a alta concentração de triacilgliceróis de alto ponto de fusão, como a triestearina, fazendo a transição da forma β para o estado líquido.

Em relação à curva de cristalização, processo exotérmico, do OPTH, foi obtido pico bem definido e intenso de 34,67 °C. Esse resultado é próximo ao encontrado por Procopio *et al.* (2018) de 39,95 °C e um pouco mais distante ao encontrado por Consoli *et al.* (2016), que obteve pico bem definido de cristalização em 46,52 °C. Para Consoli *et al.* (2016), encontrar um único pico bem definido na curva de cristalização representa a alta fração de triacilgliceróis trissaturados do OPTH. O processo de cristalização é um evento exotérmico que libera energia da amostra estudada durante o processo (PROCOPIO *et al.*, 2018).

Para a manteiga de cacau (MC) foi obtido pico bem definido de 22,28 °C. Este comportamento está associado à composição deste lipídio, que possui, conforme apresentado por Noorzyanna *et al.* (2017), alta concentração de triacilgliceróis (TAG) mono- ou di-insaturados contendo ácido oleico, com baixa temperatura de fusão. TAG mono- di- ou tri-insaturados fundem-se a temperaturas mais baixas que ácidos trissaturados (SATÖ, 2018). Assim, a energia necessária para a fusão dos triacilgliceróis insaturados é aumentada. Esse valor se encontra entre os valores obtidos no estudo de misturas lipídicas de Noorzyanna *et al.* (2017) que obteve curva de fusão para a MC com pico máximo em 18°C e dos autores Jeyarani e Reddy (1999), que analisaram a resistência ao calor da gordura de kokum e da manteiga de cacau, onde obtiveram pico máximo de fusão para MC em 32,5 °C. No estudo investigativo e comparativo entre a manteiga de cacau e o equivalente de manteiga de cacau, Bresson *et al.* (2021) obteve curva de fusão com pico máximo para MC em 22 °C. Os autores Declerck *et al.* (2021), Obaidat *et al.* (2021) e de Joshi, Zielbauer e Vilgis (2020), encontraram na curva de fusão obtidas para a MC picos máximos de 34 °C, 33°C e 33,6 °C, respectivamente.

Quanto a curva de cristalização da MC, foi obtido pico intenso e bem definido em 7,1 °C e um segundo pico de menor intensidade em -23,7 °C. Segundo Procopio *et al.* (2018), a presença de dois picos de cristalização pode estar relacionada à sua característica semissólida, existindo a presença de duas fases distintas (sólida e líquida). A fração sólida é composta, em sua maioria, por triacilgliceróis (TAG) trissaturados fundidos em temperaturas mais altas, é responsável pelo pico 1, enquanto que a fração líquida é composta por ácidos graxos de menor

ponto de fusão, ficando no pico 2 de cristalização. No trabalho de Noorzyanna *et al.* (2017), foram encontrados na curva de cristalização quatro picos, sendo eles -32 °C, 3 °C, 14 °C e 19 °C. Bresson *et al.* (2021) obteve curva de cristalização com picos em 8,4 °C e 13,2 °C e Joshi, Zielbauer e Vilgis (2020) encontraram picos na curva de cristalização em -7 °C e 7,4 °C.

O comportamento térmico dos tratamentos foi analisado após a produção das micropartículas. A figura 2c apresenta as curvas de fusão e cristalização do tratamento PLM_100:0. É necessário lembrar que para este primeiro tratamento não foi utilizado a MC como material de parede, apenas OPTH.

Assim, a curva de fusão de PLM_100:0 apresenta dois picos bem próximos, cerca de 49 e 58 °C, bem como o OPTH (Figura 2b). Houve um pequeno deslocamento dos picos de fusão para a esquerda e o aparecimento de um novo pico em -1,3 °C, explicados pela adição do extrato de hibisco, reduzindo o ponto de fusão das micropartículas produzidas em relação ao OPTH. Também, segundo Procopio *et al.* (2018) podem ter ocorrido alterações no comportamento térmico dos materiais de parede após processamento no equipamento *spray chiller*.

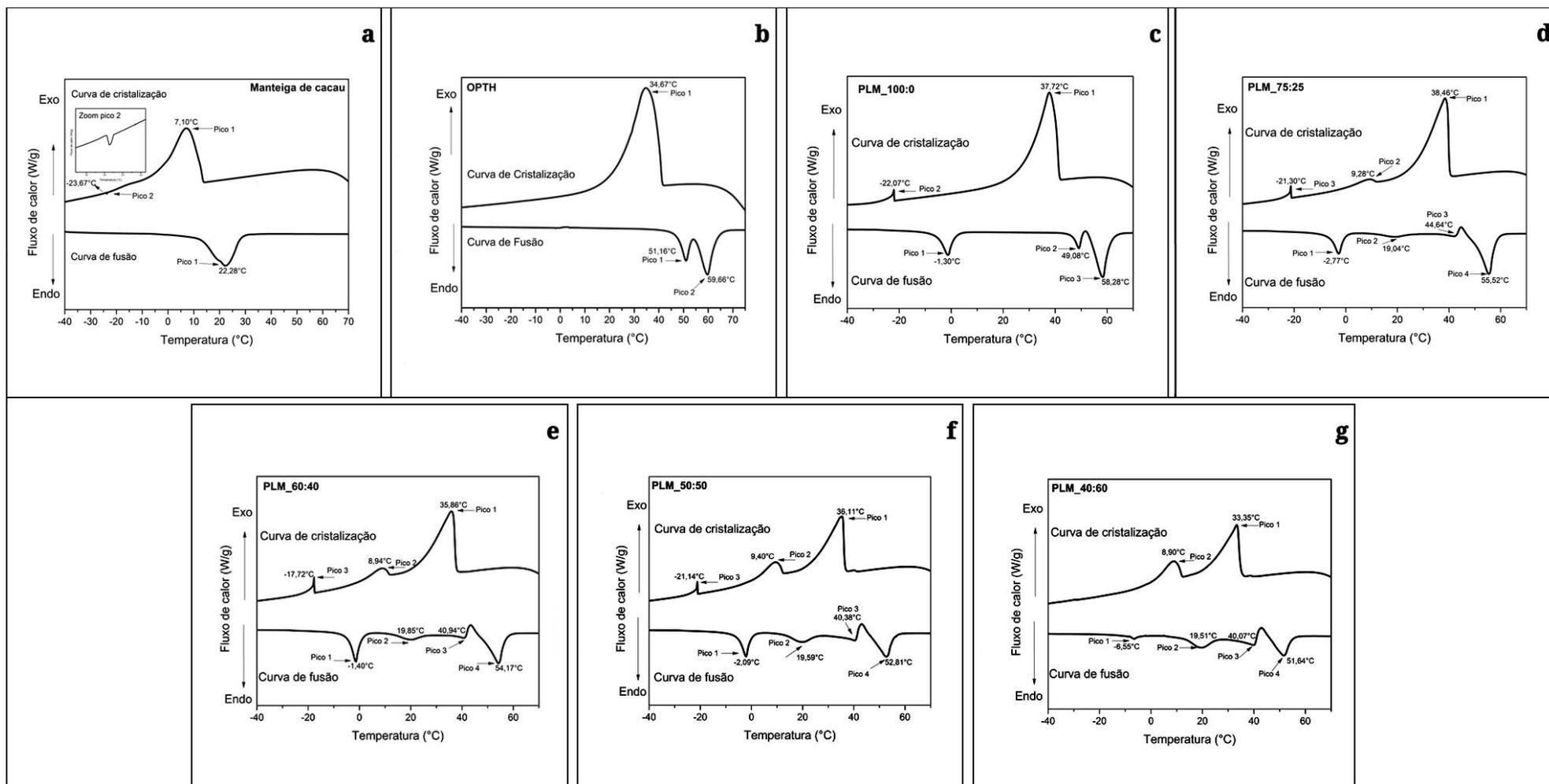
Em relação a curva de cristalização de PLM_100:0, ocorre um deslocamento para a direita em relação a curva de cristalização do OPTH e surge um novo pico em -22 °C. Além disso, é visualizado um pico em 38 °C, similar ao encontrado no OPTH em 35 °C. O deslocamento e a aparição de um novo pico na curva de cristalização podem ser explicados pela adição do extrato de hibisco. A aparição dos novos picos na curva de fusão e cristalização, comparando com os picos já visualizados nas curvas de fusão e cristalização do OPTH, pode ser explicada devido a adição de formas polimórficas mais instáveis advindas do extrato de hibisco, sendo estas fundidas primeiro e com tendência a recrystalizar junto as formas mais estáveis, causando mudanças nos perfis das curvas.

Com a adição da manteiga de cacau (MC) como material de parede para a produção de micropartículas, o comportamento térmico apresentou mudanças. A figura 2d apresenta as curvas de fusão e cristalização do tratamento com material de parede na proporção de OPTH 75:25 MC (PLM_75:25). Fazendo análise e comparação da curva de fusão deste tratamento com a curva de fusão do tratamento anterior analisado e, tendo como base as curvas de fusão e cristalização do OPTH e MC, ocorre um maior deslocamento para a esquerda, reduzindo o valor da temperatura de fusão dos picos bem definidos para 44,6 (pico 3) e 55,5 °C (pico 4), respectivamente. Também, é visualizado um pico pouco intenso e definido característico da

MC que se mescla com o pico do OPTH (pico 2 e 3), pico este que teve sua intensidade reduzida, que pode ser causada pela mesclagem dos TAG insaturados da MC e OPTH.

A curva de cristalização do tratamento PLM_75:25 apresentou maior deslocamento para a direita que o tratamento PLM_100:0. O pico pouco definido e intenso (pico 2) perto de 9,3 °C, é característico da curva de cristalização da MC, porém aparece em menor intensidade devido a proporção utilizada de MC em relação ao OPTH. O pico 3 provavelmente representa o mesmo que o pico 2 no tratamento PLM_100:0. Também, a cristalização de lipídios líquidos resulta em uma contração no volume das moléculas lipídicas e a fusão de lipídios sólidos leva à expansão do volume (ORIANI *et al.*, 2016). Desta forma, a estrutura cristalina mais compacta do tratamento PLM_100:0 está relacionada com a maior concentração de lipídios saturados do óleo de palma totalmente hidrogenado.

Figura 2 - Curvas de fusão e cristalização dos materiais lipídicos puros e das PLM.



A Figura 2f das curvas de fusão e cristalização do tratamento PLM_50:50. Em relação a curva de fusão, os picos característicos do comportamento térmico do OPTH (picos 3 e 4) se deslocaram para a esquerda, reduzindo a temperatura de fusão para cerca de 53 °C. Essa alteração reflete diretamente na redução do conteúdo de OPTH no tratamento. Também ocorre redução na intensidade e definição dos picos. A intensidade do pico 2, pico característico da MC, é aumentada e o pico é deslocado para a direita, em relação ao tratamento PLM_75:25, aumentando a temperatura de fusão. Já o pico 1 tem sua definição e intensidade aumentadas e também é deslocado para a direita, aumentando a temperatura de fusão.

A curva de cristalização apresentou deslocamento do pico 1, característico do OPTH, para a esquerda em relação ao resultado obtido no tratamento PLM_75:25, mostrando a redução na temperatura de cristalização dos TAG saturados de OPTH de acordo que reduz o conteúdo de OPTH do tratamento. O pico 2, referente à MC, deslocou para a direita, teve sua intensidade e definição aumentadas. Além disso, o pico 3 deslocou-se para a direita.

O comportamento térmico do tratamento PLM_60:40 é apresentado na figura 2e. Tomando como comparação o tratamento PLM_100:0, o pico 4, da curva de fusão, foi deslocado para a esquerda, reduzindo 4 °C da temperatura de fusão. O pico 2, por sua vez, se manteve em temperatura de fusão próxima aos demais tratamentos com MC, mas com intensidade e definição menores quando comparadas ao tratamento PLM_50:50, seguindo o aumento de acordo com o aumento de MC no sistema. Os picos 3 e 4, referentes ao OPTH, foram deslocados para a esquerda, apresentando menor definição e intensidade quando comparado aos demais tratamentos, reduzindo então a temperatura de fusão dos picos característicos do OPTH.

Em relação a curva de cristalização de PLM_60:40, o pico 1 apresentou menor temperatura de cristalização (35,86 °C) quando comparado ao tratamento PLM_100:0. O pico 2 apresentou a menor temperatura de cristalização, exceto a PLM_40:60. O pico 3 deste tratamento foi o que mais deslocou para a direita dentre todos os tratamentos e pode estar relacionado a menor retenção do extrato de hibisco no interior das PLM.

A curva de fusão do tratamento PLM_40:60 (Figura 2g) teve o maior deslocamento para esquerda do pico 1 em relação aos demais tratamentos, com a menor temperatura de fusão de -6,55 °C do pico característico de EH. Dentre todos os tratamentos, este tratamento apresentou a maior definição e intensidade para o pico 2 em 19,51 °C, característico das TAG da MC. Os

picos 3 e 4, característicos do OPTH, apresentaram temperaturas de fusão baixas, menos intensas e pouco definidas, de 40,07 e 51,64 °C, respectivamente.

Na curva de cristalização de PLM_40:60, o pico 1, referente a OPTH, foi menos intenso e definido que o tratamento PLM_100:0, foi deslocado para a esquerda e apresentou menor temperatura de cristalização, devido ao menor conteúdo de OPTH. O pico 2, característico de MC, apresentou maior definição e intensidade do que todos os outros tratamentos, isso devido ao aumento no conteúdo de MC. O pico 3 da curva de cristalização foi reduzido quase que por completo quando o conteúdo de OPTH foi menor que de MC no tratamento PLM_40:60. Assim, este pico não deve estar relacionado com a adição do extrato de hibisco e sim com o perfil de ácidos graxos insaturados que se fundem em temperaturas próximas de 0 °C ou abaixo disso.

Todos os tratamentos apresentaram pontos de fusão acima de 51,5 °C, em relação ao pico característico de OPTH. Esse resultado pode garantir estrutura sólidas para as micropartículas de antocianinas de extrato de hibisco produzidas através da técnica *spray chilling* em temperatura ambiente (~25 °C). A incorporação de MC em qualquer proporção, produziu micropartículas lipídicas com temperatura de fusão menores quando comparadas ao tratamento PLM_100:0, sem MC em sua composição. De fato, a temperatura de fusão dos tratamentos foi menor quanto maior era o conteúdo de MC no tratamento. O pico 2 se manteve em temperaturas de fusão próximas entre todos os tratamentos.

Os cristais lipídicos têm sua conformação e características dependentes da taxa de resfriamento e da temperatura de cristalização utilizada durante o resfriamento do material (CARVALHO *et al.*, 2019). O único tratamento que apresentou temperatura de cristalização, do pico característico de OPTH, mais alta que o tratamento PLM_100:0, foi o tratamento PLM_75:25 com temperatura de 38,46 °C, devido a maior estabilidade na interação molecular quando é utilizado uma mistura lipídica. Este tratamento foi o que apresentou segunda maior temperatura de fusão depois do tratamento PLM_100:0.

