UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

VOLNEI BRITO DE SOUZA

Aproveitamento dos subprodutos de vinificação da uva Bordô (*Vitis labrusca*) para obtenção de pigmentos com propriedades funcionais

Pirassununga

2013

VOLNEI BRITO DE SOUZA

Aproveitamento dos subprodutos de vinificação da uva Bordô (*Vitis labrusca*) para obtenção de pigmentos com propriedades funcionais

Versão corrigida

Dissertação apresentada à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre em Ciências.

Área de Concentração: Ciências da Engenharia de Alimentos.

Orientadora: Profa. Dra. Carmen Sílvia Fávaro Trindade

Pirassununga

2013

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

Serviço de Biblioteca e Informação da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos
da Universidade de São Paulo

S729a Souza, Volnei Brito de
Aproveitamento dos subprodutos de vinificação da uva
Bordô (*Vitis labrusca*) para obtenção de pigmentos com
propriedades funcionais / Volnei Brito de Souza. --
Pirassununga, 2013.
122 f.
Dissertação (Mestrado) -- Faculdade de Zootecnia e
Engenharia de Alimentos - Universidade de São Paulo.
Departamento de Engenharia de Alimentos.
Área de Concentração: Ciências da Engenharia de
Alimentos.
Orientadora: Profa. Dra. Carmen Silvia Fávaro
Trindade.

1. Bagaço de uva 2. Antocianinas 3. Atomização
4. Maltodextrina 5. Propriedades físico-químicas
6. Atividade biológica. I. Título.

É com muita alegria, que dedico este trabalho à minha família: meus pais José e Zorildes, minhas irmãs Cíntia e Débora e meus sobrinhos Milena e Júlio César. O sacrifício da distância não é nada perto da alegria de tê-los em minha vida. Pensar em vocês e em tudo o que já passamos me dá mais força para seguir em frente.

Biografia

Volnei Brito de Souza, filho de José Vilas Boas de Souza e Zorildes Brito de Souza nasceu na cidade de Mutuípe no Estado da Bahia em 15 de março de 1985, mas cresceu no município de Ubaíra, localizado no mesmo Estado.

Graduou-se em Engenharia de Alimentos pela Universidade Estadual de Feira de Santana no ano de 2010, tendo feito Iniciação Científica por dois anos. Durante a graduação, também obteve experiência como Professor de Química em um curso pré-vestibular.

Reside em Pirassununga desde fevereiro de 2011, quando iniciou o curso de Mestrado em Ciências da Engenharia de Alimentos na FZEA/USP.

Em pesquisa, tem experiência com microbiologia, produção de enzimas e cinética enzimática. Tendo adquirido durante o Mestrado, experiência em secagem por atomização e caracterização de produtos em pó.

Após a conclusão do Mestrado, irá ingressar no Curso de Doutorado também na FZEA/USP. Futuramente, pretende dar continuidade aos estudos com o Pós-Doutorado e deseja seguir carreira acadêmica.

Agradecimentos

Chega a ser redundante começar agradecendo a Deus, pois se essa dissertação está pronta, com certeza não faltaram agradecimentos a ele. Obrigado Senhor, pela vida e por me dotar de uma vontade incontável de aprender.

Agradeço à minha orientadora Prof^a Carmen por todos os ensinamentos, toda a ajuda que foi dada desde quando começamos a nos corresponder por e-mail a respeito do mestrado, passando por todo o apoio para que eu pudesse vir fazer a seleção além de toda a ajuda nesses dois anos de mestrado. Tentar dar o meu melhor é uma forma de dizer obrigado.

Não há como deixar de agradecer à minha família (pais, irmãs e sobrinhos) por todo o apoio, a torcida e o carinho. Os valores ensinados desde criança, de que só o estudo pode nos levar a algum lugar, hoje fazem tanto sentido...

Um obrigado também ao meu cunhado Guilherme e sua família por toda a torcida e apoio.

Aos meus primos, primas, tios, tias, avós por toda a torcida e carinho.

Um obrigado especial ao Marcelo e à Riana, as duas primeiras pessoas que conheci quando entrei no laboratório e hoje tenho orgulho de dizer que tenho os dois como amigos. Levo tudo o que aprendi com vocês para o resto da vida.

Nunca deixarei de agradecer às minhas queridas orientadoras de IC, Lila e Gabriela, as grandes responsáveis por essa minha vontade de seguir carreira acadêmica.

Aos amigos que fiz durante a graduação e que são pra sempre: Lary's, Lena, Ay, Ni, Déa, Fran, Ludi, Belle, Lila, Bárbara, Nessão, Juleca, Cati, Tássio, Xandinho, Jackson, Nano, Léo, Priscila, Itana, Deusa, Rafa, Alan, etc. Obrigado pela torcida de vocês mesmo de longe.

Aos amigos do laboratório: Adja, Paulinha, Talita e Fernando, nosso quinteto marcou para sempre a história do LAPROF. Nossos momentos de desespero, descontração, ajuda mútua, caminhadas, crises de riso, foram inesquecíveis. As meninas de IC também: Fernanda, Ana Júlia, Alana, Aline e Lilou.

Aos amigos e colegas da pós-graduação por toda a companhia, amizade e momentos de descontração: Keilinha, amiga de casa, das conversas, risadas e desabafos; Thaysa e Hugo, casal nota 1000, a simplicidade em forma de pessoas; Mirele (Dogenski), Paola (de Maressa), Débora, Camis, Taíse, Grazi, Samira, Keli, Josi, Luciene, Tiara, Bárbara, Rafaela, Renata, Karen, Flávia, Raul, Lucas, Drucila, Diane, Mirian, Daniel, Carol, Natali, Sarah. Ao pessoal dos tempos de alojamento: Fred, Tiago (dos cavalos), Tiago (Gaúcho), Max. E mais

recentemente a Milla, Mariana, Júlio, Vitor e Luciana. É muito bom saber que a maioria de vocês estará comigo nos próximos anos.

A todos os professores que gentilmente compartilharam seus laboratórios para que esse trabalho se tornasse possível: Samantha, Eliana, Sobral, Teresa, Chris, Alessandra, Rose, Mariza e todos os outros que tive o prazer de conhecer aqui na FZEA.

Ao Senhor Nivaldo Tordin, pelos contatos que tornaram possível conseguir os resíduos da uva.

À Corn Products pela doação da maltodextrina.

À Professora Maria Inés Genovese por ter gentilmente, aberto o espaço em seu laboratório para a realização das análises de atividade antioxidante. E a Alice, por toda a ajuda na execução dessas análises e por tirar todas as minhas dúvidas via e-mail. E a todas as meninas lá da FCF/USP pela ajuda nessas análises.

Ao Professor Júlio pela ajuda nas análises estatísticas.

Ao Professor Edson e ao João pela execução das análises de inibição da arginase de *Leishmania*.

Ao Laboratório de Microbiologia e Micotoxilogia de Alimentos da FZEA e à Fundação André Tosello, pela doação dos micro-organismos utilizados nas análises de atividade antimicrobiana.

Aos auxiliares, técnicos e especialistas de laboratório pela paciência em ensinar o uso dos equipamentos: Marcelo, Ednelí, Graziani, Guilherme, Ana Mônica, Keila, Tatiana, Nilson, Silvana, Roice.

Ao pessoal da sessão de Pós-Graduação principalmente Layla, Alecsandra e Stéfani.

À Capes pela concessão da bolsa de estudos.

Muito obrigado a todos.

*“...E aprendi que se depende sempre
De tanta, muita, diferente gente
Toda pessoa sempre é as marcas
Das lições diárias de outras tantas pessoas.
E é tão bonito quando a gente entende
Que a gente é tanta gente onde quer que a gente vá...”*

Gonzaguinha

RESUMO

SOUZA, V. B. **Aproveitamento dos subprodutos de vinificação da uva Bordô (*Vitis labrusca*) para obtenção de pigmentos com propriedades funcionais**. 2013. 122 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2013.

O objetivo deste trabalho foi produzir pigmentos em pó a partir dos subprodutos de vinificação da uva tinta, variedade Bordô (*Vitis labrusca*), através da secagem em *spray dryer* utilizando maltodextrina como agente carreador. Foram estudados os efeitos das condições de processo sobre algumas propriedades físico-químicas, além da estabilidade e da atividade biológica do material obtido. Extratos etanólicos das cascas e sementes da uva foram obtidos e concentrados até um terço do volume inicial. Este extrato foi então misturado com o agente carreador maltodextrina 10 DE nas concentrações de 10, 20 ou 30% e atomizado em *spray dryer*, com vazão de alimentação de 44 mL/min e temperaturas do ar de entrada de 130, 150 ou 170°C, num total de nove ensaios. Além disso, foi obtida uma amostra de extrato concentrado liofilizado, sem a presença do agente carreador, para efeito de comparação. Avaliou-se o rendimento do processo de atomização; e para as amostras obtidas determinou-se o teor de umidade, retenção de antocianinas, higroscopicidade e solubilidade em água, a fim de verificar a influência das condições de processo sobre essas características. Estas amostras também foram avaliadas quanto à morfologia, distribuição do tamanho de partículas e isothermas de sorção de umidade. Todas as amostras obtidas (atomizadas e liofilizada) foram avaliadas quanto à cor instrumental, espectroscopia de infravermelho, estabilidade durante a estocagem, presença de compostos bioativos (fenólicos, flavonóides, antocianinas e proantocianidinas), além de atividade antioxidante, antimicrobiana e de inibição da arginase de *Leishmania*. As condições de processo avaliadas (temperatura de secagem e concentração de agente carreador) tiveram forte influência nas características estudadas. O teor de umidade, a retenção de antocianinas, a morfologia e o tamanho das partículas, foram bastante influenciados pela temperatura de secagem e pela concentração de agente carreador, enquanto que a higroscopicidade sofreu maior influência da concentração de agente carreador. Esse parâmetro também apresentou grande influência nas isothermas de sorção de umidade das amostras. Não houve grande interferência do processo de secagem na composição química do material obtido, evidenciada pelos espectros de infravermelho. Quanto à avaliação da

estabilidade durante a estocagem, foi observado que as amostras contendo maltodextrina conservaram mais as antocianinas e a cor, quando comparadas com as amostras sem carreador e os extratos líquidos, indicando, que o processo de secagem e a presença do carreador, promoveram um efeito protetor aos compostos e sua cor. Todas as amostras apresentaram altos teores de flavonóides totais, antocianinas, proantocianidinas e elevados valores de atividade antioxidante variando de 314,06 a 441,04 $\mu\text{molesTE/g}$ de extrato seco pelo método DPPH e de 993,32 a 1138,68 $\mu\text{molesTE/g}$ de extrato seco pelo método FRAP. Apresentaram atividade antimicrobiana principalmente contra *Staphylococcus aureus* e *Listeria monocytogenes*. Além disso, tiveram grande capacidade de inibir a enzima arginase de *Leishmania* com porcentagem de inibição variando de 54,60 a 83,43%. Os resultados encontrados sugeriram que o processo de secagem em *spray dryer* com maltodextrina, dos extratos obtidos dos subprodutos da uva Bordô, produziu pós com diversas características interessantes, como baixa higroscopicidade, alta solubilidade e estabilidade, além de grande potencial biológico. Tais resultados evidenciam que este subproduto da indústria vinícola pode ser aproveitado como fonte natural de ingredientes funcionais.

Palavras-chave: bagaço de uva, antocianinas, atomização, maltodextrina, propriedades físico-químicas, atividade biológica.

ABSTRACT

SOUZA, V. B. Use of vinification byproducts of Bordo grape (*Vitis labrusca*) to obtain pigments with functional properties. 2013. 122 f. M.Sc. Dissertation – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2013.

The aim of this work was to produce powder pigments from grape byproducts of Bordo variety (*Vitis labrusca*) by spray drying using maltodextrin as carrier agent. The effects of process conditions on some physicochemical properties, stability and biological activity of the product were studied. Ethanol extracts were obtained from grape pomace (skins and seeds) and concentrated to one-third the initial volume. This extract was then mixed with the carrier agent 10 DE maltodextrin at concentrations of 10, 20 or 30% and atomized in a spray dryer, with feed flow rate of 44 mL/min and inlet drying air temperatures of 130, 150 or 170°C a total of nine tests. In addition, a sample of freeze-dried concentrated extract without carrier agent was obtained for comparison. It was evaluated process yield and the samples obtained were initially evaluated for moisture content, anthocyanins retention, hygroscopicity and solubility in water, in order to verify the influence of process conditions on these characteristics. These samples were also evaluated for morphology, particle size distribution and moisture sorption isotherms. All samples (spray-dried powders and freeze-dried extract) were evaluated for instrumental color, infrared spectroscopy, stability during storage, presence of bioactive compounds (phenols, flavonoids, anthocyanins and proanthocyanidins) plus antioxidant activity, antimicrobial activity and inhibition of *Leishmania* arginase. Process conditions evaluated (inlet drying air temperature and carrier agent concentration) had a strong influence on the characteristics studied. The moisture content, anthocyanin retention, morphology and particle size of the samples were strongly influenced by drying temperature and carrier agent concentration while the hygroscopicity suffered greater influence of the carrier agent concentration. The concentration of carrier agent also had great influence on the moisture sorption isotherms of the samples. There was no significant interference of the drying process on the chemical composition of the material evidenced by infrared spectroscopy. Regarding the evaluation of stability during storage, it was observed that the samples containing maltodextrin, retained much more anthocyanins and original color when compared with the sample without a carrier or liquid extracts, indicating both, the drying process and the presence of carrier, promoted a protective effect to the compounds and its

color. All samples showed high levels of flavonoids, anthocyanins, proanthocyanidins and high levels of antioxidant activity ranging from 314.06 to 441.04 $\mu\text{molTE/g}$ of extract (dry weight), by DPPH and 993.32 to 1138.68 $\mu\text{molTE/g}$ of extract (dry weight) by FRAP method. Most samples showed antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. Moreover, had great ability to inhibit the enzyme arginase of *Leishmania* with inhibition percentage ranging from 54.60 to 83.43%. The results suggest that the drying process of Bordo grape pomace extracts in a spray dryer with maltodextrin, produced powders with various interesting characteristics such as low hygroscopicity, high solubility and stability, and large biological potential. This shows that this byproduct of wine industry can be used as a natural source of functional ingredients.

Keywords: grape pomace, anthocyanins, spray drying, maltodextrin, physicochemical properties, biological activity.

Lista de Figuras

Figura 1 – Cátion <i>flavylium</i>	25
Figura 2 - Antocianidinas mais comumente encontradas na natureza.....	26
Figura 3 - Matérias-primas utilizadas neste trabalho.....	53
Figura 4 - <i>Spray dryer</i> piloto utilizado nos ensaios de secagem realizados neste trabalho.....	55
Figura 5 - Amostras em pó obtidas da secagem em <i>spray dryer</i> , do extrato da uva bordô em diferentes temperaturas e concentrações de agente carreador	55
Figura 6 – Rendimento do processo de secagem em <i>spray dryer</i> dos extratos da uva Bordô... ..	58
Figura 7 - Teor de umidade das amostras dos extratos da uva Bordô secas em <i>spray dryer</i> ..	60
Figura 8 - Retenção de antocianinas nas amostras dos extratos da uva Bordô secas em <i>spray dryer</i>	63
Figura 9 – Higroscopicidade das amostras dos extratos da uva Bordô secas em <i>spray dryer</i>	65
Figura 10 – Solubilidade das amostras dos extratos da uva Bordô secas em <i>spray dryer</i>	67
Figura 11 - Tentativa de secagem no <i>spray dryer</i> do extrato sem adição de agente carreador.	68
Figura 12 - Extrato da uva Bordô, concentrado e liofilizado.	68
Figura 13 - Micrografias das amostras do extrato da uva Bordô atomizado na temperatura de 130°C.....	70
Figura 14 - Micrografias das amostras do extrato da uva Bordô atomizado na temperatura de 150°C.....	71
Figura 15 - Micrografias das amostras do extrato da uva Bordô atomizado na temperatura de 170°C.....	72
Figura 16 - Distribuição do tamanho de partícula das diferentes amostras dos pós com diferentes concentrações de carreador e diferentes temperaturas de secagem	74
Figura 17 - Acomodação das partículas de menor tamanho nos espaços das partículas maiores.	76
Figura 18 - Espectros de infravermelho dos ingredientes, das amostras atomizadas e do extrato liofilizado.....	77

Figura 19 - Isotermas de sorção de umidade das amostras do extrato da uva Bordô em pó, seco em diferentes temperaturas e concentrações de agente carreador. Ajuste feito com o modelo BET.....	82
Figura 20 - Comportamento do teor de antocianinas totais das amostras atomizadas e de extrato liofilizado durante o tempo de estocagem a 25°C e 32,8% de umidade relativa.	87
Figura 21 – Cinética de degradação de antocianinas (variação de $\ln (C/C_0)$) ao longo do tempo, a 25 °C e 32,8% de umidade relativa, nas amostras atomizadas produzidas em diferentes temperaturas e concentração de agente carreador.....	89
Figura 22 - Comportamento do teor de antocianinas totais das amostras de extrato etanólico e extrato concentrado, durante o tempo de estocagem e armazenadas a 25 °C.	91
Figura 23 - Cinética de degradação de antocianinas (variação de $\ln (C/C_0)$) ao longo do tempo, nas amostras de extrato etanólico e extrato concentrado, armazenadas a 25°C e do extrato liofilizado armazenada a 25°C e 32,8% de umidade relativa.....	92
Figura 24 - Halos de inibição das amostras dos extratos da uva Bordô em pó, contra <i>Staphylococcus aureus</i>	104
Figura 25 - Halos de inibição das amostras dos extratos da uva Bordô em pó, contra <i>Listeria monocytogenes</i>	104
Figura 26 - Halos de inibição do extrato liofilizado da uva Bordô, contra <i>Salmonella enteritides</i>	105
Figura 27 - Teste de inibição do extrato liofilizado da uva Bordô, contra <i>Escherichia coli</i>	105

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Ensaios para secagem dos extratos da uva Bordô mostrando as variáveis testadas e seus níveis.....	39
Tabela 2 - Soluções salinas saturadas e suas respectivas atividades de água determinadas experimentalmente.....	44
Tabela 3 - Modelos para isotermas de sorção em alimentos.	45
Tabela 4 – Conteúdo total de antocianinas extraídas do resíduo da uva Bordô com diferentes solventes.	52
Tabela 5 – pH, sólidos solúveis (°Brix), teor de antocianinas totais e composição do extrato líquido concentrado (% em base úmida) obtido dos resíduos da uva Bordô.....	54
Tabela 6 – Temperatura de saída e respostas para os ensaios de secagem em <i>spray dryer</i> dos extratos da uva.....	56
Tabela 7 – Desdobramento da interação entre os fatores (temperatura e concentração de maltodextrina) para o rendimento do processo de secagem dos extratos da uva Bordô em <i>spray dryer</i>	57
Tabela 8 – Desdobramento da interação entre os fatores (temperatura e concentração de maltodextrina) sobre o teor de umidade das amostras obtidas da secagem dos extratos da uva Bordô em <i>spray dryer</i>	59
Tabela 9 - Desdobramento da interação entre os fatores (temperatura e concentração de maltodextrina) sobre a retenção de antocianinas das amostras obtidas da secagem dos extratos da uva Bordô em <i>spray dryer</i>	62
Tabela 10 - Desdobramento da interação entre os fatores (temperatura e concentração de maltodextrina) sobre a higroscopicidade das amostras obtidas da secagem dos extratos da uva Bordô em <i>spray dryer</i>	64
Tabela 11 - Características do extrato da uva Bordô liofilizado.	68
Tabela 12 - Diâmetros médios das partículas do extrato da uva Bordô seco em <i>spray dryer</i> , em diferentes temperaturas e concentrações de maltodextrina.....	76
Tabela 13 - Umidades de equilíbrio das amostras do extrato da uva Bordô em pó nas diferentes condições de umidade relativa a 25 °C.....	80
Tabela 14 - Parâmetros de ajuste para os modelos de isotermas de sorção de umidade, nas amostras do extrato da uva Bordô em pó a 25 °C.	81

Tabela 15 - Parâmetros de cor das amostras obtidas da secagem em <i>spray dryer</i> do extrato da uva Bordô e do extrato liofilizado	84
Tabela 16 - Perda total de antocianinas e parâmetros cinéticos para a degradação de antocianinas das amostras da uva Bordô atomizadas em diferentes temperaturas e concentrações de agente carreador.	89
Tabela 17 - Perda total de antocianinas e parâmetros cinéticos para a degradação de antocianinas das amostras de extrato liofilizado, extrato etanólico e extrato concentrado da uva Bordô.	92
Tabela 18 - Parâmetro de cor L* (luminosidade) para as amostras atomizadas, liofilizada e dos extratos etanólico e concentrado da uva Bordô durante a estocagem a 25°C e 32,8% de umidade relativa.	94
Tabela 19 - Parâmetro de cor a* (diferença do vermelho e do verde) para as amostras atomizadas, liofilizada e dos extratos etanólico e concentrado da uva Bordô durante a estocagem a 25°C e 32,8% de umidade relativa.....	95
Tabela 20 - Parâmetro de cor b* (diferença do azul e do amarelo) para as amostras atomizadas, liofilizada e dos extratos etanólico e concentrado da uva Bordô durante a estocagem a 25°C e 32,8% de umidade relativa.....	96
Tabela 21 - Diferença total de cor nas amostras atomizadas e nos extratos liofilizado, etanólico e concentrado, após os 120 dias de estocagem a 25 °C.	97
Tabela 22 - Compostos bioativos presentes nas amostras obtidas da secagem em <i>spray dryer</i> do extrato da uva Bordô e do extrato liofilizado.	99
Tabela 23 - Atividade antioxidante <i>in vitro</i> determinada através da capacidade redutora do Folin-Ciocalteu, capacidade de sequestro do radical DPPH e capacidade redutora do ferro (FRAP) das amostras atomizadas obtidas da secagem dos extratos da uva Bordô e do extrato liofilizado.....	100
Tabela 24 - Zona de Inibição (ZI) para extratos atomizados e liofilizado do pigmento da uva Bordô contra os micro-organismos testados.....	102
Tabela 25 - Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) para extratos atomizados e liofilizado do pigmento da uva Bordô contra os micro-organismos testados.....	107
Tabela 26 - Porcentagem de inibição da enzima arginase de <i>Leishmania</i> , pelas amostras em pó e do extrato liofilizado da uva Bordô.	109

Lista de abreviaturas, siglas e símbolos

a*	Parâmetro de cor, diferença do vermelho e do verde
ác	Ácido
b*	Parâmetro de cor, diferença do azul e do amarelo
b.s	Base seca
CBM	Concentração bactericida mínima
CIM	Concentração inibitória mínima
cm	Centímetros
Cu	Cobre
DE	Dextrose equivalente
DPPH	Radical (1,1-difenil-2-picril-hidrazila)
eq	Equivalente
Fe	Ferro
FRAP	<i>Ferric reducing antioxidant power</i>
g	Gramas
h	Horas
k	Constante da velocidade da reação de degradação de antocianinas
kg	Quilogramas
L	Litros
L*	Parâmetro de cor, luminosidade
M	Concentração de maltodextrina
MD	Maltodextrina
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
mg	Miligramas
min	Minutos
mL	Mililitros
mvd-3-glic	Malvidina-3-glicosídeo
nm	Nanômetros
pH	Potencial hidrogeniônico
p/v	Proporção massa/volume
rpm	Rotações por minuto
T	Temperatura
TE	Trolox equivalente
t_{1/2}	Tempo de meia vida de antocianinas durante a estocagem
v/v	Proporção volume/volume
ZI	Zona de inibição
°C	Graus Celsius
Δ	Delta, diferença
%	Porcentagem, gramas/100 gramas ou gramas/100mL
μm	Micrômetros

Sumário

1	Introdução.....	19
2	Revisão Bibliográfica.....	21
2.1	Uva.....	21
2.2	Subprodutos do processamento de uvas	22
2.3	Corantes em alimentos	23
2.4	Pigmentos naturais	24
2.5	Antocianinas	25
2.6	Secagem por atomização ou <i>spray drying</i>	28
2.7	Agentes carreadores	30
2.7.1	Maltodextrina	31
2.8	Compostos bioativos em uvas.....	32
2.9	Atividade antioxidante	33
2.10	Atividade antimicrobiana.....	35
2.11	Inibição enzimática da arginase de <i>Leishmania</i>	36
3	Material e métodos	37
3.1	Materiais	37
3.1.1	Matéria-prima	37
3.1.2	Agente carreador.....	37
3.2	Métodos	37
3.2.1	Obtenção dos extratos líquidos.....	37
3.2.2	Caracterização do extrato líquido	38
3.2.3	Secagem por atomização	38
3.2.4	Preparo do controle (liofilizado)	39
3.2.5	Rendimento do processo.....	39
3.2.6	Teor de umidade dos pós	40
3.2.7	Teor de antocianinas totais	40
3.2.8	Higroscopicidade	41
3.2.9	Solubilidade	41
3.2.10	Teor de proantocianidinas totais.....	42
3.2.11	Teor de flavonóides totais	43
3.2.12	Morfologia das partículas – Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	43

3.2.13	Distribuição do tamanho de partículas	43
3.2.14	Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR).....	44
3.2.15	Isotermas de sorção de umidade	44
3.2.16	Cor instrumental	46
3.2.17	Estabilidade durante a estocagem.....	46
3.2.18	Capacidade antioxidante <i>in vitro</i>	47
3.2.19	Atividade antimicrobiana <i>in vitro</i>	49
3.2.20	Teste de inibição enzimática da arginase de <i>Leishmania amazonensis</i>	50
3.2.21	Análise estatística	51
4	Resultados e discussão	52
4.1	Teste para determinação do solvente mais adequado à extração do pigmento.....	52
4.2	Caracterização do extrato líquido	53
4.3	Secagem por atomização	54
4.3.1	Rendimento do processo.....	56
4.3.2	Teor de umidade	59
4.3.3	Retenção de antocianinas.....	61
4.3.4	Higroscopicidade	64
4.3.5	Solubilidade	66
4.4	Obtenção do controle liofilizado.....	67
4.5	Morfologia das partículas	69
4.6	Distribuição do tamanho das partículas	73
4.7	Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)	77
4.8	Isotermas de sorção de umidade	79
4.9	Cor instrumental	83
4.10	Estabilidade durante a estocagem	86
4.10.1	Teor de antocianinas totais	86
4.10.2	Parâmetros de cor	93
4.11	Compostos bioativos.....	98
4.12	Atividade antioxidante	100
4.13	Atividade antimicrobiana.....	102
4.14	Inibição enzimática da arginase de <i>Leishmania amazonensis</i>	108
5	Conclusões	110
	Referências bibliográficas	111

1 Introdução

A uva é uma das frutas mais cultivadas em todo o mundo (XU et al. 2010). Sendo que a produção brasileira em 2012 foi de 1.455.056 toneladas segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2012).

O bagaço da uva consiste das cascas, do talo e das sementes dessa fruta, que sobram após o processo industrial para a produção de vinhos e sucos (MONRAD et al. 2010). Sendo responsável por cerca de 20 % do peso da uva processada para vinho (BAGCHI et al. 2000; SHRIKHANDE, 2000; LLOBERA; CANELLAS, 2007). Sendo que no Brasil, a maior parte do bagaço de uva gerado na produção de vinhos, próximo de 59,4 milhões de quilos, considerando 18 kg de bagaço/ 100 litros de vinho, é tratado como resíduo com baixo valor, sendo utilizado, por exemplo, para a ração animal (ROKENBACH et al. 2011).

Sementes e cascas de uvas são onde a maior parte dos compostos fenólicos se acumula. Por essa razão, o extrato obtido do resíduo da uva tem se tornado popular recentemente para a obtenção de ingredientes funcionais, tais como antioxidantes naturais e suplementos alimentares (BAGCHI et al. 2000; SHRIKHANDE, 2000; XU et al. 2010).

O bagaço de uva tipicamente retém compostos polifenólicos após a produção de sucos e vinhos, como uma quantidade de 20 – 30 % de fenólicos nas cascas e 60 – 70 % de fenólicos encontrados nas sementes (MONRAD et al. 2010). Sendo que entre os principais compostos fenólicos presentes nesse resíduo, se encontram os flavonóides (JACKSON, 2008) e esses por sua vez são reconhecidos por apresentar diversas atividades biológicas tais como atividade antioxidante, antimicrobiana, capacidade de sequestrar espécies reativas de oxigênio, capacidade de sequestrar eletrólitos, capacidade de inibir a nitrosação, capacidade de quelar metais (como Fe e Cu) e capacidade de modular a atividade de algumas enzimas celulares (HO; RAFI; GHAI, 2010).

As antocianinas, pertencentes à classe dos flavonóides, são os pigmentos mais importantes das plantas vasculares; são inócuos e facilmente incorporados em meio aquoso, o que os torna interessantes para serem utilizados como corantes solúveis em água (GIUSTI; WROLSTAD, 2003). Podendo ser incorporados em uma grande variedade de sistemas alimentícios como potenciais substitutos para os corantes sintéticos (BORDIGNON-LUIZ et al. 2007). Sendo que o resíduo do processamento de uvas pode ser considerado uma fonte interessante desses compostos (ROCKENBACH et al. 2011). No entanto, a estabilidade dessas moléculas pode ser afetada por diversos fatores tais como o pH, a temperatura de

estocagem, estrutura química, concentração, luz, oxigênio, solventes, a presença de enzimas, proteínas e íons metálicos. Portanto, o estudo da estabilização de antocianinas tem sido o principal foco em estudos recentes devido ao seu grande potencial de aplicação e efeitos benéficos (CASTAÑEDA-OVANDO et al. 2009).

A secagem por atomização é um processo contínuo, onde um líquido ou pasta é transformado em um produto seco, na forma de pó, caracterizando-se por um tempo de secagem relativamente curto. O processo consiste basicamente na atomização do líquido em um compartimento que recebe um fluxo de ar quente, de modo que a rápida evaporação da água permite manter baixa a temperatura das partículas. Desta forma, esta técnica permite a secagem de produtos sensíveis ao calor (alimentícios, biológicos e farmacêuticos), sem afetar demasiadamente sua qualidade (RÉ, 1998). Entretanto, pós de sucos de fruta obtidos por *spray drying* possuem alguns inconvenientes em suas propriedades, tais como alta pegajosidade, alta higroscopicidade e baixa solubilidade, tornando seu acondicionamento e utilização consideravelmente difíceis (CANO-CHAUCA et al. 2005).

Agentes carreadores tem sido utilizados para contornar esses problemas, sendo a maltodextrina e a goma arábica, os principais agentes utilizados na secagem por atomização (CANO-CHAUCA et al. 2005; AHMED et al. 2010; TONON; BRABET; HUBINGER, 2010; BERG et al. 2012), principalmente devido a sua alta solubilidade e baixa viscosidade, características importantes para esse tipo de processo (TONON; BRABET; HUBINGER, 2010).

As condições do processo de secagem tais como temperatura do ar de secagem e concentração de agente carreador, entre outras, podem influenciar em diversas características do material obtido na secagem por *spray drying* (TONON; BRABET; HUBINGER, 2008; COMUNIAN et al. 2011; FAZAELI et al. 2012; FERRARI; GERMER; AGUIRRE, 2012; FRASCARELI et al. 2012). Portanto, é interessante estudar a influência dessas condições sobre as características do produto obtido, bem como sobre suas propriedades e estabilidade.

Tendo em vista o exposto, o objetivo deste trabalho foi desenvolver pigmentos em pó a partir dos subprodutos (cascas e sementes) de uva da variedade Bordô (*Vitis labrusca*) através da extração e secagem do extrato em *spray dryer*, utilizado maltodextrina como agente carreador. Somando a isso, o estudo da influência das condições de processo, nas características físico-químicas das amostras, bem como estudo da estabilidade e da atividade biológica apresentada pelo material produzido.

2 Revisão Bibliográfica

2.1 Uva

O cacho de uva é composto basicamente das bagas e do talo ramificado. As bagas apresentam forma arredondada ou ovalada e a cor varia com as diversas classes de uvas entre um verde amarelado e um vermelho azulado escuro. Os pigmentos das bagas vermelhas ou azuis são encontrados somente nas células exteriores da pele da uva, enquanto a polpa da uva não é pigmentada da mesma forma. Alguns híbridos são exceções e apresentam pigmentos na polpa dos frutos (VOGT; JAKOB; LEMPERLE, 1986).

Existem, no mundo, milhares de variedades de uva. A maioria delas pertence à espécie *Vitis vinifera*, originária do Cáucaso, de onde foi difundida por toda a costa mediterrânea há centenas de anos, seja para a produção de fruta para consumo “in natura”, seja como matéria-prima para a elaboração de vinhos (CAMARGO et al. 2009).

Na América do Sul, as uvas da espécie *Vitis labrusca* são as mais utilizadas para a produção de suco (DANI et al. 2007). No Brasil, por exemplo, a vitivinicultura se desenvolveu com base em uvas americanas, conhecidas como uvas comuns, de variedades das espécies *Vitis labrusca* e *Vitis bourquina*, usadas para a elaboração de vinhos de mesa. Entretanto, a partir de meados do século XX o Brasil passou a produzir vinhos finos, com uvas de variedades *Vitis vinifera*, também conhecidas como uvas finas (CAMARGO et al. 2009).

A viticultura brasileira apresenta grande diversidade. A atividade ocupa uma área de aproximadamente 83.700 hectares, com uma produção anual variando entre 1.300 e 1.400 mil toneladas. No ano de 2010, aproximadamente 57% da produção total foi comercializada como uvas de mesa e 43% destinada ao processamento de vinhos e suco de uva (MELLO, 2011).

Em 2012 o Brasil produziu 1.455.056 toneladas de uva, sendo que os Estados com maior produção foram o Rio Grande do Sul, Pernambuco e São Paulo (IBGE, 2012).

Dentre as uvas americanas (*V. labrusca*) cultivadas no Brasil, o cultivar ‘Bordô’ tem-se destacado por sua elevada adaptação às condições climáticas brasileiras e por apresentar excelente fertilidade e apreciável tolerância a doenças fúngicas (RIZZON; MIELE; MENEGUZZO, 2000). Trata-se de um cultivar utilizado basicamente para produção de vinhos e sucos (POZZAN; BRAGA; SALIBE, 2012).

2.2 Subprodutos do processamento de uvas

Atualmente, são produzidas milhões de toneladas de resíduos provenientes do processamento agroindustrial. Muitos deles são ricos em compostos bioativos, sendo potenciais fontes naturais dessas substâncias (MELO et al. 2011).

O bagaço de frutos, como a uva, contém materiais sólidos, incluindo sementes, cascas e às vezes engaço e é tradicionalmente utilizado na alimentação animal ou como fertilizante. No entanto, quando utilizado na ração animal, a digestibilidade é baixa devido à presença de grande quantidade de polifenóis poliúricos, os quais são conhecidos por inibir enzimas celulolíticas e proteolíticas e o crescimento de algumas bactérias do rúmen (SCHURG; REED; REID, 1980).

O bagaço de uva é composto principalmente de cascas e sementes sendo responsável por cerca de 20% do peso da uva processada para vinho. Uma vasta gama de produtos pode ser obtida a partir de seus componentes, incluindo o etanol, óleo da semente da uva, antocianinas e tartarato (BAGCHI et al. 2000; SHRIKHANDE, 2000).

A cada ano, o processamento de uvas para a produção de vinhos e sucos mundialmente, gera uma quantidade estimada de 10 milhões de toneladas de resíduos (MAIER; ANDREAS; DIETMAR, 2009). Sementes e cascas de uvas são onde a maior parte dos compostos fenólicos se acumula. Por essa razão, o extrato obtido do bagaço da uva tem se tornado popular recentemente para a obtenção de ingredientes funcionais, tais como antioxidantes naturais e suplementos alimentares (BAGCHI et al. 2000; SHRIKHANDE, 2000; XU et al. 2010).

Os compostos fenólicos presentes nas cascas e sementes da uva podem pertencer à classe dos flavonóides ou não flavonóides (NEGRO; TOMMASI; MICELLI, 2003; ARNOUS; MEYER, 2008; POUDEL et al. 2008). A concentração de compostos fenólicos em uvas depende da variedade e é influenciada por fatores ambientais e de cultivo (KATALINIC et al. 2010).

No Brasil, a maior parte do bagaço de uva gerado na produção de vinhos, próximo de 59,4 milhões de quilos, considerando 18 kg de bagaço/ 100 litros de vinho, é tratado como resíduo com baixo valor, sendo utilizado, por exemplo, para a ração animal (ROKENBACH et al. 2011).

Levando-se em consideração as questões ambientais e sendo esse resíduo uma fonte relativamente barata de compostos bioativos, é necessário que se realizem estudos a cerca do aproveitamento desse material, para produção de ingredientes com valor agregado e que

possam ser aplicados nas indústrias farmacêuticas, de cosméticos ou de alimentos (BONILLA et al. 1999; HOGAN et al. 2010).

2.3 Corantes em alimentos

Considera-se corante a substância ou a mistura de substâncias que possuem a propriedade de conferir ou intensificar a coloração de alimento e/ou bebida. Sendo classificados como: corante orgânico natural, corante orgânico sintético, corante artificial, corante orgânico sintético idêntico ao natural, corante inorgânico e corante caramelo. Podem ser apresentados isolados ou sob a forma de mistura de pó, em solução ou associados a solventes e veículos (BRASIL, 1978).

Os consumidores reconhecem a cor, o *flavor* e a textura como os principais atributos nos alimentos. Entre esses, é bem estabelecido que a cor é o mais importante. A cor está associada com a segurança do alimento, por exemplo: maçãs devem ser vermelhas ou verdes, a carne deve ser vermelha e as ervilhas devem ser verdes. Uma cor inadequada está associada à deterioração, processamento mal feito ou falhas no transporte. Sendo assim, a cor é o primeiro atributo de qualidade de um produto alimentício (CLYDESDALE, 1993; DELGADO-VARGAS; JIMÉNEZ; PAREDES-LÓPEZ, 2000).

Desde as civilizações antigas, os corantes têm sido utilizados para tornar os alimentos, produzidos pelo homem, mais atrativos. Algumas espécies como o açafrão eram utilizadas para conferir cor e sabor. No entanto, o desenvolvimento industrial e urbano durante o século XIX gerou uma produção em massa de alimentos e têxteis, por exemplo. Juntamente a isso, a necessidade dos corantes também cresceu, e foi durante o século XIX que os corantes derivados de minerais, tais como o cromato de chumbo e o sulfato de cobre, foram introduzidos na pigmentação de produtos alimentícios, embora muitos deles causassem sérios problemas de saúde (DELGADO-VARGAS; PAREDES-LÓPEZ, 2003).

Corantes naturais e sintéticos são utilizados nas indústrias de processamento de alimentos. A preocupação dos consumidores a respeito dos corantes sintéticos alimentícios, como “químicos” está baseada no uso histórico de corantes derivados do petróleo que causam ou aumentam o risco de câncer. Isto, e o receio geral de produtos químicos têm causado a procura por produtos naturais. Entretanto, a incorporação de corantes naturais em substituição aos artificiais é um desafio que requer condições específicas de processamento relacionadas à sensibilidade estrutural dos compostos naturais (CRAIG, 2011).

2.4 Pigmentos naturais

Considera-se corante natural, o pigmento ou corante inócuo extraído de substância vegetal ou animal através de processo tecnológico adequado (BRASIL, 1978).

Os pigmentos ocorrem naturalmente em tecidos de plantas e animais. Esses compostos são sintetizados e acumulados ou excretados das células vivas. Diversas transformações podem ocorrer nos alimentos durante o processamento, podendo resultar em formação ou mudança de suas cores. Pigmentos obtidos a partir de plantas e animais sempre constituíram uma parte da dieta humana, sendo consumidos com segurança por diversas gerações (FENNEMA, 2008).

Os corantes naturais podem ser divididos em três grupos principais: os compostos heterocíclicos com estrutura tetra-pirrólica, que compreendem as clorofilas presentes em vegetais, o heme e as bilinas encontradas em animais; os compostos de estrutura isoprenóide, representados pelos carotenóides, encontrados em animais e principalmente em vegetais; e os compostos heterocíclicos contendo oxigênio como os flavonóides, que são encontrados exclusivamente em vegetais. Além desses, existem outros dois grupos de corantes presentes unicamente em vegetais: as betalaínas que são compostos nitrogenados e os taninos, que agrupam diversos compostos de estruturas altamente variáveis (BOBBIO, 2003).

As antocianinas representam, juntamente com os carotenóides, a maior classe de substâncias coloridas do reino vegetal. Encontram-se amplamente distribuídas em flores, frutos e demais plantas superiores, sendo consumidas pelo homem desde tempos remotos. São encontradas em grande número de espécies de plantas, algumas das quais já foram experimentadas como fonte industrial em potencial. Os subprodutos da indústria da uva e do vinho já são empregados na preparação comercial de antocianinas. A enocianina é, provavelmente, a antocianina mais antiga disponível comercialmente (CONSTANT; STRINGHETA; SANDI, 2002).

Existem diversos trabalhos que se encarregaram de estudar fontes naturais para a obtenção de antocianinas e entre eles, os que tratam do aproveitamento de subprodutos merecem destaque: Gómez-Plaza, Miñano e López-Roca, (2006); Rockenbach et al. (2008); Corrales et al. (2009); Monrad et al. (2010); Amendola, De Faveri e Spigno, (2010); Liazid et al. (2011); Rockenbach et al. (2011); Aliakbarian et al. (2012); Anastasiadi et al. (2012); Cheng et al. (2012), que são apenas alguns dos trabalhos que estudaram extração de antocianinas de resíduos (cascas e sementes) de uvas além de estudar suas propriedades. Entre esses, o trabalho de Rockenbach et al. (2011) foi realizado com extratos obtidos dos

subprodutos da vinificação de uvas, entre elas a cultivar Bordô, sendo que esses autores encontraram altos teores de antocianinas nos subprodutos dessa variedade em comparação com variedades tradicionais como a Cabernet sauvignon, indicando que os subprodutos da Bordô podem ser utilizados como fonte de pigmentos naturais.

2.5 Antocianinas

Antocianinas (do grego *anthos* = flor e *kianos* = azul) são os pigmentos mais importantes das plantas vasculares; são inócuos e facilmente incorporados em meio aquoso, o que os torna interessante para serem utilizados como corantes solúveis em água (PAZMINO-DURAN et al. 2001; SCHWARTZ; VON ELBEE; GIUSTI, 2010). Estes pigmentos são responsáveis pelas tonalidades laranja, rosa, vermelho, violeta e azul em flores e frutos de muitas plantas (CASTAÑEDA-OVANDO et al., 2009).

As antocianinas pertencem ao grupo dos flavonóides, devido a sua característica de esqueleto carbônico $C_6C_3C_6$. A estrutura básica das antocianinas é o 2-fenilbenzopirona do sal *flavylium* ou cátion *flavylium* (Figura 1). As antocianinas ocorrem como glicosídeos de poli-hidroxi ou poli-metoxi derivados do sal. Elas diferem devido ao número de grupos hidroxila e/ou metoxi presentes, tipos, números, sítios de ligação dos açúcares na molécula e tipos e números de ácidos alifáticos ou aromáticos que estão ligados aos açúcares da molécula. Os açúcares mais comuns são glicose, ramnose, galactose, arabinose, xilose, di e trissacarídeos formados como glicosídeos desses açúcares. Os ácidos mais envolvidos na acilação dos açúcares são os ácidos aromáticos, como os *p*-cumárico, cafeico, ferúlico, sinápico, gálico e/ou os alifáticos, como ácido malônico, acético, málico, succínico ou oxálico. Esses substituintes costumam estar ligados ao açúcar do C-3, esterificados ao 6-OH, ou, com menos frequência, ao grupo 4-OH dos açúcares (SCHWARTZ; VON ELBEE; GIUSTI, 2010).

Figura 1 – Cátion *flavylium*. R_1 e R_2 = -H, -OH ou -OCH₃, R_3 = -glicosil, R_4 = -H ou -glicosil. Adaptado de Schwartz, Von Elbee e Giusti, 2010.

Quando o açúcar da antocianina é hidrolisado, a aglicona (produto da hidrólise sem o açúcar) é chamada de antocianidina. Existem cerca de 19 antocianidinas de ocorrência natural, mas apenas 6 costumam ocorrer nos alimentos (Figura 2). Nas antocianinas e nas antocianidinas, o número abundante de ligações duplas que são excitadas com facilidade, é essencial para a cor, sendo que o tipo e o número da substituição de açúcares e da acilação, também desempenham um papel importante nas características de cor (SCHWARTZ; VON ELBEE; GIUSTI, 2010).

Figura 2 - Antocianidinas mais comumente encontradas na natureza. Adaptado de Giusti e Wrolstad (2003).

Giusti e Wrolstad (2003) apresentam os pigmentos das uvas da espécie *Vitis labrusca* como contendo uma mistura de cinco diferentes agliconas, aciladas e não aciladas com ácido *p*-cumárico.

Em uvas tintas, as antocianinas constituem componentes importantes para a produção dos vinhos, porque contribuem para os atributos sensoriais e, principalmente, para a coloração do produto. A quantidade e a composição das antocianinas presentes nas uvas diferem de acordo com a espécie, variedade, maturação, condições climáticas e cultivar (MUÑOZ-ESPADA et al. 2004).

Antocianinas têm sido extraídas de resíduos de uva, utilizando uma combinação de ácidos, metanol, acetona e clorofórmio, muitos dos quais são tóxicos, caros e perigosos ambientalmente. Além disso, as antocianinas extraídas acabam necessitando de um processo adicional para remover esses solventes antes da aplicação nos alimentos (MONRAD et al. 2010). Por isso, tem sido interessante trabalhar com solventes que sejam considerados seguros para serem aplicados nos diversos produtos posteriormente. Entre esses, a água e o etanol tem sido pesquisados (ROCKENBACH et al. 2008; VALDUGA et al. 2008). Esses solventes são preferidos quando o objetivo é se obter um pigmento que possa ser aplicado na indústria de alimentos (GÓMEZ-PLAZA; MIÑANO; LÓPEZ-ROCA, 2006).

Muitas técnicas para a análise de antocianinas têm sido utilizadas por quase um século e ainda são importantes, em conjunto com consideráveis avanços nas tecnologias como a espectroscopia de massas (MS) e a ressonância magnética nuclear (NMR). Os métodos de quantificação de antocianinas podem ser divididos em três grandes grupos: métodos para amostras com pouca ou nenhuma presença de compostos interferentes, métodos para amostras contendo compostos interferentes que absorvem na faixa de 480 a 550 nm, e métodos para quantificação de componentes individuais das antocianinas (GIUSTI; JING, 2008).

Uma maneira de se expressar os resultados da determinação desses compostos é em termos da quantidade absoluta total de antocianinas presentes num extrato particular, estimando, dessa maneira, o teor desses pigmentos expresso usualmente em mg de antocianina/gramas de amostra. Diferentemente da grande parte dos flavonóides, que absorvem luz na região entre 350 e 380 nm, as antocianinas são capazes de absorver fortemente luz na região do visível, compreendida entre 496 e 550 nm (BROUILLARD, 1982). Essa característica particular permite a quantificação das antocianinas por métodos espectrofotométricos em medições simples de absorbância em comprimentos de onda adequados (GIUSTI; WROLSTAD, 2001).

A análise de antocianinas pelo método de pH diferencial (ou diferença de pH) consiste em efetuar leitura espectrofotométrica do extrato em tampão pH 1,0 e pH 4,5, baseando-se na sensibilidade destes compostos ao pH. Elevando-se o pH para 4,5 estabelece-se condição em que as antocianinas praticamente não apresentam coloração, apresentando menor absorção de energia. Por outro lado, abaixando-se o pH para em torno de 1,0, os pigmentos exibem coloração intensa. A diferença de absorbância observada espectrofotometricamente possibilita, por diferença direta, estimar a fração real de antocianina presente (FULEKI; FRANCIS, 1968; GIUSTI; WROLSTAD, 2001). Esse método é preferido, quando a amostra

apresenta compostos interferentes como, por exemplo, os taninos em uvas (TEIXEIRA; STRIGHETA; OLIVEIRA, 2008).

Antocianinas são consideradas como potenciais substitutos para os corantes sintéticos, devido a suas cores atrativas e solubilidade em água, características que fazem delas pigmentos interessantes para a incorporação em uma grande variedade de sistemas alimentícios (BORDIGNON-LUIZ et al. 2007). No entanto, a estabilidade dessas moléculas pode ser afetada por diversos fatores tais como o pH, a temperatura de estocagem, estrutura química, concentração, luz, oxigênio, solventes, a presença de enzimas, outros flavonóides, proteínas e íons metálicos. A maior estabilidade das antocianinas se dá em pH ácido, baixas temperaturas, baixa concentração de oxigênio, ausência de luz e baixa atividade de água (SCHWARTZ; VON ELBEE; GIUSTI, 2010). Portanto, o estudo da estabilização de antocianinas tem sido o principal foco em estudos recentes devido ao seu grande potencial de aplicação e efeitos benéficos (CASTAÑEDA-OVANDO et al. 2009).

2.6 Secagem por atomização ou *spray drying*

A secagem por atomização é um processo contínuo, onde um líquido ou pasta é transformado em um produto seco, na forma de pó, caracterizando-se por um tempo de secagem relativamente curto. O processo consiste basicamente na atomização do líquido em um compartimento que recebe um fluxo de ar quente, de modo que a rápida evaporação da água permite manter baixa a temperatura das partículas. Desta forma, esta técnica permite a secagem de produtos sensíveis ao calor (alimentícios, biológicos e farmacêuticos), sem afetar demasiadamente sua qualidade (RÉ, 1998).

As principais vantagens da secagem por atomização são: as propriedades e a qualidade do produto são mais eficientemente controladas; alimentos sensíveis à temperatura, como produtos biológicos e farmacêuticos podem ser secos à pressão atmosférica e baixas temperaturas; grandes produções em operação contínua, com equipamento relativamente simples; produção de partículas relativamente uniformes e esféricas com aproximadamente a mesma proporção de compostos voláteis do produto inicial; a eficiência é comparável a outros tipos de secadores diretos e o processo é barato. Como desvantagens podem ser citadas: a falta de flexibilidade da unidade atomizadora e restrição da escolha do material de parede àqueles que possuam baixa viscosidade e alta concentração (FILKOVÁ; MUJUMDAR, 1995).

O processo de secagem por atomização resulta em pós com boa qualidade, baixa atividade de água e de fácil transporte e estocagem (TONON; BRABET; HUBINGER, 2008). As propriedades físico-químicas dos pós produzidos por *spray drying* dependem de algumas variáveis de processo, como as características do líquido alimentado (viscosidade, tamanho de partícula, vazão de alimentação), do ar de secagem (temperatura, pressão, vazão), do ar comprimido (vazão) e também do tipo de atomizador (WALTON; MUMFORD, 1999; GOULA; ADAMAPOULOS, 2005a; 2005b; MAURY et al. 2005; TONON; BRABET; HUBINGER, 2008; FAZAELI et al. 2012).

A secagem por atomização de extratos vegetais, bem como as propriedades dos materiais obtidos, têm sido estudadas nos últimos anos com o objetivo de produzir ingredientes funcionais (TONON; BRABET; HUBINGER, 2008; 2010; AHMED et al. 2010; KHA; NGUYEN; ROACH, 2010; OSORIO et al. 2010; BURIN et al. 2011; JIMÉNEZ-AGUILAR et al. 2011; BERG et al. 2012; FAZAELI et al. 2012; FERRARI; GERMER; AGUIRRE, 2012; ANEKELLA; ORSAT, 2013).

As partículas obtidas por atomização apresentam normalmente, características peculiares, como por exemplo, a sua morfologia. A morfologia dessas partículas pode ser descrita em termos do tamanho, aparência, estrutura interna e propriedades de superfície (VEHRING, 2008; TONON; BRABET; HUBINGER, 2008; COMUNIAN et al. 2011).

Tonon, Brabet e Hubinger (2008) variaram condições de temperatura do ar de secagem, concentração de agente carreador (e portanto a viscosidade da alimentação) e vazão de alimentação da mistura, ao secarem suco de açaí no *spray dryer* com maltodextrina. Essas autoras observaram influência das condições de processo sobre os aspectos avaliados, como o rendimento do processo, o teor de umidade, a higroscopicidade, a retenção de antocianinas, bem como sobre o tamanho e a morfologia das partículas.

Fazaeli et al. (2012), ao secarem suco de groselha preta em *spray dryer* com diferentes carreadores, variando a temperatura do ar de secagem, a concentração de agente carreador (viscosidade da alimentação) e a vazão do ar comprimido, observaram diferença nas características dos pós obtidos com relação ao rendimento, teor de umidade, densidade aparente e solubilidade das amostras.

Frascareli et al. (2012), ao microencapsular óleo de café por *spray drying*, variaram condições como a temperatura do ar de secagem, o teor de sólidos na alimentação e teor de óleo, observando que a temperatura do ar de secagem influenciou na eficiência de encapsulação e retenção do óleo; todas as condições influenciaram no teor de umidade e

higroscopicidade das amostras; e a concentração de sólidos bem como a concentração de óleo, influenciaram no diâmetro médio das partículas.

Ferrari, Germer e Aguirre (2012), ao produzirem amora em pó em *spray dryer* com diferentes temperaturas de secagem e concentração de carreador (viscosidade da alimentação), observaram que a temperatura teve efeito sobre a higroscopicidade, teor de umidade, tamanho e morfologia das partículas. Enquanto que os pós produzidos com diferentes viscosidades de alimentação tiveram como características afetadas, a higroscopicidade, a cor e o teor de umidade.

A transformação de produtos líquidos em partículas secas resulta em produtos com volume reduzido e vida de prateleira mais longa. A reconstituição desses produtos também é satisfatória, raramente necessitando aumentar a temperatura acima de 100 °C. Entretanto, pós de sucos de fruta obtidos por *spray drying* possuem alguns inconvenientes em suas propriedades, tais como alta pegajosidade, alta higroscopicidade e baixa solubilidade, tornando seu acondicionamento e utilização consideravelmente difíceis. O desenvolvimento da pegajosidade de materiais ricos em açúcares e ácidos é atribuído ao baixo peso molecular dos açúcares como a frutose, glicose, sacarose e dos ácidos orgânicos, cítrico, málico e tartárico, os quais constituem mais de 90 % dos sólidos em sucos de frutas e purês (CANO-CHAUCA et al. 2005).

Alguns desses problemas podem ser resolvidos pela adição de agentes carreadores ao extrato antes da secagem, como polímeros e gomas (TONON; BRABET; HUBINGER, 2008). Além disso, ao reduzir a higroscopicidade dos pós, esses agentes, podem proteger os compostos sensíveis presentes nos alimentos, contra condições ambientais desfavoráveis, mascarar ou preservar sabores e aromas, reduzir a volatilidade e reatividade e promover maior atratividade comercial aos produtos (RÉ, 1998).

2.7 Agentes carreadores

Os agentes carreadores que são normalmente utilizados no processo de secagem por atomização, são maltodextrina e goma arábica (CANO-CHAUCA et al. 2005; AHMED et al. 2010; TONON; BRABET; HUBINGER, 2010; BERG et al. 2012). Principalmente devido a sua alta solubilidade e baixa viscosidade, condições importantes para esse tipo de processo de secagem (TONON; BRABET; HUBINGER, 2010).

2.7.1 Maltodextrina

A hidrólise incompleta de dispersões de amidos cozidos em pasta, tanto com ácidos como com enzimas, produz misturas de malto-oligossacarídeos, as quais são conhecidas industrialmente como maltodextrinas. Estas são classificadas de acordo com sua equivalência de dextrose (DE). A DE é relacionada ao grau de polimerização (DP) através da relação: $DE = 100/DP$. Onde DE e DP são valores médios das populações de moléculas. Em consequência disso, o DE de um produto de hidrólise é seu poder redutor como um percentual do poder redutor da D-glicose pura (dextrose); então, o DE está inversamente relacionado à massa molecular média. As maltodextrinas são definidas como produtos com valores de DE que são mensuráveis. As de menor DE, ou seja, com massa molecular média maior, não são higroscópicas, enquanto as de maior DE tendem a absorver umidade. As maltodextrinas são insípidas, praticamente sem sabor doce, sendo excelentes contribuintes para o corpo e o volume de sistemas alimentícios (BEMILLER; HUBER, 2010).

Estudos sobre os efeitos da maltodextrina, quando utilizada como agente carreador no processo de secagem por *spray drying*, tem sido bastante explorados. Fazaeli et al. (2012), ao estudarem o processo de secagem de amora preta com diferentes concentrações de maltodextrina 9 DE, observaram diferenças em diversas características dos produtos obtidos, tais como rendimento, teor de umidade, densidade aparente e solubilidade.

Tonon, Brabet e Hubinger (2008) encontraram efeito de diferentes concentrações de maltodextrina 10 DE, principalmente sobre o rendimento do processo e a higroscopicidade de suco de açaí seco em *spray dryer* utilizando este carreador. Além disso, essas autoras observaram diferença na morfologia e no tamanho das partículas.

Ferrari, Germer e Aguirre (2012), ao produzirem pós de amora em *spray dryer*, observaram influência da concentração de maltodextrina 20 DE, principalmente sobre o teor de umidade, a higroscopicidade, a luminosidade (L^*) e o ângulo de tom (H^*) das amostras obtidas.

Além de influência nas características físico-químicas, alguns trabalhos observaram que a presença desse agente carreador promoveu proteção a diferentes compostos presentes nas amostras. Dib Taxi et al. (2003) observaram efeito protetor da maltodextrina 10 DE e da goma arábica durante o processo de secagem em *spray dryer*, sobre a vitamina C do suco de camu-camu.

Comunian et al. (2011) observaram aumento da estabilidade da clorofilida durante 90 dias, seca em *spray dryer* com diferentes agentes carreadores, entre eles a maltodextrina.

Kha, Nguyen e Roach (2010) chegaram à conclusão de que 10% de maltodextrina 12 DE, promoveu a proteção dos extratos de “Gac” (*Momordica cochinchinensis*) secos em *spray dryer*, principalmente com relação ao teor de carotenóides totais, atividade antioxidante total e cor do produto.

Outra característica que pode ser influenciada pela presença da maltodextrina e de outros carreadores, é a isoterma de sorção de umidade dos pós produzidos com esses materiais. Gabas et al. (2007) encontraram diferenças nas umidades de equilíbrio das amostras de polpa de abacaxi em pó secas em *spray dryer* com maltodextrina e goma arábica, sendo esses valores menores aos encontrados na polpa seca sem a presença de carreadores.

Tonon et al. (2009), ao secarem suco de açaí com diferentes carreadores, entre eles a maltodextrina 10 e 20 DE, observaram que as amostras secas com maltodextrina 10 DE foram, juntamente com as amostras contendo amido de mandioca, as que apresentaram adsorção de água em menor grau.

Comunian et al. (2011) observaram que quando a clorofilida foi seca em *spray dryer* utilizando maltodextrina, o valor da umidade da monocamada, foi mais baixo do que quando o mesmo material foi seco com goma Arábica. O valor de umidade na monocamada de muitos alimentos corresponde à quantidade de água que está fortemente adsorvida em sítios específicos na superfície do alimento. Esse parâmetro tem sido relacionado com a estabilidade física e química de alimentos desidratados, sendo considerado um valor seguro para garantir sua conservação (GABAS et al. 2007; TONON et al. 2009; REID; FENNEMA, 2010).

2.8 Compostos bioativos em uvas

A maior parte dos compostos fenólicos encontrados em uvas e vinhos pertence a dois grupos: os difenilpropanóides (flavonóides) ou os fenilpropanóides (não flavonóides). Os flavonóides mais comuns encontrados em uvas e vinhos são os flavonóis, catequinas (flavan-3-ols) e antocianinas principalmente em uvas tintas. Flavonóides podem existir livres ou em polímeros com outros flavonóides, açúcares, não flavonóides, ou uma combinação destes. Esses compostos tem a função nas uvas e em outras plantas, como uma primeira linha de defesa contra micro-organismos patogênicos, insetos e herbívoros (JACKSON, 2008).

Quase todos os flavonóides possuem várias características biológicas e químicas em comum: atividade antioxidante, capacidade de sequestrar espécies reativas de oxigênio, capacidade de sequestrar eletrólitos, capacidade de inibir a nitrosação, capacidade de quelar metais (como Fe e Cu), potencial para produzir peróxido de hidrogênio na presença de alguns metais e capacidade de modular a atividade de algumas enzimas celulares (HO; RAFI; GHAI, 2010).

O bagaço de uva tipicamente retém compostos polifenólicos após a produção de sucos e vinhos, como uma quantidade de 20 – 30 % de fenólicos nas cascas e 60 – 70 % de fenólicos encontrados nas sementes (MONRAD et al. 2010).

Em uvas, a polimerização de catequinas (flavan-3-ols) produz uma classe de polímeros chamados de proantocianidinas (taninos condensados). As proantocianidinas podem ser classificadas de acordo com a natureza de seus monômeros de flavonóides, ligações, esterificação com outros compostos ou propriedades funcionais. Embora esses compostos sejam incolores, eles apresentam semelhanças estruturais com as antocianidinas, podendo ser convertidos em produtos coloridos durante o processamento dos alimentos (JACKSON, 2008; SCHWARTZ; VON ELBEE; GIUSTI, 2010). O crescente interesse nas proantocianidinas está relacionado ao seu potencial antioxidante, anti-inflamatório, antimicrobiano e como potencial na prevenção de doenças do coração, entre outras (FOO et al. 2000; KHANAL; HOWARD; PRIOR, 2010; HO; RAFI; GHAI, 2010).

2.9 Atividade antioxidante

Antioxidantes são substâncias que apresentam a capacidade de prevenir ou inibir o processo oxidativo no corpo humano e nos produtos alimentícios. Butilhidroxianisol (BHA), butilhidroxitolueno (BHT) e terc-butilhidroxiquinona (TBHQ) são comumente utilizados como antioxidantes sintéticos, sendo que muito se discute a respeito da inocuidade dessas substâncias (DIAZ et al. 1997).

A atividade antioxidante de uvas tem sido associada à sua composição fenólica tal como as antocianinas, flavonóis, flavan-3-ols, proantocianidinas e ácidos fenólicos (PAZOS et al. 2006; FUJII et al. 2007; KEDAGE et al. 2007).

Larrauri, Sánchez-Moreno e Saura-Calixto (1998), Sáyago-Ayerdi et al. (2009), Hogan et al. (2010), Babbar et al. (2011) e Rockenbach et al. (2011), são alguns dos trabalhos

que se propuseram estudar a capacidade antioxidante de resíduos do processamento de uvas. Sendo que todos eles apontam esse material como potencial fonte de antioxidantes naturais.

Os métodos para determinação da capacidade antioxidante são numerosos e podem estar sujeitos a interferências, além de se basearem em fundamentos diversos. Dessa forma, atualmente preconiza-se a utilização de duas ou mais técnicas, já que nenhum ensaio, usado isoladamente para determinar a capacidade antioxidante, irá refletir exatamente a “capacidade antioxidante total” de uma amostra (HUANG; OU; PRIOR, 2005; PRIOR; WU; SCHAICH, 2005). Um dos métodos mais utilizados para determinação da atividade antioxidante é o método de sequestro ou absorção do radical DPPH[•].

Desenvolvido por Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995), o método DPPH tem como base a redução da absorbância do radical DPPH[•] por antioxidantes no comprimento de onda de 517 nm. Este método é baseado na capacidade de compostos específicos ou extratos de reagir com o radical livre DPPH[•] (1,1-difenil-2-picril-hidrazila) numa solução metanólica, na qual o radical é estável. Assim, soluções metanólicas de DPPH[•] recém-preparadas são adicionadas das amostras teste ou controle positivo, utilizando um antioxidante comercial de ação comprovada, incubadas a temperatura ambiente, no escuro, por 30 min, depois dos quais é feita a medida da absorbância do meio reacional. Extratos de antioxidantes absorvem o DPPH[•] e sua redução é acompanhada pelo decréscimo da absorbância a 517 nm. A cor púrpura, na solução inicial, torna-se amarela quando toda a quantidade de radicais livres foi bloqueada pelos antioxidantes.

Outro método utilizado para verificar a capacidade antioxidante em amostras hidrofílicas é o método FRAP. Pulido, Bravo e Saura-Calixto (2000) descrevem o método FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) – Poder Antioxidante de Redução do Ferro, como uma alternativa desenvolvida para determinar a redução do ferro em fluidos biológicos e soluções aquosas de compostos puros. O método pode ser aplicado não somente para estudos da atividade antioxidante em extratos de alimentos e bebidas, como também, para o estudo da eficiência antioxidante de substâncias puras, com resultados comparáveis àqueles obtidos com outras metodologias mais complexas. Este método consiste na capacidade dos antioxidantes em reduzir o complexo Fe(III)/tripiridiltriazina (TPTZ) à sua forma ferrosa, de coloração azul, provocando um aumento na absorbância a 593 nm. O reagente de FRAP é adicionado ao extrato e a absorbância é lida após a reação, sendo o mesmo feito para um antioxidante conhecido, como o Trolox, permitindo a construção de uma curva padrão (RUFINO et al. 2006).