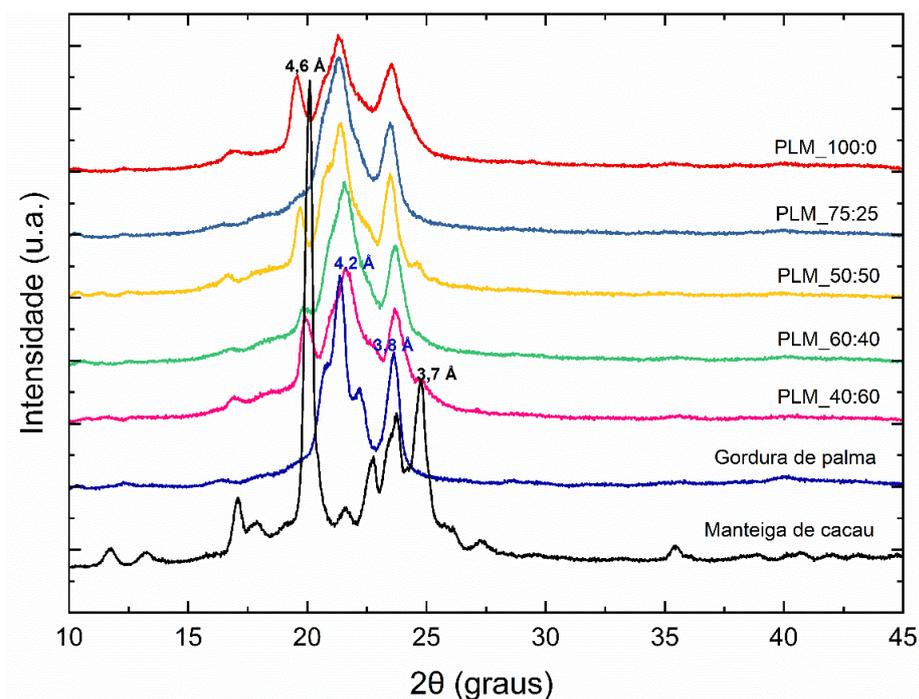
3.1.2 Polimorfismo (DRX)

O polimorfismo do material de parede e das micropartículas foi obtido através da difração de raios-X (DRX), técnica que consiste na determinação de *short spacings* (SS) intermediados pela dispersão de comprimentos de ondas característicos. Na ciência de alimentos, o DRX é utilizado para estudos polimórficos de triacilgliceróis (TAG), caracterizando qualitativamente materiais apenas pela análise da intensidade dos picos

(CALLIGARIS *et al.*, 2018). Analisar o comportamento polimórfico do material lipídico utilizado para encapsular e das micropartículas formadas é de grande importância para definição das aplicações destes produtos, pois cada forma polimórfica tem suas propriedades físicas particulares (LOPES *et al.*, 2015). A forma α tem *short spacings* simples e único em 4,15 Å, a forma β' (estrutura ortorrômbica) tem os SS variando de 3,8 a 4,2 Å e a forma β (estrutura triclinica) tem SS de 4,6 Å (CARVALHO *et al.*, 2019a; LOPES *et al.*, 2015).

A Figura 3 apresenta os difratogramas e os *short spacings* obtidos da caracterização polimórfica do óleo de palma totalmente hidrogenado (OPTH), da manteiga de cacau (MC) e das micropartículas de antocianinas do extrato de hibisco produzidas pela técnica *spray chilling*.

Figura 3 - Difratograma do OPTH, MC e micropartículas lipídicas produzidas por *spray chilling*.



A manteiga de cacau (MC) apresentou em seu difratograma um pico de maior intensidade com um *short spacing* de 4,6 Å e outro pico bem menor com *short spacing* de 3,7 Å. Segundo Le Révérend *et al.* (2010), os valores de SS obtidos para a MC são característicos da forma polimórfica β (V). Esses resultados estão de acordo com os encontrados por Bresson *et al.* (2021) e Declerck *et al.* (2021). Além disso, é apurado que o difratograma da manteiga de cacau tem vários picos com intensidade baixa com a base mais larga, característica de

material com perfil amorfo (semissólido). Esta conclusão de perfil amorfo corrobora com o resultado encontrado no tópico 3.1.1. que os picos encontrados na curva de cristalização da MC são típicos de material com característica semissólida.

Para a OPTH foram identificados pico intenso com SS de 4,2 Å e pico de intensidade média com SS de 3,8 Å. Esses picos caracterizam o OPTH com polimorfismo β' . A presença do perfil polimorfo β' é similar com o encontrado nas pesquisas de Lopes *et al.* (2015), Carvalho *et al.* (2019) e Procopio *et al.* (2018). De acordo com Carvalho *et al.* (2019), existe relação entre a estrutura polimórfica β' e as altas concentrações de ácido graxo palmítico no óleo de palma totalmente hidrogenado (OPTH).

A caracterização e discussão sobre as formas polimórficas das micropartículas produzidas pela técnica de *spray chilling* facilitam o entendimento do comportamento do material de parede. É confirmado que, mesmo após a mistura do extrato de hibisco com emulsão formada por OPTH e MC com adição do PGPR e essa mistura ser processada no *spray chiller*, as micropartículas formadas preservaram as formas polimórficas originais da OPTH e MC. Assim, as micropartículas apresentam mistura das formas polimórficas β (MC) e β' (OPTH), com pouca variação entre as intensidades dos picos. De acordo com Carvalho *et al.* (2019), as partículas formadas com cristais β são mais ordenadas e densas, não tendo retenção eficaz do ativo no interior da partícula, promovendo liberação antecipada do ativo no meio. Mais sobre a eficácia da retenção será discutido no tópico 3.1.7 e no 3.2.1.

O único tratamento produzido que apresentou somente o perfil polimórfico β' (3,8 e 4,2 Å) foi o PLM_100:0, que não contém MC em sua formulação. A aparição de um terceiro pico, nestas micropartículas, de intensidade média e a esquerda do pico principal do OPTH causa estranheza por se assemelhar ao pico característico da MC, mas existe duas hipóteses principais que explicam esse pico. A primeira é sobre a alteração no perfil polimórfico pela adição do extrato de hibisco. Por este tratamento não ter como material de parede uma mistura lipídica, sendo o OPTH o único material de parede, o efeito da adição do extrato de hibisco foi mais intenso, apresentando um pico maior e mais intenso. A segunda hipótese é acerca da caracterização dos materiais de parede. Os difratogramas dos materiais de parede foram realizados com os materiais puros e não após o processamento destes no *spray chiller*. De acordo com Procopio *et al.* (2018), alguns autores notaram diferenças nos hábitos polimórficos entre os materiais de parede puros e após processamento no *spray chiller*, que podem ser explicadas pelo rápido resfriamento que o material lipídico é submetido durante a técnica.

Os materiais lipídicos são misturas complexas de triacilgliceróis assim, diferentes formas polimórficas podem coexistir a uma determinada temperatura. Lipídios que se apresentam na forma polimérica β' tem maior funcionalidade por se apresentarem de forma macia, suportam boa aeração e tem propriedades de formação de creme. Contudo, lipídios que se apresentam na forma β , produzem cristais granulares grandes, sendo desenvolvidos produtos arenosos com potencial de aeração baixo, afetando as propriedades macroscópicas dos alimentos. Desta forma, lipídios com a forma β' tem maior interesse e funcionalidade na produção de alimentos ricos em gordura (CALLIGARIS *et al.*, 2018). O tratamento PLM_40:60, apresenta aspecto arenoso e mais aglomerações que os demais tratamentos. Os tratamentos PLM_50:50 e PLM_60:40 também apresentaram grandes aglomerações pelo conteúdo alto de MC em suas formulações e, conseqüentemente, maior intensidade nos picos característicos do difratograma da MC. Assim, devido ao conteúdo de MC, esses tratamentos apresentam cristais β , o que afeta a produção de micropartículas de diâmetros menores e com menos aglomerações. As curvas de fusão dos tratamentos mostram que a temperatura de fusão é menor quanto maior é o conteúdo de MC no tratamento. Desta forma, é estabelecido que quanto maior o conteúdo de manteiga de cacau na amostra, mais intensa é a formação de cristais β e mais aglomerado é o aspecto das micropartículas. Isso pode ser explicado devido a temperatura ambiente ser próximo do ponto de fusão da manteiga de cacau (32,5 °C), influenciando diretamente na cristalização das partículas, com estas se comportando de forma coesa e adesiva (FONGIN *et al.*, 2017).

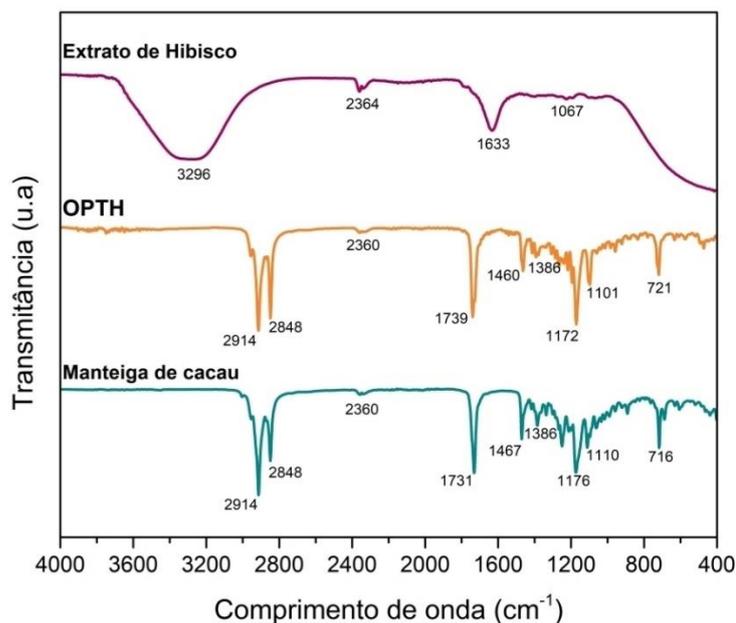
3.1.3 Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

As análises FTIR permitem identificar grupos funcionais, uma vez que cada grupo funcional absorve a radiação em uma característica frequência do espectro infravermelho. As medidas do FTIR foram realizadas para extrato de hibisco e materiais lipídicos puros (Figura 4).

Como mostra a figura 4a, o espectro do FTIR para o extrato de hibisco apresentou diversas bandas largas e de intensidade forte em 1067, 1633, 2364 e 3296 cm^{-1} . A banda larga e forte em 3296 cm^{-1} corresponde a uma ligação do grupo hidroxila (OH), realizando deformação axial, que é resultante de uma associação polimérica. Essa banda geralmente significa moléculas de compostos solúveis em água como os compostos fenólicos. Em 1633 cm^{-1} é indicada uma ligação alongada, com forte intensidade, do grupo carbonila (C=O) denotando compostos fenólicos. Como a frequência de deformação axial desse grupo é sensível

aos átomos a ele ligados, os grupos funcionais comuns absorvem em valores característicos. Nesse caso, o grupo funcional que apresenta vibrações de deformação axial próximo a 1690 cm^{-1} são as amidas. A amida presente é dissubstituída (terciária), R-CO-NR_2 , pois apresenta C=O entre 1680 a 1630 cm^{-1} , mas não apresenta deformação axial do grupo N-H . Observa-se a ocorrência de efeito de ressonância quando elétrons do par isolado em átomo de hidrogênio conjugam-se com o grupo carbonila, resultando no aumento do caráter de ligação simples e, conseqüentemente, na diminuição da frequência de absorção C=O , deixando a frequência de absorção baixa. A banda estreita e de intensidade baixa em 1067 cm^{-1} corresponde a um alongamento do grupo C-O-C , compostos fenólicos presentes no extrato vegetal. A vibração de deformação axial C-O-C assimétrico leva a uma única absorção forte devido a ésteres, em torno de 1120 cm^{-1} . Além disso, como C=O e O-H estão presentes, existe a presença de ácidos com banda larga em 2364 cm^{-1} , que normalmente se sobrepõe à deformação axial C-H (BUARKI *et al.*, 2022; ELEMKE; ONWUDIWE; MBONU, 2021; MENSAH-DARKWA *et al.*, 2021; SAIDIN *et al.*, 2022).

Figura 4 - Espectro de FTIR do extrato de hibisco e materiais lipídicos puros.



Nas figuras 4b e 4c, são apresentados abaixo as medidas de FTIR para manteiga de cacau (MC) e o óleo de palma totalmente hidrogenado (OPTH), respectivamente. Os espectros de FTIR de OPTH e MC apresentaram diversas bandas em comum ou próximas relacionadas a

lipídios. Foram detectadas várias bandas de metileno (CH_2), sendo em 2914 e 2848 cm^{-1} vibrações fortes do tipo deformação axial, bandas fracas em 1467 e 1460 cm^{-1} com grupos metilenos com dobramentos do tipo deformação tesoura e em 1386, 1176, 1172, 1110 e 1101 cm^{-1} bandas de grupos metilenos do tipo deformação axial simétrico. As bandas largas e de intensidades fortes 1739 e 1731 cm^{-1} , respectivamente, do OPTH e da MC, apresentam vibrações do tipo deformação axial de grupos de ésteres com pelo menos dois radicais saturados formando os lipídios utilizados como material de parede. Ademais, as bandas largas de intensidade média em 721 e 716 cm^{-1} ocorrem devido a sobreposição da vibração de grupos de metileno representam vibrações do tipo deformação axial causado por forças fora do plano das olefinas cis-dissubstituídas (MUNAJAD; SUBROTO; SUWARNO, 2017; SATAPATHY *et al.*, 2020).