O método de redução do reagente de Folin-Ciocalteu é mais conhecido como método para determinação de fenólicos totais (SINGLETON; ORTHOFER; LAMUELA-RAVENTOS, 1999). No entanto esse método pode não ser consistente para verificar apenas o teor de compostos fenólicos, pois outros compostos redutores, como ácido ascórbico, e açúcares redutores, reagem com o ácido fosfotúngstico-fosfomolibdico formando o complexo azul de molibdênio, fazendo com que esses compostos também sejam quantificados. Isso sugere, portanto que esse método pode ser utilizado para medir o poder redutor de uma determinada amostra (HUANG; OU; PRIOR, 2005).

2.10 Atividade antimicrobiana

Os micro-organismos podem trazer efeitos indesejáveis para a qualidade, segurança e vida de prateleira dos alimentos. O uso de aditivos sintéticos é um dos procedimentos empregados para prevenir a multiplicação microbiana. Mas recentemente, a despeito desses aditivos sintéticos, vem crescendo o interesse na aplicação de extratos de plantas para prevenir o desenvolvimento microbiano nos alimentos (BAYDAR; ÖZKAN; SAGDIÇ, 2004).

Propriedades funcionais tais como atividade antioxidante e antimicrobiana de extratos vegetais é a base da aplicação desses materiais na preservação de alimentos, fármacos, cosméticos, medicina alternativa e terapias naturais (BAKKALI et al. 2008; OLIVEIRA et al. 2012).

Os trabalhos que estudaram atividade antimicrobiana em extratos de uva, vinho, resíduos de uva, ou outras frutas com composição semelhante, normalmente atribuem essa atividade, ao conteúdo de compostos bioativos presentes na matriz vegetal, tais como, fenólicos, antocianinas e proantocianidinas. Outros ainda atribuem essa atividade à presença de açúcares e ácidos orgânicos (JAYAPRAKASHA; SELVI; SAKARIAH, 2003; BAYDAR; ÖZKAN; SAGDIÇ, 2004; AL-ZOREKY, 2009; RADOVANOVIC; RADOVANOVIC; JOVANCICEVIC, 2009; LACOMBE et al. 2010; CÔTÉ et al. 2011; BOO et al. 2012; CAILLET et al. 2012; MARTIN et al. 2012; OLIVEIRA et al. 2012).

Portanto, os subprodutos de vinificação da uva podem ser uma potencial fonte de compostos com ação antimicrobiana.

2.11 Inibição enzimática da arginase de *Leishmania*

Leishmania é um gênero de protozoário parasita que é o agente causador da leishmaniose, uma doença potencialmente mortal que afeta aproximadamente 12 milhões de pessoas ao redor do mundo (ROBERTS et al. 2004).

Os flavonóides são conhecidos há bastante tempo por exercerem diversos efeitos biológicos e em particular por atuar como antioxidantes e como agentes preventivos contra o câncer. Eles estão presentes normalmente em plantas medicinais e os efeitos terapêuticos de muitos medicamentos tradicionais têm sido atribuídos a esses fitoquímicos. Vários flavonóides de certas plantas, tem sido identificados também como possuindo princípios anti-protozoários (TASDEMIR et al. 2006).

A arginase é uma metaloenzima trimérica, contendo um grupo binuclear de manganês no sítio ativo de cada subunidade. Essa enzima, em fígados de mamíferos, hidrolisa L-arginina em L-ornitina e uréia primeiramente, etapa limitante da síntese de poliamina em *Leishmania* e *Trypanosoma brucei*. Na *Leishmania*, a arginase produz L-ornitina, a qual é então descarboxilada pela ornitina descarboxilase (ODC) para gerar putrescina, a qual dá continuidade à síntese de poliamina. A inibição da ODC pela 1,4-diamino-2-butanona induz a morte celular do parasita (VANNIER-SANTOS et al. 2008; DA SILVA; MAQUIAVELI; MAGALHÃES, 2012).

Da Silva, Maquiaveli e Magalhães (2012) estudaram a ação dos flavonóides quercetina, quercitrina e isoquercitrina na inibição da arginase de *Leishmania amazonensis*, observando inibição na atividade dessa enzima pelos flavonoides testados.

Tendo em vista a presença de grande variedade desses compostos nos subprodutos do processamento de uvas, é interessante que sejam realizados testes a fim de verificar a inibição por parte dos compostos dessa fruta, sobre a atividade dessa enzima ligada diretamente ao metabolismo do protozoário.

3 Material e métodos

3.1 Materiais

3.1.1 Matéria-prima

Foram utilizados os subprodutos (cascas e sementes) de uvas tintas da variedade Bordô (*Vitis labrusca*) proveniente da produção de vinho, obtidos da Vinícola Micheletto localizada no município de Louveira, São Paulo, Brasil. O resíduo foi embalado a vácuo em uma embaladora semi-automática (modelo 200S, Selovac, São Paulo, Brasil) utilizando filme de polietileno de baixa densidade e mantido em freezer a -20°C até o momento do uso.

3.1.2 Agente carreador

O agente carreador utilizado para a atomização foi a maltodextrina *MOR-REX® 1910* ($9 \leq DE \leq 12$, aqui considerada como DE10), doada gentilmente pela Ingredion (Mogi-Guaçu, Brasil).

3.2 Métodos

3.2.1 Obtenção dos extratos líquidos

As cascas e sementes da uva foram descongelados sob temperatura de refrigeração (4°C) durante 12 horas. Após esse período, uma amostra foi retirada e o teor de umidade foi medido em um analisador de umidade (modelo MB35, Ohaus, Switzerland) utilizando radiação infravermelha de uma fonte de halogênio. As cascas e sementes foram então adicionadas de etanol 67,6 % v/v aproximadamente a fim de se obter uma concentração de etanol de 50% v/v considerando a umidade inicial do bagaço. A proporção bagaço fresco:solvente foi de 1:3 p/v (TERCI; ROSSI, 2002). A mistura foi triturada em liquidificador (modelo RI 2008, Walita, Varginha, Brasil) e a extração ocorreu sob agitação mecânica, (agitador modelo 713, Fisaton, São Paulo, Brasil) por 3 horas, à temperatura ambiente e ao abrigo da luz (VALDUGA et al. 2008). A mistura foi filtrada em tecido de algodão e o extrato etanólico foi armazenado a -20°C. Antes da concentração, o extrato foi centrifugado a 3000 rpm por 5 minutos numa centrífuga (modelo 5810R, Eppendorf, Hamburgo, Alemanha) para retirar sólidos que não foram retidos no processo de filtração. O

extrato foi concentrado em rota-evaporador (TE-211, Tecnal, Piracicaba, Brasil), à temperatura de 60°C até ser reduzido a 1/3 do volume inicial.

Inicialmente foi tentado o processo de concentração seguido de congelamento para posterior uso. Mas foi observado que o concentrado, após o descongelamento, apresentava a precipitação de partículas escuras (o que não ocorreu com o extrato etanólico), que poderiam comprometer as características do produto final além do que, ocorreu uma considerável perda no teor de antocianinas totais. Sendo assim, o processo de concentração do extrato foi realizado sempre no mesmo dia do processo de secagem no *spray dryer*.

3.2.2 Caracterização do extrato líquido

O extrato concentrado foi caracterizado em relação aos teores de lipídeos pelo método de Bligh e Dyer (1959), açúcares totais pelo método do ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS), segundo metodologia modificada de Miller (1959). Os teores de umidade, cinzas, fibras, proteínas e acidez, foram determinados de acordo com a metodologia da A.O.A.C. (2006). As características físicas avaliadas foram o pH medido em potenciômetro (modelo MB-10, Marte, Piracicaba, Brasil) e o teor de sólidos solúveis medido em refratômetro digital portátil (modelo AR200, Reichert, Depew, Estados Unidos).

3.2.3 Secagem por atomização

3.2.3.1 Preparo da mistura

A massa de agente carreador (maltodextrina 10 DE), a ser adicionada, foi calculada com base na massa de extrato e na porcentagem do carreador desejada. A mistura foi homogeneizada manualmente e alíquotas foram retiradas para determinação do teor de umidade e antocianinas totais.

3.2.3.2 Secagem no *spray dryer*

A secagem por atomização foi realizada em um *spray dryer* piloto (modelo MSD 5.0, Labmaq do Brasil Ltda, Ribeirão Preto, Brasil), que operou com bico injetor de 2,0 mm de diâmetro e vazão de ar de 40 L/min. A vazão de alimentação da mistura foi de 44 mL/min. Foi realizado um experimento fatorial 3x3 determinado segundo um Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC), onde as variáveis testadas foram a temperatura do ar de

secagem na entrada (130, 150 e 170°C) e concentração de agente carreador (10, 20 e 30%) somando 9 tratamentos (Tabela 1) com duas repetições, num total de 18 ensaios. As respostas avaliadas foram o rendimento do processo, o teor de umidade, retenção de antocianinas, higroscopicidade e solubilidade das amostras obtidas.

Tabela 1 - Ensaios para secagem dos extratos obtidos do subproduto de vinificação da uva Bordô mostrando as variáveis testadas e seus níveis.

Tratamento	Temperatura do ar de secagem (°C)	Concentração de agente carreador (%)
1	130	10
2	130	20
3	130	30
4	150	10
5	150	20
6	150	30
7	170	10
8	170	20
9	170	30

3.2.4 Preparo do controle (liofilizado)

Foi preparada uma amostra de extrato concentrado por liofilização, para efeito de comparação. O extrato foi congelado a -20°C sendo liofilizado em equipamento (modelo LC 1500, Terroni, São Carlos, Brasil) durante 24 h. A amostra obtida foi armazenada a -20°C.

O extrato liofilizado foi caracterizado quanto ao rendimento, teor de umidade, retenção de antocianinas, higroscopicidade, solubilidade, antocianinas totais, flavonoides totais, proantocianidinas totais, cor instrumental, espectroscopia de infravermelho (FTIR), estabilidade, atividade antioxidante, antimicrobiana e de inibição da arginase de *Leishmania*.

3.2.5 Rendimento do processo

O rendimento no processo de secagem foi calculado pela relação entre a massa seca de pó obtida e a massa seca da mistura que foi alimentada, de acordo com a Equação 1.

$$Rendimento_{\%} = \frac{ms_{pó}}{ms_{mistura}} \times 100 \quad (1)$$

Em que: $ms_{pó}$ é a massa seca dos pós obtidos e $ms_{mistura}$ é a massa seca da mistura alimentada. No caso do controle liofilizado a $ms_{mistura}$ corresponde à massa seca de extrato concentrado.

3.2.6 Teor de umidade dos pós

O teor de umidade foi medido em um analisador de umidade (modelo MB35, Ohaus, Switzerland) utilizando radiação infravermelha de uma fonte de halogênio. O resultado foi expresso em base seca.

3.2.7 Teor de antocianinas totais

A análise do conteúdo total de antocianinas foi realizada utilizando-se o método da diferença de pH (GIUSTI; WROLSTAD, 2001). Uma massa conhecida de cada amostra foi diluída em água com o volume ajustado para 25 mL. Para uma alíquota de 0,5 mL de amostra diluída foram adicionados 4,5 mL do tampão cloreto de potássio (pH 1,0) em tubos de ensaio em triplicata, homogeneizados e armazenados por 15 minutos em ausência de luz, sendo realizado procedimento equivalente com o tampão acetato de sódio (pH 4,5). A absorbância foi medida no comprimento de onda de absorção máxima (nesse caso 520 nm) e a 700 nm em um espectrofotômetro (modelo Libra S-22, Biochrom, Cambridge, UK), e o branco feito com uma solução do agente carreador maltodextrina 10 DE. A diferença na absorbância foi calculada de acordo com a Equação 2. O teor de antocianinas totais em mg/L de amostra diluída foi calculado utilizando a Equação 3. Os resultados foram expressos em miligrama equivalente de malvidina-3-glicosídeo por grama de extrato (desconsiderando a maltodextrina) em base seca (Equação 4). Foram utilizados o coeficiente de extinção molar da malvidina-3-glicosídeo ($\epsilon = 28000 \text{ L/cm.mol}$), e o peso molecular de 463,3 g/mol (ROCKENBACH et al. 2011).

$$A_{dif} = (A_{520nm} - A_{700nm})_{pH\ 1,0} - (A_{520nm} - A_{700nm})_{pH\ 4,5} \quad (2)$$

Onde: A_{dif} é a diferença das absorbâncias nos diferentes valores de pH; A_{520} é a absorbância no comprimento de onda máximo que neste caso é 520 nm e A_{700} é a absorbância no comprimento de onda de 700 nm.

$$AT_{mg/L} = \frac{A_{dif} \times 463,3 \times FD \times 1000}{28000} \quad (3)$$

Onde: $AT_{mg/L}$ é o teor de antocianinas totais expressos em mg equivalente de malvidina-3-glicosídeo por litro de amostra diluída; e FD é o fator de diluição da amostra nas soluções tampão. Neste caso $FD = 10$.

$$AT_{mg/g} = \frac{AT_{mg/L} \times V}{m} \quad (4)$$

Onde: $AT_{mg/g}$ é o teor de antocianinas totais expressos em mg equivalente de malvidina-3-glicosídeo por grama de extrato em base seca (desconsiderando a maltodextrina); V é o volume onde a amostra em pó foi diluída (em litros); e m é a massa de extrato presente na amostra em base seca (descontando a umidade inicial).

Para o cálculo da retenção de antocianinas foi utilizada a Equação 5:

$$Retenção\ de\ antocianinas_{\%} = \frac{AT_{final}}{AT_{inicial}} \times 100 \quad (5)$$

Onde: AT_{final} é o teor de antocianinas determinado nas amostras após o processo de secagem; e $AT_{inicial}$ é o teor de antocianinas determinado na mistura (extrato + carreador) antes do processo de secagem.

3.2.8 Higroscopicidade

A análise da higroscopicidade foi feita de acordo com Cai e Corke (2000), com algumas modificações. Triplicatas de 0,2 g de cada amostra obtida foram dispostas em placas de Petri e posteriormente acondicionadas por uma semana em dessecador contendo solução saturada de cloreto de sódio NaCl (UR de 75,3%). A higroscopicidade foi medida através da massa de água adsorvida pela amostra e expressa em g de água adsorvida/100 g da matéria seca.

3.2.9 Solubilidade

A solubilidade foi determinada de acordo com o método de Eastman e Moore (1984), com algumas modificações. O método consistiu na adição de 0,5 g de amostra a um recipiente contendo 50 mL de água destilada e agitação a 100 rpm em uma mesa orbital (modelo TE-

420, TECNAL, Piracicaba, Brasil) durante 30 minutos, seguida por uma centrifugação a 3000 rpm, por 5 minutos.

Posteriormente, uma alíquota de 25 mL do sobrenadante foi retirada e levada à estufa a 105°C, até peso constante. A solubilidade foi calculada com base na massa inicial de amostra que foi solubilizada nessa alíquota de 25 mL do sobrenadante. O resultado foi expresso em porcentagem.

3.2.10 Teor de proantocianidinas totais

Inicialmente 0,5 gramas das amostras foram extraídas com 10 mL de uma solução de acetona em água 80% v/v. Para isso a amostra foi solubilizada em 2 mL de água e então foram adicionados 8 mL de acetona PA; esse procedimento facilitou a separação da maltodextrina e extração dos compostos. O processo de extração foi completado em sonicador (modelo USC-1400, Unique, Indaiatuba, Brasil) por 15 minutos seguido de centrifugação a 3000 rpm por 5 minutos. O sobrenadante foi utilizado para a execução da análise.

O teor de proantocianidinas totais foi determinado pelo método do butanol-HCl de acordo com Porter, Hrstich e Chan (1986). Diluições apropriadas de cada extrato obtido anteriormente foram feitas: os extratos provenientes de pós com 10% de carreador foram diluídos na proporção de 1:20, pós com 20% de carreador (1:10), pós com 30% de carreador (1:5) e controle liofilizado (1:50). Alíquotas de 250 µL de cada diluição foram colocadas em triplicata em tubos de ensaio com rosca e adicionadas de 2,5 mL de uma solução de sulfato ferroso $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (77 mg) preparada em 500 mL da solução de n-butanol:ácido clorídrico concentrado (HCl) 3:2. Os tubos foram levados ao banho de ebulição a 95 °C por 15 minutos, após esse período, foram colocados em banho de gelo. A absorbância das amostras foi medida em espectrofotômetro (Ultrospec 2000, Pharmacia Biotech) a 540 nm. Amostras diluídas em 2,5 mL de acetona 80% foram utilizadas como controle. A mesma reação também foi realizada para diferentes concentrações de uma solução de tanino quebracho (1,2 mg/mL em metanol acidificado com HCl 1%), permitindo a construção de uma curva padrão. Os resultados para as amostras foram obtidos com a diferença da absorbância da amostra após hidrólise com relação ao controle correspondente; sendo esse valor rebatido na curva padrão. O resultado final foi expresso em mg equivalente de tanino quebracho/g de extrato em base seca (desconsiderando a maltodextrina).

3.2.11 Teor de flavonóides totais

Para realização dessa análise, 0,5 g de cada amostra foi diluída em água, sendo o volume completado para 10 mL. O teor de flavonóides totais foi determinado de acordo com Yang, Martinson e Liu (2009). Inicialmente 250 µL de diluições dos extratos, sendo que os extratos obtidos dos pós com 10% de carreador foram diluídos na proporção de 1:20, pós com 20% de carreador (1:20), pós com 30% de carreador (1:10) e controle liofilizado (1:30), foram misturados com 1,25 mL de água destilada e em seguida com 75 µL de uma solução de nitrito de sódio 5% deixando reagir por 5 minutos. Então, 150 µL de uma solução de cloreto de alumínio 10% foram adicionados e a mistura foi deixada reagir por mais 6 minutos antes de se adicionar 0,5 mL de uma solução 1 M de hidróxido de sódio. Água destilada foi adicionada para que o volume final da mistura fosse de 3 mL. A absorbância foi lida a 510 nm em um espectrofotômetro (modelo Libra S-22, Biochrom, Cambridge, UK). Para o branco foram utilizados 250 µL de uma solução de maltodextrina em água. O mesmo procedimento foi realizado para uma solução de quercetina (Sigma Chemical Co., St. Louis, Estados Unidos) em diferentes concentrações, permitindo a construção de uma curva padrão. As análises foram feitas em triplicata e os resultados foram expressos em mg equivalente de quercetina/g de extrato em base seca (desconsiderando a maltodextrina).

3.2.12 Morfologia das partículas – Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A morfologia das partículas foi estudada por meio de um microscópio eletrônico (modelo TM 3000, Tabletop Microscope Hitachi, Tóquio, Japão), com o programa TM 3000. Para a MEV, as partículas foram acomodadas em uma fita de carbono dupla face (Ted Pella, Inc., Redding, Estados Unidos), e estas por sua vez foram fixadas em *stubs* de alumínio. As imagens foram captadas com aceleração de voltagem de 5 kV, com corrente de 1750 mA.

3.2.13 Distribuição do tamanho de partículas

O diâmetro médio (em volume) e a distribuição do tamanho das partículas foi determinada em um aparelho com difração a laser (modelo SALD / 201V, Shimadzu, Kyoto, Japão) com faixa de medição entre 0,5 a 500 micrômetros, utilizando etanol absoluto como líquido sedimentador, uma vez que a solubilização das partículas não ocorre neste líquido.

Para essa análise, uma pequena quantidade do produto foi dispersa em etanol absoluto e submetida a 3 leituras.

3.2.14 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros para a maltodextrina pura, água pura, o extrato concentrado, o extrato liofilizado e as amostras obtidas após a secagem no *spray dryer*, foram obtidos na região de 4000 a 600 cm^{-1} utilizando o equipamento Perkin Elmer FT-IR Spectrometer (Massachusetts, Estados Unidos) com o auxílio do software Spectrum One versão 5.3.1.

3.2.15 Isotermas de sorção de umidade

As umidades de equilíbrio das amostras em pó foram determinadas pelo método gravimétrico estático (LABUZA, 1984), utilizando-se soluções salinas saturadas em água destilada, para uma determinada faixa de umidade relativa. As soluções salinas utilizadas bem como as atividades de água correspondentes, que foram determinadas experimentalmente no AQUALAB (modelo Series 3 TE, Decagon Devices, Pullman, Estados Unidos) são apresentadas na Tabela 2.

Tabela 2 - Soluções salinas saturadas e suas respectivas atividades de água determinadas experimentalmente.

Solução salina concentrada	Atividade de água
Cloreto de lítio (LiCl)	$0,313 \pm 0,002$
Acetato de potássio (CH_3COOK)	$0,431 \pm 0,001$
Carbonato de potássio (K_2CO_3)	$0,604 \pm 0,001$
Cloreto de magnésio (MgCl_2)	$0,683 \pm 0,001$
Cloreto de potássio (KCl)	$0,848 \pm 0,001$
Nitrato de magnésio ($\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$)	$0,909 \pm 0,001$

Foi medido o teor de umidade inicial das amostras como descrito na Seção 3.2.6. Uma massa conhecida das amostras foi colocada em pesa-filtros limpos e secos em estufa e em seguida, foram armazenados em dessecadores com as respectivas soluções salinas para cada valor de umidade relativa desejada, a 25°C. As amostras foram pesadas em balança analítica em intervalos regulares de tempo, até atingirem o equilíbrio (cerca de 3 semanas). Depois desse período, a umidade de equilíbrio das amostras foi calculada pela relação entre a massa de água total na amostra pela massa seca de amostra (Equação 6).

$$U_{eq} = \frac{m_{\text{água}}}{m_s} \times 100 \quad (6)$$

Onde: U_{eq} é a umidade de equilíbrio (% em base seca); $m_{\text{água}}$ é a massa de água total (massa de água inicial + massa de água adsorvida) na amostra (g); e m_s é a massa seca da amostra (g).

Os dados experimentais obtidos foram ajustados pelos seguintes modelos encontrados na literatura para isotermas de sorção: GAB, BET modificado, Halsey, Oswin e Henderson (Tabela 3). Os parâmetros destes modelos foram determinados através da análise de regressão não linear dos dados experimentais, realizada com o auxílio da ferramenta Solver, do *software* Microsoft Excel. Os critérios de escolha dos melhores ajustes foram o coeficiente de determinação (R^2) e o módulo do desvio relativo médio (DR), calculado de acordo com a Equação 7.

$$DR = \frac{100}{N} \times \sum \frac{|VE - VP|}{VE} \quad (7)$$

Onde: VE = valor experimental; VP = valor predito pelo modelo; N = número de observações.

Tabela 3 - Modelos para isotermas de sorção em alimentos.

Modelo	Equação	Referência
GAB	$U_{eq} = \frac{X_m \cdot C_{GAB} \cdot K_{GAB} \cdot a_w}{(1 - K_{GAB} \cdot a_w) \cdot (1 - K_{GAB} \cdot a_w + C_{GAB} \cdot K_{GAB} \cdot a_w)}$	VIEIRA; FIGUEIRÊDO; QUEIROZ, 2007.
BET	$U_{eq} = \frac{X_m \cdot C_{BET} \cdot a_w [1 - (N + 1) \cdot (a_w)^N + N \cdot (a_w)^{N+1}]}{(1 - a_w) \cdot [1 - (1 - C_{BET}) \cdot a_w - C_{BET} \cdot (a_w)^{N+1}]}$	TONON et al. 2009.
Halsey	$U_{eq} = \left(\frac{-A_{Hal}}{T \cdot \ln a_w} \right)^{1/B_{Hal}}$	GOULA et al. 2008.
Oswin	$U_{eq} = A_{Osw} \cdot \left(\frac{a_w}{1 - a_w} \right)^{B_{Osw}}$	VIEIRA; FIGUEIRÊDO; QUEIROZ, 2007.
Henderson	$U_{eq} = \left[\frac{\ln(1 - a_w)}{-A_{Hend}} \right]^{1/B_{Hend}}$	AL-MUHTASEB; McMINN; MAGEE, 2002.

Onde: U_{eq} é a umidade de equilíbrio (g de água /g de matéria seca);

X_m é a umidade da monocamada molecular (g de água /g de matéria seca);

N é o número de camadas moleculares;

a_w é a atividade de água; T é a temperatura (°C);

C_{GAB} , K_{GAB} , C_{BET} , A_{Hab} , B_{Hab} , A_{Osw} , B_{Osw} , A_{Hend} e B_{Hend} , são constantes dos respectivos modelos.

3.2.16 Cor instrumental

A cor das amostras foi medida por meio de um colorímetro (modelo Mini Scan XE, HunterLab, Reston, Estados Unidos), e os resultados foram expressos de acordo com o sistema de cor CIELAB (L^* , a^* e b^*). A calibração foi feita por meio de duas placas de calibração, uma branca e uma preta. Na análise de estabilidade durante estocagem (Seção 4.10.2) foi avaliada a diferença total de cor (ΔE^*), calculada pela Equação 8 (MAIER et al. 2009).

$$\Delta E^* = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2} \quad (8)$$

Onde: $\Delta L^* = L^*_{\text{tempo inicial}} - L^*_{\text{tempo final}}$; $\Delta a^* = a^*_{\text{tempo inicial}} - a^*_{\text{tempo final}}$; $\Delta b^* = b^*_{\text{tempo inicial}} - b^*_{\text{tempo final}}$.

3.2.17 Estabilidade durante a estocagem

Foi utilizada a metodologia descrita por Tonon, Brabet e Hubinger (2010), com algumas adaptações. As amostras foram dispostas em pequenas quantidades, em frascos, visando expor a maior superfície possível ao ar, em seguida foram armazenadas em dessecadores contendo soluções saturadas de cloreto de magnésio $MgCl_2$ (UR de 32,8%). Os dessecadores foram armazenados em estufas à temperatura de 25°C. As amostras foram estocadas por 120 dias nas condições especificadas e avaliadas a cada 30 dias com relação ao teor de antocianinas totais e cor instrumental.

A constante de velocidade de reação (k) e o tempo de meia vida ($t_{1/2}$) foram determinados seguindo o modelo de cinética de primeira ordem como descrito nas Equações 9 e 10 (TONON; BRABET; HUBINGER, 2010; OSORIO et al. 2010; IDHAM; MUHAMAD; SARMIDI, 2012).

$$-\ln\left(\frac{c}{c_0}\right) = kt \quad (9)$$

$$t_{1/2} = \frac{\ln(2)}{k} \quad (10)$$

Onde: C é a concentração de antocianinas no tempo t (mg/g de extrato seco); C_0 é a concentração inicial de antocianinas (mg/g de extrato seco); e t é o tempo de reação (dias).

Também foi calculada a perda total de antocianinas no período de estocagem através da relação entre a quantidade de antocianinas no último dia de estocagem (C_{120}), pela quantidade inicial de antocianinas (C_0) de acordo com a Equação 11.

$$Perda\ total_{\%} = \left(1 - \frac{C_{120}}{C_0}\right) \times 100 \quad (11)$$

3.2.18 Capacidade antioxidante *in vitro*

A atividade antioxidante das amostras foi determinada por três métodos diferentes: Capacidade de sequestro do radical DDPH, capacidade redutora do ferro (FRAP) e pela capacidade em reduzir o reagente de Folin-Ciocalteu também conhecido como quantidade de fenólicos totais. Para realização dessas análises, 0,5 g de cada amostra em pó e do extrato liofilizado foi extraída com 15 mL de solução de metanol 70% acidificado (ácido acético 0,5%). Para isso as amostras foram solubilizadas em 4,5 mL de água e então foram adicionados 10 mL de metanol acidificado; esse procedimento facilitou a separação da maltodextrina e extração dos compostos. O processo de extração foi completado em sonificador (modelo USC-1400, Unique, Indaiatuba, Brasil) por 15 minutos seguido de centrifugação a 3000 rpm por 5 minutos. O sobrenadante foi utilizado para a execução das análises.

3.2.18.1 Atividade sequestrante do radical DPPH•

A atividade antioxidante foi determinada através da redução do radical estável DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila, (Sigma Chemical Co., St. Louis, EUA) do meio de reação pelos antioxidantes presentes na amostra, de acordo com a metodologia de Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995). Foi preparada uma solução metanólica de DPPH• a 20 mg/mL, de forma a apresentar absorvância em 517 nm entre 0,6 e 0,7. As determinações foram realizadas em microplaca de poliestireno com 96 cavidades (Costar, Cambridge, MA), adicionando-se em cada cavidade da microplaca 250 µL da solução de DPPH• e 40 µL de metanol para o controle, ou o mesmo volume para solução padrão de Trolox e extratos das amostras diluídos [sendo que os extratos obtidos dos pós com 10% de carreador foram diluídos na proporção de

1:80, pós com 20% de carreador (1:40), pós com 30% de carreador (1:20) e controle liofilizado (1:200)]. As leituras das absorbâncias foram realizadas após 25 minutos de reação em espectrofotômetro (modelo Benchmark Plus, Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA), com incubação a 25°C. As análises foram realizadas em triplicata. O mesmo procedimento foi feito para diferentes concentrações de Trolox, permitindo a construção de uma curva padrão. Os resultados foram expressos em μmol de Trolox Equivalente (TE) por g de extrato em base seca (desconsiderando a maltodextrina).

3.2.18.2 Capacidade redutora do ferro (FRAP)

Utilizou-se o método descrito por Benzie e Strain (1996), com algumas modificações. Diluições de cada amostra foram feitas, sendo que os extratos obtidos dos pós com 10% de carreador foram diluídos na proporção de 1:40, pós com 20% de carreador (1:20), pós com 30% de carreador (1:10) e controle liofilizado (1:100). Alíquotas de 20 μL de cada diluição foram adicionadas em triplicata em microplaca de 96 poços sendo adicionados 150 μL do reagente de trabalho, a saber: tampão acetato de sódio 300 mM pH 3,6 + TPTZ (2,4,6-tri(2-piridil)-s-triazina 10 mM, em 40 mM HCl + cloreto férrico 20 mM. Na proporção de 10:1:1. As microplacas foram mantidas a 37°C em espectrofotômetro (modelo Benchmark Plus, Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA) por 4 minutos e a leitura da absorbância foi feita a 593 nm. O mesmo procedimento foi feito para diferentes concentrações de Trolox, permitindo a construção de uma curva padrão. Os resultados foram expressos em μmol de Trolox Equivalente (TE) por g de extrato em base seca (desconsiderando a maltodextrina).

3.2.18.3 Capacidade redutora do reagente de Folin-Ciocalteu (Fenólicos Totais)

Este ensaio foi realizado de acordo com Singleton, Orthofer e Lamuela-Raventos (1999), utilizando-se 0,25 mL dos extratos obtidos adicionados a 2 mL de água destilada e 0,25 mL do reagente de Folin-Ciocalteu. Após 3 minutos à temperatura ambiente, foram adicionados 0,25 mL de solução saturada de carbonato de sódio, e os tubos foram colocados em banho a 37°C durante 30 minutos para desenvolvimento de cor. A absorbância a 750 nm foi determinada em espectrofotômetro (Ultrospec 2000, Pharmacia Biotech) e o conteúdo de fenólicos totais calculado utilizando-se curva-padrão de ácido gálico (Acros Organics, New Jersey, Estados Unidos). Os resultados obtidos foram expressos como mg equivalente de ácido gálico/grama de extrato em base seca (desconsiderando a maltodextrina).

3.2.19 Atividade antimicrobiana *in vitro*

3.2.19.1 *Micro-organismos testados*

Para a atividade antimicrobiana *in vitro* foram testadas as bactérias Gram-positivas *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* N315 (MRSA/VSSA) e *Listeria monocytogenes* 313 p4 (isolada de piso da câmara fria de laticínio), ambas doadas pelo Laboratório de Microbiologia e Micotoxilogia da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo (FZEA/USP) e as bactérias Gram-negativas *Salmonella enteritides* ATCC 13076 e *Escherichia coli* ATCC 25922, ambas doadas pela coleção de culturas tropical da Fundação André Tosello.