3.1.4 Morfologia (MEV)

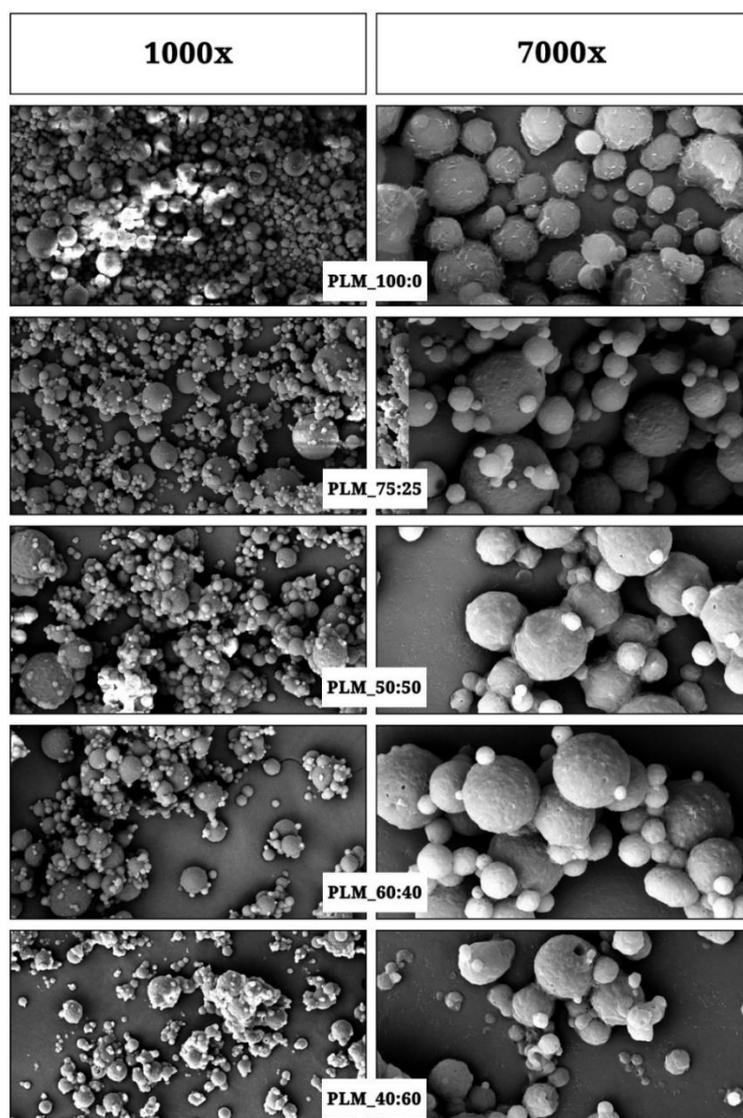
A Figura 5 apresenta as micrografias, obtidas pelo microscópio eletrônico de varredura, das micropartículas de antocianinas de extrato de hibisco de cada tratamento, sendo utilizada as magnitudes de 1000x e 7000x para avaliar a morfologia das partículas, principalmente a superfície das partículas unitárias e o comportamento de aglomeração. As micropartículas apresentaram formas esféricas e superfícies ásperas, típicas de partículas obtidas pela técnica *spray chilling* (ORIANI *et al.*, 2016). Segundo Consoli *et al.* (2016), as micropartículas produzidas no *spray chiller* são do tipo matriz, com material ativo disperso por toda a micropartícula e não só no centro. Os tratamentos apresentaram variações de tamanho que estão relacionadas a diferentes proporções entre OPTH e MC. As aglomerações podem ser explicadas pela solidificação incompleta do material lipídico na câmara resfriada (CONSOLI *et al.*, 2016b).

Desta forma, quanto maior o conteúdo adicionado de manteiga de cacau como material de parede mais aglomerada é a morfologia das micropartículas formadas. Também, a maioria dos tratamentos apresentaram superfícies sem rachaduras. Esta é uma vantagem durante a estabilidade das micropartículas e também durante a liberação controlada do ativo, podendo encapsular melhor as antocianinas, protegendo contra a degradação oxidativa durante o armazenamento (DO CARMO *et al.*, 2021).

O tratamento PLM_100:0 apresentou cristais na superfície das micropartículas. Segundo Consoli *et al.* (2016), esses cristais aparentemente são formados devido ao óleo de palma totalmente hidrogenado (OPTH) utilizada como material de parede. O OPTH tem ponto

de fusão entre 51,1 e 59,7 °C e durante o processo de atomização no *spray chiller* pode ter ocorrido solidificação parcial, surgindo cristais de lipídios na superfície. Comportamento semelhante foi encontrado por Oriani *et al.* (2016) na produção de micropartículas lipídicas sólidas de oleoresina de gengibre. Segundo Consoli *et al.* (2016), a presença destes cristais pode ser explicada pelo alto teor de ácido esteárico, que também é o ácido graxo com maior composição presente na OPTH.

Figura 5 - Micrografias das micropartículas de extrato de hibisco em diferentes tratamentos produzidas pela técnica *spray chilling*.



Com exceção de PLM_100:0, todos os outros tratamentos apresentaram orifícios na superfície das micropartículas. É importante lembrar que apenas o tratamento PLM_100:0 não contém MC, então, existe relação entre o surgimento de orifícios com a adição de MC na

mistura do material de parede. Quanto maior o teor de MC no tratamento, maiores são os orifícios observados nas micropartículas.

O tratamento PLM_75:25 apresenta rugosidade reduzida quando comparada com os outros tratamentos. Os outros tratamentos com adição de MC apresentam rugosidades que podem ser explicadas também pelo conteúdo de MC deixando as partículas menos esféricas do que o tratamento PLM_75:25. Segundo Carvalho *et al.* (2019), este comportamento da micropartícula produzida somente com OPTH pode ser explicado pela composição homogênea dos TAG da OPTH que formam cristais de tamanhos diversos. A adição de um outro material lipídico para a formação de micropartículas potencializa a incorporação do composto bioativo no interior da micropartícula, bem como retarda a difusão dos compostos hidrofílicos.

De acordo com Consoli *et al.* (2016), o polimorfismo, diâmetro médio e comportamento de cristalização interferem na morfologia da superfície, com mudanças físicas na micropartícula (superfície lisa ou rugosa), e, também, nas características na textura, como aspecto arenoso. Os autores também afirmam que os orifícios podem facilitar a migração do material encapsulado para a superfície das micropartículas.

3.1.5 Diâmetro médio e índice de polidispersibilidade (*Span*)

A determinação do tamanho das partículas é importante, pois afeta diretamente as características sensoriais dos produtos em que as micropartículas são adicionadas (CONSOLI *et al.*, 2016). A Tabela 1 apresenta os valores dos diâmetros médios e índice de polidispersibilidade (*span*) das micropartículas. O diâmetro das micropartículas variou de 12,35 a 18,34 μm . As amostras PLM_60:40 juntamente com o PLM_40:60 foram os que obtiveram os maiores diâmetros médios não apresentando diferença estatística entre si, seguido do tratamento PLM_50:50 que não teve diferença significativa quando comparado com o PLM_40:60, mas se difere estatisticamente dos demais. O tratamento PLM_100:0 apresentou o menor diâmetro, seguido de PLM_75:25.

Tabela 1 - Propriedades de micropartículas sólidas com diferentes proporções de óleo de palma totalmente hidrogenado e manteiga de cacau.

| Tratamen | D _{4,5} (μ m) | Span | Densidad aparente (kg/m ³) | Densidad compactad (kg/m ³) | Índice de C - IC (%) | Razão d Hausner (| Antocianinas t (mg cianidina soforosídeo/10 micropartícul | Retenção d encapsulaç inicial (%) | Atividade água (av | Atividade antioxidant DPPH (AA | Parâmetros de cor | | |
|----------|--------------------------------|------------|--|---|-------------------------|----------------------|--|---|-----------------------|--------------------------------------|------------------------|---------|---------|
| | | | | | | | | | | | L* | C* | h° |
| PLM_100 | 12,35 ± | 0,57 ± 0,0 | 321 ± 0,0 | 448 ± 0,02 | 28 ± 1,3 | 1,4 ± 0,0 | 6077 ± 0,55 | 71,97 ± 1,69 | 0,983 ± 0,0 | 76,00 ± 1,26 ^{a,b} | 67 ± 0,06 ^a | 25 ± 0, | 22 ± 0, |
| PLM_75:2 | 14,70 ± | 0,55 ± 0,0 | 313 ± 0,0 | 436 ± 0,00 | 28 ± 1,5 | 1,4 ± 0,0 | 5686 ± 0,82 | 67,33 ± 0,9 | 0,986 ± 0,0 | 79,37 ± 3,92 ^a | 66 ± 0,21 ^b | 26 ± 0, | 25 ± 0, |
| PLM_50:5 | 15,22 1,07 ^t | 0,40 ± 0,0 | 306 ± 0,0 | 440 ± 0,00 | 30 ± 1,5 | 1,4 ± 0,0 | 5373 ± 3,44 | 61,60 ± 5,0 | 0,985 ± 0,0 | 78,33 ± 1,22 ^{a,b} | 67 ± 0,46 ^a | 24 ± 0, | 29 ± 0, |
| PLM_60:4 | 18,34 ± | 0,42 ± 0,0 | 252 ± 0,0 | 398 ± 0,01 | 37 ± 5,6 | 1,6 ± 0,1 | 4319 ± 0,93 | 51,15 ± 0,4 | 0,989 ± 0,0 | 78,50 ± 0,91 ^{a,b} | 67 ± 0,30 ^a | 24 ± 0, | 28 ± 0, |
| PLM_40:6 | 17,78 1,37 ^e | 0,46 ± 0,1 | 279 ± 0,0 | 440 ± 0,00 | 37 ± 1,0 | 1,6 ± 0,0 | 7299 ± 2,11 | 86,44 ± 0,9 | 0,949 ± 0,0 | 74,86 ± 1,40 ^b | 60 ± 0,56 ^c | 27 ± 0, | 25 ± 0, |

Nota: ^{a,b,c,d,e} As médias seguidas pelas mesmas letras na mesma coluna não diferem significativamente ($p > 0,05$) usando o teste de Duncan.

Esses valores alinhados com as proporções de material de parede de cada tratamento mostram que o aumento do diâmetro médio das partículas acompanhou o aumento do conteúdo de manteiga de cacau nos tratamentos. O mesmo pode ser analisado através do tratamento PLM_100:0 que não teve adição de manteiga de cacau e apresentou o menor diâmetro. Além disso, todos os outros parâmetros relacionados ao diâmetro apresentaram resultados desfavoráveis quanto maior era o conteúdo de manteiga de cacau.

O aumento do diâmetro com a adição de manteiga de cacau pode ser explicado devido ao menor ponto de fusão apresentado por esse material de parede. Com isso, o processo de cristalização é mais lento e as micropartículas formadas podem ainda conter lipídios líquidos, causando desordem na rede cristalina formada. Segundo Procopio *et al.* (2018), esse ponto de fusão menor pode ser explicado pelo aumento na proporção de ácidos graxos insaturados que, conseqüentemente, diminui o ponto de fusão da matriz lipídica, causando aglomerações entre as micropartículas. Assim, os lipídios insaturados contidos na manteiga de cacau geram aglomerações entre partículas de diferentes tamanhos, devido ao fenômeno de aglutinação e/ou coalescência, impedindo que seja medido de forma efetiva o tamanho da partícula, por causar uma distribuição heterogênea (CARVALHO *et al.*, 2019; CONSOLI *et al.*, 2016). Além disso, o ponto de fusão mais baixo do material lipídico está relacionado com o aumento no tamanho de partículas.

De acordo com Procopio *et al.* (2018), é difícil a descoberta do diâmetro médio real das partículas devido as aglomerações formadas e, dessa forma, são esperados desvios padrões elevados. Essa afirmação é confirmada com os resultados elevados do desvio padrão do tratamento PLM_40:60, que visualmente apresentou maiores aglomerações. Além disso, a pressão de atomização, diâmetro do bico atomizador e temperatura da câmara fria são fatores que influenciam diretamente no diâmetro média e no índice de polidispersibilidade das partículas lipídicas microestruturadas.

O índice de polidispersibilidade (*span*) representa o equilíbrio e a distribuição do tamanho das partículas, ou seja, quanto mais próximo de 1 é o *span*, mais heterogênea ou polidispersa é a sua distribuição, ou seja, mais variado são os tamanhos das partículas. O índice de polidispersibilidade (*span*) dos tratamentos não apresentaram diferenças significativas entre si, apresentando valores entre 0,398 a 0,565. No entanto, o tratamento que apresentou menor índice *span* foi o PLM_50:50, tratamento este com a mesma proporção de OPTH e MC, indicando larguras da distribuição de tamanho menor, ou seja, menor homogeneidade. O tratamento que apresentou maior homogeneidade no tamanho foi PLM_100:0.

3.1.6 Densidade aparente, densidade compactada, fluidez e coesividade

Os resultados para densidade aparente, densidade compactada, fluidez (índice de Carr) e coesividade (razão de Hausner) estão descritos na tabela 1. O estudo destes parâmetros está diretamente conectado com a escolha do tamanho e modelo escolhido de embalagem para armazenamento e venda, garantindo a estabilidade das micropartículas produzidas pela técnica de *spray chilling*. Além disso, esses parâmetros são propriedades físicas que definem qualitativamente a dispersão das micropartículas formadas (PUGLIESE *et al.*, 2017).

Os menores valores de densidade aparente foram obtidos nos tratamentos PLM_60:40 e PLM_40:60, respectivamente, sendo estes significativamente diferente ($p < 0,05$) dos outros tratamentos. Os demais tratamentos não apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre si. A menor densidade compactada e significativamente diferente ($p < 0,05$) dos demais tratamentos foi observada no tratamento PLM_60:40.

Valores de densidade aparente e de densidade compactada tem relação com o diâmetro médio das micropartículas (D_{43}) formadas. O tratamento PLM_60:40 apresentou o maior valor para D_{43} e menores valores para as densidades aparente e compactada, ou seja, quanto maior é o D_{43} , menor é a quantidade de micropartículas que cabem em um determinado volume, conseqüentemente, menores são as densidades calculadas. Quanto mais organizadas e cristalinas forem as micropartículas, menor é seu D_{43} e maiores são suas densidades aparente e compactada.

Com os dados de densidade aparente e compactada, dois parâmetros qualitativos são calculados, o índice de Carr (IC) e a razão de Hausner (RH). O índice de Carr, também chamado de índice de compressibilidade, mede a capacidade que um pó tem de reduzir seu volume a partir de batidas, ou seja, a fluidez deste pó. A razão de Hausner, indica a coesão, ou seja, a atração entre os átomos ou moléculas do pó em estudo. A coesão resulta de interações químicas e físicas das micropartículas. Os fatores que interferem na coesão são: composição química, tamanho de partículas, teor de umidade e estrutura da amostra. Esses dois parâmetros são inversamente relacionados com o tamanho das micropartículas (MUTLU; KOÇ; ERBAŞ, 2020; PUGLIESE *et al.*, 2017).

Efetivamente, ao continuar a comparação dos valores de D_{43} com os parâmetros que definem qualitativamente a dispersão, os tratamentos PLM_60:40 e PLM_40:60 apresentam valores significativamente iguais ($p < 0,05$) e maiores dentre os tratamentos para D_{43} , IC e RH. Então, D_{43} é diretamente relacionado com os valores quantitativos obtidos para IC e RH, mas

indiretamente relacionado com os valores qualitativos de IC e RH. Ou seja, segundo Pugliese *et al.* (2017), os valores obtidos para IC e RH caracterizam a dispersão destes tratamentos com fluidez (32-37%) e coesividade (1,46-1,60) muito baixas.

Os tratamentos que exibiram os menores diâmetros médios das micropartículas (D_{43}), apresentaram os maiores valores qualitativos para fluidez e coesividade. Os tratamentos PLM_100:0, PLM_75:25 e PLM_50:50, segundo as especificações de IC e RH apresentadas por Pugliese *et al.* (2017), apresentam difusão com baixa fluidez (26-31%) e baixa coesividade (1,46-1,60), com micropartículas mais fáceis de serem manipuladas e com menores aglomerações, quando comparadas aos demais tratamentos. Os outros tratamentos, já citados, têm difusão com fluidez e coesividade muito baixas. Segundo Procopio *et al.* (2018), partículas maiores tem melhor escoamento que partículas menores, assim as aglomerações podem melhorar as propriedades de fluxo. Contudo, a aglomeração excessiva leva ao defeito em pós conhecido por *caking*, que é a formação de grandes grumos resultando na perda de qualidade.

3.1.7 Conteúdo total de antocianinas, retenção de encapsulação inicial e atividade de água

Os valores de atividade de água das micropartículas podem vistos nas Tabela 1. O tratamento PLM_40:60 foi o que apresentou menor atividade de água (0,949), seguido dos tratamentos PLM_100:0 (0,983), PLM_50:50 (0,985) e PLM_75:25 (0,986) que não apresentaram diferença significativa entre si, sendo o tratamento PLM_60:40 (0,989) o que apresentou maior atividade de água. Contudo, segundo Bhat, Alias e Paliyath (2012), somente microrganismos especializados produzem enzimas capazes de utilizar polissacarídeos, lipídios e proteínas, como fontes de energia e carbono. Desta forma, devido à falta de nutrientes necessários obtidos de moléculas simples, não é preocupante a deterioração destas micropartículas por microrganismos.

Além disso, o alto teor de atividade de água nas micropartículas pode ser explicado através da escolha da técnica de *spray chilling*. No *spray chiller* podem ocorrer pequenas perdas dos compostos de interesse devido alterações na temperatura e presença de luz, mas não ocorre evaporação do líquido e sim pulverização seguida de solidificação das micropartículas lipídicas, transformando a emulsão em pó. Dessa forma, a alta atividade de água contida nas micropartículas se refere ao conteúdo de água contido no extrato de hibisco, podendo inferir que o extrato foi eficientemente englobado no sistema lipídico após o processo de *spray chilling*.

Corroborando com os resultados de atividade de água, foi obtida o melhor resultado de retenção de encapsulação inicial (REI), cerca de 86%, para o tratamento PLM_40:60, demonstrando que a proporção utilizada de material de parede nessa formulação favoreceu o englobamento das antocianinas. A REI dos tratamentos PLM_40:60 e PLM_100:0 apresentaram melhor eficiência não tendo diferença significativa entre si, seguidos do tratamento PLM_75:25 que também não demonstrara diferença significativa com PLM_100:0 e por último os tratamentos PLM_50:50 e PLM_60:40 com os menores valores de REI, respectivamente.

Entretanto, nota-se que apenas as formulações PLM_100:0, PLM_75:25 e PLM_40:60 apresentaram retenção de encapsulação acima de 65%. No entanto, vale ressaltar que a mistura entre lipídios sólidos e líquidos podem criar estruturas desordenadas nas micropartículas, facilitando a incorporação de compostos ativos, como foi no caso do tratamento PLM_40:60 e PLM_75:25. Apesar de PLM_100:0 ter apresentado altos valores de retenção de encapsulação, estudos relatam que uma estrutura cristalina e totalmente organizada, com somente um lipídio saturado, pode expulsar o composto ativo durante o armazenamento. Ademais, tratamentos como PLM_40:60, com altas concentrações de lipídios insaturados podem facilmente fundir e também expulsar o ativo de dentro do núcleo (MÜLLER; RADTKE; WISSING, 2002).

Quando analisamos o valor de antocianinas totais o tratamento PLM_40:60 foi a que apresentou maior concentração, seguido dos tratamentos PLM_100:0, PLM_75:25, PLM_50:50 e PLM_60:40. Com este resultado e com a retenção de encapsulação, verifica-se que a adição de manteiga de cacau for economicamente viável, a formulação PLM_40:60 se torna de interesse por apresentar maior conteúdo inicial de antocianinas. Contudo, é necessário verificar através de análise de estabilidade ao armazenamento o comportamento destas formulações de micropartículas.

3.1.8 Capacidade antioxidante total pela captura do radical livre (DPPH)

A análise da atividade antioxidante é importante pois a redução do estresse oxidativo pelos compostos antioxidantes cumpre papel importante na melhoria da saúde do consumidor, prevenindo contra câncer, doenças cardiovasculares e neurodegenerativas (CARVALHO *et al.*, 2020). O principal composto fenólico, que atua como um composto antioxidante, presente no hibisco da espécie *Hibiscus rosa-sinensis* é a cianidina-3-soforosídeo.

Foi avaliada a capacidade das micropartículas de antocianinas de extrato de hibisco na redução de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil). Os valores obtidos pela atividade antioxidante

(AA%) em porcentagem de redução do DPPH são mostrados na Tabela 1. De modo geral, os tratamentos apresentaram resultados de AA% acima de 70%, com variação na faixa de 74,86 – 79,37 %.

Dentre todos as formulações, o tratamento PLM_75:25 apresenta a maior atividade antioxidante. Alinhando a AA% obtida com o índice de Carr e a razão de Hausner, já que esse tratamento apresentou fluidez e coesão melhores que o tratamento PLM_40:60, que por sua vez apresentou a menor AA%. Esses resultados confirmam que as micropartículas com piores dispersões não se misturam completamente com o meio de disseminação, não liberando o ativo para reduzir o DPPH. Além disso, o tratamento PLM_75:25 apresentou o segundo menor diâmetro, que colabora para que a dispersão ocorra de forma mais rápida.

Mesmo apresentando o maior conteúdo de antocianinas totais e melhor retenção de encapsulação, o tratamento PLM_40:60 teve menor atividade antioxidante. Uma possível explicação é que por ser caracterizado com dispersão ruim, as micropartículas mais coesas e mais aglomeradas podem ter dificultado a liberação os ativos no meio no mesmo período de tempo que os demais tratamentos, facilitando a captura de radicais livres e interferindo nos resultados obtidos. As micropartículas de PLM_40:60 também apresentaram menores temperaturas de fusão e cristalização, formando aglomerações maiores, com arranjo cristalino prejudicial para a liberação das antocianinas.

Segundo Da Silva, Wiest e Silva (2016), valores de AA% superiores a 70% definem compostos de elevada ação antioxidante, valores entre 50% a 70% apresentam moderada ação antioxidante e valores abaixo são considerados de baixa atividade antioxidante. No estudo dos autores, o hibisco vermelho foi classificado com atividade antioxidante moderada. Este resultado é diferente do presente trabalho, pois a ação antioxidante do hibisco foi superior a 70%, confirmando o hibisco vermelho com elevada ação antioxidante.

A atividade antioxidante dos compostos é relacionada diretamente com a estabilidade dos compostos fenólicos. A capacidade antioxidante depende de outros fatores como propriedades coloidais dos substratos, oxidação e localização dos antioxidantes. Assim, os altos coeficientes mostraram relação direta entre as antocianinas do hibisco e atividade antioxidante.

De acordo com Chen *et al.* (2020), o método DPPH apresenta limitações como sobreposições na faixa de absorção UV entre antioxidantes e radicais DPPH, faixa linear estreita, entre outros. Os autores confirmaram que as perdas de ação antioxidante são consistentes com as perdas de antocianinas durante armazenamento de produtos alimentícios,

confirmando a ação antioxidante das antocianinas em conjunto com outros compostos bioativos antioxidantes.

3.1.9 Parâmetros de cor

Os parâmetros de cor são parâmetros sensoriais que determinam a qualidade e interferem na escolha do cliente. A cor que caracteriza as flores do hibisco da espécie *hibiscus rosa-sinensis* pode variar, mas é devido às antocianinas, especificamente, a cianidina-3-soforosídeo.

O pó formado do extrato de hibisco através da técnica de *spray chilling* têm aplicação como corante natural por ter conteúdo elevado de antocianinas, podendo ser substituinte de corantes artificiais. Como pode ser visualizado na Figura 1 todos os tratamentos exibiram um pó de coloração rosa. Os parâmetros de cor obtidos das micropartículas lipídicas sólidas de extrato de hibisco são mostrados na Tabela 1

Analisando o parâmetro L*, os tratamentos que apresentaram maior luminosidade foram PLM_100:0, PLM_50:50 e PLM_60:40, não tendo diferença significativa ($p < 0,05$) entre si, seguidos dos tratamentos PLM_75:25 e o PLM_40:60, respectivamente. Esses resultados sugerem que a alta concentração de óleo de palma totalmente hidrogenado (OPTH) influenciou na luminosidade das amostras, provavelmente devido a sua coloração amarelada, uma vez que o tratamento PLM_40:60, com maior concentração de manteiga de cacau (MC), apresentou a menor luminosidade comparado aos demais. Também, segundo Carvalho *et al.* (2020), o processamento no ultrassom aumenta significativamente os valores do parâmetro L* quando comparado com os resultados obtidos por emulsões não homogeneizadas. Além disso, o pior resultado apresentado por PLM_40:60 pode ser explicado pela característica semissólida do tratamento, em que a parte líquida apresenta no pó formado o aspecto de molhado, reduzindo a luminosidade.

Para o parâmetro C* o tratamento que apresentou o maior valor foi o PLM_40:60, seguido do PLM_75:25 e do PLM_100:0, os tratamentos PLM_50:50 e PLM_60:40 não apresentaram diferença significativa entre si. O parâmetro C* está relacionado à saturação das amostras, não existiu correlação entre as concentrações intermediárias dos materiais de parede e esses parâmetros, no entanto, a amostra de maior saturação foi aquela que continha a maior concentração de manteiga de cacau.

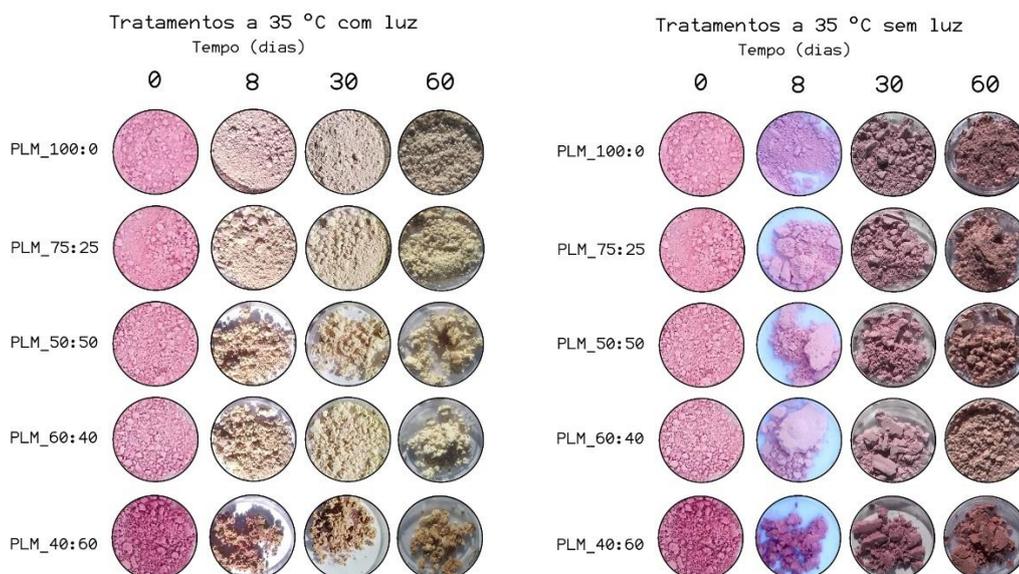
E por fim para o parâmetro h°, os tratamentos PLM_50:50 e PLM_60:40 foram os que apresentaram maior valor não apresentando diferença significativa entre si, seguido dos

tratamentos PLM_75:25 e PLM_40:60 que também não apresentando diferença significativa entre si e o tratamento PLM_100:0 foi o que apresentou menor valor. O resultado para PLM_100:0 pode ser explicado pelo alto teor de OPTH no tratamento, pois este material de parede tem coloração amarelada, apresentando assim uma coloração avermelhada mais singela, luminosa e menor saturada.

3.2 Estudo da estabilidade acelerada das PLM

Em vista dos resultados contrastantes obtidos nas análises anteriores, o estudo de estabilidade tem a finalidade de ajudar a definir resultados mais precisos e direcionados. As micropartículas foram produzidas com intuito principal de ser utilizada como corante de alimentos, mas também para enriquecer alimentos devido ao conteúdo de antocianinas e capacidade antioxidante. Desta forma, os tratamentos, durante o armazenamento, foram analisados quanto a retenção de encapsulação total, diferença total de cor (ΔE) e o comportamento dos grupos funcionais pelas análises de FTIR. Abaixo é apresentada a Figura 6 do estudo da estabilidade com os tratamentos fotografados no período de tempo de 0; 8; 30 e 60 dias.

Figura 6 - Amostras das micropartículas produzidas por *spray chilling* no período de tempo de 0; 8; 30 e 60 dias fotografadas nos ambientes com e sem luz.



A coloração das micropartículas de todos os tratamentos, armazenadas em ambiente com luz, perdeu a tonalidade rosa durante o período de estudo pela elevada fotodegradação das

antocianinas, sendo que o tratamento PLM_40:60 apresentou coloração amarronzada, que pode estar ligado a degradação de antocianinas que produz pigmentos nessa coloração marrom. A variação de cor é alta nas micropartículas armazenadas com presença de luz quando comparadas com as micropartículas armazenadas em ambiente com ausência de luz. A coloração amarelada que as micropartículas apresentam em 60 dias pode ser devido à oxidação lipídica dos materiais de parede e também devido a degradação das antocianinas, que durante a degradação sofrem alteração na estrutura e forma chalconas, que apresentam coloração entre amarelo e marrom. De acordo com Zhang *et al.* (2020), no decorrer do processamento térmico, as antocianinas sofrem reações de degradação, condensação com outros compostos e reações não enzimáticas de escurecimento, que causam pigmentos amarronzados.

O processo de degradação das antocianinas está relacionado a entrada de oxigênio pelos orifícios das micropartículas lipídicas favorecendo reações oxidativas. Esse processo é mais intenso nas micropartículas contendo MC verificando que apresentam mais orifícios quando comparadas com o tratamento PLM_100:0, conforme observado nas micrografias. Assim como os outros corantes naturais produzidos por plantas e vegetais, as antocianinas são sensíveis a luz, oxigênio, variação de temperatura, entre outros (ALIZADEH; FATTAHI, 2021; DUTHIE *et al.*, 2005; JUSOH *et al.*, 2018; PÉREZ-OROZCO *et al.*, 2019; ROSA, 2017).

Apesar de, inicialmente, os tratamentos se apresentarem com coloração rosa intensa (Figura 6), característica da antocianina do hibisco, estes não foram eficazes na retenção das antocianinas durante a estabilidade para a temperatura de 35 °C em ambiente com presença de luz. A degradação das antocianinas pela luz é evidente nos tratamentos que ficaram armazenados com a presença de luz. No oitavo dia a mudança de coloração das micropartículas já é muito destoante da coloração inicial.

Pode ter ocorrido degradação das antocianinas através do processo de clivagem. De acordo com Chen *et al.* (2020), o processo de clivagem causa a formação de compostos de coloração menos intensa, de forma que a mudança de coloração das micropartículas depende, principalmente, das mudanças estruturais das antocianinas durante o armazenamento.