3.2.19.2 *Determinação da atividade antimicrobiana*

O *screening* da atividade antimicrobiana das amostras foi realizado por meio da técnica de difusão em ágar de acordo com preconizações do Clinical and Laboratory Standards Institute CLSI (2009a), e Martin et al. (2012), com modificações. Duzentos microlitros de inóculo padronizado (1×10^8 UFC.mL⁻¹) de cada micro-organismo foram transferidos para 200 mL ágar nutriente (Oxoid, Inglaterra) estéril, mantido a 45°C, de modo a se obter uma população bacteriana final de $1,5 \times 10^5$ UFC.mL⁻¹. O ágar foi transferido para placas de Petri (150 mm) no qual foram produzidos poços com 8 mm de diâmetro, dentro dos quais foram distribuídos 40 µL dos extratos de cada amostra de pó ou do controle liofilizado (100 mg.mL⁻¹). As placas foram mantidas em repouso por 1 hora à temperatura ambiente para permitir a difusão dos extratos no meio. Como controle negativo, foram utilizados 40 µL de uma solução do carreador matodextrina 10DE (100 mg.mL⁻¹) e como controle positivo 40 µL de uma solução de Tetraciclina (Sigma Chemical Co., St. Louis, Estados Unidos) na concentração de 100 mg.mL⁻¹. Foram feitas triplicatas para cada amostra testada.

3.2.19.3 *Determinação da concentração inibitória mínima (CIM) e da concentração bactericida mínima (CBM)*

Para determinação da CIM foi utilizado o método de microdiluição em caldo, de acordo com o preconizado pelo CLSI (2009b) e Martin et al. (2012), em microplacas de 96 poços, com algumas modificações. As concentrações dos extratos das amostras em pó e do extrato liofilizado foram obtidas por diluição seriada na própria microplaca, resultando em

concentrações variando de 25 mg.mL^{-1} a $0,78 \text{ mg.mL}^{-1}$, após a adição de caldo BHI (Oxoid, Inglaterra) inoculado ($1-2 \times 10^5 \text{ UFC.mL}^{-1}$). O volume final para cada poço foi de $200 \mu\text{L}$. Os controles foram compostos por: controle positivo ($200 \mu\text{L}$ de BHI acrescido de tetraciclina $0,12\% \text{ m/v}$) e controle negativo ($200 \mu\text{L}$ de BHI acrescidos de matodextrina 10 DE na maior concentração (25 mg.mL^{-1}). Após incubação a 37°C por 24 h as microplacas foram avaliadas quanto ao crescimento dos micro-organismos, de forma visual pela presença de turbidez nos poços. Para determinações da CBM, $5 \mu\text{L}$ de cada poço, que não apresentou evidência de turbidez, foram semeados em placas de Petri contendo ágar nutriente, que foram incubadas a 37°C por 24 h . A CBM foi considerada como a menor concentração na qual não houve desenvolvimento de colônias na superfície do meio de cultura (CABRAL et al. 2009). Os experimentos foram realizados em triplicata para cada amostra.

3.2.20 Teste de inibição enzimática da arginase de *Leishmania amazonensis*

Os testes de inibição enzimática foram realizados em meio tamponado contendo CHES 50 mM pH $9,5$, L-arginina 50 mM pH $9,5$ e arginase recombinante de *Leishmania amazonensis* e o extrato obtido das amostras em pó da uva Bordô, com maltodextrina e do extrato liofilizado, em concentração final de $500 \mu\text{g/mL}$ na reação. Avaliou-se um controle positivo da reação na ausência de extrato e um controle negativo com maltodextrina pura. A atividade enzimática foi determinada pela análise da ureia produzida na reação através do método enzimático-colorimétrico de Berthelot (FAWCETT; SCOTT, 1960). A quantificação da ureia produzida foi feita pela leitura das amostras em espectrofotômetro (modelo U-2810 UV-VIS, Hitachi, Tóquio, Japão) em comprimento de onda de 600 nm . A taxa de inibição foi calculada pela equação 12.

$$\text{Inibição (\%)} = \left(100 - \frac{A_{600\text{Amostra}}}{A_{600\text{C+}}} \right) \times 100 \quad (12)$$

Onde: $A_{600\text{Amostra}}$ é a absorbância apresentada pela amostra e $A_{600\text{C+}}$ é a absorbância lida no controle positivo.

3.2.21 Análise estatística

Para avaliar o efeito dos tratamentos (temperatura e concentração de carreador) sobre o rendimento do processo de secagem, teor de umidade, retenção de antocianinas, higroscopicidade e solubilidade das amostras em pó, foi realizada análise de variância ($p < 0,05$) e foi verificada a existência interação entre os fatores. Havendo interação significativa, foi realizada análise de regressão para avaliar o desdobramento da interação, onde foi avaliada a influência do fator (temperatura ou concentração de carreador) dentro de cada nível do outro fator. Não existindo interação entre os fatores, foram avaliados os efeitos principais de cada fator separadamente.

Foi utilizada a Análise de Variância ($p < 0,05$) e teste de comparação de médias de Tukey ($p < 0,05$) para verificar diferenças significativas entre as amostras atomizadas e do extrato liofilizado, com relação aos teores de antocianinas totais, flavonóides totais, fenólicos totais, proantocianidinas totais, cor instrumental, além da atividade antioxidante, antimicrobiana e de inibição da enzima arginase.

Todos os procedimentos estatísticos foram realizados utilizando o pacote estatístico SAS (Statistical Analysis System), versão 9.2.

4 Resultados e discussão

4.1 Teste para determinação do solvente mais adequado à extração do pigmento

O teste para determinação do solvente a ser utilizado no trabalho foi conduzido da mesma forma como descrito na Seção 3.2.1, diferindo apenas pelo fato de que o bagaço foi previamente seco em estufa com circulação de ar a 40°C por cerca de 33 horas, até que a umidade final estivesse em torno de 5% (VALDUGA et al. 2008).

Como o objetivo do trabalho foi desenvolver um pigmento que pudesse ser aplicado em alimentos, produtos farmacêuticos ou cosméticos, ficou definido que o solvente utilizado na extração do pigmento do resíduo da uva deveria ser inócuo. Portanto, foram testados 6 solventes sendo eles: água destilada e etanol em cinco concentrações, conforme a Tabela 4. Esses solventes são preferidos quando o objetivo é se obter um pigmento que possa ser aplicado na indústria de alimentos (GÓMEZ-PLAZA; MIÑANO; LÓPEZ-ROCA, 2006).

Os resultados para o teor de antocianinas totais nos extratos, expressos em mg equivalente de malvidina-3-glicosídeo/g de bagaço seco estão apresentados na Tabela 4.

A partir dos resultados do teste, pode-se observar que tanto a água destilada quanto o etanol absoluto foram os solventes menos eficientes na extração dos pigmentos do resíduo.

Os solventes contendo etanol nas concentrações intermediárias testadas (50 e 70%) obtiveram os melhores resultados, que foram estatisticamente diferentes dos demais e não diferiram entre si. Este resultado pode ser atribuído ao fato do material ser constituído por diferentes moléculas, as quais apresentam polaridades distintas.

Rockenbach et al. (2008) obtiveram resultados semelhantes ao extrair antocianinas do resíduo de uvas tintas das variedades (*Vitis vinifera*) Tanat e Ancelota. Esses autores obtiveram teores maiores de antocianinas totais quando a extração foi realizada com etanol 50 e 70%.

Tabela 4 – Conteúdo total de antocianinas extraídas do subproduto de vinificação da uva Bordô com diferentes solventes.

Sistema de solvente utilizado	Antocianinas totais (mg Eq Malvidina-3-glicosídeo/g de bagaço seco)
Água destilada	7,3 ± 0,04 ^d
Etanol 30%	17,7 ± 0,03 ^{b,c}
Etanol 50%	21,4 ± 0,07 ^a
Etanol 70%	22,1 ± 0,15 ^a
Etanol 95%	19,6 ± 0,01 ^{a,b}
Etanol 100%	15,4 ± 0,04 ^c

Entre os solventes com melhor potencial, foi escolhido o etanol 50% para a obtenção dos extratos que foram utilizados na execução do trabalho. O menor custo, devido à menor quantidade de etanol puro necessária, foi o fator determinante nesta escolha.

A etapa de secagem do subproduto da uva antes da extração foi realizada apenas no teste preliminar, pois se fazia necessário o mínimo de umidade possível no material, tendo em vista que foi testado, por exemplo, o etanol absoluto e caso houvesse alta umidade no resíduo, esse teste não faria sentido. No entanto, o processo de secagem, mesmo sendo realizado à temperatura moderada (40°C) ocasionou perda considerável no conteúdo de antocianinas totais quando comparado com a extração a partir do resíduo fresco. Provavelmente devido ao tempo prolongado de exposição do material (cerca de 33 horas). Dessa forma, para os demais ensaios, o bagaço da uva foi utilizado com seu conteúdo de umidade original, que estava em torno de $78,04 \pm 0,61\%$.

Esse valor de umidade foi levado em conta no cálculo da quantidade de etanol puro a ser adicionado a fim de se obter a concentração de etanol a 50%, levando-se em conta a proporção definida inicialmente de 1:3 entre massa de resíduo fresco e solvente.

4.2 Caracterização do extrato líquido

Na Figura 3 é possível observar o bagaço da uva Bordô fresco, o extrato etanólico e o extrato após a concentração. Como o extrato concentrado foi o material de interesse nesse trabalho, foi realizada a caracterização do mesmo e os resultados são apresentados na Tabela 5.

Figura 3 - Matérias-primas utilizadas neste trabalho: a) cascas e sementes fermentadas da uva Bordô (cascas e sementes); b) extrato etanólico; c) extrato concentrado.

Tabela 5 – pH, sólidos solúveis (°Brix), teor de antocianinas totais e composição do extrato líquido concentrado (% em base úmida) obtido dos subprodutos da uva Bordô.

Parâmetro avaliado	Média ± desvio padrão
pH	3,43 ± 0,01
Sólidos solúveis	5,33 ± 0,06
Acidez	2,95 ± 0,01
Umidade	95,67 ± 0,32
Carboidratos	0,80 ± 0,01
Gordura	0,17 ± 0,01
Cinzas	0,41 ± 0,06
Proteínas	NM
Fibras	NM
Antocianinas totais (mg/g de extrato b.s)	102,30 ± 1,77

NM = não mensurável.

O extrato apresentou alto teor de umidade e entre os outros componentes, a acidez se destaca, o que justifica seu pH baixo. A quantidade de carboidratos foi baixa e isso é devido, provavelmente, ao fato do resíduo ser proveniente da produção de vinho onde a maioria dos açúcares foi consumida no processo fermentativo. No entanto os carboidratos estão logo abaixo dos ácidos na contribuição para o teor de sólidos totais do extrato. Uma parte dos açúcares encontrados no extrato deve ser proveniente dos grupos glicosídicos das antocianinas, uma vez que a amostra foi submetida a uma hidrólise ácida, antes da quantificação dos carboidratos totais. O teor de lipídeos provavelmente é proveniente da semente, que também fazia parte do resíduo. Não foram encontrados teores significativos de proteínas e fibras, o que provavelmente se deve ao fato do extrato ter passado por etapas de filtração e centrifugação, onde estes foram retidos.

O teor de antocianinas totais no extrato foi elevado, como o encontrado por Rockenbach et al. (2011) para a mesma variedade de uva, indicando o potencial uso dos resíduos da uva Bordô como fonte de pigmentos naturais.

4.3 Secagem por atomização

As amostras em pó resultantes da secagem no equipamento *spray dryer* (Figura 4) podem ser vistas na Figura 5.

Visualmente o produto se apresentou em forma de pó fino e solto, com cor intensa, variando a tonalidade de roxo do mais escuro para o mais claro à medida que se aumentava a

concentração de agente carreador. O aroma e o sabor lembravam uvas fermentadas (vinho). Em contato com a mão, os pós tornavam-se rapidamente pegajosos.

As respostas para os tratamentos referentes ao rendimento do produto, teor de umidade, retenção de antocianinas, higroscopicidade e solubilidade, bem como a temperatura do ar de saída são apresentadas na Tabela 6.

Figura 4 - *Spray dryer* piloto utilizado nos ensaios de secagem realizados neste trabalho.

Figura 5 - Amostras em pó obtidas da secagem em *spray dryer*, do extrato da uva bordô em diferentes temperaturas e concentrações de agente carreador: 1 (T 130°C e 10% carreador); 2 (T 130°C e 20% carreador); 3 (T 130°C e 30% carreador); 4 (T 150°C e 10% carreador); 5 (T 150°C e 20% carreador); 6 (T 150°C e 30% carreador); 7 (T 170°C e 10% carreador); 8 (T 170°C e 20% carreador); 9 (T 170°C e 30% carreador).

Tabela 6 – Temperatura de saída e respostas para os ensaios de secagem em *spray dryer* dos extratos obtidos dos subprodutos de vinificação da uva Bordô em diferentes temperaturas de secagem e concentrações de agente carreador.

ENSAIO	Rendimento (%)	Teor de Umidade (%)	Retenção de antocianinas (%)	Higroscopicidade (g de água/100g de matéria seca)	Solubilidade (%)	Temperatura de saída (°C)
1	27,92 ± 4,47	4,39 ± 0,17	93,87 ± 0,45	16,04 ± 0,16	91,84 ± 1,91	91,50 ± 2,12
2	27,04 ± 1,11	4,40 ± 0,01	95,88 ± 1,21	13,76 ± 0,07	95,29 ± 0,30	93,50 ± 3,54
3	31,18 ± 1,46	4,54 ± 0,07	93,04 ± 1,17	12,44 ± 0,48	94,40 ± 0,77	93,00 ± 1,41
4	29,15 ± 3,59	3,35 ± 0,14	88,36 ± 0,07	16,27 ± 0,22	94,93 ± 0,04	111,50 ± 0,71
5	36,44 ± 0,38	3,29 ± 0,02	92,49 ± 1,88	14,53 ± 0,31	96,66 ± 0,32	117,00 ± 1,41
6	33,44 ± 2,13	3,90 ± 0,02	94,25 ± 0,95	13,35 ± 0,32	97,20 ± 0,43	106,50 ± 2,12
7	38,79 ± 1,67	2,96 ± 0,02	90,83 ± 0,29	16,90 ± 0,41	95,29 ± 0,02	116,00 ± 0,00
8	33,85 ± 0,80	3,50 ± 0,10	94,04 ± 0,14	14,29 ± 0,33	97,49 ± 0,25	121,00 ± 0,00
9	30,82 ± 0,96	3,72 ± 0,01	97,35 ± 1,82	14,54 ± 0,43	96,97 ± 1,31	128,00 ± 1,41

Média ± desvio padrão.

Todas as respostas apresentaram diferença significativa entre pelo menos duas amostras (ANOVA siginificativa $p < 0,05$). Sendo assim os dados foram submetidos à análise de regressão, onde foi verificada inicialmente a existência de interação entre os fatores (temperatura e concentração de maltodextrina). Com exceção da variável dependente solubilidade, todas as demais apresentaram interação entre a temperatura e concentração de agente carreador, sendo assim, foi realizado o desdobramento da interação onde foi avaliado o efeito da temperatura dentro de cada nível da concentração de maltodextrina e vice versa, para cada variável dependente.

4.3.1 Rendimento do processo

Os resultados para o desdobramento da interação entre os fatores para a variável “rendimento do processo” estão apresentados na Tabela 7 e na Figura 6.

De acordo com a Figura 6a, para as amostras secas na temperatura de 130°C, houve diminuição do rendimento com o aumento da concentração de agente carreador. Para as amostras secas na temperatura de 150°C houve aumento do rendimento quando se aumentou a concentração de carreador de 10 para 20% e diminuição de 20 até 30% de carreador. Já para a maior temperatura estudada (170°C) o rendimento se manteve constante com o aumento da concentração de maltodextrina.

Para todas as concentrações de agente carreador, o rendimento se manteve constante com o aumento da temperatura do ar de secagem (Figura 6b).

Os valores de rendimento foram baixos, variando de 27,04 a 38,79%. Isso se deve ao equipamento utilizado, que apresenta menor porte e capacidade em comparação aos equipamentos industriais o que implica em menores porcentagens de recuperação do produto.

O fato do rendimento não ter apresentado um comportamento regular nas condições testadas se deve ao fato das condições estudadas terem sido a temperatura de secagem e concentração de agente carreador, somente. Pode-se afirmar, portanto que apenas essas condições não foram suficientes para explicar o rendimento do produto no processo de secagem por atomização do extrato da uva Bordô. O rendimento pode ser influenciado não apenas pela temperatura do ar de secagem e concentração de carreador, como também pela vazão de alimentação da mistura, tipo de carreador, vazão de ar comprimido e vazão do ar de secagem (GOULA; ADAMAPOULOS, 2005a; MAURY et al. 2005; TONON; BRABET; HUBINGER, 2008; FAZAELI et al. 2012).

Tabela 7 – Desdobramento da interação entre os fatores (temperatura e concentração de maltodextrina) para o rendimento do processo de secagem dos extratos da uva Bordô em *spray dryer*.

Fator e seus níveis	Modelo ajustado	R ²
Temperatura		
130°C	$Y = 28,71$	-
150°C	$Y = 11,58 + 2,27M - 0,05M^2$	0,753
170°C	$Y = 42,46 - 0,3984M$	0,919
Concentração de maltodextrina		
10%	$Y = 31,95$	-
20%	$Y = 32,44$	-
30%	$Y = 31,81$	-

Onde: Y é a resposta para a variável dependente “rendimento do processo”; M é o efeito da concentração de maltodextrina e T é o efeito da temperatura do ar de secagem.

Figura 6 – Rendimento do processo de secagem em *spray dryer* dos extratos da uva Bordô. a) em diferentes concentrações de agente carreador, para cada temperatura; b) em diferentes temperaturas de secagem para cada concentração de agente carreador. Onde: obs – valores observados; est – valores estimados.

Tonon, Brabet e Hubinger (2008), ao secarem suco de açaí em *spray dryer* utilizando maltodextrina como carreador, encontraram influência da temperatura do ar de secagem, da vazão de alimentação da mistura e da concentração de carreador sobre o rendimento do processo. Essas autoras encontraram um efeito positivo da temperatura do ar de secagem sobre a variável “rendimento” o que pode estar ligado segundo elas, a uma maior eficiência de transferência de calor e de massa, quando se utiliza altas temperaturas.

O aumento do rendimento com o aumento da temperatura de secagem foi encontrado também por Fazaeli et al. (2012), ao secarem suco de amora preta em *spray dryer* utilizando maltodextrina como carreador em diferentes condições de temperatura, tipo de carreador, concentração de agente carreador e vazão do ar de secagem. Segundo esses autores, quando temperaturas elevadas são utilizadas, diminuí-se a probabilidade das partículas que não secaram completamente, se chocarem e aderirem à superfície da câmara de secagem.

O rendimento médio das amostras foi de $32,07 \pm 4,13$ %, valor próximo aos encontrados por Chegini e Ghobadian (2007), para secagem de suco de laranja em *spray dryer* utilizando maltodextrina como carreador; e Goula e Adamopoulos (2005a) para secagem de polpa de tomate em *spray dryer*.

4.3.2 Teor de umidade

Os resultados para o desdobramento da interação entre os fatores estudados para a variável “teor de umidade” estão apresentados na Tabela 8 e Figura 7.

Pode-se observar da Figura 7a, que para a menor temperatura utilizada (170°C) o teor de umidade das amostras se manteve constante com o aumento da concentração de carreador. E para as outras temperaturas (150 e 170°C) houve um aumento no teor de umidade, com o aumento na concentração do carreador. Observa-se também, que para as amostras contendo maiores porcentagens de maltodextrina (20 e 30%) os valores de umidade foram menores do que quando se utilizou 10% desse carreador. Fazaeli et al. (2012) observaram uma diminuição no teor de umidade de suco de amora preta seco em *spray dryer* com diferentes concentrações de maltodextrina a medida que se aumentou a concentração do agente carreador, indicando que quantidades maiores de carreador aumentaram a quantidade de sólidos na alimentação, reduzindo a quantidade de umidade total que necessitava ser evaporada.

Da Figura 7b, observa-se que para todas as concentrações de agente carreador estudadas, houve um decréscimo no teor de umidade das amostras com o aumento da temperatura do ar de secagem.

Tabela 8 – Desdobramento da interação entre os fatores (temperatura e concentração de maltodextrina) sobre o teor de umidade das amostras obtidas da secagem dos extratos da uva Bordô em *spray dryer*.

Fator e seus níveis	Modelo ajustado	R ²
Temperatura		
130°C	$Y = 4,45$	-
150°C	$Y = 4,06 - 0,10M + 0,003M^2$	0,957
170°C	$Y = 2,63 + 0,04M$	0,928
Concentração de maltodextrina		
10%	$Y = 8,96 - 0,04T$	0,915
20%	$Y = 43,53 - 0,51T + 0,002T^2$	0,992
30%	$Y = 19,90 - 0,19T + 0,001T^2$	0,993

Onde: Y é a resposta para a variável dependente “teor de umidade”; M é o efeito da concentração de maltodextrina e T é o efeito da temperatura do ar de secagem.

Figura 7 - Teor de umidade das amostras dos extratos da uva Bordô secas em *spray dryer*. a) em diferentes concentrações de agente carreador, para cada temperatura; b) em diferentes temperaturas de secagem para cada concentração de agente carreador. Onde: obs – valores observados; est – valores estimados.

Este resultado foi semelhante ao encontrado por Goula e Adamopoulos (2005b), para secagem de polpa de tomate em *spray dryer*; Maury et al. (2005) para secagem de trealose em *spray dryer*; Tonon, Brabet e Hubinger (2008), ao secarem suco de açaí com maltodextrina em *spray dryer*; Silva et al. (2012) ao secar extrato de casca de jabuticaba utilizando maltodextrina como carreador; e Fazaeli et al. (2012), ao secar suco de amora preta em *spray dryer* com maltodextrina. Todos encontraram valores decrescentes de umidade à medida que se aumenta a temperatura do ar de secagem. Isso se deve às temperaturas de entrada mais altas onde a velocidade de transferência de calor para a partícula é maior, proporcionando uma

maior força de condução para a evaporação da umidade, reduzindo assim, o conteúdo de umidade dos pós (TONON; BRABET; HUBINGER, 2008; FAZAELI et al. 2012).

Fazaeli et al. (2012) observaram uma diminuição no teor de umidade de suco de amora preta seco em *spray dryer* com diferentes concentrações de maltodextrina a medida que se aumentou a concentração do agente carreador, indicando que quantidades maiores de carreador aumentaram a quantidade de sólidos na alimentação, reduzindo a quantidade de umidade total que necessitava ser evaporada.

Os teores de umidade no presente trabalho variaram de 2,96 a 4,94 %. Resultados semelhante foram encontrados por Moreira et al. (2009) para extratos do bagaço de acerola, secos em *spray dryer* com diferentes porcentagens de carreador, com umidade variando de 3,09 a 5,43 %. Silva et al. (2013) conseguiram umidades variando de 2,11 a 5,31 ao secar extrato de casca de jabuticaba em *spray dryer* utilizando maltodextrina como carreador.

4.3.3 Retenção de antocianinas

Os resultados para o desdobramento dos fatores (temperatura e concentração de carreador) estão apresentados na Tabela 9 e Figura 8.

Observa-se da Figura 8a, que quando a temperatura de 130°C foi utilizada, a retenção de antocianinas nas amostras se manteve constante, com o aumento da concentração de agente carreador. Já quando as temperaturas de 150 e 170°C foram aplicadas há um aumento na retenção de antocianinas com o aumento da concentração de maltodextrina. Levando em consideração que antocianinas são instáveis em temperaturas elevadas, esse aumento não era esperado, mas pode ser explicado pela ocorrência da reação de escurecimento enzimático, especificamente a caramelização, por parte do agente carreador, como pode ser observado pelo aumento na retenção que ocorreu nas temperaturas mais elevadas, com o aumento do teor de maltodextrina. A caramelização gera compostos escuros que acabam provavelmente sendo quantificados na determinação do teor de antocianinas totais.

Outro tipo de reação pode explicar esse resultado e está ligada à presença de proantocianidinas na amostra, provenientes principalmente das sementes da uva que faziam parte do resíduo (ZHANG; MOU; DU, 2007). As proantocianidinas, também conhecidas como taninos condensados, embora sejam incolores, apresentam semelhanças estruturais com as antocianidinas, podendo ser convertidas em produtos coloridos durante o processamento (SCHWARTZ; VON ELBEE; GIUSTI, 2010). As altas temperaturas de secagem podem ter

degradado as proantocianidinas o que gerou compostos coloridos que foram quantificados na detecção do teor de antocianinas totais nas amostras produzidas.

Da Figura 8b, pode-se observar que quando uma menor quantidade de agente carreador (10%) foi utilizada, houve inicialmente um decréscimo na retenção de antocianinas, provocado certamente pela degradação desses compostos, e depois um pequeno aumento que pode ser ocasionado pelas reações citadas anteriormente. Quando 20% de carreador foram utilizados, a retenção permaneceu constante com o aumento da temperatura e quando foram utilizados 30% de maltodextrina houve um aumento na retenção. O fato das amostras contendo maiores porcentagens de carreador não terem apresentado decréscimo na retenção, como aconteceu com as amostras contendo menos carreador, indica um efeito protetor do agente carreador durante o processo de secagem por atomização. Os aumentos com o aumento da temperatura estão ligados provavelmente às reações já discutidas.

Tabela 9 - Desdobramento da interação entre os fatores (temperatura e concentração de maltodextrina) sobre a retenção de antocianinas das amostras obtidas da secagem dos extratos da uva Bordô em *spray dryer*.

Fator e seus níveis	Modelo ajustado	R ²
Temperatura		
130°C	$Y = 94,26$	-
150°C	$Y = 85,82 + 0,29M$	0,846
170°C	$Y = 87,55 + 0,33M$	0,925
Concentração de maltodextrina		
10%	$Y = 323,74 - 3,06T + 0,01T^2$	0,991
20%	$Y = 94,14$	-
30%	$Y = 78,70 + 0,11T$	0,733

Onde: Y é a resposta para a variável dependente “retenção de antocianinas”; M é o efeito da concentração de maltodextrina e T é o efeito da temperatura do ar de secagem.

Figura 8 - Retenção de antocianinas nas amostras dos extratos da uva Bordô secas em *spray dryer*. a) em diferentes concentrações de agente carreador, para cada temperatura; b) em diferentes temperaturas de secagem para cada concentração de agente carreador. Onde: obs – valores observados; est – valores estimados.

Tonon, Brabet e Hubinger (2008) observaram uma diminuição na retenção de antocianinas em suco de açaí, com o aumento da temperatura do ar de secagem. Ersus e Yurdagel (2007) encontraram também, perda de antocianinas em cenoura preta, com o aumento da temperatura utilizando três tipos de maltodextrina. Porém, esses autores não encontraram diferença no conteúdo de antocianinas com a variação na temperatura de secagem, quando essa foi realizada com maltodextrina 10 DE, apresentando até um pequeno aumento no teor de antocianinas na amostra seca a 180°C em relação às que foram secas a 160°C e a 200°C. Eles concluíram que em sistemas contendo maltodextrina com DE baixo, temperaturas do ar de secagem de até 180°C podem ser utilizadas. Silva et al. (2013) secando extrato de casca de jabuticaba com maltodextrina nas temperaturas de 140, 160 e 180°C, observaram que a maior retenção de antocianinas se deu com a temperatura de 160°C, sendo essa temperatura, próxima à maior utilizada no presente trabalho (170°C).

Foram encontrados altos valores de retenção de antocianinas variando de 88,36 a 97,35 %. Silva et al. (2013) encontraram valores semelhantes variando de 83,21 a 99,02 % para extrato de jabuticaba atomizado em diferentes temperaturas e com maltodextrina. Altos valores de retenção podem ser explicados pela presença das antocianinas aciladas nas uvas (HRAZDINA; FRANZESE, 1974; DURST; WROLSTAD, 2001; GIUSTI; WROLSTAD, 2003). Essas antocianinas aciladas possuem um grupamento ácido ligado ao açúcar do

carbono 3 da antocianina e são mais estáveis que as antocianidinas (não glicosiladas) e podem resistir melhor a mudanças de pH, armazenamento e condições de processamento (SCHWARTZ; VON ELBEE; GIUSTI, 2010).

4.3.4 Higroscopicidade

Os resultados para o desdobramento da interação entre os fatores avaliados, sobre a variável dependente “higroscopicidade” estão apresentados na Tabela 10 e Figura 9.

Para todas as temperaturas do ar de secagem estudadas, houve uma diminuição da higroscopicidade das amostras com o aumento da concentração de agente carreador, como pode ser visto na Figura 9a. Porém para as amostras secas na maior temperatura (170°C) houve um aumento na higroscopicidade, quando a concentração de maltodextrina passou de 20 para 30%. A diminuição na higroscopicidade está relacionada com a própria característica do agente carreador utilizado. A maltodextrina 10DE é um dos materiais mais utilizados na secagem por atomização, entre outras coisas, por possuir baixa higroscopicidade. O aumento que ocorreu nas amostras secas na maior temperatura pode ser explicado pelo fato de nas temperaturas mais elevadas, partículas mais porosas ou fragmentadas serem produzidas, o que aumenta à superfície de exposição das partículas à umidade do ambiente.

Com o aumento da temperatura, apenas as amostras secas com maior porcentagem de agente carreador, apresentaram aumento significativo na higroscopicidade (Figura 9b), o que é explicado pelo que foi descrito anteriormente. Isso também mostra que as maiores diferenças na variável higroscopicidade, foram observadas com a variação na concentração de agente carreador.

Tabela 10 - Desdobramento da interação entre os fatores (temperatura e concentração de maltodextrina) sobre a higroscopicidade das amostras obtidas da secagem dos extratos da uva Bordô em *spray dryer*.

Fator e seus níveis	Modelo ajustado	R ²
Temperatura		
130°C	$Y = 17,69 - 0,18M$	0,959
150°C	$Y = 17,64 - 0,15M$	0,959
170°C	$Y = 22,38 - 0,69M + 0,014M^2$	0,948
Concentração de maltodextrina		
10%	$Y = 16,41$	-
20%	$Y = 14,19$	-
30%	$Y = 5,55 + 0,05T$	0,891

Onde: Y é a resposta para a variável dependente “higroscopicidade”; M é o efeito da concentração de maltodextrina e T é o efeito da temperatura do ar de secagem.

Figura 9 – Higroscopicidade das amostras dos extratos da uva Bordô secas em *spray dryer*. a) em diferentes concentrações de agente carreador, para cada temperatura; b) em diferentes temperaturas de secagem para cada concentração de agente carreador. Onde: obs – valores observados; est – valores estimados.

Resultados semelhantes foram reportados por Tonon, Brabet e Hubinger (2008), que encontraram menores teores de higroscopicidade com o aumento na concentração de maltodextrina, sendo essa variável a que mais afetou essa resposta, apesar da temperatura de secagem e vazão de alimentação também terem influenciado. As mesmas autoras encontraram valores de higroscopicidade variando de 12,48 a 15,79 g de água/100g de matéria seca, sendo esses valores próximos aos encontrados neste trabalho, que variaram de 12,44 a 16,90 g de água/100g de matéria seca.

Cai e Corke (2000), ao secarem betacianinas de amaranço, também observaram que a presença da maltodextrina ajuda a reduzir a higroscopicidade. Reforçando o potencial uso desse material como agente carreador. Comunian et al. (2011), ao secarem clorofilida em *spray dryer* utilizando diferentes carreadores, entre eles a maltodextrina, chegaram à conclusão que a higroscopicidade do material foi reduzida a medida que se aumentou a concentração do agente carreador.

4.3.5 Solubilidade

Para a variável solubilidade, não houve interação entre os fatores testados, porém os efeitos principais de temperatura do ar de secagem e concentração de agente carreador foram significativos.

O comportamento da solubilidade das amostras frente à variação na concentração de agente carreador e com a variação de temperatura está apresentado na Figura 10. Nota-se que apesar dos efeitos principais da temperatura e da concentração de agente carreador, terem sido significativos, não houve variação na solubilidade das amostras nem com a variação da temperatura, nem com a variação na concentração de maltodextrina. Porém, pode-se verificar que os valores de solubilidade foram consideravelmente superiores, quando comparados com a amostra que foi liofilizada sem a presença do agente carreador (Tabela 11, Seção 4.4).

O fato da presença da maltodextrina aumentar a solubilidade se deve ao fato desse carreador possuir uma alta solubilidade em água, o que o torna um dos principais materiais utilizados nos processos de secagem por *spray drying* (CANO-CHAUCA et al. 2005; GRABOWSKI; TRUONG; DAUBERT, 2006; GOULA; ADAMOPOULOS, 2010).

Os elevados valores de solubilidade encontrados neste trabalho, variando entre 91,84 a 97,49 %, com média de 95,57%, também foram encontrados por Cano-Chauca et al. (2005), ao obterem solubilidade acima de 90 % para a manga em pó seca no *spray dryer* utilizando maltodextrina como carreador.

Figura 10 – Solubilidade das amostras dos extratos da uva Bordô secas em *spray dryer*. a) em diferentes concentrações de agente carreador ($Y = 95,57$); b) em diferentes temperaturas do ar de secagem ($Y = 95,57$). Onde Y é o efeito estimado da solubilidade nas diferentes condições.

4.4 Obtenção do controle liofilizado

A presença de açúcares e ácidos em extratos vegetais dificulta sua secagem sem a presença de um agente carreador (JIMÉNEZ-AGUILAR et al. 2011). A secagem do extrato da uva Bordô concentrado, sem a presença da maltodextrina, não foi possível. Cerca de 1 litro de extrato foi nebulizado no *spray dryer*, mas não foi possível a recuperação do produto em pó, que ficou totalmente aderido nas paredes da câmara de secagem e um pouco nas paredes no frasco coletor (Figura 11). Sendo assim, foi produzido extrato puro por liofilização para efeito de comparação com as amostras secas por *spray drying*, na presença do carreador.

Figura 11 - Tentativa de secagem no *spray dryer* do extrato sem adição de agente carreador: a) extrato aderido na parede interna da câmara de secagem do equipamento; b) extrato aderido na parede do frasco coletor.

O extrato liofilizado (Figura 12) apresentou cor bem escura e era pegajoso quando manipulado. Alguns parâmetros determinados para o extrato liofilizado estão apresentados na Tabela 11.

Figura 12 - Extrato da uva Bordô, concentrado e liofilizado.

Tabela 11 - Características do extrato da uva Bordô liofilizado.

Parâmetro avaliado	Média $\pm$ desvio padrão
Rendimento do processo (%)	86,74 $\pm$ 0,51
Teor de umidade (%)	1,02 $\pm$ 0,12
Retenção de antocianinas (%)	52,56 $\pm$ 0,53
Higroscopicidade (g de água/100 g de amostra seca)	16,95 $\pm$ 0,93
Solubilidade (%)	74,41 $\pm$ 0,83

O rendimento da amostra liofilizada foi muito superior às amostras obtidas por atomização em *spray dryer*, isso quando o cálculo foi feito em base seca. No liofilizador não ocorreram as perdas que aconteceram no *spray dryer*, como por exemplo, a amostra ficar

aderida nas paredes internas do equipamento. No entanto, o processo de liofilização demanda uma quantidade grande de extrato líquido para produzir uma massa de extrato liofilizado que possa ser analisada. Isso se deve ao baixo teor de sólidos totais do extrato puro. Foram necessários 500 mL de extrato concentrado para se obter cerca de 18 gramas do extrato liofilizado. Além disso, o processo de liofilização é muito mais demorado, expondo o material por várias horas, e tem maior custo que o processo de atomização.

O teor de umidade da amostra liofilizada foi inferior às amostras obtidas no *spray dryer*. Porém, foi necessário um tempo muito superior (24 h) para liofilizar o extrato e reduzir a umidade até esse valor, enquanto que a secagem por atomização requer um tempo bem menor. Além disso, a amostra liofilizada, em contato com o ar, absorvia rapidamente umidade, tornando-se pegajosa e difícil de manipular.

A retenção de antocianinas da amostra submetida à liofilização sem a presença de carreador foi inferior às amostras obtidas em *spray dryer* com a presença da maltodextrina, a exposição do extrato durante o tempo de 24 h e sem a presença de um material protetor, mesmo a baixas temperaturas e vácuo, contribuiu para a degradação das antocianinas.

A higroscopicidade da amostra liofilizada foi superior às amostras obtidas no *spray dryer*. Este resultado demonstrou que a secagem por atomização na presença de carreador, resulta em pós menos higroscópicos quando comparado aos obtidos por liofilização. Uma menor higroscopicidade evita que a amostra absorva umidade mais facilmente o que pode acarretar a deterioração da mesma (CAI; CORKE, 2000; TONON; BRABET; HUBINGER, 2008; COMUNIAN et al. 2011).

A solubilidade em água do extrato liofilizado foi menor do que as amostras secas no *spray dryer* com maltodextrina. A secagem por *spray drying* com o carreador aumentou a solubilidade do material, o que é interessante do ponto de vista de aplicação, pois a maioria dos sistemas alimentícios, onde o pigmento poderia ser aplicado, apresentam alto conteúdo de água. O uso de maltodextrina é justificado muitas vezes, entre outras coisas, devido a sua alta solubilidade em água (CANO-CHAUCA et al. 2005; GRABOWSKI; TRUONG; DAUBERT, 2006; GOULA; ADAMOPOULOS, 2010).

4.5 Morfologia das partículas

As micrografias das amostras do extrato da uva Bordô em pó obtidas no *spray dryer* são apresentadas (Figuras 13, 14 e 15).

Figura 13 - Micrografias das amostras do extrato da uva Bordô atomizado na temperatura de **130°C**: a) amostra com 10% de carreador aumentada 200 vezes; b) amostra com 10% de carreador aumentada 1000 vezes; c) amostra com 20% de carreador aumentada 200 vezes; d) amostra com 20% de carreador aumentada 1000 vezes; e) amostra com 30% de carreador aumentada 200 vezes; f) amostra com 30% de carreador aumentada 1000 vezes.

Figura 14 - Micrografias das amostras do extrato da uva Bordô atomizado na temperatura de **150°C**: a) amostra com 10% de carreador aumentada 200 vezes; b) amostra com 10% de carreador aumentada 1000 vezes; c) amostra com 20% de carreador aumentada 200 vezes; d) amostra com 20% de carreador aumentada 1000 vezes; e) amostra com 30% de carreador aumentada 200 vezes; f) amostra com 30% de carreador aumentada 1000 vezes.

Figura 15 - Micrografias das amostras do extrato da uva Bordô atomizado na temperatura de **170°C**: a) amostra com 10% de carreador aumentada 200 vezes; b) amostra com 10% de carreador aumentada 1000 vezes; c) amostra com 20% de carreador aumentada 200 vezes; d) amostra com 20% de carreador aumentada 1000 vezes; e) amostra com 30% de carreador aumentada 200 vezes; f) amostra com 30% de carreador aumentada 1000 vezes.

Pode-se observar pelas Figuras 13 a 15, que as partículas apresentaram, de maneira geral, formato esférico e diferentes tamanhos, característica das partículas produzidas por *spray drying* (TONON; BRABET; HUBINGER, 2008). Foi observada também, a presença de

partículas com a superfície enrugada, principalmente nas que foram secas na menor temperatura (130°C) enquanto que nas maiores temperaturas, foram observadas partículas com superfícies mais lisas. Isto acontece, segundo Tonon, Brabet e Hubinger (2008), devido à razão de secagem ser maior quando se utiliza maiores temperaturas, o que promove uma rápida evaporação da água gerando partículas com superfícies lisas e crostas duras. Maas et al. (2011) afirmaram que temperaturas mais elevadas contribuem para a rápida secagem das gotículas o que acarreta formação de cristais com tamanho menor, favorecendo a formação de superfícies mais lisas.

Também pode ser notada a presença de partículas ocas ou com orifícios na superfície, principalmente nas que foram secas nas temperaturas de 150 e 170°C (Figuras 14 e 15). Orifícios na superfície podem se causados pela evaporação do líquido que escapa do interior da gotícula, através da crosta já sólida, durante a secagem com altas temperaturas. Já nas temperaturas mais baixas, como a pressão do líquido é menor, o vapor tem tempo suficiente para escapar sem romper a crosta e no fim do processo de secagem, o efeito de capilaridade e uma subpressão nos espaços vazios, levam a deformações na superfície da partícula (MAAS et al. 2011).

Partículas ocas também foram observados por Comunian et al. (2011), ao secarem clorofilida em *spray dryer* utilizando maltodextrina e por Rocha et al. (2009), ao secarem hidrolisado de caseína com maltodextrina. A presença de partículas ocas indica a formação da estrutura tipo microesfera. Esse tipo de estrutura ocorre quando o material de parede e o ativo (nesse caso o extrato) são hidrofílicos, então eles se misturam para formar a parede da microesfera (COMUNIAN et al. 2011).

4.6 Distribuição do tamanho das partículas

A distribuição do tamanho das partículas produzidas a partir do extrato da uva Bordô seco em *spray dryer*, em diferentes temperaturas e concentrações de agente carreador, está apresentada na Figura 16.

Figura 16 - Distribuição do tamanho de partícula das diferentes amostras dos pós com diferentes concentrações de carreador e diferentes temperaturas de secagem: (a) 130°C; (b) 150°C; e (c) 170°C. MD = maltodextrina.

Observa-se de maneira geral, que a maioria das amostras apresentou três picos característicos de distribuição de tamanho de partículas, mostrando a presença de três principais populações de partículas. Isso pode ser observado também pelo resultado da morfologia (Figuras 13 – 15) onde se observa partículas de tamanhos diversos.

Tonon, Brabet e Hubinger (2008) e Comunian et al. (2011) encontraram distribuição bimodal das partículas de suco de açaí em pó atomizado com maltodextrina e clorofilida seca com diferentes carreadores, respectivamente. A distribuição do tamanho de partículas neste trabalho foi diferente do encontrado por essas autoras. Enquanto esses trabalhos encontraram duas principais populações de partículas, sendo uma em torno de 1 μm e outra por volta de 10 μm , as amostras dos extratos da uva Bordô em sua maioria apresentaram três principais populações, sendo uma em torno de 10 μm e mais duas entre 10 e 100 μm . Uma exceção aconteceu com a amostra seca com a menor concentração de agente carreador (10%) e a menor temperatura (130°C) como pode ser visto na Figura 16 a, onde o primeiro pico aparece em torno de 1 μm , o outro em torno de 10 μm e o último entre 10 e 100 μm . Frascareli et al. (2012), ao encapsular óleo de café por *spray drying* utilizando goma arábica como agente carreador, encontraram para algumas amostras, três picos distintos, sendo um em torno de 1 μm , outro por volta de 10 μm e um último próximo a 100 μm . A presença de partículas de tamanhos grandes, está ligada ao processo de aglomeração, onde ocorre a formação de ligações irreversíveis entre as partículas, levando a produção de partículas de grande tamanho (TONON; BRABET; HUBINGER, 2008; FRASCARELI et al. 2012). Essas partículas aglomeradas podem ser vistas nas micrografias das Figuras 13 a 15.

As partículas grandes bem como a distribuição diferente do que foi encontrado nos trabalhos citados, podem estar relacionadas também à abertura do bico atomizador utilizado (2,0 mm) que é maior do que as que foram utilizadas nesses outros trabalhos.

A presença de partículas de diferentes tamanhos é uma característica interessante desse tipo de material, pois as partículas menores podem se acomodar nos espaços deixados pelas maiores (Figura 17), o que reduz o volume ocupado pelo produto e pode ser interessante no transporte e estocagem desse material (TONON; BRABET; HUBINGER, 2008; COMUNIAN et al. 2011).

O diâmetro médio das partículas, produzidas em diferentes temperaturas de secagem e com diferentes concentrações de agente carreador, está apresentado na Tabela 12.

O diâmetro médio aumentou quando maiores concentrações de agente carreador foram utilizadas. Resultados semelhantes foram observados por Tonon, Brabet e Hubinger (2008) que atribuíram esse resultado ao aumento da viscosidade da mistura de alimentação com o aumento da concentração de carreador. Keogh, Murray e O’Kennedy (2003) também observaram aumento do tamanho médio das partículas de leite em pó produzido em *spray dryer*, com o aumento crescente na viscosidade da solução de alimentação.

Não houve diferença significativa com relação ao diâmetro médio, entre as amostras devido à temperatura do ar de secagem. Essa observação também foi feita por Frascareli et al. (2012), em microcápsulas de óleo de café, produzidas por *spray drying*, utilizando goma arábica como carreador.

Uma das possíveis explicações para a diferença na distribuição do tamanho de partícula da amostra 1 (10% de carreador e temperatura de 130 °C) como pode ser visto na Figura 16 a, pode estar ligada à higroscopicidade dessa amostra. Entre as três amostras que possuíam 10 % de carreador, essa foi a que apresentou o valor mais baixo de higroscopicidade numericamente (Tabela 6 e Figura 9), apesar de não ter diferido significativamente das outras obtidas com 10% de maltodextrina. Essa menor higroscopicidade pode ter diminuído a capacidade dessa amostra em se aglomerar e formar partículas maiores.

Figura 17 - Acomodação das partículas de menor tamanho nos espaços das partículas maiores. a) acomodação na superfície enrugada; b) acomodação no interior de uma partícula oca. Aumento de 500 vezes.

Tabela 12 - Diâmetros médios das partículas do extrato da uva Bordô seco em *spray dryer*, em diferentes temperaturas e concentrações de maltodextrina.

Amostra	Diâmetro médio das partículas*
1	$17,30 \pm 0,77^d$
2	$26,86 \pm 1,98^b$
3	$31,80 \pm 0,33^{a,b}$
4	$20,90 \pm 0,60^{c,d}$
5	$29,67 \pm 1,43^{a,b}$
6	$34,18 \pm 2,05^a$
7	$17,23 \pm 1,32^d$
8	$26,33 \pm 2,36^{b,c}$
9	$35,11 \pm 1,12^a$

* Média $\pm$ desvio padrão. Médias seguidas por uma mesma letra, não diferem entre si ($p < 0,05$).

4.7 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros de infravermelho para a maltodextrina pura, água pura, extrato concentrado e para as amostras de extrato liofilizado e amostras produzidas no *spray dryer*, estão apresentados na Figura 18.

Figura 18 - Espectros de infravermelho dos ingredientes, das amostras atomizadas e do extrato liofilizado: a) Maltodextrina pura; b) Água pura; c) Extrato concentrado; d) Extrato liofilizado; e) amostra seca a 130 °C com 10% de carreador; f) amostra seca a 130 °C com 20% de carreador; g) amostra seca a 130 °C com 30% de carreador; h) amostra seca a 150 °C com 10% de carreador; i) amostra seca a 150 °C com 20% de carreador; j) amostra seca a 150 °C com 30% de carreador; k) amostra seca a 170 °C com 10% de carreador; l) amostra seca a 170 °C com 20% de carreador; m) amostra seca a 170 °C com 30% de carreador.

O espectro da maltodextrina pura apresentou os picos de 1153, 1080 e 1015 cm^{-1} . Os picos de 1153 e 1080 cm^{-1} são devidos ao estiramento da ligação C – O e o de 1015 devido à deformação angular das ligações =CH e =CH₂ todas essas ligações são provenientes de grupos presentes nos carboidratos (KRISHNAIAH; SARBATLY; NITHYANANDAM, 2012; SOCRATES, 2001).

A banda larga que aparece de 2800 a 3700 cm^{-1} nas amostras do extrato concentrado e nas amostras do extrato liofilizado e amostras atomizadas em menor intensidade, está relacionada à ligações de hidrogênio, estiramento da ligação O – H de carboidratos, ácidos carboxílicos e água residual (COATES, 2000; SOCRATES, 2001; HE; RODRIGUEZ-SAONA; GIUSTI, 2007). O espectro referente à água pura comprova esse fato. Nas amostras, a intensidade dessa banda é menor que no extrato, devido à umidade reduzida no processo de secagem. O extrato concentrado, que é líquido, apresenta a banda com intensidade semelhante à da água pura, uma vez que apresenta cerca de 96% de umidade. Os picos duplos, próximos a 2900 cm^{-1} e que está mais pronunciado na amostra do extrato liofilizado, estando quase imperceptível no extrato concentrado e com menor intensidade nas amostras secas em *spray dryer*, são causados pelo estiramento assimétrico e simétrico da ligação C – H do grupamento metil (COATES, 2000).

A banda a 1641 cm^{-1} presente na água e no extrato concentrado, é devida à deformação angular de H – O – H, indicando a presença de água ou água residual como no caso das amostras atomizadas e liofilizada. As ligações de hidrogênio dos grupos OH de carboidratos também podem contribuir com essa banda (HE, RODRIGUEZ-SAONA e GIUSTI, 2007). Isso pode explicar a variação que ocorreu nas amostras de extrato liofilizado e atomizado, com relação a essa banda.

Geralmente na região entre 1680-900 cm^{-1} numerosas bandas provenientes de compostos fenólicos, que são encontrados na uva, podem ser observadas. As bandas de 1600-1520 cm^{-1} podem ser assinaladas como a vibração da ligação C = C, típica de sistemas aromáticos (EDELMAAN et al. 2001).

Picos em torno de 1308-1212 cm^{-1} estão relacionados com a presença de taninos de flavonóides (proantocianidinas) (LAGHI et al. 2011; PING et al. 2012). Esses podem ser vistos principalmente no extrato liofilizado e em menor intensidade nas amostras atomizadas.

Ácidos orgânicos e açúcares apresentam um ou mais grupamentos alcoóis (OH) tendo, portanto as ligações C – O e O – H. A ligação C – O absorve em torno de 1060-1150 cm^{-1} indicando a presença desses compostos (FRAGOSO et al. 2011). De fato, dois picos em torno

dessa faixa foram observados nos espectros da maltodextrina pura e das amostras secas em *spray dryer* com esse carreador. A presença desses dois picos nas amostras atomizadas e a ausência destes no extrato liofilizado é o que indica a interferência da maltodextrina nos espectros das amostras secas no *spray dryer*.

Outros picos presentes nas amostras entre 900 e 1100 cm^{-1} podem ser assinalados como vibrações de valência da ligação C – O e vibrações de estiramento da ligação C – O – C de carboidratos como a glicose (FRAGOSO et al. 2011), presente na maltodextrina. O pico a 1021 cm^{-1} presente nas amostras atomizadas, por exemplo, também podem ter sofrido interferência da presença desse carreador.

De maneira geral, se observa que o processo de secagem por *spray drying* aparentemente não contribuiu para a formação de novas ligações entre a maltodextrina e os componentes do extrato ou para a produção de novos compostos, uma vez que se pode observar os picos similares nos ingredientes e nas amostras atomizadas. A maioria dos componentes, presentes nas amostras atomizadas, é proveniente do extrato, o que pode ser observado pela comparação entre os espectros das amostras atomizadas com o espectro do extrato liofilizado. Os picos de maior intensidade nas amostras obtidas no *spray dryer* são resultantes principalmente dos ácidos e açúcares presentes no extrato, somados aos açúcares do agente carreador. As intensidades dos picos entre as amostras foram variáveis a depender, por exemplo, da umidade residual e da concentração de agente carreador, que acaba por diluir os compostos do extrato, diminuindo a intensidade dos picos.

4.8 Isotermas de sorção de umidade

As umidades de equilíbrio das amostras atomizadas, mantidas em diferentes condições de umidade relativa a 25 °C são apresentadas na Tabela 13.

Tabela 13 - Umidades de equilíbrio das amostras do extrato da uva Bordô em pó nas diferentes condições de umidade relativa a 25 °C.

<i>A_w</i>	Umidade de equilíbrio (g de água / 100 g de matéria seca)*								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0,313	6,28 ± 0,40	5,46 ± 0,12	4,99 ± 0,22	5,12 ± 0,53	4,55 ± 0,39	4,18 ± 0,45	5,04 ± 0,74	3,88 ± 0,49	4,20 ± 0,28
0,431	3,47 ± 0,61	2,43 ± 0,25	3,08 ± 1,11	5,13 ± 0,28	2,89 ± 0,22	2,34 ± 0,18	5,18 ± 0,40	4,09 ± 0,44	2,90 ± 0,14
0,604	11,17 ± 0,52	8,94 ± 0,39	6,69 ± 1,26	10,09 ± 2,20	7,71 ± 1,00	7,26 ± 1,11	11,16 ± 0,45	7,02 ± 0,19	6,36 ± 1,15
0,683	16,61 ± 1,92	9,97 ± 0,52	6,16 ± 0,45	13,84 ± 1,82	10,70 ± 0,48	7,53 ± 0,46	15,38 ± 0,61	8,72 ± 1,38	7,37 ± 0,81
0,848	27,40 ± 0,31	23,66 ± 0,42	21,98 ± 0,32	28,37 ± 0,50	23,69 ± 0,44	22,21 ± 0,23	29,20 ± 0,86	22,57 ± 0,18	20,82 ± 0,58
0,909	43,14 ± 2,38	34,42 ± 0,94	31,16 ± 2,63	41,26 ± 1,24	33,31 ± 0,58	28,89 ± 0,43	38,50 ± 0,90	34,98 ± 0,52	28,46 ± 0,72

* Média ± desvio padrão.

Os dados foram ajustados a modelos disponíveis na literatura, para isotermas de sorção (Tabela 3) e os parâmetros calculados para cada ajuste são apresentados na Tabela 14.

Tabela 14 - Parâmetros de ajuste para os modelos de isotermas de sorção de umidade, nas amostras do extrato da uva Bordô em pó a 25 °C.

Modelo	Parâmetros	Amostra								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
GAB	X_m (% b.s)	7,786	7,343	5,610	10,612	5,724	4,135	10,428	6,750	3,997
	C_{GAB}	0,534	1,487	1,484	2,414	0,808	0,577	0,982	2,280	0,684
	K	0,752	0,946	0,967	0,939	0,907	0,836	0,864	0,975	0,899
	R^2	0,974	0,983	0,971	0,998	0,992	0,980	0,997	0,996	0,984
	$DR\%$	8,658	8,205	9,258	4,397	7,757	9,447	3,838	5,790	9,527
BET	X_m (% b.s)	4,613	3,856	3,582	4,737	4,172	4,189	4,516	3,623	3,535
	C_{BET}	6,845	3,308	1,687	3,781	1,953	1,097	1,359	2,570	1,723
	N	32,268	30,508	31,251	28,288	24,969	21,042	25,911	39,511	26,153
	R^2	0,979	0,985	0,975	0,998	0,993	0,983	0,990	0,997	0,987
	$DR\%$	3,164	6,385	9,091	2,470	6,202	8,570	5,054	4,446	7,691
Halsey	A_{Hal}	235,882	146,492	97,671	212,091	147,005	121,715	319,304	104,688	110,288
	B_{Hal}	1,219	1,157	1,070	1,200	1,165	1,153	1,327	1,059	1,113
	R^2	0,980	0,980	0,969	0,994	0,984	0,964	0,981	0,995	0,977
	$DR\%$	1,860	4,319	6,284	0,399	1,947	2,863	3,448	2,256	3,786
Oswin	A_{Osw}	8,267	6,0770	4,740	7,795	6,021	5,190	8,773	5,172	4,887
	B_{Osw}	0,716	0,760	0,828	0,729	0,753	0,764	0,656	0,834	0,778
	R^2	0,974	0,982	0,969	0,996	0,987	0,969	0,988	0,996	0,980
	$DR\%$	4,162	6,475	8,407	2,368	4,477	5,324	0,643	5,130	6,153
Henderson	A_{Hend}	0,163	0,231	0,314	0,179	0,229	0,262	0,134	0,293	0,280
	B_{Hend}	0,719	0,663	0,589	0,699	0,670	0,654	0,789	0,593	0,639
	R^2	0,979	0,981	0,969	0,995	0,990	0,975	0,996	0,991	0,981
	$DR\%$	8,219	10,310	12,153	7,308	8,989	9,748	4,425	10,149	10,389

Amostras: 1- (130°C/10% MD); 2 - (130°C/20% MD); 3 - (130°C/30% MD); 4 - (150°C/10% MD); 5 - (150°C/20% MD); 6 - (150°C/30% MD); 7 - (170°C/10% MD); 8 - (170°C/20% MD); 9 - (170°C/30% MD).

De maneira geral, todos os modelos testados apresentaram bom ajuste aos dados experimentais. Todos apresentaram altos valores de R^2 , sendo que o menor foi em torno de 0,96 e a maioria apresentou desvios relativos médios menores que 10%, sendo que uma exceção foi o modelo de Henderson que apresentou alguns valores acima de 10%. Como os parâmetros para a escolha do modelo foram o coeficiente de determinação R^2 e o desvio relativo médio $DR\%$, os modelos que melhor se ajustaram aos dados foram o GAB e o BET. O modelo BET foi então o escolhido por apresentar valores de coeficiente de determinação um pouco maiores que o de GAB e apresentou menores desvios relativos médios. O modelo BET, assim como o GAB, proporciona a estimativa da umidade da monocamada molecular (X_m). O

teor de umidade na monocamada de muitos alimentos tem sido relacionado com a estabilidade física e química de alimentos desidratados (GABAS et al. 2007; TONON et al. 2009; REID; FENNEMA, 2010).

As isotermas de sorção ajustadas às amostras em pó através do modelo BET estão apresentadas na Figura 19.

Todas as amostras apresentaram um perfil de isotermas de sorção do tipo III, descrito por Brunauer, Emmett e Teller (1938). O mesmo tipo de perfil foi encontrado por Gabas et al. (2007) para polpa de abacaxi seca com maltodextrina e goma arábica; Tonon et al. (2009) para suco de açaí seco em *spray dryer* com diferentes tipos de carreadores entre eles a maltodextrina; e León-Martínez, Méndez-Lagunas e Rodríguez-Ramírez (2010) ao secarem mucilagem de palma forrageira em *spray dryer*.

Figura 19 - Isotermas de sorção de umidade das amostras do extrato da uva Bordô em pó, seco em diferentes temperaturas e concentrações de agente carreador. Ajuste feito com o modelo BET.

Os valores de X_m , ou seja, a umidade da monocamada, variaram de 3,53 – 4,17% pelo modelo BET e de 4,00 – 10,61% pelo modelo GAB. Observa-se que a umidade da monocamada foi menor à medida que se incrementou a porcentagem de agente carreador (maltodextrina). Este resultado indica que o efeito protetor do carreador foi maior quanto

maior sua concentração nas amostras. Gabas et al. (2007), ao secarem polpa de abacaxi em *spray dryer*, com e sem adição de agentes carreadores, observaram que a adição de maltodextrina e goma arábica, reduziram os valores de X_m em comparação à polpa sem carreador. Silva, Sobral e Kieckbusch (2006) observaram que a adição de 30% de maltodextrina 20 DE em polpa de camu-camu, reduziu o valor de X_m de 15,8 para 6,5 % (em base seca).

Gabas et al. (2007) relatam que a presença dos carreadores maltodextrina e goma arábica provavelmente modificam o balanço dos sítios hidrofílicos/hidrofóbicos, promovendo uma menor sorção da água. Isso explica a ação das maiores porcentagens de agente carreador em diminuir o valor da umidade da monocamada com relação às amostra contendo menos carreador.

Pode-se observar a partir da Figura 19, que as amostras contendo menores porcentagens de maltodextrina 10 DE, apresentaram os maiores valores de sorção de água. Sendo que as amostras contendo a maior porcentagem (30%) apresentaram os menores valores de sorção. Esse resultado está ligado diretamente aos resultados para a higroscopicidade, uma vez que o princípio de determinação desse parâmetro segue o mesmo princípio das isotermas de sorção.

Cai e Corke, (2000) ao secarem betacianinas de amaranço, também observaram que a presença da maltodextrina ajuda a reduzir a higroscopicidade. Comunian et al. (2011) ao secarem clorofilida em *spray dryer* utilizando diferentes carreadores, entre eles a maltodextrina, chegaram à conclusão que a higroscopicidade do material foi reduzida a medida que se aumentou a concentração do agente carreador.

4.9 Cor instrumental

Os parâmetros a^* (diferença do vermelho e do verde), b^* (diferença do azul e do amarelo) e luminosidade L^* (amostra mais clara ou mais escura), para as amostras produzidas a partir do extrato da uva Bordô seco em *spray dryer*, além do extrato liofilizado, estão apresentados na Tabela 15.

Observa-se que com relação ao parâmetro L^* (luminosidade), as amostras que apresentaram maiores valores, foram sempre aquelas secas com maior porcentagem de agente carreador (30%). Sendo que a amostra seca na temperatura mais baixa (130°C) foi a mais clara de todas. Isso mostra influência tanto da concentração de carreador, quanto da temperatura de secagem sobre a luminosidade das amostras. Tonon, Brabet e Hubinger

(2009), também encontraram menor luminosidade em amostras de suco de açaí seco em *spray dryer*, quando utilizadas as maiores temperaturas. Sendo que esse resultado pode estar associado a maior retirada de água pelas maiores temperaturas de secagem, o que produz amostras um pouco mais concentradas e, portanto mais escuras (TONON; BRABET; HUBINGER, 2009). Naquele mesmo trabalho, as autoras encontraram maior luminosidade em amostras com maiores concentrações de maltodextrina, resultado semelhante ao encontrado neste trabalho e que segundo elas, já é esperado tendo em vista que a maltodextrina possui cor branca e porcentagens maiores desse carreador provocam maior diluição dos pigmentos roxos presentes no extrato.

A amostra mais escura foi a do extrato liofilizado, apresentando o menor valor do parâmetro L^* , provavelmente por se tratar da amostra mais concentrada e com menor teor de umidade, além de não possuir a maltodextrina.

Outro fator que pode ter influenciado para a obtenção de menores valores de L^* nas amostras que foram atomizadas com as maiores temperaturas, é a ocorrência de reação de escurecimento não enzimático, que tem maior taxa quanto maior for a temperatura, resultando em produtos mais escuros.

Tabela 15 - Parâmetros de cor das amostras obtidas da secagem em *spray dryer* do extrato da uva Bordô e do extrato liofilizado

AMOSTRA	L^*	a^*	b^*
1	$25,75 \pm 0,31^e$	$27,62 \pm 0,25^{a,b}$	$-7,33 \pm 0,06^b$
2	$30,76 \pm 0,23^{c,d}$	$27,82 \pm 0,19^a$	$-9,08 \pm 0,05^d$
3	$35,30 \pm 0,56^a$	$27,32 \pm 0,03^{a,b}$	$-9,67 \pm 0,02^{e,f}$
4	$23,45 \pm 0,39^f$	$27,84 \pm 0,11^a$	$-7,79 \pm 0,03^b$
5	$29,56 \pm 0,19^d$	$27,30 \pm 0,37^{a,b}$	$-9,61 \pm 0,03^{d,e}$
6	$32,61 \pm 1,10^{b,c}$	$26,99 \pm 0,19^b$	$-10,17 \pm 0,12^{f,g}$
7	$24,40 \pm 0,14^{e,f}$	$27,57 \pm 0,03^{a,b}$	$-8,50 \pm 0,10^c$
8	$30,14 \pm 0,28^d$	$27,00 \pm 0,05^b$	$-10,41 \pm 0,08^g$
9	$33,08 \pm 0,93^b$	$24,86 \pm 0,29^c$	$-10,61 \pm 0,03^g$
Liofilizado	$8,13 \pm 0,11^g$	$2,09 \pm 0,44^d$	$-0,81 \pm 0,41^a$

Média $\pm$ desvio padrão. Médias em uma mesma coluna e seguidas de uma mesma letra, não diferem entre si ($p < 0,05$). Amostras: 1- (130°C/10% MD); 2 - (130°C/20% MD); 3 - (130°C/30% MD); 4 - (150°C/10% MD); 5 - (150°C/20% MD); 6 - (150°C/30% MD); 7 - (170°C/10% MD); 8 - (170°C/20% MD); 9 - (170°C/30% MD).

Como relação ao parâmetro a^* , todas as amostras apresentaram valores positivos e altos para esse parâmetro, variando de 24,86 a 27,84, indicando cor tendendo para o

vermelho. O que era esperado tendo em vista que se tratavam de amostras provenientes de extrato de uva, que é rico em antocianinas, pigmento responsável pelas colorações vermelha, azul e violeta em diferentes frutos e flores (CASTAÑEDA-OVANDO et al. 2009). Altos valores do parâmetro a^* também foram encontrados por Jiménez-Aguilar et al. (2011) em amostras de extrato de mirtilo em pó seco em *spray dryer* com goma algarroba, em diferentes condições. Esses autores justificaram esses valores que variaram de 33,24 a 33,88 ao elevado conteúdo de antocianinas presentes nas amostras.