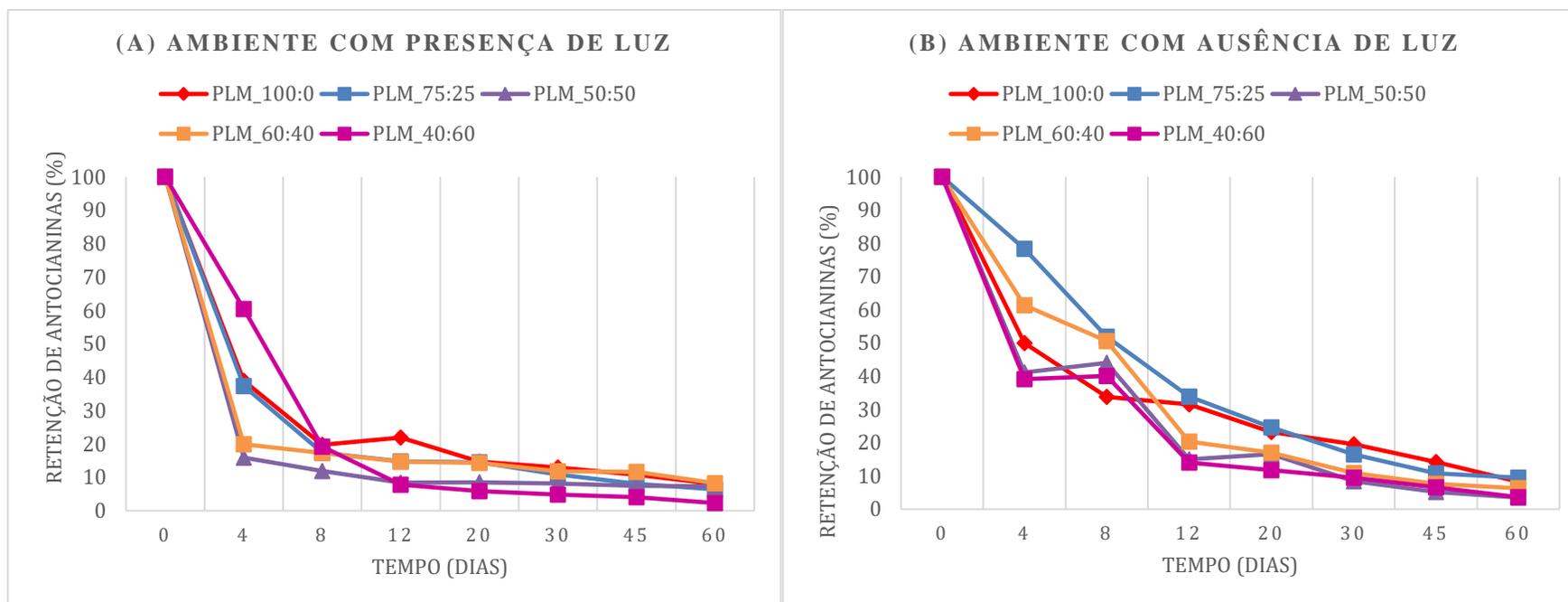
A cor visual dos tratamentos durante o estudo de estabilidade apresentada na Figura 6 colabora com o entendimento dos resultados dos parâmetros de cor, retenção de encapsulação e FTIR.

3.2.1 Retenção de encapsulação em relação ao conteúdo de antocianinas (RE)

Os gráficos de retenção de encapsulação em relação ao conteúdo de antocianinas para os tratamentos com e sem luz são apresentados na Figura 7. De modo geral, analisando os dois gráficos fica evidente que a temperatura de armazenamento de 35 °C exerceu influência sobre as antocianinas de todos os tratamentos nos dois ambientes pelo decréscimo da retenção que é apresentado logo nos primeiros dias de armazenamento. A variação de temperatura entre as etapas de produção das micropartículas (67 °C), temperatura de congelamento (-18 °C) e temperatura do estudo de estabilidade (35 °C) causa degradação das antocianinas. Além disso, é perceptível que a presença de luz em um dos ambientes acelera a degradação das micropartículas. As antocianinas e todos os corantes naturais são instáveis e susceptíveis a degradação devido a sensibilidade à luz e variação de temperatura (ALIZADEH; FATTAHI, 2021; DUTHIE *et al.*, 2005; JUSOH *et al.*, 2018; PÉREZ-OROZCO *et al.*, 2019; ROSA, 2017).

No ambiente com presença de luz, os tratamentos PLM_75:25, PLM_50:50 e PLM_60:40 a partir de 8 dias apresentam estabilização na retenção de encapsulamento de antocianinas. No ambiente sem luz, a estabilização ocorreu a partir de 12 dias para estes tratamentos. A ocorrência desse fenômeno pode ser explicada pela estabilização do comportamento polimórfico dos tratamentos durante o período de armazenamento. Segundo Oriani *et al.* (2018), a forma polimórfica garante a estabilidade do composto bioativo na matriz lipídica e a criação de uma matriz menos ordenada favorece a permanência do ativo na matriz. Com a mistura de lipídios com diferentes moléculas ocorre a formação de uma matriz com imperfeições, mantendo o ativo dentro da matriz e entre as cadeias. Para os tratamentos PLM_50:50 e PLM_60:40, a estabilização ocorre devido as aglomerações formadas, dificultando o processo de fotodegradação. A estabilidade do tratamento PLM_75:25 termina no período de 20 dias, do tratamento PLM_60:40 termina em 45 dias e o tratamento PLM_50:50 se apresentou estável até o final do estudo de estabilidade. De certa forma, para esses tratamentos, do ponto de vista da retenção de antocianinas ter aumentado, o conteúdo de MC foi reduzido. Ao passo que para o tratamento PLM_100:0 (sem adição de MC), a estabilidade da retenção teve início em 12 dias. Para esses o tratamento PLM_60:40, a explicação para que a retenção tenha estabilizado é que as aglomerações formadas podem ter dificultado o processo de fotodegradação. Assim, os tratamentos PLM_100:0 e PLM_60:40 apresentaram maiores valores de RE no final do estudo de estabilidade.

Figura 7 - Retenção de encapsulação total de antocianinas das micropartículas em ambiente com luz a 35 °C.



Para explicar a taxa de retenção acima de 60%, no período de 4 dias, para o tratamento PLM_40:60 no ambiente a 35 °C e com exposição direta a luz vamos lembrar os resultados obtidos na análise no MEV. Discutidas e visualizadas no tópico 3.1.4, as aglomerações do tratamento PLM_40:60 são as maiores, formando grumos e causando uma distribuição heterogênea das micropartículas. Contudo esse tratamento, tem maior teor de MC, apresentando morfologia mais instável em suas partículas e também poros. Esses fatores aceleram a liberação de ativo para o meio. Assim, a partir de 12 dias de armazenamento, o tratamento apresenta a menor taxa de retenção de encapsulação até o final do estudo de estabilidade.

Também, o tratamento PLM_40:60 apresenta em seu comportamento térmico picos característicos da MC mais intensos, apresentando intensidade da forma polimórfica β . Nesse sentido, o tratamento apresenta característica semissólida mais intensa, tendo boa parte da sua fase líquida próxima e/ou na superfície das micropartículas. Como vimos, os cristais formados pela forma polimórfica β são mais ordenados e densos, de forma que os ativos fiquem próximos ou na superfície, causando liberação antecipada. Ainda no comportamento térmico, a temperatura de fusão da MC aplicada é, por volta de, 22 °C, então, ao ser estudada a 35 °C, ocorre influência direta na cristalização das micropartículas, com as micropartículas apresentando comportamento coeso e adesivo.

Os tratamentos PLM_50:50, PLM_60:40 e PLM_40:60 apresentam os menores resultados para RE no final do armazenamento com ausência de luz. Sem a fotodegradação, a formação de aglomerações é menos intensa pois é provável que a luz aqueça o sistema, acelerando o processo de fusão das PLM, aumentando as aglomerações. Os tratamentos têm o maior conteúdo de lipídios insaturados, e, como visualizado nas micrografias obtidas no MEV, apresentam mais orifícios nas micropartículas, facilitando a liberação antecipada das antocianinas. Então, a partir do dia 8 os três tratamentos apresentam degradação mais rápida que os demais, reduzindo a RE destes para menos da metade. Assim, PLM_100:0 e PLM_75:25, se mantêm estabilizados, com taxa de retenção de encapsulação mais alta que os demais. Sendo assim, para o ambiente a 35 °C com ausência de luz, ter adicionado MC acima de 40% prejudicou a retenção das antocianinas nas PLM.

O comportamento polimórfico e térmico do tratamento PLM_100:0 apresentou o melhor resultado entre os demais tratamentos. Tem curva de fusão com temperatura elevada e forma polimórfica β' , enquanto todos os outros tratamentos apresentam duas formas polimórficas, β e β' , tendo estruturas mais instáveis. Contudo, a RE dos tratamentos sem a presença da luz durante armazenamento apresentou melhores resultados para o tratamento

PLM_75:25, com RE de 4 dias de 78,9 %, enquanto que para PLM_100:0 a RE foi 50,0 %. Para o período de 4 dias, os tratamentos PLM_60:40, PLM_50:50 e PLM_40:60 apresentaram RE de 61, 41,12 e 39%, respectivamente. A incorporação do ativo no interior do material parede das micropartículas de PLM_100:0 foi baixa pela falta de mistura lipídica. Apesar de apresentar temperatura de fusão e cristalização mais alta que a MC, a aplicação de somente OPTH como material de parede é mais instável do que a aplicação em conjunto com a MC. Tratamentos com menores conteúdos de gordura insaturada na formulação permitem que as micropartículas se cristalizem mais rápido. No entanto, a estrutura formada no tratamento PLM_100:0 é mais compacta, de acordo com a forma polimórfica e a densidades obtidas para o tratamento. Tratamentos com apenas um lipídio como material de parede favorecem a liberação antecipada do ativo nos primeiros dias de armazenamento das micropartículas. Os compostos bioativos são mais solúveis em lipídios líquidos. Em formulações com altos conteúdos de lipídios sólidos, a solubilidade do ativo é reduzida, aumentando a liberação. Em contrapartida, formulações com grandes conteúdos de lipídios insaturados apresentam grandes aglomerações, baixo ponto de fusão e cristalização, conseqüentemente, produzindo micropartículas com degradação acelerada do ativo (PROCOPIO *et al.*, 2018). Dessa forma, o tratamento PLM_75:25 apresenta a melhor retenção de encapsulação por apresentar mistura lipídica como material de parede com baixo conteúdo de MC.

Como os dois ambientes apresentam a mesma temperatura, é feita a suposição de que a degradação das antocianinas pela luz afeta substancialmente as micropartículas. No 8º dia as amostras dos tratamentos no ambiente com luz já apresentam pouca coloração rosada característica da cianidina-3-soforosídeo, principal antocianina do hibisco vermelho. Assim, comparando com os gráficos, a faixa de retenção de antocianinas no ambiente com luz para o período de 8 dias de armazenamento está, a cerca de, 11-20 %. Enquanto isso, a faixa de retenção de antocianinas no ambiente sem luz para este mesmo período de tempo é, aproximadamente, 33-52 %.

A temperatura de 35 °C aplicada nos dois ambientes induziu a saída de água das micropartículas. As gotículas de água nas superfícies das micropartículas dos tratamentos PLM_60:40, PLM_50:50 e PLM_40:60 formaram aglomerações mais intensas quanto maior era o conteúdo de MC. Essa afirmação corrobora com o aumento aparente que alguns tratamentos apresentam na retenção de antocianinas em alguns pontos nos gráficos de retenção de encapsulamento.

Portanto, os tratamentos de micropartículas de antocianinas do extrato do hibisco vermelho, produzidas pela técnica de *spray chilling*, quando armazenados a 35 °C, na ausência de luz, apresentam taxa de retenção de encapsulação baixa (<50%), após 12 dias. Para os tratamentos que foram expostos a luz direta durante o estudo de estabilidade esse resultado é ainda menor, tendo em vista que nenhum tratamento apresentou porcentagem de RE acima de 20 % depois de apenas 8 dias de armazenamento. Somente após 30 dias que os tratamentos que não foram expostos a luz não apresentaram mais RE acima de 20 %.

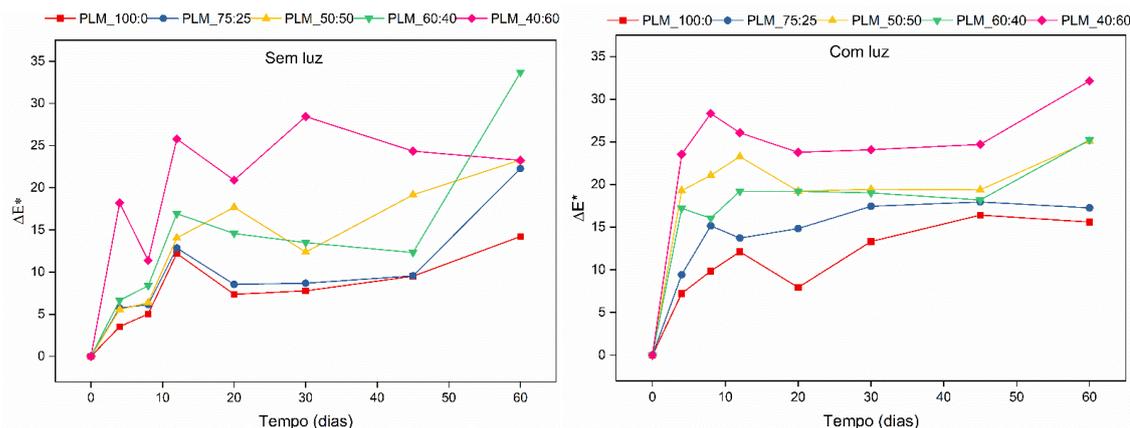
3.2.2 Parâmetros de cor

A cor é um parâmetro crucial para análise de estabilidade e degradação de antocianinas, uma vez que alterações nos parâmetros de cor indicam degradação de antocianinas e/ou liberação antecipada. A aceitação, valor comercial e decisão de compra de alimentos pelos consumidores é influenciada pela cor do produto (CHEN *et al.*, 2020; FIGUEIREDO, JAYNE *et al.*, 2020; PELISSARI *et al.*, 2016). A antocianina cianidina-3-soforosídeo é o composto bioativo que caracteriza a cor do hibisco vermelho da espécie *Hibiscus rosa-sinensis*.

Através dos resultados obtidos no colorímetro portátil (CR-10, Konica Minolta, Japão), foi realizada a medição dos parâmetros de cor $L^*a^*b^*$. A diferença entre a cor inicial das micropartículas de cada tratamento e a cor das micropartículas nos dias analisados é expressa como a diferença de cor total (ΔE). O resultado obtido por ΔE define se a amostra analisada apresenta similaridade com a coloração da amostra inicialmente analisada. Valores próximos de zero indicam similaridade com a amostra inicial.

Os valores de ΔE para todos os tratamentos ao longo dos dias delimitados para estudo de estabilidade em ambientes com a presença e com ausência de luz a 35°C, são apresentados na Figura 8. De acordo com os resultados apresentados na figura abaixo, as micropartículas armazenadas em temperatura de 35 °C em ambiente com luz direta apresentaram os maiores valores para ΔE devido à alta variação de cor comparada com as micropartículas armazenadas em ambiente sem luz. Para Figueiredo *et al.* (2020), a diferença total de cor (ΔE) é relacionada com os pigmentos escuros produzidos em reações não enzimáticas.