As amostras secas com menor concentração de agente carreador, independente da temperatura, apresentaram os maiores valores desse parâmetro. Além disso, as amostras produzidas com 20% de carreador e nas temperaturas de 130 e 150°C, também apresentaram altos valores, não diferindo estatisticamente das que foram secas com 10% de carreador. Dentre as amostras atomizadas, aquela contendo maior porcentagem de carreador e seca na maior temperatura, foi a menos vermelha (Tabela 20). Entre todas as amostras, a do extrato liofilizado apresentou o menor valor do parâmetro a^* . Esses resultados estão de acordo com o conteúdo total de antocianinas nas amostras, tendo em vista o efeito de diluição provocado pelo agente carreador. Com relação ao extrato liofilizado Jiménez-Aguilar et al. (2011) encontraram valor do parâmetro a^* superior às amostras secas com carreador, no entanto, esses autores diluíram todas as amostras em água, em igual proporção antes da determinação de cor instrumental. Neste trabalho, a cor foi determinada na amostra sem diluição, talvez por isso a amostra de extrato liofilizado tenha apresentado um valor de a^* bem abaixo das amostras obtidas no *spray dryer*. O extrato liofilizado se trata de uma amostra muito concentrada e de coloração muito escura (quase preta) como pode ser vista na Figura 12 e isso pode ter dificultado a leitura do parâmetro referente ao vermelho (a^*).

O parâmetro b^* apresentou valores negativos para todas as amostras indicando a tendência para a coloração azul. Esses valores foram inferiores, ou seja, com maior tendência para o azul, aos encontrados por Valduga et al. (2008), ao secarem extratos do resíduo da uva Isabel com goma arábica e maltodextrina; também foram inferiores aos encontrados por Tonon, Brabet e Hubinger (2009) e Jeménez-Aguilar et al. (2011) que secaram suco de açaí com maltodextrina e extrato de mirtilo com goma algarroba, respectivamente. No entanto, como foi dito, esses últimos autores diluíram as amostras em água o que pode ter aumentado o valor desse parâmetro. A antocianina monomérica predominante em uvas tintas é a malvidina-3-glicosídeo (AMICO et al. 2004; LUQUE-RODRÍGUEZ; CASTRO; PÉREZ-JUAN, 2007; ROCKENBACH et al. 2011). E segundo Schwartz, Von Elbee e Giusti (2010),

a antocianidina malvidina, entre todas as outras que ocorrem em maior número na natureza, é a que mais tende tanto para a coloração vermelha, quanto para a coloração azul.

Nesse caso, pelos valores serem negativos, as amostras com as últimas letras, são as que possuem maior coloração azul, sendo elas, as que foram secas com maiores porcentagens de agente carreador (20 e 30%). Esse efeito foi o contrário do que aconteceu com o parâmetro a^* que indica a cor vermelha, e esses dois resultados podem estar ligados, provavelmente, pelo fato que se as amostras com maior porcentagem de carreador apresentaram menor coloração vermelha, os pigmentos responsáveis pela coloração azul acabaram se sobressaindo e indicando valores de b^* mais negativos (maior cor azul). O fato da amostra de extrato liofilizado ter sido menos azul do que as amostras atomizadas, provavelmente tem a mesma explicação que foi dada para o parâmetro a^* .

4.10 Estabilidade durante a estocagem

Durante a estocagem do produto, a 25°C e 32,8% de umidade relativa, foram observados os comportamentos no teor de antocianinas totais e dos parâmetros de cor (L^* , a^* , b^*) durante 120 dias. Isto foi feito para todas as amostras secas (atomizadas e a liofilizado) além dos extratos etanólico e concentrado.

4.10.1 Teor de antocianinas totais

A cinética de degradação de antocianinas totais para as amostras em pó e do extrato liofilizado estão apresentadas na Figura 20.

Figura 20 - Comportamento do teor de antocianinas totais das amostras atomizadas e de extrato liofilizado durante o tempo de estocagem a 25°C e 32,8% de umidade relativa: a) amostras atomizadas a 130°C e extrato liofilizado; b) amostras atomizadas a 150°C e extrato liofilizado; c) amostras atomizadas a 170 °C e extrato liofilizado. MD = maltodextrina.

Pode-se observar da Figura 20 que as amostras atomizadas com as maiores porcentagens de agente carreador, apresentaram perda de antocianinas totais inferior às amostras contendo menores teores de carreador e a amostra liofilizada sem carreador. Isto indicou que a presença da maltodextrina em maiores porcentagens proporcionou um efeito protetor às antocianinas. Além disso, pode-se observar que o teor de antocianinas totais no início, foram superiores nas amostras atomizadas em comparação com a liofilizada, indicando que a secagem em *spray dryer* com a presença de carreador, contribui para maior retenção de antocianinas do extrato da uva.

A cinética de degradação, determinada por meio da variação de $\ln(C/C_0)$ das amostras estocadas a 25°C e 32,8 % de umidade relativa, está apresentada na Figura 21 e mostra que todas as amostras apresentaram apenas 1 cinética de primeira ordem, mostrando que a degradação das antocianinas manteve-se linear com o tempo. Idham, Muhamad e Sarmidi (2012) também encontraram apenas cinéticas de primeira ordem para a degradação de antocianinas de *Hibiscus sabdariffa* L. encapsuladas em *spray dryer* com diferentes tipos de carreadores. Esse tipo de cinética também está de acordo com os trabalhos de Wang e Xu (2007), para antocianinas do suco de amora, e para antocianinas de polpa de framboesa, suco da laranja de sangue e corozo (*Bactris guineensis*), respectivamente (OCHOA et al. 1999; KIRKA; CEMEROGLU, 2003; OSÓRIO et al. 2010).

Figura 21 – Cinética de degradação de antocianinas (variação de $\ln(C/C_0)$) ao longo do tempo, a 25 °C e 32,8% de umidade relativa, nas amostras atomizadas produzidas em diferentes temperaturas e concentração de agente carreador: a) amostras secas a 130°C; b) amostras secas a 150°C; c) amostras secas a 170°C. MD = maltodextrina.

A perda total de antocianinas e os parâmetros cinéticos calculados, como a constante da velocidade de reação (k) e o tempo de meia vida ($t_{1/2}$) estão apresentados na Tabela 16.

Tabela 16 - Perda total de antocianinas e parâmetros cinéticos para a degradação de antocianinas das amostras da uva Bordô atomizadas em diferentes temperaturas e concentrações de agente carreador.

Amostra	Perda total de antocianinas (%)	Tempo de estocagem (dias)	k (dias ⁻¹)	$t_{1/2}$ (dias)	R^2
1	29,96	120	0,0030	233,55	0,909
2	20,38	120	0,0019	364,99	0,890
3	17,18	120	0,0016	441,15	0,842
4	23,45	120	0,0022	311,31	0,971
5	19,50	120	0,0018	383,38	0,926
6	19,61	120	0,0018	381,11	0,974
7	26,73	120	0,0026	267,45	0,955
8	16,50	120	0,0015	461,19	0,770
9	19,15	120	0,0018	391,26	0,973

Amostras: 1- (130°C/10% MD); 2 - (130°C/20% MD); 3 - (130°C/30% MD); 4 - (150°C/10% MD); 5 - (150°C/20% MD); 6 - (150°C/30% MD); 7 - (170°C/10% MD); 8 - (170°C/20% MD); 9 - (170°C/30% MD).

Observa-se que a perda de antocianinas foi inversamente proporcional à concentração de agente carreador, ou seja, amostras com maiores concentrações de carreador apresentaram maior estabilidade para as antocianinas. Amostras com menor teor de agente carreador são as mais higroscópicas e, portanto absorvem mais água, facilitando as reações de degradação

(CAI; CORKE, 2000; TONON; BRABET; HUBINGER, 2010). Além disso, pelo fato da maltodextrina ser constituída por macromoléculas, essas deveriam exercer proteção física às moléculas menores (antocianinas, por exemplo). E o efeito protetor deveria ser maior quanto maior a concentração do carreador.

O fato da amostra 1 ter apresentado a maior perda de antocianinas entre as amostras secas no *spray dryer*, poderia ser explicado pela distribuição do tamanho de partículas dessa amostra, que como foi visto, entre todas, foi a que apresentou uma população de partículas em torno de 1 μm . Quanto menores as partículas, maior a superfície do pó que fica exposta e portanto em contato com o oxigênio, propiciando a oxidação das antocianinas (TONON; BRABET; HUBINGER, 2010).

Da mesma forma, a meia vida das antocianinas foi maior nas amostras contendo maior quantidade da maltodextrina. A amostra 8 teve menor perda de antocianinas e portanto a maior meia vida, no entanto, o coeficiente de determinação para a reta que descreve a cinética de degradação, foi o mais baixo (0,77). Os parâmetros cinéticos encontrados neste trabalho estão de acordo aos encontrados por Ersus e Yurdagel, (2007) Idham, Muhamad e Sarmidi (2012) ao avaliarem a degradação de antocianinas de cenoura preta e *Hibiscus sabdariffa* L., respectivamente. Em ambos os trabalhos, os materiais foram secos em *spray dryer* com a utilização de carreadores, entre eles a maltodextrina.

A Figura 22 representa a cinética de degradação das antocianinas nas amostras dos extratos líquidos (etanólico e concentrado). É possível observar logo de início que a degradação das antocianinas nesses materiais foi bem mais acentuada do que nas amostras que sofreram processo de secagem. O elevado conteúdo aquoso aumenta a instabilidade das antocianinas, pois segundo Amr e Al-Tamimi (2007), uma maior atividade de água resulta em maior conversão das antocianinas em sua base carbinol hidratada que é menos estável. Isso também explica o porquê das amostras atomizadas terem sido mais estáveis.

A elevada quantidade de água também proporciona maior mobilidade para as moléculas (reagentes), o que facilita a ocorrência de reações químicas; e, portanto, a formação de substratos.

Figura 22 - Comportamento do teor de antocianinas totais das amostras de extrato etanólico e extrato concentrado, durante o tempo de estocagem e armazenadas a 25 °C.

As cinéticas de degradação determinadas por meio da variação de $\ln(C/C_0)$, para as amostras do extrato liofilizado, bem como dos extratos líquidos (etanólico e concentrado) estão apresentadas na Figura 23. Todas as três amostras, assim como as amostras atomizadas descritas anteriormente, apresentaram uma cinética de primeira ordem.

A degradação das antocianinas na amostra de extrato liofilizado apresentou comportamento semelhante ao extrato etanólico e ambas tiveram perda maior que as amostras secas em *spray dryer* com maltodextrina. Aparentemente a presença do etanol na amostra de extrato ajudou a conservar os pigmentos em comparação ao extrato concentrado. Mais uma vez, isso pode estar ligado ao conteúdo. A água do meio provavelmente está hidratando preferencialmente o etanol, no lugar de estar livre para participar das reações que podem levar à menor estabilidade das antocianinas (AMR; AL-TAMIMI, 2007; TONON; BRABET; HUBINGER, 2010).

A amostra que sofreu as maiores perdas de antocianinas totais durante o período de estocagem foi o extrato concentrado. O alto conteúdo de água da amostra contribuiu para esse resultado. Além disso, a amostra apresentou formação de precipitado no decorrer do tempo. Essas partículas eram visíveis quando se fazia a diluição da amostra para a quantificação das antocianinas. E isso provavelmente carregou certa quantidade do pigmento, diminuindo sua quantidade total.

Figura 23 - Cinética de degradação de antocianinas (variação de $\ln(C/Co)$) ao longo do tempo, nas amostras de extrato etanólico e extrato concentrado, armazenadas a 25°C e do extrato liofilizado armazenada a 25°C e 32,8% de umidade relativa

Na Tabela 17 estão apresentados os valores para a perda total de antocianinas, a constante de velocidade da reação (k) e o tempo de meia vida ($t_{1/2}$), para a amostra liofilizada e para os extratos etanólico e concentrado.

É possível observar que o extrato concentrado, assim como foi visto nas Figuras 22 e 23, apresentou a maior perda total de antocianinas (cerca de 89 %). O tempo de meia vida das antocianinas nesse extrato é de cerca de 38 dias, valor bem abaixo daqueles apresentados para as amostras em pó produzidas por *spray dryer*, que variou de 233 a 461 dias. Este resultado é muito interessante, pois mostra que o processo de atomização utilizando maltodextrina, aumenta a proteção dos pigmentos presentes no material. O efeito protetor da maltodextrina ou de outros carreadores, também foi observado por Jiménez-Aguilar et al. (2011) e Idham, Muhamad e Sarmidi (2012).

Tabela 17 - Perda total de antocianinas e parâmetros cinéticos para a degradação de antocianinas das amostras de extrato liofilizado, extrato etanólico e extrato concentrado da uva Bordô.

Amostra	Perda total de antocianinas (%)	Tempo de estocagem (dias)	k (dias ⁻¹)	$t_{1/2}$ (dias)	R^2
Extrato liofilizado	48,15	120	0,0055	126,66	0,908
Extrato etanólico	53,97	120	0,0065	107,20	0,979
Extrato concentrado	88,90	120	0,0184	37,69	0,984

4.10.2 Parâmetros de cor

Na Tabela 18 estão apresentadas as variações ocorridas no parâmetro de cor, luminosidade (L^*), nas amostras atomizadas, liofilizada sem carreador e nos extratos líquidos etanólico e concentrado durante o período de estocagem a 25 °C e 32,8 % de umidade relativa.

O parâmetro luminosidade apresentou pouca variação durante o período de estocagem nas amostras atomizadas com exceção das amostras secas com 10 % de maltodextrina, onde a luminosidade apresentou uma leve queda no decorrer do tempo de estocagem. Idham, Muhamad e Sarmidi (2012) encontraram uma queda no parâmetro L^* para amostras de antocianinas de *Hibiscus sabdariffa* L. obtidas por *spray dryer* com diferentes carreadores, durante 110 dias de estocagem.

Na amostra de extrato liofilizado houve uma queda inicial no valor de L^* nos primeiros 30 dias e depois o parâmetro se manteve praticamente constante. Esta queda inicial provavelmente se deve a absorção de umidade pela amostra, até entrar em equilíbrio com o ambiente. No início a amostra se apresentava na forma de um pó pegajoso, enquanto que nos outros tempos de estocagem era uma pasta escura, opaca e difícil de manipular.

Na amostra do extrato concentrado, nota-se um aumento na luminosidade a partir de 60 dias de estocagem, o que se deve à degradação das antocianinas, onde a amostra torna-se mais clara. No extrato etanólico a luminosidade uma queda com 30 dias de estocagem, voltando a aumentar com 60 dias, e novamente diminuindo com 90 e 120 dias de estocagem, ou seja, essa amostra se tornou mais escura. Isso pode estar ligado à ocorrência de evaporação do etanol, fazendo com que a amostra se torne mais concentrada e, portanto mais escura.

Entre as amostras atomizadas, as que apresentaram maior luminosidade independente do tempo de estocagem, foram as que continham maiores porcentagens de maltodextrina. O que é esperado levando-se em consideração a cor branca desse agente carreador.

Entre as outras amostras avaliadas, o extrato concentrado foi a que apresentou os maiores valores de luminosidade, principalmente a partir de 30 dias de estocagem. A degradação maior das antocianinas nessa amostra faz com que ela se torne mais clara e, portanto apresente maior valor de luminosidade.

Tabela 18 - Parâmetro de cor L^* (luminosidade) para as amostras atomizadas, liofilizada e dos extratos etanólico e concentrado da uva Bordô durante a estocagem a 25°C e 32,8% de umidade relativa.

Amostra	Dia 0	30 dias	60 dias	90 dias	120 dias
1	24,75 ± 0,31 ^{E,a}	24,38 ± 0,92 ^{C,a,b}	23,30 ± 0,67 ^{C,a,b}	22,75 ± 0,79 ^{C,b}	21,76 ± 0,70 ^{C,b}
2	30,76 ± 0,23 ^{C,D,a}	31,36 ± 0,40 ^{B,a}	30,49 ± 0,27 ^{B,a}	31,11 ± 0,61 ^{B,a}	31,00 ± 0,34 ^{B,a}
3	35,30 ± 0,55 ^{A,a}	36,37 ± 0,52 ^{A,a}	37,06 ± 0,62 ^{A,a}	36,09 ± 0,24 ^{A,a}	35,66 ± 0,81 ^{A,a}
4	23,45 ± 0,39 ^{F,a}	21,99 ± 0,33 ^{C,D,b,c}	23,24 ± 0,42 ^{C,a,b}	19,56 ± 0,07 ^{D,d}	21,08 ± 0,43 ^{C,c}
5	29,56 ± 0,19 ^{D,b}	30,86 ± 0,34 ^{B,a}	30,79 ± 0,27 ^{B,a}	30,20 ± 0,30 ^{B,a,b}	30,40 ± 0,31 ^{B,a,b}
6	32,61 ± 1,10 ^{B,C,a}	35,63 ± 0,29 ^{A,a}	35,90 ± 1,21 ^{A,a}	35,08 ± 0,21 ^{A,a}	35,70 ± 1,01 ^{A,a}
7	24,40 ± 0,14 ^{E,F,a}	21,67 ± 1,21 ^{D,b}	22,15 ± 0,21 ^{C,a,b}	21,39 ± 0,03 ^{C,b}	21,29 ± 0,58 ^{C,b}
8	30,13 ± 0,28 ^{D,b}	32,18 ± 0,09 ^{B,a}	31,34 ± 0,35 ^{B,a,b}	31,27 ± 0,66 ^{B,a,b}	31,02 ± 0,00 ^{B,a,b}
9	33,08 ± 0,93 ^{B,a}	36,12 ± 1,56 ^{A,a}	35,57 ± 0,89 ^{A,a}	36,24 ± 0,29 ^{A,a}	35,88 ± 1,50 ^{A,a}
Extrato liofilizado	8,13 ± 0,08 ^{G,a}	0,69 ± 0,04 ^{E,c}	1,04 ± 0,16 ^{D,b}	0,54 ± 0,02 ^{F,c}	0,63 ± 0,02 ^{D,c}
Extrato etanólico	1,59 ± 0,02 ^{H,a}	0,61 ± 0,10 ^{E,c}	1,58 ± 0,04 ^{D,a}	0,91 ± 0,10 ^{F,b}	0,47 ± 0,02 ^{D,c}
Extrato concentrado	1,36 ± 0,30 ^{H,b}	1,03 ± 0,04 ^{E,b}	2,05 ± 0,05 ^{D,a}	2,45 ± 0,08 ^{E,a}	2,13 ± 0,09 ^{D,a}

Média ± desvio-padrão. Médias na mesma linha, seguidas de uma mesma letra minúscula, ou na mesma coluna, seguidas de uma mesma letra maiúscula, não diferem entre si ($p < 0,05$).

Amostras: 1 - (130°C/10% MD); 2 - (130°C/20% MD); 3 - (130°C/30% MD); 4 - (150°C/10% MD); 5 - (150°C/20% MD); 6 - (150°C/30% MD); 7 - (170°C/10% MD); 8 - (170°C/20% MD); 9 - (170°C/30% MD).

Na Tabela 19 estão apresentadas as variações ocorridas nos parâmetros de cor a^* , nas amostras atomizadas, liofilizada sem carreador e nos extratos líquidos etanólico e concentrado durante o período de estocagem a 25 °C e 32,8 % de umidade relativa.

O parâmetro a^* que mede a diferença entre verde (-) e vermelho (+) não apresentou grandes variações nas amostras atomizadas no decorrer dos 120 dias de estocagem. Para a maioria dessas amostras observa-se um aumento da coloração vermelha após 30 dias de estocagem mantendo-se esse parâmetro constante até o final do tempo de estocagem. Esse aumento inicial se deve à mudança nas amostras devido a absorção de umidade até que entrem em equilíbrio com o ambiente. Em alguns casos há um decréscimo no parâmetro a^* a partir de 90 dias de estocagem, o que se explica pela degradação das antocianinas que absorvem na região do vermelho. Isso pode ser observado na amostra 4. A diminuição do parâmetro de cor a^* também foi observada por Idham, Muhamad e Sarmidi (2012) para antocianinas encapsuladas com diferentes carreadores, durante a estocagem.

De uma maneira geral, as amostras contendo maior porcentagem de carreador, foram as mais vermelhas. Com exceção da amostra 9 que continha 30% de carreador e foi seca na maior temperatura (170°C). Esse valor pode ser devido à caramelização do agente carreador nessa amostra, provocada pela alta temperatura, o que produziu pigmentos marrons, diminuindo a intensidade da coloração vermelha.

As amostras atomizadas foram sempre mais vermelhas do que as outras amostras avaliadas. Visualmente, a amostra liofilizada, e os extratos etanólico e concentrado, apresentavam um coloração roxa muito escura, enquanto que as amostras atomizadas estavam mais próximas do rosa ou vermelho.

Tabela 19 - Parâmetro de cor a^* (diferença do vermelho e do verde) para as amostras atomizadas, liofilizada e dos extratos etanólico e concentrado da uva Bordô durante a estocagem a 25°C e 32,8% de umidade relativa.

Amostra	Dia 0	30 dias	60 dias	90 dias	120 dias
1	27,61 ± 0,25 ^{A,B,a}	27,95 ± 0,11 ^{B,a}	28,30 ± 0,54 ^{B,a}	28,08 ± 0,32 ^{A,B,a}	27,41 ± 0,43 ^{D,a}
2	27,82 ± 0,18 ^{A,b}	29,47 ± 0,08 ^{A,a}	29,44 ± 0,17 ^{A,a}	28,87 ± 0,24 ^{A,a}	28,97 ± 0,08 ^{A,B,a}
3	27,32 ± 0,03 ^{A,B,b}	28,53 ± 0,41 ^{A,B,a}	28,86 ± 0,24 ^{A,B,a}	28,52 ± 0,16 ^{A,a}	28,50 ± 0,11 ^{A,B,C,a}
4	27,84 ± 0,11 ^{A,b}	29,51 ± 0,43 ^{A,a}	28,82 ± 0,19 ^{A,B,a}	26,46 ± 0,01 ^{C,D,c}	27,63 ± 0,24 ^{C,D,b}
5	27,29 ± 0,37 ^{A,B,b}	29,37 ± 0,05 ^{A,a}	29,32 ± 0,20 ^{A,a}	28,96 ± 0,37 ^{A,a}	29,24 ± 0,03 ^{A,a}
6	26,99 ± 0,19 ^{B,b}	28,57 ± 0,14 ^{A,B,a}	28,30 ± 0,00 ^{B,a}	28,43 ± 0,35 ^{A,a}	28,53 ± 0,00 ^{A,B,C,a}
7	27,57 ± 0,03 ^{A,B,a}	27,83 ± 0,62 ^{B,a}	28,46 ± 0,04 ^{B,a}	27,18 ± 0,28 ^{B,C,a}	27,22 ± 0,45 ^{D,a}
8	27,00 ± 0,05 ^{B,b}	28,38 ± 0,06 ^{A,B,a}	28,24 ± 0,31 ^{B,a}	28,02 ± 0,24 ^{A,B,a}	27,99 ± 0,15 ^{B,C,D,a}
9	24,86 ± 0,29 ^{C,b}	26,27 ± 0,11 ^{C,a}	25,90 ± 0,02 ^{C,a}	25,99 ± 0,29 ^{D,a}	25,76 ± 0,07 ^{E,a}
Extrato liofilizado	2,08 ± 0,04 ^{E,a}	1,70 ± 0,33 ^{E,a,b}	0,76 ± 0,10 ^{E,c}	0,92 ± 0,22 ^{F,b,c}	0,14 ± 0,20 ^{G,c}
Extrato etanólico	2,53 ± 0,16 ^{D,E,a}	0,01 ± 0,37 ^{F,b}	0,16 ± 0,06 ^{E,b}	0,15 ± 0,39 ^{F,b}	0,51 ± 0,17 ^{G,b}
Extrato concentrado	3,29 ± 0,27 ^{D,d}	3,57 ± 0,12 ^{D,c,d}	4,62 ± 0,01 ^{D,c}	5,91 ± 0,45 ^{E,b}	7,81 ± 0,47 ^{F,a}

Média ± desvio-padrão. Médias na mesma linha, seguidas de uma mesma letra minúscula, ou na mesma coluna, seguidas de uma mesma letra maiúscula, não diferem entre si ($p < 0,05$).

Amostras: 1 - (130°C/10% MD); 2 - (130°C/20% MD); 3 - (130°C/30% MD); 4 - (150°C/10% MD); 5 - (150°C/20% MD); 6 - (150°C/30% MD); 7 - (170°C/10% MD); 8 - (170°C/20% MD); 9 - (170°C/30% MD).

Na Tabela 20 estão apresentadas as variações ocorridas nos parâmetros de cor b^* , nas amostras atomizadas, liofilizada sem carreador e nos extratos líquidos etanólico e concentrado durante o período de estocagem a 25 °C e 32,8 % de umidade relativa.

Entre os parâmetros de cor, o b^* que mede a diferença entre o azul (-) e o amarelo (+), provavelmente foi o mais afetado pelas condições de estocagem. Observa-se de maneira geral que as amostras apresentaram aumento desse parâmetro durante o tempo de estocagem, o que indica perda da cor azul. A antocianina monomérica, presente em maior quantidade em uvas tintas é a malvidina-3-glicosídeo (AMICO et al. 2004; LUQUE-RODRÍGUEZ; CASTRO; PÉREZ-JUAN, 2007; ROCKENBACH et al. 2011). Segundo Schwartz, Von Elbee e Giusti (2010), a malvidina é a antocinânidina que está mais envolvida na coloração azul. A degradação das antocianinas nas amostras, explica a diminuição dessa cor. Idham, Muhamad e Sarmidi (2012) também observaram aumento no parâmetro b^* em antocianinas, durante o período de estocagem, no entanto atribuíram a este resultado, o fato das amostras se tornarem

amarronzadas com o tempo o que causa o aumento da coloração amarela (aumento no parâmetro b*).

Tabela 20 - Parâmetro de cor b* (diferença do azul e do amarelo) para as amostras atomizadas, liofilizada e dos extratos etanólico e concentrado da uva Bordô durante a estocagem a 25°C e 32,8% de umidade relativa.

Amostra	Dia 0	30 dias	60 dias	90 dias	120 dias
1	-7,33 ± 0,06 ^{C,c}	-5,83 ± 0,29 ^{C,b}	-5,24 ± 0,05 ^{C,a,b}	-5,41 ± 0,24 ^{D,a,b}	-4,73 ± 0,28 ^{C,a}
2	-9,08 ± 0,05 ^{E,b}	-7,89 ± 0,15 ^{D,E,a}	-7,72 ± 0,23 ^{D,a}	-7,62 ± 0,17 ^{E,a}	-7,47 ± 0,08 ^{D,a}
3	-9,67 ± 0,02 ^{F,G,b}	-8,77 ± 0,03 ^{E,F,G,a}	-8,81 ± 0,13 ^{F,a}	-8,62 ± 0,09 ^{F,a}	-8,61 ± 0,06 ^{F,a}
4	-7,79 ± 0,03 ^{C,e}	-7,50 ± 0,05 ^{D,d}	-5,51 ± 0,03 ^{C,c}	-4,51 ± 0,04 ^{C,a}	-4,73 ± 0,03 ^{C,b}
5	-9,61 ± 0,03 ^{F,b}	-8,04 ± 0,18 ^{D,E,F,a}	-7,87 ± 0,15 ^{D,a}	-7,80 ± 0,10 ^{E,a}	-8,09 ± 0,09 ^{D,E,F,a}
6	-10,17 ± 0,12 ^{G,H,b}	-9,03 ± 0,20 ^{G,a}	-8,66 ± 0,17 ^{E,F,a}	-8,66 ± 0,05 ^{F,a}	-8,62 ± 0,19 ^{F,a}
7	-8,50 ± 0,10 ^{D,c}	-5,72 ± 0,14 ^{C,b}	-5,55 ± 0,00 ^{C,a,b}	-5,09 ± 0,14 ^{D,a}	-5,33 ± 0,11 ^{C,a,b}
8	-10,40 ± 0,08 ^{H,c}	-8,28 ± 0,13 ^{D,E,F,G,b}	-8,19 ± 0,04 ^{D,E,a,b}	-8,05 ± 0,11 ^{E,a,b}	-7,80 ± 0,16 ^{D,E,a}
9	-10,61 ± 0,03 ^{H,b}	-8,83 ± 0,10 ^{F,G,a}	-8,69 ± 0,10 ^{E,F,a}	-8,71 ± 0,14 ^{F,a}	-8,42 ± 0,18 ^{E,F,a}
Extrato liofilizado	-0,81 ± 0,39 ^{A,a}	-1,20 ± 0,59 ^{B,a}	0,27 ± 0,10 ^{B,a}	0,05 ± 0,02 ^{B,a}	-0,30 ± 0,40 ^{B,a}
Extrato etanólico	-1,35 ± 0,15 ^{B,c}	-0,02 ± 0,14 ^{A,a,b}	-0,19 ± 0,11 ^{B,b}	0,48 ± 0,15 ^{B,a}	0,12 ± 0,10 ^{B,a,b}
Extrato concentrado	-1,09 ± 0,02 ^{A,B,d}	0,58 ± 0,17 ^{A,c}	1,32 ± 0,18 ^{A,b}	2,41 ± 0,13 ^{A,a}	2,91 ± 0,03 ^{A,a}

Média ± desvio-padrão. Médias na mesma linha, seguidas de uma mesma letra minúscula, ou na mesma coluna, seguidas de uma mesma letra maiúscula, não diferem entre si (p < 0,05).

Amostras: 1- (130°C/10% MD); 2 - (130°C/20% MD); 3 - (130°C/30% MD); 4 - (150°C/10% MD); 5 - (150°C/20% MD); 6 - (150°C/30% MD); 7 - (170°C/10% MD); 8 - (170°C/20% MD); 9 - (170°C/30% MD).

O extrato concentrado foi o que apresentou as maiores variações nos parâmetros a* e b* significando aumento da cor vermelha e diminuição da cor azul, respectivamente. O que está ligado à elevada perda de antocianinas sofrida por essa amostra. O aumento da coloração vermelha pode estar associado à diminuição das antocianinas que absorvem na faixa do azul, logo a amostra passa a conter mais antocianinas que absorvem na faixa do vermelho. O extrato etanólico apresentou uma diminuição das colorações vermelha (a*) e azul (b*) no período de 30 dias de estocagem, mantendo a cor praticamente constante até o fim do período de estocagem de 120 dias. As maiores variações dos parâmetros de cor, no extrato concentrado, mostram que a secagem com maltodextrina ajudou a preservar a cor característica nas amostras. Idham, Muhamad e Sarmidi (2012) também notaram a manutenção maior das características de cor de amostras de antocianinas quando encapsuladas com maltodextrina e goma arábica, do que quando essas não estavam encapsuladas.

Durante a estocagem, especialmente em meio com elevada atividade de água, as antocianinas podem sofrer um processo denominado copigmentação, que altera a cor do produto. É devido a esse processo que os vinhos tintos tornam-se marrons, por exemplo.

Os parâmetros de cor avaliados, aparentemente tiveram pouca relevância para descrever o efeito da estocagem na cor das amostras. O que aconteceu também no trabalho de Maier et al. (2009), ao estudarem a estabilidade de antocianinas e outros compostos em géis de gelatina e pectina. Esses autores indicaram que a diferença total de cor é um parâmetro melhor para avaliar esse efeito.

Na Tabela 21 estão apresentados os valores para a diferença total de cor das amostras, secas no *spray dryer*, do extrato liofilizado, e dos extratos etanólico e concentrado após os 120 dias de estocagem a 25 °C e 32,8 % de umidade relativa.

As amostras secas por atomização com maltodextrina, além do extrato etanólico, apresentaram as menores perdas totais de cor. E entre as amostras atomizadas, as que apresentaram maiores porcentagens de agente carreador apresentaram as menores perdas. Isso indica que a presença do carreador (maltodextrina 10 DE) foi efetiva na preservação da cor do produto. Além disso, o etanol também ajudou a preservar a cor do extrato líquido quando presente. As amostras que apresentaram as maiores diferenças totais de cor foram os extratos liofilizado e concentrado (líquido). A ausência do carreador no extrato liofilizado e do etanol, aliada a alta atividade de água no extrato concentrado, provavelmente contribuiu para esse resultado. A atividade de água elevada aumenta a instabilidade das antocianinas, pois segundo Amr e Al-Tamimi (2007), uma maior atividade de água resulta em maior conversão das antocianinas em sua base carbinol hidratada que é menos estável.

Tabela 21 - Diferença total de cor nas amostras atomizadas e nos extratos liofilizado, etanólico e concentrado, após os 120 dias de estocagem a 25 °C.

Amostra	Diferença total de cor (ΔE^*)
1	4,77
2	1,99
3	1,62
4	3,88
5	2,61
6	3,78
7	4,46
8	2,93
9	3,67
Extrato liofilizado	7,76
Extrato etanólico	2,74
Extrato concentrado	6,09

Amostras: 1- (130°C/10% MD); 2 - (130°C/20% MD); 3 - (130°C/30% MD); 4 - (150°C/10% MD); 5 - (150°C/20% MD); 6 - (150°C/30% MD); 7 - (170°C/10% MD); 8 - (170°C/20% MD); 9 - (170°C/30% MD).

4.11 Compostos bioativos

A análise de compostos com potencial bioativo, nas amostras atomizadas e no extrato liofilizado, mostrou que houve diferença significativa entre elas (Tabela 22). A amostra de extrato liofilizado apresentou menores teores de todos os compostos avaliados em comparação com as amostras secas no *spray dryer*, exceto no teor de proantocianidinas totais, onde não diferiu estatisticamente das amostras 1 e 4 que foram secas com 10% de agente carreador. As amostras com maiores teores de agente carreador apresentaram os maiores teores dos compostos pesquisados sendo que a amostra 9, que foi seca com 30% de carreador, foi a que apresentou os valores mais elevados, mesmo tendo sido seca a 170°C. Os teores de antocianinas totais e flavonóides totais nessa amostra, assim como em outras que foram secas nas temperaturas mais altas, poderiam ser explicados pela presença de proantocianidinas na uva, principalmente na semente (ZHANG; MOU; DU, 2007), que fazia parte da composição do material utilizado neste trabalho. As proantocianidinas, embora sejam incolores, apresentam semelhanças estruturais com as antocianidinas, podendo ser convertidas em produtos coloridos durante o processamento (SCHWARTZ; VON ELBEE; GIUSTI, 2010). Khanal, Howard e Prior (2009) revelaram que processos que utilizam altas temperaturas e pressão, como por exemplo, a extrusão, podem ser utilizados para a redução do peso molecular de proantocianidinas, de polímeros, passando a oligômeros e monômeros. Esses produtos acabariam então, sendo quantificados pelos métodos, utilizados neste trabalho, para a determinação dos outros compostos. Além disso, a presença de teor considerável de proantocianidinas nas amostras (Tabela 22) revela que deve ter ocorrido apenas degradação parcial desses compostos, no processo de secagem por *spray dryer*, onde houve liberação de monômeros que foram quantificados como antocianinas ou flavonóides totais, e oligômeros que ainda foram quantificados como proantocianidinas.

Os valores para os teores de antocianinas totais encontrados neste trabalho foram superiores aos encontrados por Tonon, Brabet e Hubinger (2010), para suco de açaí seco em *spray dryer* utilizando diferentes tipos de carreador. Essas autoras encontraram valor de 34,37 mg/g de suco seco para a amostra seca com maltodextrina 10 DE, enquanto que neste trabalho, os valores variaram de 86,90 a 103,91 mg/g de extrato seco, para as amostras secas com o mesmo carreador em diferentes porcentagens.

Bakowska-Barczaka e Kolodziejczyk, (2011) encontraram valores inferiores de antocianinas totais e fenólicos totais ao encapsular polifenóis de groselha preta com diferentes agentes carreadores. Entretanto esses autores expressaram os valores em mg/100 g de produto

em base seca. No presente trabalho os resultados foram expressos em mg/g de extrato seco. Porém, se forem expressos da mesma forma que naquele trabalho, ainda assim, os resultados serão superiores.

Com relação aos teores de antocianinas, fenólicos e flavonóides totais terem sido maiores nas amostras secas em *spray dryer* com maltodextrina, do que na amostra de extrato liofilizado, que não possui carreador, demonstra o efeito protetor desse agente carreador, aos compostos bioativos presentes no extrato. Peng, Guan e Zhao (2013), ao produzirem farinhas de batata doce roxa em *spray dryer*, com diferentes carreadores, observaram o efeito protetor dos carreadores sobre o conteúdo de antocianinas, flavonóides e compostos fenólicos totais, em comparação às amostras sem carreador e entre os carreadores utilizados, a maltodextrina foi o que apresentou maior efeito protetor desses compostos.

Observa-se que entre os processos de secagem utilizados, a atomização proporcionou a obtenção de produtos contendo maiores quantidades de compostos bioativos quando comparada com a liofilização. Embora seja realizada a altas temperaturas, a secagem por *spray drying* é quase instantânea, enquanto no liofilizador, embora opere a temperaturas mais baixas, a secagem leva muitas horas, ou seja, o material fica exposto por mais tempo, o que pode promover perdas de compostos sensíveis à luz e oxigênio, por exemplo.

Tabela 22 - Compostos bioativos presentes nas amostras obtidas da secagem em *spray dryer* do extrato da uva Bordô e do extrato liofilizado.

AMOSTRA	Antocianinas totais (mg eq mvd-3-glic/g de extrato seco)*	Fenólicos totais (mg eq ác gálico/g de extrato seco)*	Flavonóides totais (mg eq de quercetina/g de extrato seco)*	Proantocianidinas totais (mg equivalente de tanino quebracho/g de extrato seco)*
1	91,95 ± 0,86 ^c	247,04 ± 1,01 ^e	177,09 ± 5,84 ^{b,c}	105,40 ± 4,09 ^c
2	93,92 ± 0,59 ^c	267,49 ± 2,34 ^c	178,80 ± 0,97 ^{b,c}	152,0712 ± 1,61 ^a
3	91,63 ± 0,81 ^c	255,63 ± 3,42 ^d	169,19 ± 1,85 ^{b,c}	133,41 ± 1,93 ^b
4	86,90 ± 0,61 ^d	249,12 ± 0,12 ^{d,e}	150,19 ± 1,92 ^d	103,69 ± 0,66 ^c
5	90,62 ± 1,29 ^c	254,18 ± 0,27 ^{d,e}	152,54 ± 4,87 ^d	157,52 ± 4,18 ^a
6	97,49 ± 1,17 ^b	271,47 ± 0,97 ^c	166,76 ± 4,93 ^c	145,20 ± 5,28 ^{a,b}
7	92,61 ± 0,81 ^c	248,06 ± 0,26 ^e	171,88 ± 0,27 ^{b,c}	132,78 ± 3,41 ^b
8	97,43 ± 0,48 ^b	285,50 ± 1,49 ^b	182,09 ± 5,88 ^b	150,22 ± 5,45 ^a
9	103,91 ± 1,03 ^a	304,57 ± 0,93 ^a	200,31 ± 0,98 ^a	154,00 ± 7,67 ^a
Liofilizado	53,76 ± 0,39 ^e	196,32 ± 3,19 ^f	91,44 ± 1,12 ^e	97,64 ± 1,17 ^d

Média ± desvio padrão. Médias em uma mesma coluna e seguidas de uma mesma letra, não diferem entre si ($p < 0,05$). Amostras: 1 - (130°C/10% MD); 2 - (130°C/20% MD); 3 - (130°C/30% MD); 4 - (150°C/10% MD); 5 - (150°C/20% MD); 6 - (150°C/30% MD); 7 - (170°C/10% MD); 8 - (170°C/20% MD); 9 - (170°C/30% MD).

* Resultados descontando o agente carreador.

De maneira geral, o comportamento dos teores de compostos bioativos foi semelhante ao observado para a retenção de antocianinas, ou seja, houve maiores teores com o aumento da concentração de agente carreador, indicando que a maltodextrina 10 DE protegeu os compostos no processo de secagem.

Rockenbach et al. (2011) encontraram altos valores de fenólicos totais e antocianinas totais em extratos obtidos do bagaço das uvas Cabernet sauvignon (74,75 mg equivalente de ácido gálico/g de bagaço seco) e Bordô (11,22 mg equivalente de malvidina-3-glicosídeo/g de bagaço seco), respectivamente, demonstrando o potencial do resíduo da uva Bordô para ser utilizado como pigmento. Os valores são inferiores aos encontrados neste trabalho, pois estão expressos de maneira diferente.

4.12 Atividade antioxidante

Os resultados para a capacidade antioxidante *in vitro*, das amostras secas em *spray dryer* e do extrato liofilizado, estão apresentados na Tabela 23.

Tabela 23 - Atividade antioxidante *in vitro* determinada através da capacidade redutora do Folin-Ciocalteu, capacidade de sequestro do radical DPPH e capacidade redutora do ferro (FRAP) das amostras atomizadas obtidas da secagem dos extratos obtidos do subproduto de vinificação da uva Bordô e do extrato liofilizado.

AMOSTRA	Folin-Ciocalteu (mg equivalente de ácido gálico/g de extrato seco)*	DPPH (µmoles equivalentes de Trolox/g de extrato seco)*	FRAP (µmoles equivalentes de Trolox/g de extrato seco)*
1	247,04 ± 1,01 ^e	360,12 ± 1,47 ^e	1113,51 ± 4,54 ^{a,b}
2	267,49 ± 2,34 ^c	408,59 ± 3,57 ^c	993,32 ± 8,68 ^d
3	255,63 ± 3,42 ^d	389,43 ± 5,21 ^d	1057,92 ± 14,15 ^c
4	249,12 ± 0,12 ^{d,e}	333,99 ± 0,17 ^f	1030,62 ± 0,51 ^c
5	254,18 ± 0,27 ^{d,e}	361,21 ± 0,39 ^e	1138,68 ± 1,23 ^a
6	271,47 ± 0,97 ^c	350,95 ± 1,26 ^e	1108,52 ± 3,97 ^{a,b}
7	248,06 ± 0,26 ^e	359,15 ± 0,38 ^e	1090,61 ± 1,16 ^b
8	285,50 ± 1,49 ^b	429,80 ± 2,24 ^b	1043,05 ± 5,43 ^c
9	304,57 ± 0,93 ^a	441,04 ± 1,35 ^a	1043,31 ± 3,19 ^c
Liofilizado	196,32 ± 3,19 ^f	314,06 ± 5,11 ^g	1002,18 ± 5,20 ^d

Média ± desvio padrão. Médias em uma mesma coluna e seguidas de uma mesma letra, não diferem entre si ($p < 0,05$). Amostras: 1 - (130°C/10% MD); 2 - (130°C/20% MD); 3 - (130°C/30% MD); 4 - (150°C/10% MD); 5 - (150°C/20% MD); 6 - (150°C/30% MD); 7 - (170°C/10% MD); 8 - (170°C/20% MD); 9 - (170°C/30% MD).

* Resultados descontando o agente carreador.

A amostra 9 apresentou a maior capacidade antioxidante pelos métodos do Folin-Ciocalteu e do DPPH. A amostra que apresentou a menor capacidade antioxidante foi o extrato liofilizado. Esses resultados estão de acordo como os diversos resultados discutidos

anteriormente para os compostos bioativos. Ahmed et al. (2010) encontraram correlação entre a atividade antioxidante e o teor de fenólicos para amostras de farinhas obtidas da secagem de batata doce roxa com maltodextrina. Oki et al. (2002), para o mesmo tipo de amostra, atribuíram às antocianinas, a atividade antioxidante encontrada. E segundo Suda et al. (2002), pelo menos um grupo cafeoil acilado às antocianinas, pode contribuir com a alta capacidade sequestrante de radicais.

Os resultados para atividade antioxidante no presente trabalho variaram de 314,06 a 441,04 μ moles equivalentes de Trolox/g de extrato seco pelo método DPPH e de 993,82 a 1138,68 μ moles equivalentes de Trolox/g de extrato seco pelo método FRAP. Rockenbach et al. (2011) encontraram atividade antioxidante de 361,12 e 208,43 μ moles equivalentes de Trolox, no entanto, esses autores expressaram os resultados por grama de resíduo e não por grama de extrato seco, como foi feito neste trabalho.

De uma forma geral, as amostras em pó que continham maiores porcentagens de maltodextrina, mostraram ter maior capacidade antioxidante pelos métodos do Folin-Ciocalteu e do DPPH, indicando o efeito protetor desse carreador sobre os compostos responsáveis por essa atividade. Resultados semelhantes foram encontrados por Peng, Guan e Zhao (2013) ao produzirem farinhas de batata doce roxa em *spray dryer* utilizando maltodextrina, β -ciclodextrina, a mistura de ambas e amostra sem carreador. Esses autores chegaram à conclusão de que a maltodextrina foi o carreador que melhor preservou os compostos com atividade antioxidante. Kha, Nguyen e Roach (2010), encontraram que, em frutos de *Momordica cochinchinensis* secos em *spray dryer* utilizando maltodextrina nas porcentagens de 10, 20 e 30 % e diferentes temperaturas de secagem, houve uma maior preservação dos carotenóides totais e da atividade antioxidante nas amostras secas na menor temperatura e com a menor porcentagem de carreador. No entanto, esses autores expressaram a atividade antioxidante por grama de pó, logo, não consideraram o efeito de diluição da maltodextrina.

Com relação ao resultado pelo método de redução do ferro (FRAP), as amostras não se comportaram como nos outros dois métodos. Nos resultados obtidos por esse método, não ficou evidente o efeito protetor do carreador, pois não houve diferença entre as amostras com diferentes concentrações de carreador. A amostra do extrato liofilizado ainda apresentou o menor valor, juntamente com a amostra 2. Os compostos responsáveis pelas diferentes atividades antioxidantes podem ser diferentes em uma mesma amostra (MELO et al. 2011). Por isso é recomendado se realizar ensaios com pelo menos duas metodologias diferentes para

se estimar a capacidade antioxidante total (HUANG; OU; PRIOR, 2005; PRIOR; WU; SCHAICH, 2005). Baixa correlação entre o conteúdo de fenólicos totais medido pela capacidade redutora do Folin-Ciocalteu e a atividade antioxidante medida pela capacidade redutora do ferro (FRAP) foi relatada por Imeh e Khokhar (2002) e também por Estupiñan, Schwartz e Garzón (2011).

4.13 Atividade antimicrobiana

Neste teste, o principal objetivo foi verificar a capacidade dos produtos obtidos em inibir o crescimento de micro-organismos patogênicos, por isso as amostras foram consideradas no seu total, ou seja, sem descontar a maltodextrina.

Das 10 amostras testadas (9 secas em *spray dryer* e uma de extrato liofilizado) pelo método de difusão em ágar, todas apresentaram zona de inibição contra *Staphylococcus aureus* (Tabela 24), cinco apresentaram inibição contra *Listeria monocytogenes*; e apenas uma (extrato liofilizado) contra *Salmonella enteritides*. Nenhuma amostra apresentou zona de inibição contra *Escherichia coli*. Das amostras que apresentaram zonas de inibição contra os micro-organismos testados, aquelas que apresentaram os maiores halos (expressos em mm) foram as que continham menores concentrações de agente carreador e, portanto maiores concentrações dos compostos bioativos provenientes do extrato da uva.

Tabela 24 - Zona de Inibição (ZI) para extratos atomizados e liofilizado dos pigmentos obtidos do subproduto de vinificação da uva Bordô contra os micro-organismos testados.

Amostra	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Salmonella enteritides</i>	<i>Escherichia coli</i>
	ZI (mm)*	ZI (mm)*	ZI (mm)	ZI (mm)
1	12,67 ± 0,58 ^b	10,00 ± 0,00 ^b	-	-
2	10,00 ± 0,00 ^d	9,00 ± 0,00 ^c	-	-
3	9,00 ± 0,00 ^e	-	-	-
4	11,00 ± 0,00 ^c	9,67 ± 0,58 ^b	-	-
5	10,00 ± 0,00 ^d	-	-	-
6	9,00 ± 0,00 ^e	-	-	-
7	11,00 ± 0,00 ^c	10,00 ± 0,00 ^b	-	-
8	10,00 ± 0,00 ^d	-	-	-
9	9,00 ± 0,00 ^e	-	-	-
Liofilizado	14,67 ± 0,58 ^a	16,00 ± 0,00 ^a	12,00 ± 0,00	-

* Média ± desvio padrão. Médias em uma mesma coluna e seguidas de uma mesma letra, não diferem entre si ($p < 0,05$). Amostras: 1 - (130°C/10% MD); 2 - (130°C/20% MD); 3 - (130°C/30% MD); 4 - (150°C/10% MD); 5 - (150°C/20% MD); 6 - (150°C/30% MD); 7 - (170°C/10% MD); 8 - (170°C/20% MD); 9 - (170°C/30% MD).

Até o momento, não foram encontrados trabalhos que apresentem atividade antimicrobiana de extratos antociânicos em pó, secos em *spray dryer*, no entanto o estudo desse potencial em extratos obtidos de cascas e sementes de uvas, além de outras fontes de antocianinas, é considerável. Oliveira et al. (2012), ao estudarem o potencial antimicrobiano de extratos supercríticos das uvas Merlot e Syrah (*Vitis vinifera*), contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, observaram que maiores halos de inibição (método de difusão em ágar), foram conseguidos pelos extratos das uvas tintas, contra as Gram-positivas *Staphylococcus aureus* e *Bacillus cereus* e menores efeitos foram conseguidos sobre as Gram-negativas *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*. Os halos apresentados contra as bactérias Gram-positivas, por exemplo, variaram de 7 a 14 mm de diâmetro, valores próximos aos encontrados neste trabalho, variando de 9 a 16 mm.

Boo et al. (2012) ao avaliarem o potencial antimicrobiano dos pigmentos de diversas plantas, observaram maior atividade pelo método de difusão em ágar (halos maiores que 10 mm de diâmetro), causados pelos extratos de amora e de casca de uva, contra *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* e *Vibrio parahaemolyticus*.

Baydar, Özkan e Sagdiç (2004) observaram efeito antimicrobiano de extratos de sementes de uva, sobre 13 linhagens de bactérias.

Martin et al. (2012), ao estudarem o potencial antimicrobiano de extratos obtidos de resíduos vegetais, encontraram atividade pelo método de difusão em ágar (halos de 10 a 16 mm de diâmetro) contra *Staphylococcus aureus* e *Listeria monocytogenes*, principalmente nos resíduos provenientes do processamento de uvas (bagaço das uvas Petit Verdot e Pinot Noir, sementes de Petit Verdot e borras de fermentação de uvas tintas).

Radovanovic, Radovanovic e Jovancievic (2009) encontraram alta atividade antimicrobiana *in vitro* contra *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, ao estudarem amostras de vinhos tintos provenientes de diferentes variedades de uvas.

Outros trabalhos apresentam resultados similares a este e relacionam a atividade antimicrobiana com os compostos bioativos. Caillet et al. (2012), para a fruta, o bagaço e os sucos clarificados e concentrados de *cranberry*. Jayaprakasha, Selvi e Sakariah (2003) para extratos de semente de uva. Park et al. (2011) para extratos fenólicos de mirtilo e uva muscadine. E Al-Zoreky (2009) para extratos de casca de romã que é rica em compostos fenólicos, flavonóides e taninos. Outros autores atribuem ainda o potencial antimicrobiano além do conteúdo de compostos fenólicos e antocianinas, ao conteúdo de açúcares e ácidos orgânicos presentes nas amostras (LACOMBE et al. 2010; CÔTÉ et al. 2011).

Nas Figuras 24 e 25 pode-se observar os halos de inibição das amostras 1 e do extrato liofilizado contra *S. aureus* e *L. monocytogenes* respectivamente. Além disso, são apresentados também os controles negativo (C-, solução de maltodextrina) e positivo (C+, solução de tetraciclina).

Figura 24 - Halos de inibição das amostras dos extratos da uva Bordô em pó, contra *Staphylococcus aureus*: a) amostra 1 (Temperatura 130 °C e 10% de carreador); b) extrato liofilizado.

Figura 25 - Halos de inibição das amostras dos extratos da uva Bordô em pó, contra *Listeria monocytogenes*: a) amostra 1 (Temperatura 130 °C e 10% de carreador); b) extrato liofilizado.

Com relação à inibição das bactérias Gram-negativas *Salmonella enteritides* e *Escherichia coli*, apenas a amostra de extrato liofilizado apresentou um pequeno halo de inibição. Porém houve com relação a esses micro-organismos, dois comportamentos distintos (Figuras 26 e 27).

O resultado da amostra de extrato liofilizado contra a *Salmonella* mostra que há um aparente halo de inibição da amostra (Figura 26 a). Ao se observar detalhadamente a placa, pode-se notar que realmente há presença de um halo de inibição, devido à ausência de

colônias próximas ao ponto de aplicação da amostra (Figura 26 b), portanto, essa amostra foi considerada positiva contra esse micro-organismo.

O resultado do extrato liofilizado contra a *Escherichia coli*, também mostrou um aparente halo de inibição (Figura 27 a), porém ao se analisar a placa com cuidado, pode-se notar a presença de colônias na superfície do meio de cultura, ao redor do ponto de aplicação da amostra (Figura 27 b), portanto essa amostra foi considerada não inibitória contra *E. coli*. O aparente halo tratava-se na verdade da coloração da amostra ao difundir no meio de cultura.

Figura 26 - Halos de inibição do extrato liofilizado da uva Bordô, contra *Salmonella enteritidis*. a) halos de inibição; b) detalhe de um dos halos da amostra, mostrando a ausência de colônias na superfície do meio de cultura próximo ao ponto onde estava a amostra.

Figura 27 - Teste de inibição do extrato liofilizado da uva Bordô, contra *Escherichia coli*. a) aparentes halos de inibição; b) detalhe de um dos halos da amostra, mostrando a presença de colônias na superfície do meio de cultura próximo ao ponto onde estava a amostra, indicando que não houve inibição.

Das amostras testadas pelo método de difusão em ágar, apenas aquelas que apresentaram resultados positivos, foram testadas para determinar a concentração inibitória mínima e a concentração bactericida mínima. Os resultados são apresentados na Tabela 25.

As amostras que apresentaram os maiores halos de inibição foram as que resultaram nas menores concentrações mínimas inibitórias, indicando que por possuírem uma maior quantidade dos compostos ativos, são necessárias menores quantidades dessas amostras para que os micro-organismos sejam inibidos.

A amostra de extrato liofilizado apresentou a menor concentração inibitória mínima (3,125 mg/mL), isto era esperado visto que esta amostra apresenta apenas o extrato e não sofre o efeito de diluição provocado pela maltodextrina nas outras amostras. Cheng et al. (2012), ao estudarem extratos do resíduo de vinificação contra *Staphylococcus aureus*, *E. coli* e *Candida albicans*, encontraram menores valores de concentração inibitória mínima do que no presente trabalho. No entanto, esses autores trabalharam com extratos etanólicos, metanólicos e em acetona.

Oliveira et al. (2012) encontraram valores de CIM variando de 7 a 12 µg/mL para os extratos das uvas Merlot e Syrah contra as bactérias Gram-positivas *Staphylococcus aureus* e *Bacillus cereus*. Esses autores trabalharam com µg de extrato, logo trata-se de um material concentrado. Neste trabalho, a maior parte das amostras sofre efeito de diluição do agente carreador. E quando não, no caso do extrato liofilizado, a amostra já sofreu perdas de compostos ativos durante o processo de secagem.

Martin et al. (2012) encontraram alguns valores próximos de CIM, aos encontrados neste trabalho. Ao estudarem o potencial antioxidante de resíduos agroindustriais, esses autores encontraram concentrações inibitórias mínimas variando de 1,56 a 12,5 mg/mL para extratos etanólicos e metanólicos de sementes da uva Petit verdot (1,56 e 3,13 mg/mL, contra *S. aureus*); bagaço das uvas Petit Verdot e Pinot Noir (3,13 e 6,25 mg/mL, contra *S. aureus*); e extratos etanólico e metanólico desses mesmos resíduos (6,25 e 12,5 mg/mL contra *L. monocytogenes*). Muitas das amostras utilizadas no presente estudo, apresentaram valores da concentração inibitória mínima de 12,5 mg/mL contra os microrganismos testados, sendo que o extrato liofilizado apresentou valor de 3,13 mg/mL. Vale ressaltar que Martin et al. (2012) trabalharam com extratos etanólicos e metanólicos, os quais foram concentrados para se eliminar o solvente orgânico, portanto tratam-se de amostras altamente concentradas em compostos ativos.

Tabela 25 - Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) para extratos atomizados e liofilizado obtidos do subproduto de vinificação da uva Bordô contra os micro-organismos testados.

Amostra	<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Listeria monocytogenes</i>		<i>Salmonella enteritides</i>	
	CIM mg.mL ⁻¹	CBM mg.mL ⁻¹	CIM mg.mL ⁻¹	CBM mg.mL ⁻¹	CIM mg.mL ⁻¹	CBM mg.mL ⁻¹
1	12,50	25,00	12,50	25,00	-	-
2	25,00	-	12,50	25,00	-	-
3	25,00	-	-	-	-	-
4	12,50	25,00	12,50	25,00	-	-
5	25,00	-	-	-	-	-
6	25,00	-	-	-	-	-
7	12,50	25,00	12,50	25,00	-	-
8	25,00	-	-	-	-	-
9	25,00	-	-	-	-	-
Liofilizado	3,13	6,25	3,13	6,25	12,50	-

Amostras: 1- (130°C/10% MD); 2 - (130°C/20% MD); 3 - (130°C/30% MD); 4 - (150°C/10% MD); 5 - (150°C/20% MD); 6 - (150°C/30% MD); 7 - (170°C/10% MD); 8 - (170°C/20% MD); 9 - (170°C/30% MD).

As amostras que continham maiores porcentagens de maltodextrina foram as que apresentaram os maiores valores de CIM e, portanto, são necessárias quantidades maiores dessas amostras para que se tenha um efeito inibidor.

Com relação ao efeito bactericida, pode-se observar da Tabela 25 que as amostras que apresentaram os menores efeitos inibitórios (menores valores de CIM), foram os que apresentaram alguma capacidade bactericida. Para as amostras atomizadas que apresentaram esse efeito, todas necessitaram da maior concentração testada (25 mg/mL) para inibir totalmente o crescimento do micro-organismo. As que apresentaram valores de CIM a 25 mg/mL, não apresentaram efeito bactericida, indicando que nas concentrações testadas, essas amostras não possuem tal capacidade. Martin et al. (2012) observaram para resíduos do processamento de uvas tintas, que o efeito bactericida necessitou de concentração igual ou duas vezes maior do que a concentração inibitória mínima. No presente estudo, todas as amostras que apresentaram efeito bactericida necessitaram de duas vezes a concentração inibitória para tal efeito.

A amostra de extrato liofilizado apresentou o maior efeito bactericida entres todas, contra *S. aureus* e *L. monocytogenes*. Contra *Salmonella*, essa amostra apesar de apresentar efeito inibitório, não apresentou efeito bactericida nas concentrações testadas. Além disso, nenhuma amostra mostrou atividade desde o início contra *E. coli*, sendo essa bactéria juntamente com a *Salmonella*, classificadas como Gram-negativas.

O fato das amostras terem apresentado efeito inibidor e, em alguns casos, bactericida, contra as bactérias Gram-positivas, em maior quantidade do que contra as Gram-negativas, está ligado provavelmente à composição da membrana celular dessas últimas. Segundo

Schved, Henis e Juven (1994) e Smith-Palmer, Stewart e Fyfe (1998), as bactérias Gram-negativas possuem uma membrana mais complexa, contendo um segundo sistema de bicamadas lipídicas o que dificulta a penetração de agentes antimicrobianos. Esses micro-organismos apresentam normalmente valores de concentração inibitória mínima maiores do que os que são apresentados pelas bactérias Gram-positivas (SMITH-PALMER; STEWART; FYFE, 1998; MARTIN et al. 2012).

4.14 Inibição enzimática da arginase de *Leishmania amazonensis*

Na Tabela 26 estão apresentados os valores para inibição da enzima arginase de *Leishmania amazonensis*, obtidos para as amostras dos extratos da uva Bordô, secos em *spray dryer* com maltodextrina e também para o extrato liofilizado sem carreador.

Observa-se que todas as amostras apresentaram alta porcentagem de inibição variando de 54,60 a 83,43 %. A amostra de extrato liofilizado foi a que apresentou a maior capacidade de inibição da enzima, seguido pelas amostras atomizadas 1, 4 e 7, que continham 10% de carreador e pela amostra 9 que continha 30% de carreador. As demais amostras apresentaram menores porcentagens de inibição à medida que se aumentou a concentração maltodextrina. O resultado para a amostra 9 não foi esperado, pois esta possui 30% de carreador e portanto os compostos estão mais diluídos do que nas outras com menores porcentagens de maltodextrina. Os diferentes teores de umidade das amostras podem explicar este resultado. Uma massa muito pequena é utilizada para a realização do teste, e como a amostra 9 é uma das que possuem menor teor de umidade, não sofreu uma diluição inicial em comparação com as outras contendo 30% de carreador. Além disso, como já discutido, esta amostra apresentou os maiores teores de compostos bioativos por g de extrato seco.

Tabela 26 - Porcentagem de inibição da enzima arginase de *Leishmania*, pelas amostras em pó e do extrato liofilizado obtidos do subproduto de vinificação da UVA Bordô.

Amostra	% de inibição da arginase*
1	75,91 ± 0,42 ^{a,b}
2	63,21 ± 6,36 ^{c, d, e}
3	54,60 ± 2,05 ^e
4	70,74 ± 4,73 ^{b, c, d}
5	63,57 ± 1,68 ^{c, d, e}
6	62,75 ± 4,52 ^{d, e}
7	78,74 ± 2,51 ^{a,b}
8	60,43 ± 1,17 ^e
9	71,84 ± 0,70 ^{b,c}
Extrato liofilizado	83,43 ± 0,49 ^a

* Média ± desvio padrão. Médias seguidas de uma mesma letra, não diferem entre si ($p < 0,05$). Amostras: 1 - (130°C/10% MD); 2 - (130°C/20% MD); 3 - (130°C/30% MD); 4 - (150°C/10% MD); 5 - (150°C/20% MD); 6 - (150°C/30% MD); 7 - (170°C/10% MD); 8 - (170°C/20% MD); 9 - (170°C/30% MD).

A enzima arginase em *Leishmania* desempenha um papel central na infecção pelo parasita *L. amazonensis* (Roberts, et al. 2004) e pode ser inibida por flavonóides como quercetina (DA SILVA; MAQUIAVELI; MAGALHÃES, 2012), um composto ativo contra as formas amastigotas do parasita (TASDEMIR et al. 2006). Desta forma, os pigmentos produzidos, por conterem altos teores de flavonóides, poderiam ser utilizados como coadjuvante no tratamento da leishmaniose, além da possibilidade de serem utilizados no desenvolvimento de novos fármacos para controle da doença.

5 Conclusões

O subproduto de vinificação da uva Bordô possui grande potencial para ser aproveitado como fonte de compostos funcionais, podendo ser utilizado para produzir pigmentos em pó que apresentam maior estabilidade que extratos líquidos, baixa higroscopicidade e alta solubilidade, além de apresentar diversas atividades biológicas.

As condições de processo utilizadas apresentam influência principalmente sobre o teor de umidade, retenção de antocianinas e higroscopicidade das amostras, além de influenciarem a morfologia, o tamanho das partículas e as isotermas de sorção de umidade.

As amostras em pó não sofrem grandes alterações em seus espectros de infravermelho, em comparação aos ingredientes utilizados antes do processo de secagem, indicando que não há interação química entre os compostos do extrato e o agente carreador.

Os pós produzidos no *spray dryer* a partir do extrato obtido do subproduto de vinificação da uva Bordô apresentam estabilidade no teor de antocianinas e na cor, frente às condições de estocagem (25°C e 32,8% de umidade relativa), superior às amostras de extratos líquidos e à amostra de extrato liofilizado sem carreador. Indicando que a presença do carreador contribui para proteger os compostos presentes na amostra, principalmente as antocianinas.

Todas as amostras apresentam altos teores de compostos bioativos. Destaque para os compostos fenólicos totais, flavonóides totais e proantocianidinas, que possuem atividade biológica reconhecida. Sendo que a presença de maiores quantidades de maltodextrina, garante efeito protetor a esses compostos durante o processo de secagem.

As amostras apresentam capacidade antioxidante pelos métodos testados e atividade antimicrobiana principalmente contra as bactérias Gram-positivas *Staphylococcus aureus* e *Listeria monocytogenes*. Somado a isso, todas as amostras apresentam altos valores de inibição da enzima arginase de *Leishmania*. Isso indica o potencial uso do subproduto de vinificação dessa variedade de uva como fonte de compostos que podem ser utilizados como ingrediente funcional.