Figura 8 - Diferença de cor total (ΔE) por período de tempo (dias) das micropartículas produzidas e armazenadas com presença e em ausência de luz a 35 °C.



A diferença total de cor foi classificada de acordo com Cserhalmi *et al.* (2006). Os tratamentos armazenados em ambiente com luz apresentaram, a partir do 4º dia, diferença de cor total muito perceptível ($\Delta E > 6,0$). A alteração de cor mais evidente ao longo dos dias de estudo de estabilidade foi das micropartículas do tratamento PLM_40:60, devido a característica semissólida acentuada deste tratamento pelo maior conteúdo de MC. Apesar de inicialmente se apresentar com coloração rosa, característica da antocianina do hibisco, este tratamento não foi eficaz na retenção das antocianinas durante a estabilidade, comprovando que um teste de retenção aplicado no tempo inicial dos tratamentos não deve ser usado como parâmetro definitivo de apresentação de eficácia de um produto.

Os comportamentos térmico e polimórfico também podem ser relacionados com os resultados obtidos para os parâmetros de cor obtidos. A luminosidade (L^*) do tratamento PLM_40:60 é mais baixa que os demais pela formação de cristais β , densos e ordenados, prejudicando a retenção das antocianinas no interior das micropartículas formadas, aumentando a fotodegradação pelo conteúdo superficial de antocianinas. O tratamento PLM_40:60 também apresenta o menor ponto de fusão, então suas micropartículas estão mais susceptíveis a serem degradadas na temperatura de 35 °C. A mudança de cor do tratamento é apresentada na Figura 6.

Para o ambiente sem luz, a partir do dia 4 os tratamentos PLM_100:0, PLM_75:25 e PLM_50:50 apresentaram diferença de cor total bem perceptível ($3,0 < \Delta E < 6,0$) e os outros tratamentos apresentaram diferença de cor total muito perceptível ($\Delta E > 6,0$). O tratamento que apresentou maior variação durante o estudo de estabilidade foi o PLM_40:60. Contudo o tratamento que apresentou a maior variação de ΔE no último dia analisado foi o tratamento PLM_60:40.

Os tratamentos PLM_100:0 e PLM_75:25 apresentaram as menores variações de coloração. O tratamento PLM_100:0 apesar de apresentar valor menor para retenção de

encapsulamento que PLM_75:25, apresentou menores valores para ΔE durante o estudo de estabilidade. A variação de diferença de cor total seguiu o aumento do conteúdo de manteiga de cacau nos tratamentos, o que nos leva a crer que a manteiga de cacau tem grande influência da mudança de cor das micropartículas, provavelmente devido a oxidação dos ácidos graxos insaturados contidos na MC.

A obtenção do extrato de hibisco vermelho com característica de pó é de interesse para a indústria de alimentos. Além de seu uso como corante natural, reduzindo o uso de corantes sintéticos, o extrato de hibisco pode ser utilizado para enriquecimento nutricional de alimentos, como sorvetes, bebidas geladas, cervejas, bebidas lácteas, entre outros. O uso do hibisco vermelho reduz o estresse oxidativo devido a ação oxidante elevada. Pieracci *et al.* (2021) produziram cerveja artesanal utilizando hibisco como corante, contudo a aplicação conferiu também aroma e sabor peculiar, tornando a cerveja agradável de beber.

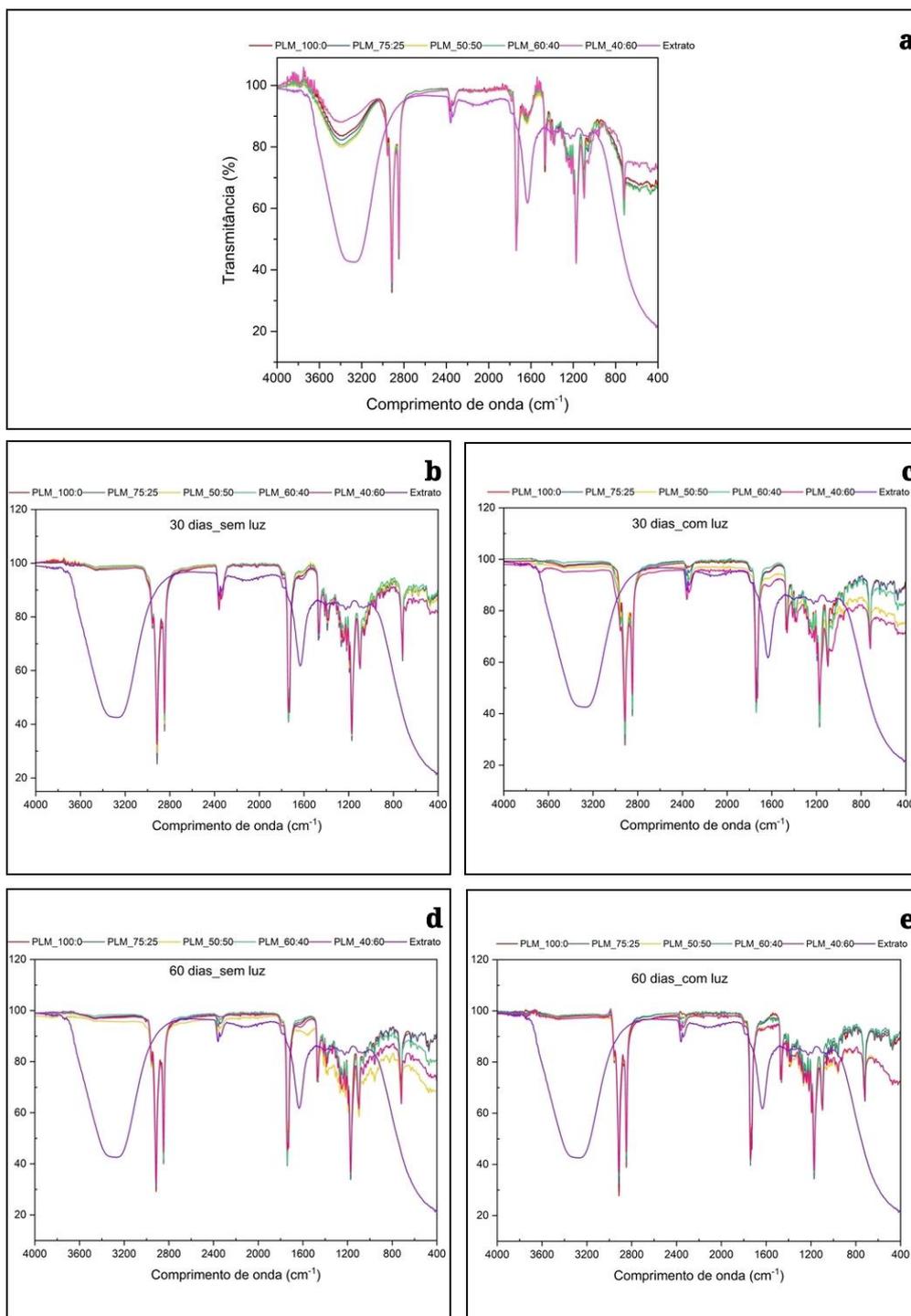
3.2.3 Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

A espectroscopia FTIR permite a análise das micropartículas, verificando as possíveis mudanças estruturais durante a encapsulação do ativo pelos materiais de parede escolhidos. A figura 9 apresenta os espectros de FTIR dos tratamentos durante o estudo de estabilidade para o período de tempo de 0, 30 e 60 dias nos ambientes com presença e ausência de luz.

No tempo 0, as micropartículas de todos os tratamentos apresentaram picos característicos dos materiais de parede (óleo de palma totalmente hidrogenado e manteiga de cacau) e também do extrato de hibisco, sugerindo a eficiência na incorporação do extrato de hibisco na matriz das micropartículas. O pico relacionado às antocianinas do extrato de hibisco é visualizado no espectro de FTIR das micropartículas em 3296 cm^{-1} .

As micropartículas de todos os tratamentos, em todos os tempos analisados, apresentaram grupos de metileno com vibrações do tipo deformação axial com intensidade forte e também bandas que se sobrepõe a deformação axial de C-H. Também, bandas largas e de alta intensidade de grupos de ésteres foram verificadas nas micropartículas produzidas, assim como vibrações do tipo deformação axial simétrica de grupos metileno e vibrações do tipo deformação axial fora do plano das olefinas cis-dissubstituídas. Esses grupos funcionais detectados são característicos dos materiais de parede lipídicos escolhidos, como foi discutido no tópico 3.1.3. Contudo, apenas no tempo 0 que é visualizada, com definição, a banda larga e forte correspondente ao grupo hidroxila realizando deformação axial devido a associação polimérica, que representa os compostos fenólicos do extrato de hibisco.

Figura 9 - Espectros de FTIR das micropartículas produzidas através da técnica de *spray chilling* para os dias 0, 30 e 60 nos ambientes com presença e ausência de luz.



O tratamento PLM_40:60 apresenta menos grupos OH livres, seguindo a literatura, por isso é apresentada com aspecto úmido. Assim, essa amostra reteve melhor as moléculas de água dentro das micropartículas influenciando na absorção da menor vibração do pico do grupo hidroxila (menor intensidade) comprovada através da menor atividade de água. Também, por

esse tratamento conter o maior conteúdo de manteiga de cacau e as partículas estão, em sua maioria, em estado amorfo, pode ter ocorrido maior mobilidade das moléculas, facilitando a saída da água contida na saída da água do extrato, contido nas micropartículas, que foi percebida na superfície das partículas durante o armazenamento.

Com as análises de retenção de encapsulação (RE) e parâmetros de cor das micropartículas durante o estudo de estabilidade, são discutidos os resultados obtidos pela espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier. Assim, de acordo com o gráfico de retenção, todos os tratamentos, independente do ambiente analisado, apresentaram baixa retenção de encapsulação ao final do estudo de estabilidade.

Nos espectros de FTIR do tempo de 30 dias para os dois ambientes estudados (Figuras 9b e 9c) ocorreu intensa redução, próxima da extinção, dos picos característicos dos compostos fenólicos presentes no espectro do extrato de hibisco (Figura 4a) no tópico 3.1.3. As bandas longas e intensas visualizadas em 3296 cm^{-1} e 1067 cm^{-1} , que correspondia aos compostos fenólicos do hibisco sendo, provavelmente, as antocianinas, não são apresentadas com intensidade significativa, comprovando a degradação severa das antocianinas.

O tratamento PLM_50:50, que apresenta menor retenção de encapsulação nos dois ambientes estudados no 30º dia (Figuras 9b e 9c), apresenta as mais fracas bandas características do espectro do extrato de hibisco. Quanto menor é o conteúdo de MC, mais intenso são os espectros dos tratamentos para os picos característicos do extrato de hibisco e, conseqüentemente, maior é a retenção. A menor intensidade dos picos é apresentada pelo tratamento PLM_40:60 que, de acordo com as outras análises, produz as micropartículas mais aglomeradas entre os tratamentos.

Para o espectro de FTIR para o período de tempo de 60 dias (Figuras 9d e 9e), os resultados obtidos foram semelhantes, com maior redução para os picos característicos de compostos fenólicos do extrato de hibisco. O tratamento PLM_50:50 tem menor intensidade em todos os picos e isso se explica por apresentar mistura de igual proporção para MC e OPTH.

Devido à baixa retenção de encapsulamento de todos os tratamentos e os altos valores obtidos para diferença total de cor desde os primeiros dias de estudo de estabilidade, o estudo dos espectros de FTIR não apresentaram novidades perante a discussão realizada antes desse teste, principalmente entre os dias 30 e 60. Segundo Carmo *et al.* (2021), esses resultados se alinham com o estudo da espectroscopia de infravermelho, pois concentrações baixas de antocianinas presentes nas micropartículas produz picos de bandas pouco desenvolvidas. Assim, é interessante que novas condições de estudo de estabilidade sejam pensadas para garantir resultados mais elaborados para somar a discussão.

3.3 Perfil de liberação – Digestibilidade simulada *in vitro*

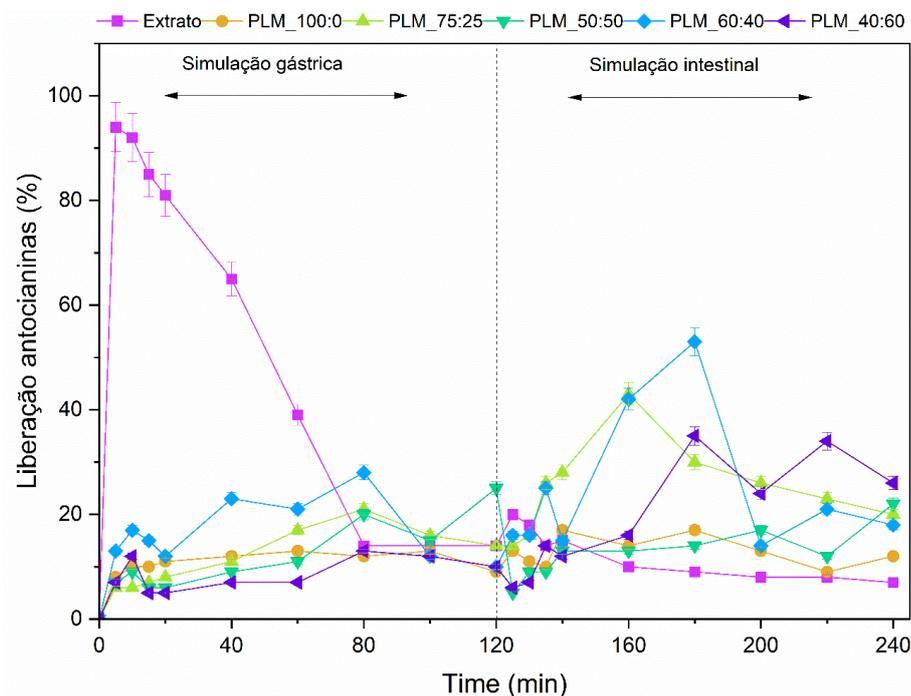
O intuito principal da encapsulação de antocianinas para este trabalho é o potencial corante do ativo, mas visualizar o perfil de liberação das antocianinas no sistema gastrointestinal é interessante pela elevada atividade antioxidante das antocianinas na redução do estresse oxidativo. Assim, o perfil de liberação é realizado para verificar se as micropartículas foram liberadas no intestino para garantir que a capacidade antioxidante das micropartículas seja eficaz.

O perfil de liberação das antocianinas do hibisco da espécie *Hibiscus rosa-sinensis* encapsuladas por *spray chilling* é apresentado na Figura 10, durante a exposição ao fluido gástrico simulado *in vitro* (FGS) e fluido intestinal simulado *in vitro* (FIS). As simulações gástrica e intestinal foram realizadas em processo contínuo, ou seja, o produto obtido para cada tratamento no final da simulação gástrica foi utilizado para realização da simulação intestinal, tal qual no sistema gastrointestinal humano.