Dentre as condições de processo utilizadas para a produção dos pigmentos em pó, aquelas que proporcionam a obtenção de amostras com as melhores características, são as maiores concentrações de agente carreador (20 e 30 %) e a temperatura de até 170 °C, para esta amostra e o tipo de carreador utilizado (maltodextrina 10 DE).

Referências bibliográficas

- AHMED, M. et al. Encapsulation by spray drying of bioactive components, physicochemical and morphological properties from purple sweet potato. **LWT - Food Science and Technology**, v. 43, p. 1307-1312, 2010.
- ALIAKBARIAN, B. et al. Extraction of antioxidants from winery wastes using subcritical water. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 65, p. 18–24, 2012.
- AL-MUHTASEB, A. H.; McMINN, W. A. M.; MAGEE, T. R. A. Moisture sorption isotherm characteristics of food products: a review. **Trans IChemE**, v. 80, Part C, p. 118-128, 2002.
- AL-ZOREKY, N. S. Antimicrobial activity of pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit peels. **International Journal of Food Microbiology**, v. 134, p. 244–248, 2009.
- AMENDOLA, D.; DE FAVERI, D. M.; SPIGNO, G. Grape marc phenolics: Extraction kinetics, quality and stability of extracts. **Journal of Food Engineering**, v. 97, p. 384-392, 2010.
- AMICO, V. et al. Constituents of grape pomace from the Sicilian cultivar ‘Nerello Mascalese’. **Food Chemistry**, v. 88, p. 599–607, 2004.
- AMR, A.; AL-TAMIMI, E. Stability of the crude extracts of *Ranunculus asiaticus* anthocyanins and their use as food colourants. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 42, n.8, p. 985–991, 2007.
- ANASTASIADI, M. et al. Grape stem extracts: Polyphenolic content and assessment of their in vitro antioxidant properties. **LWT - Food Science and Technology**, v. 48, p. 316-322, 2012.
- ANEKELLA, K.; ORSAT, V. Optimization of microencapsulation of probiotics in raspberry juice by spray drying. **LWT - Food Science and Technology**, v. 50, p. 17-24, 2013.
- A.O.A.C. **Official Methods of Analysis**. 18th ed. Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg, Maryland, 2006.
- ARNOUS, A.; MEYER, A. S. Comparison of methods for compositional characterization of grape (*Vitis vinifera* L.) and apple (*Malus domestica*) skins. **Food and Bioprocess Technology**, v. 86, n.7, p. 79–86, 2008.
- BABBAR, N. et al. Total phenolic content and antioxidant capacity of extracts obtained from six important fruit residues. **Food Research International**, v. 44, p. 391–396, 2011.
- BAGCHI, D. et al. Free radicals and grape seed proanthocyanidin extract: Importance in human health and disease prevention. **Toxicology**, v. 148, p. 187–197, 2000.
- BAKKALI, F. et al. Biological effects of essential oils—a review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, n.2, p. 446–475, 2008.

BAKOWSKA-BARCZAKA, A. M.; KOŁODZIEJCZYK, P. P. Black currant polyphenols: Their storage stability and microencapsulation. **Industrial Crops and Products**, v. 34, p. 1301–1309, 2011.

BAYDAR, N. G.; ÖZKAN, G.; SAGDIÇ, O. Total phenolic contents and antibacterial activities of grape (*Vitis vinifera* L.) extracts. **Food Control**, v. 15, p. 335–339, 2004.

BEMILLER, J. N.; HUBER, K. C. Carboidratos. In: DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de alimentos de Fennema**. 4. Ed. Porto Alegre: Artmed, p. 75–130, 2010.

BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: The FRAP assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, p. 70–76, 1996.

BERG, S. et al. Influence of different pectins on powder characteristics of microencapsulated anthocyanins and their impact on drug retention of shellac coated granulate. **Journal of Food Engineering**, v. 108, p. 158–165, 2012.

BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. In: **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v. 37, n.8, p. 911–917, 1959.

BOBBIO, F. O.; BOBBIO, P. A. **Introdução à química de alimentos**. 3 ed. São Paulo: Livraria Varela, p. 2005–236, 2003.

BONILLA, F. et al. Extraction of phenolic compounds from red grape marc for use as food lipid antioxidants. **Food Chemistry**, v. 66, p. 209–215, 1999.

BOO, H. O. et al. Extraction and characterization of some natural plant pigments. **Industrial Crops and Products**, v. 40, p. 129–135, 2012.

BORDIGNON-LUIZ, M. T. et al. Colour stability of anthocyanins from Isabel grapes (*Vitis labrusca* L.) in model systems. **LWT – Food Science and Technology**, v. 40, n. 4, p. 594–599, 2007.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT – Food Science and Technology**, v. 28, n.1, p. 25–31, 1995.

BRASIL. Resolução nº 44 de 1977. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, 01 de fevereiro de 1978.

BROUILLARD, R. Chemical structure of anthocyanins. In: MARKAKIS, P. **Anthocyanins as Food Colors**. New York, Academic Press, p.1–39, 1982.

BRUNAUER, S.; EMMETT, P. H.; TELLER, E. Adsorption of gases in multimolecular layers. **Journal of the American Chemists' Society**, v. 60, p. 309–319, 1938.

BURIN, V. M. et al. Anthocyanins: optimisation of extraction from Cabernet Sauvignon grapes, microcapsulation and stability in soft drink. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 46, p. 186–193, 2011.

CABRAL, I. S. R. et al. Composição fenólica, atividade antibacteriana e antioxidante da própolis vermelha brasileira. **Química Nova**, v. 32, p. 1523-1527, 2009.

CAI, Y. Z.; CORKE, H. Production and properties of spray-dried *Amaranthus* betacyanin pigments. **Journal of Food Science**, v.65, n.6, p.1248-1252, 2000.

CAILLET, S. et al. Antimicrobial effects of fractions from cranberry products on the growth of seven pathogenic bacteria. **Food Control**, v. 23, p. 419-428, 2012.

CAMARGO, U. A. Variedades de uva. In: GUERRA et al. **Conhecendo o essencial sobre uvas e vinhos**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, p. 17-30, 2009.

CANO-CHAUCA, M. et al. Effect of the carriers on the microstructure of mango powder obtained by spray drying and its functional characterization. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v.5, n.4, p.420-428, 2005.

CASTAÑEDA-OVANDO, A. et al. Chemical studies of anthocyanins: A review. **Food Chemistry**, v. 113, p. 859–871, 2009.

CHEGINI, G. R.; GHOBADIAN, B. Spray Dryer Parameters for Fruit Juice Drying. **World Journal of Agricultural Sciences**, v. 3, n.2, p. 230-236, 2007.

CHENG, V. J. et al. Effect of extraction solvent, waste fraction and grape variety on the antimicrobial and antioxidant activities of extracts from wine residue from cool climate. **Food Chemistry**, v. 134, p. 474–482, 2012.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE – CLSI. **Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests**, Approved Standard M02-A10, 10th ed. (2009a). CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE, Wayne.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE – CLSI. **Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically**, Approved Standard M7-A8, 8th ed. (2009b). CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE, Wayne.

CLYDESDALE, F. M. Color as a factor in food choice. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 33, p. 83–101, 1993.

COATES, J. Interpretation of infrared spectra, a practical approach. In: MEYERS, R. A., Ed. **Encyclopedia of Analytical Chemistry**, John Wiley & Sons, Ltd.: Chichester, England, p. 10815- 10837, 2000.

CONSTANT, P. B. L.; STRINGHETA, P. C.; SANDI, D. Corantes Alimentícios. **Boletim do Ceppa**, Curitiba, v. 20, n. 2, p. 203-220, 2002.

COMUNIAN, T. A. et al. Assessment of production efficiency, physicochemical properties and storage stability of spray-dried chlorophyllide, a natural food colourant, using gum Arabic, maltodextrin and soy protein isolate-based carrier systems. **International Journal of Food Science and Technology**, v.46, p.1259-1265, 2011.

CORRALES, M. et al. Extraction of anthocyanins from grape skins assisted by high hydrostatic pressure. **Journal of Food Engineering**, v. 90, p. 415–421, 2009.

CÔTÉ, J. et al. Antimicrobial effect of cranberry juice and extracts. **Food Control**, v. 22, p. 1413–1418, 2011.

CRAIG, A. M. D. Natural colorants as bioactive agents in functional foods. In: BIDLACK, R. L.; RODRIGUES, W. R. **The impact of dietary regulation of gene function on human disease**. Boca Raton: CRC Press, p. 351–362, 2011.

DANI, C. et al. Phenolic content and antioxidant activities of white and purple juices manufactured with organically or conventionally-produced grapes. **Food and Chemical Toxicology**, v. 45, p. 2574–2580, 2007.

DA SILVA E. R.; MAQUIAVELI C. C.; MAGALHÃES P. P. The leishmanicidal flavonols quercetin and quercitrin target *Leishmania (Leishmania) amazonensis* arginase. **Experimental Parasitology**, v. 130, p. 183–188, 2012.

DELGADO-VARGAS, F.; JIMÉNEZ, A. R.; PAREDES-LÓPEZ, O. Natural pigments: carotenoids, anthocyanins, and betalains — characteristics, biosynthesis, processing and stability. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 40, p. 173–289, 2000.

DELGADO-VARGAS, F.; PAREDES-LÓPEZ, O. Pigments as food colorants. In: DELGADO-VARGAS, F.; PAREDES-LÓPEZ, O. **Natural colorants for food and nutraceutical uses**. Boca Raton: CRC Press, 2003.

DIAZ, M. N. et al. Antioxidants and atherosclerotic heart disease. **Journal of Medicine and Nutrition England**, v. 337, p. 408–416, 1997.

DIB TAXI, C. M. et al. Study of the microencapsulation of camu–camu (*Myrciaria dubia*) juice. **Journal of Microencapsulation**, v. 20, n.4, p. 443–448, 2003.

DURST, R. W.; WROLSTAD, R. E. Unit F1.3.1–13. Separation and characterization of anthocyanins by HPLC. In: WROLSTAD, R. E. (Ed.), **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**. New York: Wiley, 2001.

EASTMAN, J. E.; MOORE, C. O. **Cold water soluble granular starch for gelled food composition**. U.S. Patent 4465702, 1984.

EDELMANN, A. et al. Rapid Method for the Discrimination of Red Wine Cultivars Based on Mid-Infrared Spectroscopy of Phenolic Wine Extracts. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 1139–1145, 2001.

ERSUS, S.; YURDAGEL, U. Microencapsulation of anthocyanin pigments of black carrot (*Daucuscarota L.*) by spray dryer. **Journal of Food Engineering**, v. 80, n.3, p. 805–812, 2007.

ESTUPIÑAN, D. C.; SCHWARTZ, S. J.; GARZÓN, G. A. Antioxidant activity, total phenolics content, anthocyanin, and color stability of isotonic model beverages colored with

andes berry (*Rubus glaucus* benth) anthocyanin powder. **Journal of Food Science**, v. 76, n.1, p. 26-34, 2011.

FAZAELI, M. et al. Effect of spray drying conditions and feed composition on the physical properties of black mulberry juice powder. **Food and bioproducts processing**, v. 90, p. 667–675, 2012.

FAWCETT, J. K.; SCOTT, J. E. A rapid and precise method for the determination of urea. **Journal of Clinical Pathology**, v. 13, p. 156-159, 1960.

FENNEMA, O. R. **Fennema's Food Chemistry**. 4 ed. Boca Raton: CRC Press, p. 571-573, 2008.

FERRARI, C. C.; GERMER, S. P. M.; AGUIRRE, J. M.; Effects of spray-drying conditions on the physicochemical properties of blackberry powder. **Drying Technology**, v. 30, p. 154–163, 2012.

FILKOVÁ, I.; MUJUMDAR, A. S. Industrial spray drying systems. In: MUJUMDAR, A. S. **Handbook of Industrial Drying**. Marcel Dekker Inc. New York, p. 215-254, 1995.

FOO, L. Y. et al. A-type proanthocyanidin trimers from cranberry that inhibit adherence of uropathogenic P-fimbriated *Escherichia coli*. **Journal of Natural Products**, v. 63, p. 1225–1228, 2000.

FRAGOSO, S. et al. Application of FT-MIR spectroscopy for fast control of red grape phenolic ripening. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, p. 2175–2183, 2011.

FRASCARELI, E. C. et al. Effect of process conditions on the microencapsulation of coffee oil by spray drying. **Food and Bioproducts Processing**, v. 90, p. 413–424, 2012.

FUJII, H. et al. Preparation, characterization, and antioxidative effects of oligomeric proanthocyanidin- L-cysteine complexes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n.4, p. 1525–1531, 2007.

FULEKI, T.; FRANCIS, F. J. Quantitative methods for anthocyanins. 1. Extraction and determination of total anthocyanin in cranberries. **Journal of Food Science**, v. 33, p. 72–77, 1968.

GABAS, A. L. et al. Effect of maltodextrin and arabic gum in water vapor sorption thermodynamic properties of vacuum dried pineapple pulp powder. **Journal of Food Engineering**, v. 82, p. 246–252, 2007.

GIUSTI, M. M.; JING, P. Analysis of Anthocyanins. In: SOCACIU, C. (Ed.), **Food Colorants: Chemical and Functional Properties**. Boca Raton: CRC Press, 2008.

GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R. E. Unit F1.2.1-13. Anthocyanins. Characterization and measurement with UVvisible spectroscopy. In: WROLSTAD, R. E. (Ed.), **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**. New York: Wiley, 2001.

GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R. E. Acylated anthocyanins from edible sources and their applications in food systems. **Biochemical Engineering Journal**, v. 14, p. 217–225, 2003.

GÓMEZ-PLAZA, E.; MIÑANO, A.; LÓPEZ-ROCA, J. M. Comparison of chromatic properties, stability and antioxidant capacity of anthocyanin-based aqueous extracts from grape pomace obtained from different vinification methods. **Food Chemistry**, v. 97, p. 87–94, 2006.

GOULA, A. M.; ADAMOPOULOS, K. G. Spray drying of tomato pulp in dehumidified air: 1. The effect on product recovery. **Journal of Food Engineering**, v. 66, p. 25–34, 2005a.

GOULA, A. M.; ADAMOPOULOS, K. G. Spray drying of tomato pulp in dehumidified air: 2. The effect on powder properties. **Journal of Food Engineering**, v. 66, p. 35–42, 2005b.

GOULA, A.M., ADAMOPOULOS, K.G. A new technique for spray drying orange juice concentrate. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 11, p. 342–351, 2010.

GOULA, A. M. et al. Water sorption isotherms and glass transition temperature of spray dried tomato pulp. **Journal of Food Engineering**, v. 85, n.1, p. 73–83, 2008.

GRABOWSKI, J.A., TRUONG, V.D., DAUBERT, C.R. Spray-drying of amylase hydrolized sweetpotato puree and physicochemical properties of powder. **Journal of Food Science**, v. 71, n.5, p. 209–217, 2006.

HE, J.; RODRIGUEZ-SAONA, L. E.; GIUSTI, M. M. Midinfrared spectroscopy for juice authentication-rapid differentiation of commercial juices. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 4443–4452, 2007.

HO, C. T.; RAFI, M. M.; GHAI, G. Substâncias bioativas: nutracêuticas e tóxicas. In: DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de alimentos de Fennema**. 4. Ed. Porto Alegre: Artmed, p. 585–609, 2010.

HOGAN, S. et al. Effects of grape pomace antioxidant extract on oxidative stress and inflammation in diet induced obese mice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, p. 11250–11256, 2010.

HRAZDINA, G.; FRANZESE, A. J. Structure and properties of the acylated anthocyanins from vitis species. **Phytochemistry**, v. 13, p. 225–229, 1974.

HUANG, D.; OU, B.; PRIOR, R.L. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p.1841–1856, 2005.

IBGE – Instituto brasileiro de Geografia e Estatística. **Levantamento sistemático da produção agrícola**. 2012. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>> Acesso em: dez. 2012.

IDHAM, Z.; MUHAMAD, I. I.; SARMIDI, M. R. Degradation kinetics and color stability of Spray-dried encapsulated anthocyanins from *Hibiscus sabdariffa* L. **Journal of Food Process Engineering**, v. 35, p. 522–542, 2012.

IMEH, U.; KHOKHAR, S. Distribution of conjugated and free phenols in fruits: antioxidant activity and cultivar variations. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 6301–6306, 2002.

JACKSON, R. S. Chemical constituents of grapes and wine. In: JACKSON, R. S. **Wine Science Principles and applications**. 3. Ed. San Diego: Academic Press, p. 271–329, 2008.

JAYAPRAKASHA, G. K.; SELVI, T.; SAKARIAH, K. K. Antibacterial and antioxidant activities of grape (*Vitis vinifera*) seed extracts. **Food Research International**, v. 36, p. 117–122, 2003.

JIMÉNEZ-AGUILAR, D. M. et al. Color and chemical stability of spray-dried blueberry extract using mesquite gum as wall material. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 24, p. 889–894, 2011.

KATALINIC et al. Polyphenolic profile, antioxidant properties and antimicrobial activity of grape skin extracts of 14 *Vitis vinifera* varieties grown in Dalmatia (Croatia). **Food Chemistry**, v. 119, p. 715–723, 2010.

KEDAGE, V. V. et al. Study of antioxidant properties of some varieties of grapes (*Vitis vinifera* L.). **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 47, n.2, p. 175–185, 2007.

KEOGH, M. K.; MURRAY, C. A.; O’KENNEDY, B. T. Effects of ultrafiltration of whole milk on some properties of spray-dried milk powders. **International Dairy Journal**, v. 13, p. 995–1002, 2003.

KHA, T. C.; NGUYEN, M. H.; ROACH, P. D. Effects of spray drying conditions on the physicochemical and antioxidant properties of the Gac (*Momordica cochinchinensis*) fruit aril powder. **Journal of Food Engineering**, v. 98, p. 385–392, 2010.

KHANAL, R. C.; HOWARD, L. R.; PRIOR, R. L. Procyanidin composition of selected fruits and fruit byproducts is affected by extraction method and variety. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, p. 8839–8843, 2009.

KIRCA, A.; CEMEROGLU, B. Degradation kinetics of anthocyanins in blood orange juice and concentrate. **Food Chemistry**, v. 81, p. 583–587, 2003.

KRISHNAIAH, D.; SARBATLY, R.; NITHYANANDAM, R. Microencapsulation of *Morinda citrifolia* L. extract by spray-drying. **Chemical Engineering Research and Design**, v. 90, p. 622–632, 2012.

LABUZA, T.P. **Moisture sorption: practical aspects of isotherm measurement and use**. St. Paul: American Association of Cereal Chemists, 1984.

LACOMBE, A. et al. Antimicrobial action of the American cranberry constituents; phenolics, anthocyanins, and organic acids, against *Escherichia coli* O157:H7. **International Journal of Food Microbiology**, v. 139, p. 102–107, 2010.

LAGHI, L. et al. FTIR spectroscopy and direct orthogonal signal correction preprocessing applied to selected phenolic compounds in red wines. **Food Analytical Methods**, v. 4, p. 619–625, 2011.

LARRAURI, J. A.; SÁNCHEZ-MORENO, C.; SAURA-CALIXTO, F. Effect of temperature on the free radical scavenging capacity of extracts from red and white grape pomace peels. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, p. 2694–2697, 1998.

LEÓN-MARTÍNEZ, F. M.; MÉNDEZ-LAGUNAS, L. L.; RODRÍGUEZ-RAMÍREZ, J. Spray drying of nopal mucilage (*Opuntia ficusindica*): Effects on powder properties and characterization. **Carbohydrate Polymers**, v. 81, p. 864–870, 2010.

LIAZID, A. et al. Microwave assisted extraction of anthocyanins from grape skins. **Food Chemistry**, v. 124, p. 1238–1243, 2011.

LLOBERA, A.; CANELLAS, J. Dietary fiber content and antioxidant activity of Manto Negro red grape (*Vitis vinifera*): Pomace and stem. **Food Chemistry**, v. 101, p. 659–666, 2007.

LUQUE-RODRÍGUEZ, J. M.; CASTRO, M. D. L.; PÉREZ-JUAN, P. Dynamic superheated liquid extraction of anthocyanins and other phenolics from red grape skins of winemaking residues. **Bioresource Technology**, v. 98, p. 2705–2713, 2007.

MAAS, S. G. et al. The impact of spray drying outlet temperature on the particle morphology of mannitol. **Powder Technology**, v. 213, p. 27–35, 2011.

MAIER, T. S.; ANDREAS, K.; DIETMAR, R. C. Residues of grape (*Vitis vinifera* L.) seed oil production as a valuable source of phenolic antioxidants. **Food Chemistry**, v. 112, n.3, p. 551–559, 2009.

MAIER, T. et al. Process and storage stability of anthocyanins and non-anthocyanin phenolics in pectin and gelatin gels enriched with grape pomace extracts. **European Food Research and Technology**, v. 229, p. 949–960, 2009.

MAURY, M. et al. Effects of process variables on the powder yield of spray-dried trehalose on a laboratory spray-dryer. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 59, p. 565–573, 2005.

MARTIN, J. G. P. et al. Antimicrobial potential and chemical composition of agro-industrial wastes. **Journal of Natural Products**, v. 5, p. 27–36, 2012.

MELLO, L. M. R. **Vitivinicultura brasileira: panorama 2010**. Bento Gonçalves: Embrapa uva e vinho, 4. p, 2011.

MELO, P. S. et al. Composição fenólica e atividade antioxidante de resíduos agroindustriais. **Ciência Rural**, v. 41, n.6, p. 1088–1093, 2011.

MILLER G. L. Use of dinitrosalicylic acid (DNS) for determination of reducing sugars. **Analytical Chemistry**, v. 31, p. 426–428, 1959.

MONRAD, J. K. et al. Subcritical solvent extraction of anthocyanins from dried red grape pomace. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, p. 2862–2868, 2010.

MOREIRA, G. E. G. et al. Physical properties of spray dried acerola pomace extract as affected by temperature and drying aids. **LWT - Food Science and Technology**, v. 42, p. 641–645, 2009.

MUÑOZ-ESPADA, A.C. et al. Anthocyanin quantification and radical scavenging capacity of concord, norton, and marechal foch grapes and wines. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p.6779-6786, 2004.

NEGRO, C.; TOMMASI, L.; MICELLI, A. Phenolic compounds and antioxidant activity from red grape marc extracts. **Bioresource Technology**, 87, 41–44, 2003.

OCHOA, M. R. et al. Physical and chemical characteristics of raspberry pulp: storage effect on composition and color. **LWT - Food Science and Technology**, v. 32, p. 149-153, 1999.

OKI, T. et al. Involvement of anthocyanins and other phenolic compounds in radical-scavenging activity of purple-fleshed sweet potato cultivars. **Journal of Food Science**, v. 67, p. 1752-1756, 2002.

OLIVEIRA, D. A. et al. Antimicrobial activity and composition profile of grape (*Vitis vinifera*) pomace extracts obtained by supercritical fluids. **Journal of Biotechnology**, (2012), <http://dx.doi.org/10.1016/j.jbiotec.2012.09.014>

OSORIO, C. et al. Microencapsulation by Spray-Drying of Anthocyanin Pigments from Corozo (*Bactris guineensis*) Fruit. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, p. 6977–6985, 2010.

PARK, J. Y. et al. Antibacterial Activities of Blueberry and Muscadine Phenolic Extracts. **Journal of Food Science**, v. 76, n. 2, p. 102-105, 2011

PAZMINO-DURAN, A. E. et al. Anthocyanins from oxalis triangularis as potential food colorants. **Food Chemistry**, v. 75, n.2, p. 211–216, 2001.

PAZOS, M. et al. Inhibition of hemoglobin- and iron-promoted oxidation in fish microsomes by natural phenolics. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n.12, p. 4417–4423, 2006.

PENG, Z.; LI, J.; GUAN, Y.; ZHAO, G. Effect of carriers on physicochemical properties, antioxidant activities and biological components of spray-dried purple sweet potato flours. **LWT - Food Science and Technology**, v. 51, p. 348-355, 2013.

PING, L. et al. Condensed tannins from grape pomace: Characterization by FTIR and MALDI TOF and production of environment friendly wood adhesive. **Industrial Crops and Products**, v. 40, p. 13–20, 2012.

PORTER, L. J.; HRSTICH, L. N.; CHAN, B. G. The conversion of procyanidins and prodelphinidins to cyanidin and delphinidin. **Phytochemistry**, v. 25, n.1, p. 223-230, 1985.

POUDEL, P. R. et al. Phenolic compounds and antioxidant activities of skin and seeds of five wild grapes and two hybrids native to Japan. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 21, p. 622–625, 2008.

POZZAN, M. S. V.; BRAGA, G. C.; SALIBE, A. B. Teores de antocianinas, fenóis totais, taninos e ácido ascórbico em uva ‘bordô’ sobre diferentes porta-enxertos. **Revista Ceres**, v. 59, n. 5, p. 701-708, 2012.

PRIOR, R.L.; WU, X.; SCHAICH, K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 4290-4302, 2005.

PULIDO, R.; BRAVO, L.; SAURA-CALIXTO, F. Antioxidant activity of dietary as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay. **Journal Agriculture and Food Chemistry**, v. 48, p. 3396-3402, 2000.

RADOVANOVIC, A.; RADOVANOVIC, B.; JOVANCICEVIC, B. Free radical scavenging and antibacterial activities of southern Serbian red wines. **Food Chemistry**, v. 117, p. 326–331, 2009.

RÉ, M. I. Microencapsulation by spray drying. **Drying Technology**, v.16, n.6, p.1195-1236, 1998.

REID, D. S.; FENNEMA, O. R. Água e gelo. In: DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de alimentos de Fennema**. 4. Ed. Porto Alegre: Artmed, p. 25-74, 2010.

RIZZON, L. A.; MIELE, A.; MENEGUZZO, J. Avaliação da uva cv. Isabel para a elaboração de vinho tinto. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 20, p. 115-121, 2000.

ROBERTS, S. C. et al. Arginase plays a pivotal role in polyamine precursor metabolism in Leishmania. Characterization of gene deletion mutants. **Journal of Biological Chemistry**, v. 279, p. 23668–23678, 2004.

ROCHA, G. A. et al. Microcapsules of a casein hydrolysate: production, characterization, and application in protein bars. **Food Science and Technology International**, v. 15, p. 407–413, 2009.

ROCKENBACH, I. I. et al. Influência do solvente no conteúdo total de polifenóis, antocianinas e atividade antioxidante de extratos de bagaço de uva (*Vitis vinifera*) variedades Tannat e Ancelota. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28(Supl.), p. 238-244, 2008.

ROCKENBACH, I. I. et al. Phenolic compounds content and antioxidant activity in pomace from selected red grapes (*Vitis vinifera* L. and *Vitis labrusca* L.) widely produced in Brazil. **Food Chemistry**, v. 127, n. 1, p. 174-179, 2011.

RUFINO, M. S. M. et al. **Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pelo método de redução do ferro (FRAP)**. Comunicado Técnico, 125, Embrapa, 4. p. 2006.

- SÁYAGO-AYERDI, S. G. et al. Antioxidative effect of dietary grape pomace concentrate on lipid oxidation of chilled and long-term frozen stored chicken patties. **Meat Science**, v. 83, p. 528–533, 2009.
- SCHURG, W. A.; REED, J. P.; REID, B. L. Utilization of various fruit pomace products by growing rabbits. **Nutrition reports international**, v. 21, p. 55-62, 1980.
- SCHVED, F.; HENIS, Y.; JUVEN, B. J. Response of spheroplasts and chelator-permeabilized cells of gram-negative bacteria to the action of the bacteriocins pediocin SJ-1 and nisin. **International Journal of Food Microbiology**, v. 21, p. 305-314, 1994.
- SCHWARTZ, S. J.; VON ELBEE, J. H.; GIUSTI, M. M. Corantes. In: DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de alimentos de Fennema**. 4. Ed. Porto Alegre: Artmed, p. 445-498, 2010.
- SHRIKHANDE, A. J. Wine by-products with health benefits. **Food Research International**, v. 33, p. 469–474, 2000.
- SILVA, P. I. et al. Parameter optimization for spray-drying microencapsulation of jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) peel extracts using simultaneous analysis of responses. **Journal of Food Engineering** (2013), <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.08.039>.
- SILVA, M. A.; SOBRAL, P. J. A.; KIECKBUSCH, T. G. State diagrams of freeze-dried camu–camu (*Myrciaria dubia* (hbk) mc vaugh) pulp with and without maltodextrin addition. **Journal of Food Engineering**, v. 77, n.3, p. 426–432, 2006.
- SINGLETON, V.L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTOS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-ciocalteu reagent. **Methods of Enzymology**, v. 299, p. 152-178, 1999.
- SMITH-PALMER, A.; STEWART, J.; FYFE, L. Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food-borne pathogens. **Letters in Applied Microbiology**, v. 26, p. 118–122, 1998.
- SOCRATES, G. **Infrared and Raman characteristic group frequencies: tables and charts**. Wiley, Chichester, 2001.
- SUDA, I. et al. Direct absorption of acylated anthocyanin on purple-fleshed sweet potato into rats. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 1672-1676, 2002.
- TASDEMIR, D. et al. Antitrypanosomal and antileishmanial activities of flavonoids and their analogues: in vitro, in vivo, structure-activity relationship, and quantitative structure-activity relationship studies. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 50, p. 1352–1364, 2006.
- TEIXEIRA, L. N.; STRINGHETA, P. C.; OLIVEIRA, F. A. Comparação de métodos para quantificação de antocianinas. **Revista Ceres**, v. 55, n.4, p. 297-304, 2008.
- TERCI, D. B. L.; ROSSI, A. V. Indicadores naturais de ph: usar papel ou solução? **Química Nova**, v. 25, n. 4, p. 684-688, 2002.

TONON, R. V.; BRABET, C.; HUBINGER, M. D. Influence of process conditions on the physicochemical properties of açai (*Euterpe oleraceae* Mart.) powder produced by spray drying. **Journal of Food Engineering**, v.88, p. 411–418, 2008.

TONON, R. V.; BRABET, C.; HUBINGER, M. D. Influência da temperatura do ar de secagem e da concentração de agente carreador sobre as propriedades físico-químicas do suco de açai em pó. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n.2, p. 444-450, 2009.

TONON, R. V. et al. Water sorption and glass transition temperature of spray dried açai (*Euterpe oleracea* Mart.) juice. **Journal of Food Engineering**, 94, 215–221, 2009.

TONON, R. V.; BRABET, C.; HUBINGER, M. D. Anthocyanin stability and antioxidant activity of spray-dried açai (*Euterpe oleracea* Mart.) juice produced with different carrier agents. **Food Research International**, v. 43, p. 907–914, 2010.

VALDUGA, E. et al. Extração, secagem por atomização e microencapsulamento de antocianinas do bagaço da uva isabel (*Vitis labrusca*). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, n. 5, p. 1568-1574, 2008.

VANNIER-SANTOS, M. A. et al. The putrescine analogue 1,4-diamino-2-butanone affects polyamine synthesis, transport, ultrastructure and intracellular survival in *Leishmania amazonensis*. **Microbiology**, v. 154, p. 3104–3111, 2008.

VEHRING, R. Pharmaceutical Particle Engineering via Spray Drying. **Pharmaceutical Research**, v. 25, n.5, p. 999-1022, 2008.

VIEIRA, A. H.; FIGUEIRÊDO, R. M. F.; QUEIROZ, A. J. M. Isotermas de adsorção de umidade da pitanga em pó. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 7, n.1, p. 11-20, 2007.

VOGT, E.; JAKOB, L.; LEMPERLE, E. **EL VINO: Obtención, elaboración y análisis**. Zaragoza (España): Editorial ACRIBIA, S. A., p. 12-13, 1986.

WALTON, D. E.; MUMFORD, C. J. The morphology of spray-dried particles - The effect of process variables upon the morphology of spray-dried particles. **Trans IChemE**, v. 77, part A, p. 442-459, 1999.

WANG, W. D.; XU, S.Y. Degradation kinetics of anthocyanins in blackberry juice and concentrate. **Journal of Food Engineering**, v. 82, p. 271–275, 2007.

XU, C. et al. Phenolic compounds and antioxidant properties of different grape cultivars grown in China. **Food Chemistry**, v. 119, p. 1557–1565, 2010.

YANG, J.; MARTINSON, T. E.; LIU, R. H. Phytochemical profiles and antioxidant activities of wine grapes. **Food Chemistry**, v. 116, p. 332–339, 2009.

ZHANG, L.; MOU, D.; DU, Y. Procyanidins: Extraction and microencapsulation. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 87, p. 2192–2197, 2007.