O extrato de hibisco puro teve a maior liberação de antocianinas na fase gástrica. Por serem susceptíveis e instáveis, as antocianinas livres no extrato são degradadas com facilidade com a mudança de pH do extrato e do sistema gástrico simulado. As micropartículas produzidas foram resistentes ao FGS com baixa porcentagem de liberação ao longo de duas horas (entre 9 e 25%), apresentando comportamento de proteção dos ativos. É interessante que a liberação seja controlada no sistema gástrico para que os compostos bioativos sejam absorvidos pelo intestino.

Na fase gástrica (estômago) as micropartículas não se desintegram totalmente, dificultando a liberação das antocianinas. Os tratamentos PLM_100:0 e PLM_75:25, contudo, ao final da fase gástrica apresentam amostras mais difusas no meio aquoso, como já era esperado por apresentarem melhores resultados de fluidez e coesão, ou seja, apresentando melhor difusão. Assim, na fase intestinal o tratamento PLM_75:25 apresenta boa taxa de liberação de antocianinas no intestino, porém o tratamento PLM_100:0 não apresenta o mesmo resultado. Esse resultado do tratamento se deve pela formação de partículas mais densas e ordenadas, com a liberação das antocianinas superficiais para o meio aquoso, mas impedindo a liberação de antocianinas localizadas no interior da micropartícula.

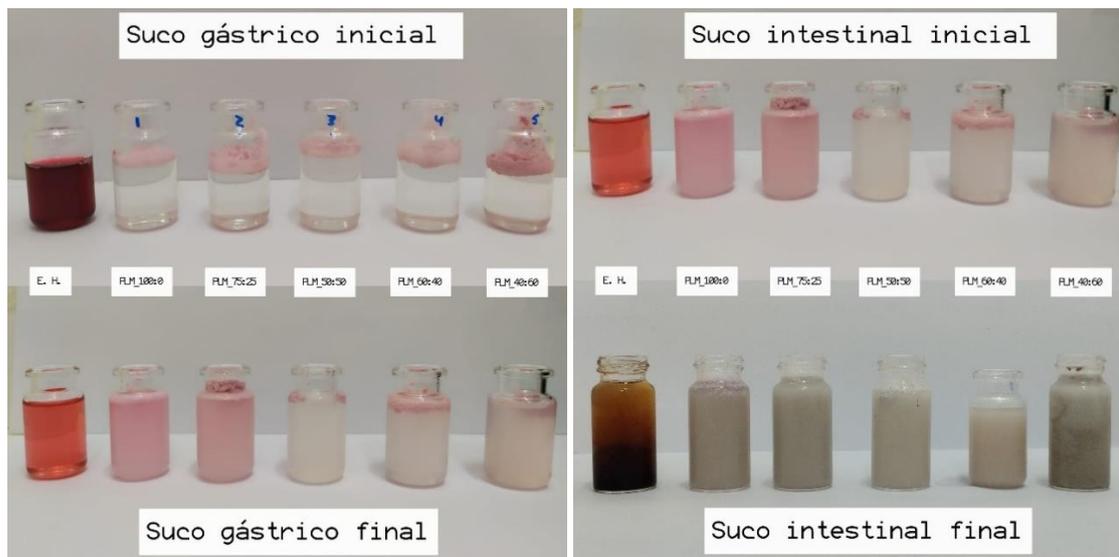
Figura 10 - Perfil de liberação gastrointestinal *in vitro* do extrato de hibisco e micropartículas de antocianinas de extrato de hibisco de cada tratamento.



O comportamento de liberação antocianinas na fase intestinal para os tratamentos PLM_100:0 e PLM_50:50 foi igual na fase gástrica, com taxa de liberação controlada de antocianinas baixa e constante. Apesar da taxa de liberação baixa, se comparadas com o perfil de liberação do extrato de hibisco puro, as antocianinas contidas nas micropartículas não foram totalmente degradadas, pois a taxa de liberação permanece constante durante os 240 minutos de análise gastrointestinal simulada. Este resultado é visto na Figura 11 com a solução contendo micropartículas apresentando coloração acinzentada, tendo a chance de ter partículas liberadas no fluido, e não amarronzada, como é típica da degradação das antocianinas.

Os tratamentos PLM_75:25, PLM_60:40 e PLM_40:60 apresentaram as melhores taxas de liberação de antocianinas na fase intestinal. Os tratamentos PLM_60:40 e PLM_40:60 podem ter esse resultado devido suas aglomerações que dificultaram a liberação das antocianinas na fase gástrica. O resultado do tratamento PLM_75:25 era esperado pelos melhores resultados apresentados por ser uma mistura lipídica com proporção de AG saturados (OPH) maior que de AG insaturados (MC), menor diâmetro médio de partículas, RE acima de 65%, melhores resultados de dispersão e maior AA%.

Figura 11 - Simulação gástrica e intestinal *in vitro* do extrato de hibisco e micropartículas de antocianinas de extrato de hibisco de cada tratamento.



4 CONCLUSÃO

A microencapsulação de extrato de hibisco é uma alternativa viável para preservar as antocianinas das flores de hibisco-vermelho da espécie *Hibiscus rosa-sinensis*. As micropartículas apresentaram formas polimórficas mais estáveis e exibiram capacidade antioxidante elevada. O tratamento PLM_75:25 apresentou melhores resultados, pelo uso da manteiga de cacau, como material de parede, em baixas proporções com outro material lipídico com alto ponto de fusão, como é o caso do óleo de palma totalmente hidrogenado. No estudo de estabilidade acelerada, todos os tratamentos apresentaram baixa retenção de antocianinas, nos dois ambientes, por serem sensíveis a temperatura de 35 °C e à luz, no caso do ambiente iluminado. É ideal que estas micropartículas sejam armazenadas abaixo dessa temperatura e sem a presença de luz, para a utilização eficaz como corante natural com potencial antioxidante em produtos alimentícios armazenados em locais refrigerados e em embalagens com barreira a luz.

5 AGRADECIMENTOS

Agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro (Processo: 88887.626722/2021-00); a Central de Análises e Prospecção Química (CAPQ) e ao Laboratório de Microscopia Eletrônica e Análise Ultraestrutural (LME)

da Universidade Federal de Lavras; a Laís Bruno Norcino pelas ajudas nas análises de DSC, DRX e Tamanho de Partículas.

REFERÊNCIAS

ALEMZADEH, I. *et al.* **Encapsulation of food components and bioactive ingredients and targeted release.** *International Journal of Engineering, Transactions A: Basics*, v. 33, n. 1, p. 1–11, 2020. Acesso em: 10 nov. 2022

ALIZADEH, Zeinab; FATTAHI, Mohammad. **Essential oil, total phenolic, flavonoids, anthocyanins, carotenoids and antioxidant activity of cultivated Damask Rose (*Rosa damascena*) from Iran:** With chemotyping approach concerning morphology and composition. *Scientia Horticulturae*, v. 288, n. December 2020, p. 110341, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110341>>. Acesso em: 10 nov. 2022

AOCS - American oil Chemists' Society. **Official methods and recommended practices of the AOCS.** (2004) 5. ed. Champaign: AOCS, p. 1200

ARCHANA, K. M. *et al.* **Application of green synthesised copper iodide particles on cotton fabric-protective face mask material against COVID-19 pandemic.** *Journal of Materials Research and Technology*, v. 15, p. 2102–2116, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jmrt.2021.09.020>>. Acesso em: 07 jul. 2021

BAYÉS-GARCÍA, Laura *et al.* **Lipid crystallization kinetics-roles of external factors influencing functionality of end products.** *Current Opinion in Food Science*, v. 4, p. 32–38, 2015. Acesso em: 06 ago. 2021

BENVENUTI, Stefania; BRIGHENTI, Virginia; PELLATI, Federica. **High-performance liquid chromatography for the analytical characterization of anthocyanins in *Vaccinium myrtillus* L. (bilberry) fruit and food products.** *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, v. 410, n. 15, p. 3559–3571, 2018. Acesso em: 12 fev. 2022

BERTONI, Serena; ALBERTINI, Beatrice; PASSERINI, Nadia. **Spray congealing:** An emerging technology to prepare solid dispersions with enhanced oral bioavailability of poorly water soluble drugs. *Molecules*, v. 24, n. 19, p. 1–21, 2019. Acesso em: 12 fev. 2022

BHAT, Rajeev; ALIAS, Abd Karim; PALIYATH, Gopinadhan. **Progress in Food Preservation.** [S.l.: s.n.], 2012. Acesso em: 07 jul. 2021

BISWAS, Nirupam *et al.* **Physicochemical Properties of Enzymatically Produced Palm-Oil-Based Cocoa Butter Substitute (CBS) With Cocoa Butter Mixture.** *European Journal of Lipid Science and Technology*, v. 120, n. 3, p. 1–9, 2018. Acesso em: 06 ago. 2021

BRESSON, S. *et al.* **Comparative structural and vibrational investigations between cocoa butter (CB) and cocoa butter equivalent (CBE) by ESI/MALDI-HRMS, XRD, DSC, MIR and Raman spectroscopy.** *Food Chemistry*, v. 363, n. January, p. 130319, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130319>>. Acesso em: 12 fev. 2022

BUARKI, F. *et al.* **Green Synthesis of Iron Oxide Nanoparticles Using *Hibiscus rosa sinensis* Flowers and Their Antibacterial Activity.** *Journal of Nanotechnology*, v. 2022, p. 1–6, 2022. Acesso em: 19 set. 2022

CALLIGARIS, Guilherme A. *et al.* **On the quantitative phase analysis and amorphous content of triacylglycerols materials by X-ray Rietveld method.** *Chemistry and Physics of Lipids*, v. 212, n. January, p. 51–60, 2018. Disponível em:

<<https://doi.org/10.1016/j.chemphyslip.2018.01.003>>. Acesso em: 06 ago. 2021

CAMPELO-FELIX, Pedro Henrique *et al.* **Prebiotic carbohydrates: Effect on reconstitution, storage, release, and antioxidant properties of lime essential oil microparticles.** *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 65, n. 2, p. 445–453, 2017. Acesso em: 19 set. 2022

CARMO, Eloá Lourenço *et al.* **Co-encapsulation of anthocyanins extracted from grape skins (*Vitis vinifera* var. Syrah) and α -tocopherol via spray drying.** *Journal of Food Processing and Preservation*, v. 45, n. 12, p. 1–11, 2021. Acesso em: 23 jan. 2022

CARVALHO, Juliana Domingues dos Santos *et al.* **Characterization of ascorbic acid microencapsulated by the spray chilling technique using palm oil and fully hydrogenated palm oil.** *Lwt*, v. 101, n. March 2018, p. 306–314, 2019a. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.11.043>>. Acesso em: 07 jul. 2021

CARVALHO, Juliana Domingues dos Santos *et al.* **Characterization of ascorbic acid microencapsulated by the spray chilling technique using palm oil and fully hydrogenated palm oil.** *LWT*, v. 101, n. March 2018, p. 306–314, mar. 2019b. Acesso em: 06 ago. 2021

DE SOUZA CARVALHO, Luciedry Matheus *et al.* **Improvement of the bioaccessibility of bioactive compounds from Amazon fruits treated using high energy ultrasound.** *Ultrasonics Sonochemistry*, v. 67, n. March, p. 105148, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105148>>. Acesso em: 25 mai. 2021

CHEN, Jin yu *et al.* **Degradation kinetics and pathways of red raspberry anthocyanins in model and juice systems and their correlation with color and antioxidant changes during storage.** *Lwt*, v. 128, n. April, p. 109448, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109448>>. Acesso em: 12 nov. 2021

CONSOLI, Larissa *et al.* **Gallic acid microparticles produced by spray chilling technique: Production and characterization.** *LWT - Food Science and Technology*, v. 65, p. 79–87, 2016a. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2015.07.052>>. Acesso em: 04 set. 2021

CONSOLI, Larissa *et al.* **Gallic acid microparticles produced by spray chilling technique: Production and characterization.** *LWT - Food Science and Technology*, v. 65, p. 79–87, jan. 2016b. Acesso em: 21 jun. 2022

CSEHALMI, Zs *et al.* **Study of pulsed electric field treated citrus juices.** *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, v. 7, n. 1–2, p. 49–54, 2006. Acesso em: 27 jan. 2022

CUTRIM, Camila Sampaio; ALVIM, Izabela Dutra; CORTEZ, Marco Antonio Sloboda. **Microencapsulation of green tea polyphenols by ionic gelation and spray chilling methods.** *Journal of Food Science and Technology*, v. 56, n. 8, p. 3561–3570, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s13197-019-03908-1>>. Acesso em: 19 set. 2022

DECLERCK, Arnout *et al.* **Characterisation of fat crystal polymorphism in cocoa butter by time-domain nmr and dsc deconvolution.** *Foods*, v. 10, n. 3, p. 1–18, 2021. Acesso em: 29 jul. 2022

DINESH, G. Kumaravel; PRAMOD, Malavika; CHAKMA, Sankar. **Sonochemical synthesis of amphoteric Cu⁰-Nanoparticles using Hibiscus rosa-sinensis extract and their applications for degradation of 5-fluorouracil and lovastatin drugs.** *Journal of Hazardous*

Materials, v. 399, n. April, p. 123035, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123035>>. Acesso em: 31 jul. 2022

DO CARMO, Eloá Lourenço *et al.* **Co-encapsulation of anthocyanins extracted from grape skins (*Vitis vinifera* var. Syrah) and α -tocopherol via spray drying.** *Journal of Food Processing and Preservation*, v. 45, n. 12, p. 1–11, 2021. Acesso em: 10 jul. 2022

DUTHIE, Susan J. *et al.* **DNA stability and lipid peroxidation in vitamin E-deficient rats in vivo and colon cells in vitro: Modulation by the dietary anthocyanin, cyanidin-3-glycoside.** *European Journal of Nutrition*, v. 44, n. 4, p. 195–203, 2005. Acesso em: 19 out. 2021

ELEMIKE, Elias E.; ONWUDIWE, Damian C.; MBONU, Justina I. **Facile synthesis of cellulose–ZnO-hybrid nanocomposite using Hibiscus rosa-sinensis leaf extract and their antibacterial activities.** *Applied Nanoscience (Switzerland)*, v. 11, n. 4, p. 1349–1358, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s13204-021-01774-y>>. Acesso em: 28 set. 2021

FEKETEÁ, Gabriela; TSABOURI, Sophia. **Common food colorants and allergic reactions in children: Myth or reality?** [S.l.: s.n.], 2017. v. 230. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.03.043>>. Acesso em: 02 jul. 2022

FIGUEIREDO, Jayne *et al.* **Stability of camu-camu encapsulated with different prebiotic biopolymers.** *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 100, n. 8, p. 3471–3480, 2020. Acesso em: 19 mai. 2021

FIGUEIREDO, Jayne de Abreu *et al.* **Microencapsulation by spray chilling in the food industry: Opportunities, challenges, and innovations.** *Trends in Food Science and Technology*, v. 120, n. December 2021, p. 274–287, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.12.026>>. Acesso em: 19 mai. 2021

FLORES, Floirendo P. *et al.* **Total phenolics content and antioxidant capacities of microencapsulated blueberry anthocyanins during in vitro digestion.** *Food Chemistry*, v. 153, p. 272–278, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.12.063>>. Acesso em: 25 mai. 2021

FONGIN, Suwalee *et al.* **Effects of water and maltodextrin on the glass transition temperature of freeze-dried mango pulp and an empirical model to predict plasticizing effect of water on dried fruits.** *Journal of Food Engineering*, v. 210, p. 91–97, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.04.025>>. Acesso em: 25 abr. 2021

GOUVÊA, Ana Cristina Miranda Senna. **Extração, isolamento e caracterização de antocianinas de fontes naturais e a sua aplicação na análise de alimentos por cromatografia líquida.** Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2015. 1576–1580 f.. Acesso em: 20 mai. 2021

IFTIKHAR, Neelam *et al.* **Effects of polyphenol-rich traditional herbal teas on obesity and oxidative stress in rats fed a high-fat–sugar diet.** *Food Science and Nutrition*, v. 10, n. 3, p. 698–711, 2022. Acesso em: 07 jul. 2021

JEYARANI, T.; REDDY, S. Yella. **Heat-resistant cocoa butter extenders from mahua (*Madhuca latifolia*) and kokum (*Garcinia indica*) fats.** *JAACS, Journal of the American Oil Chemists' Society*, v. 76, n. 12, p. 1431–1436, 1999. Acesso em: 20 dez. 2021

JOSHI, B.L.; ZIELBAUER, B.I.; VILGIS, T.A. **Comparative Study on Mixing Behavior of Binary Cocoa Butter / Coconut Oil (CB / CO)**. *Foods*, v. 9, p. 327, 2020. Acesso em: 19 mai. 2021

JOVANSKA, Lavernchy *et al.* **Development of a PCL-PEO double network colorimetric pH sensor using electrospun fibers containing Hibiscus rosa sinensis extract and silver nanoparticles for food monitoring**. *Food Chemistry*, v. 368, n. August 2021, p. 130813, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130813>>. Acesso em: 20 mai. 2022

JUSOH, Yanti M.M. *et al.* **Effect of solvent pH, microwave power and extraction time on microwave-assisted extraction of hibiscus rosa-sinensis**. *Chemical Engineering Transactions*, v. 63, p. 541–546, 2018. Acesso em: 19 mai. 2021

KINUPP, V. F.; LORENZI, Harri; **Plantas alimentícias não convencionais no Brasil**. [S.l.]: Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2014. Acesso em: 30 nov. 2022

KUCK, Luiza Siede; WESOLOWSKI, Júlia Lerina; NOREÑA, Caciano Pelayo Zapata. **Effect of temperature and relative humidity on stability following simulated gastro-intestinal digestion of microcapsules of Bordo grape skin phenolic extract produced with different carrier agents**. *Food Chemistry*, v. 230, p. 257–264, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.03.038>>. Acesso em: 13 jun. 2021

LE RÉVÉREND, Benjamin J.D. *et al.* **A method to qualify and quantify the crystalline state of cocoa butter in industrial chocolate**. *JAOCs, Journal of the American Oil Chemists' Society*, v. 87, n. 3, p. 239–246, 2010. Acesso em: 19 mai. 2021

LENGYEL, Miléna *et al.* **Microparticles, microspheres, and microcapsules for advanced drug delivery**. *Scientia Pharmaceutica*, v. 87, n. 3, 2019. Acesso em: 19 mai. 2021

LOPES, Julice Dutra *et al.* **Solid lipid microparticles of hardfats produced by spray cooling as promising crystallization modifiers in lipid systems**. *European Journal of Lipid Science and Technology*, v. 117, n. 11, p. 1733–1744, 2015. Acesso em: 22 jan. 2021

MARÇO, Paulo Henrique; POPPI, Ronei Jesus. **Procedimentos analíticos para identificação de antocianinas presentes em extratos naturais**. v. 31, n. 5, p. 1218–1223, 2008. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/qn/a/PXt7HhKcLRN7GMSSRt4dyKP/?lang=pt>>. Acesso em: 22 jan. 2021

MAZZOCATO, Marcella; THOMAZINI, Marcelo; FAVARO-TRINDADE, Carmen S. **Improving stability of vitamin B12 (Cyanocobalamin) using microencapsulation by spray chilling technique**. *Food Research International*, v. 126, n. May, p. 108663, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108663>>. Acesso em: 04 out. 2021

MCCLEMENTS, David Julian. **Advances in nanoparticle and microparticle delivery systems for increasing the dispersibility, stability, and bioactivity of phytochemicals**. *Biotechnology Advances*, v. 38, n. May 2018, p. 107287, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.08.004>>. Acesso em: 22 fev. 2022

MELO, Filipe de Oliveira *et al.* **Desenvolvimento de balas de gelatina de morango enriquecida com extrato de hibisco (Hibiscus Sabdarifa L.)**. *Brazilian Journal of Development*, v. 6, n. 7, p. 47561–47571, 2020. Acesso em: 04 jan. 2022

MENSAH-DARKWA, Kwadwo *et al.* **Dye-sensitized solar cells based on graphene oxide and natural plant dye extract.** *Materials Today: Proceedings*, v. 38, n. xxxx, p. 514–521, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.02.391>>. Acesso em: 04 jan. 2022

MINEKUS, M. *et al.* **A standardised static in vitro digestion method suitable for food-an international consensus.** *Food and Function*, v. 5, n. 6, p. 1113–1124, 2014. Acesso em: 26 jan. 2022

MIYASAKI, Eriksen Koji *et al.* **Acceleration of polymorphic transition of cocoa butter and cocoa butter equivalent by addition of d-limonene.** *European Journal of Lipid Science and Technology*, v. 118, n. 5, p. 716–723, 2016. Acesso em: 26 jan. 2022

MÜLLER, R. H.; RADTKE, M.; WISSING, S. A. **Solid lipid nanoparticles (SLN) and nanostructured lipid carriers (NLC) in cosmetic and dermatological preparations.** *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 54, n. SUPPL., p. 131–155, 2002. Acesso em: 19 jan. 2022

MUNAJAD, Abi; SUBROTO, Cahyo; SUWARNO. **Study on the effects of thermal aging on insulating paper for high voltage transformer composite with natural ester from palm oil using fourier transform infrared spectroscopy (ftir) and energy dispersive x-ray spectroscopy (EDS).** *Energies*, v. 10, n. 11, 2017. Acesso em: 15 fev. 2022

MUTLU, Ceren; KOÇ, Andaç; ERBAŞ, Mustafa. **Some physical properties and adsorption isotherms of vacuum-dried honey powder with different carrier materials.** *Lwt*, v. 134, n. July, 2020. Acesso em: 26 set. 2021

NOORZYANNA, Yanty *et al.* **Composition and thermal analysis of ternary mixtures of avocado fat:palm stearin:cocoa butter (Avo:PS:CB).** *International Journal of Food Properties*, v. 20, n. 2, p. 465–474, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1080/10942912.2016.1166130>>. Acesso em: 13 nov. 2021

NORDSTIERNA, Lars *et al.* **Comparison of release behaviour from microcapsules and microspheres.** *Progress in Organic Coatings*, v. 69, n. 1, p. 49–51, 2010. Acesso em: 31 out. 2022

O'BRIEN, R.D. **Fats and Oils: Formulating and Processing for Applications**, Third Edition (3rd ed.). [S.l.: s.n.], 2009. Acesso em: 31 jul. 2021

OBAIDAT, Rana *et al.* **Development and Evaluation of Cocoa Butter Taste Masked Ibuprofen Using Supercritical Carbon Dioxide.** *AAPS PharmSciTech*, v. 22, n. 3, p. 1–13, 2021. Acesso em: 30 set. 2022

ORIANI, Vivian Boesso *et al.* **Solid lipid microparticles produced by spray chilling technique to deliver ginger oleoresin: Structure and compound retention.** *Food Research International*, v. 80, p. 41–49, 2016. Acesso em: 31 jan. 2022

ORIANI, Vivian Boesso *et al.* **The influence of the storage temperature on the stability of lipid microparticles containing ginger oleoresin.** *Food Research International*, v. 109, n. April, p. 472–480, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.04.066>>. Acesso em: 31 out. 2022

OZKAN, Gulay *et al.* **A review of microencapsulation methods for food antioxidants:**

Principles, advantages, drawbacks and applications. *Food Chemistry*, v. 272, n. August 2018, p. 494–506, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.07.205>>. Acesso em: 01 abr. 2021

PASCUAL, Alangelico O.San *et al.* **Characterization, pollen behavior and propagation of five selected Hibiscus hybrids (Hibiscus rosa-sinensis Linn.)**. *Australian Journal of Crop Science*, v. 11, n. 12, p. 1508–1519, 2017. Acesso em: 01 abr. 2021

PELLISSARI, Julio R. *et al.* **Production of solid lipid microparticles loaded with lycopene by spray chilling: Structural characteristics of particles and lycopene stability**. *Food and Bioproducts Processing*, v. 98, p. 86–94, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.fbp.2015.12.006>>. Acesso em: 12 mai. 2021

PÉREZ-OROZCO, J.P. *et al.* **Kinetics of solid-liquid extraction of anthocyanins obtained from Hibiscus rosa-sinensis**. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, v. 19, n. 2, p. 813–826, 1 ago. 2019. Disponível em: <<http://rmiq.org/ojs311/index.php/rmiq/article/view/830>>. Acesso em: 12 mai. 2021

PIERACCI, Ylenia *et al.* **Hibiscus rosa-sinensis as flavoring agent for alcoholic beverages**. *Applied Sciences (Switzerland)*, v. 11, n. 21, 2021. Acesso em: 20 mar. 2022

PROCOPIO, Fernanda Ramalho *et al.* **Solid lipid microparticles loaded with cinnamon oleoresin: Characterization, stability and antimicrobial activity**. *Food Research International*, v. 113, n. March, p. 351–361, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.07.026>>. Acesso em: 24 jun. 2022

PUGLIESE, Alessandro *et al.* **Physical characterization of whole and skim dried milk powders**. *Journal of Food Science and Technology*, v. 54, n. 11, p. 3433–3442, 2017.

ROSA, Jéssica Righi. **Microencapsulação de compostos antocianícos extraídos do mirtilo (Vaccinum spp.) por spray dryer: caracterização, estudo da estabilidade e condições gastrointestinais simuladas**. 2017. 1–83 f. Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), 2017. Acesso em: 02 fev. 2021

SAIDIN, Nor Maziah *et al.* **Skin barrier modulation by Hibiscus rosa-sinensis L. mucilage for transdermal drug delivery**. *Polymer Bulletin*, v. 79, n. 5, p. 3099–3115, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s00289-021-03658-1>>. Acesso em: 21 out. 2022

SATAPATHY, Monalisha *et al.* **Preparation and characterization of cocoa butter and whey protein isolate based emulgels for pharmaceutical and probiotics delivery applications**. *Journal of Dispersion Science and Technology*, v. 41, n. 3, p. 426–440, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/01932691.2019.1583577>>. Acesso em: 21 out. 2022

SATÖ, Kiyotaka. **Crystallization of Lipids - Fundamentals and Applications in Food, Cosmetics, and Pharmaceuticals**. First edit ed. Hiroshima: Wiley Blackwell, 2018.

SILVA, Analú Barbosa Da; WIEST, José Maria; CARVALHO, Heloisa Helena Chaves. **Compostos químicos e atividade antioxidante analisados em Hibiscus rosa-sinensis L. (mimo-de-vênus) e Hibiscus syriacus L. (hibisco-da-síria)**. *Brazilian Journal of Food Technology*, v. 19, n. 0, 2016. Acesso em: 22 out. 2022

SONG, Chunfang *et al.* **Mass transfer during osmotic dehydration and its effect on**

anthocyanin retention of microwave vacuum-dried blackberries. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 100, n. 1, p. 102–109, 2020. Acesso em: 22 out. 2022

TAGLIAZUCCHI, Davide *et al.* **In vitro bio-accessibility and antioxidant activity of grape polyphenols.** *Food Chemistry*, v. 120, n. 2, p. 599–606, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.10.030>>. Acesso em: 22 out. 2022

TRIVELLINI, Alice *et al.* **Effect of salt stress in the regulation of anthocyanins and color of Hibiscus flowers by digital image analysis.** *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 62, n. 29, p. 6966–6974, 2014. Acesso em: 08 nov. 2022

TULINI, Fabrício L. *et al.* **Evaluation of the release profile, stability and antioxidant activity of a proanthocyanidin-rich cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*) extract co-encapsulated with α -tocopherol by spray chilling.** *Food Research International*, v. 95, p. 117–124, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2017.03.010>>. Acesso em: 08 nov. 2022

VANKAR, Padma S.; SHUKLA, Dhara. **Natural Dyeing with Anthocyanins from Hibiscus rosa-sinensis Flowers.** *Wiley Online Library*, p. 1–8, 2011. Acesso em: 08 nov. 2022

VASTRAD, Jyoti; BYADGI, Shameembanu. **Phytochemical Screening and Antibacterial Activity of Hibiscus rosa-sinensis Leaf Extracts.** *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, v. 7, n. 03, p. 3329–3337, 2018. Acesso em: 08 nov. 2022

XIE, Sha *et al.* **Anthocyanin degradation and the underlying molecular mechanism in a red-fleshed grape variety.** *Lwt*, v. 151, n. 22, p. 112198, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112198>>. Acesso em: 08 nov. 2022

YANG, Mingyi *et al.* **Microencapsulation Delivery System in Food Industry - Challenge and the Way Forward.** *Advances in Polymer Technology*, v. 2020, 2020. Acesso em: 08 nov. 2022

YIN, Yun; CADWALLADER, Keith R. **Spray-chilling encapsulation of 2-acetyl-1-pyrroline zinc chloride complex using hydrophobic materials: Feasibility and characterization of microcapsules.** *Food Chemistry*, v. 265, n. May, p. 173–181, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.05.079>>. Acesso em: 17 nov. 2022

ZHANG, Kunming *et al.* **Ultrasonic assisted water-in-oil emulsions encapsulating macromolecular polysaccharide chitosan: Influence of molecular properties, emulsion viscosity and their stability.** *Ultrasonics Sonochemistry*, v. 64, n. October 2019, p. 105018, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105018>>. Acesso em: 23 dez. 2022

CONCLUSÃO GERAL

A microencapsulação de antocianinas do extrato das flores do hibisco vermelho é uma alternativa para substituição do uso de corantes sintéticos e de origem animal, bem como melhoria da qualidade nutricional em produtos alimentícios. Os compostos bioativos da flor do hibisco apresentaram boa interação com o material de parede escolhido. Em condições adequadas de armazenamento, a produção de micropartículas proporcionou maior estabilidade às antocianinas. É importante que novos estudos avaliem as micropartículas quanto sua estabilidade em temperaturas abaixo de 35 °C sem a presença de luz. Também, diferentes misturas lipídicas podem ser aplicadas para favorecimento da retenção dos compostos de interesse e futura aplicação destas micropartículas em matrizes alimentícias.