

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

NATALIA CRISTINA DA SILVA

**Extração assistida por ultrassom de compostos fenólicos de resíduos da polpa de acerola: encapsulação em nanopartículas de quitosana e aplicação como cobertura ativa de goiabas**

---

Pirassununga

2020

NATALIA CRISTINA DA SILVA

**Extração assistida por ultrassom de compostos fenólicos de resíduos da polpa de acerola: encapsulação em nanopartículas de quitosana e aplicação como cobertura ativa de goiabas**

**Versão Corrigida**

Dissertação apresentada à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Mestre do programa de pós-graduação em Engenharia e Ciência de Materiais

Área de Concentração: Desenvolvimento, Caracterização e Aplicação de Materiais voltados à Agroindústria

Orientadora: Profa. Dra. Milena Martelli Tosi

---

Pirassununga

2020

Ficha catalográfica elaborada pelo  
Serviço de Biblioteca e Informação, FZEA/USP,  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

S586e Silva, Natalia Cristina da  
Extração assistida por ultrassom de compostos  
fenólicos de resíduos da polpa de acerola:  
encapsulação em nanopartículas de quitosana e  
aplicação como / Natalia Cristina da Silva ;  
orientadora Milena Martelli-Tosi. -- Pirassununga,  
2020.  
103 f.

Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação  
em Engenharia e Ciência de Materiais) -- Faculdade  
de Zootecnia e Engenharia de Alimentos,  
Universidade de São Paulo.

1. Compostos fenólicos totais. 2.  
Nanoencapsulação. 3. Quitosana. 4. Coberturas  
ativas. 5. Goiaba. I. Martelli-Tosi, Milena,  
orient. II. Título.

NATALIA CRISTINA DA SILVA

**Extração assistida por ultrassom de compostos fenólicos de resíduos da polpa de acerola: encapsulação em nanopartículas de quitosana e aplicação como cobertura ativa de goiabas**

Banca Examinadora:

1ª Examinadora e Presidente da Banca:

Professora Doutora Milena Martelli Tosi – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA/USP) – Orientadora

2º Examinador:

Doutor Odílio Benedito Garrido de Assis

3ª Examinadora:

Professora Doutora Samantha Cristina de Pinho

Pirassununga – SP  
20 de agosto de 2020

## AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Marlene e Osnilo, com todo amor do mundo, porque é com amor que eles me inspiram a seguir os meus sonhos, me encorajam a ser cientista e me motivaram a chegar até aqui.

À minha prima-irmã, Letícia, por acreditar em mim; como irmã, como cientista.

A todos da minha família que torceram de longe e acreditam em meu trabalho. Em especial, aos meus padrinhos, Amélia e Carlinhos, por se fazerem tão presentes.

Aos meus amigos de vida e de profissão, Bruno Esposto e Larissa Tessaro, por caminharem ao meu lado na vida científica e na cotidiana.

A todos os meus colegas de laboratório do LENALIS pelos conhecimentos compartilhados e por fazerem feliz o meu ambiente de trabalho. Em especial, aqueles com quem a amizade se estendeu para além do ambiente acadêmico: Marlucci, Matheus, Letícia, Nadia e Samantha.

À Taís Téó, que foi uma parceira na ciência e com quem criei uma amizade para além dela; em quem encontrei mais uma inspiração dentro desta área. Agradeço por cada ensinamento científico e por todo cuidado e dedicação comigo e com o meu trabalho.

Ao Dr. Odílio de Assis, quem sempre admirei na ciência e com quem tive a honra de trabalhar em colaboração; agradeço imensamente a oportunidade, a confiança, a disposição e toda a paciência.

À Profa. Dra. Milena Martelli Tosi, minha orientadora e primeira referência na vida acadêmica há seis anos e até hoje; quem segurou a minha mão pela primeira vez no início da minha carreira e nunca mais soltou; a quem tenho um imenso carinho e gratidão por todo cuidado e confiança que tornaram este trabalho possível.

À Embrapa Instrumentação e à FZEA pelo espaço cedido e pela confiança para que eu realizasse o meu trabalho; e aos seus técnicos de laboratórios por todo auxílio e ensinamentos.

À CAPES pelo apoio financeiro.

## RESUMO

NATALIA, C. S. **Extração assistida por ultrassom de compostos fenólicos de resíduos da polpa de acerola: encapsulação em nanopartículas de quitosana e aplicação como cobertura ativa de goiabas.** 2020. 103p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2020.

Os resíduos obtidos após o processamento da polpa de acerola ainda podem conter altos níveis de compostos ativos. No entanto, os compostos são instáveis sob várias condições e o encapsulamento pode ser uma alternativa para superar estes problemas e reaproveitá-los. Uma das aplicações para compostos ativos encapsulados é o uso como coberturas ativas para goiabas, uma fruta de alta perecibilidade cujos danos fisiológicos aparecem em um curto intervalo de tempo no período pós-colheita. Para simplificar a produção de nanopartículas de quitosana como sistema encapsulante de compostos ativos, o primeiro objetivo deste estudo foi investigar a extração dos compostos ativos do resíduo da acerola diretamente na suspensão de quitosana (3,88 mg/mL de ácido acético 1%) usando Delineamento Central Composto Rotacional 2<sup>2</sup>, sendo as duas variáveis independentes: massa inicial de resíduo úmido (g) e tempo de extração assistida por ultrassom de ponteira (min). A condição ótima para extração de compostos fenólicos totais (412,3 de ácido gálico/100 g de resíduo úmido) foi de 3,00 g de resíduo úmido/50 mL de suspensão de quitosana e tempo de extração de 10 minutos. O extrato de quitosana com ativos foi submetido à gelificação iônica com tripolifosfato de sódio. As partículas carregadas apresentaram eficiência de encapsulação de 52% com 295 nm e potencial Zeta de +27,4 mV. As partículas mantiveram a quantidade de compostos fenólicos por um período de 18 dias (37% de eficiência de encapsulação). A espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier confirmou as interações iônicas formadas entre os grupos aminos positivos da quitosana e os íons fosfato negativos do tripolifosfato de sódio. A análise termogravimétrica indicou uma melhor estabilidade térmica do sistema encapsulado em comparação com as partículas vazias. A suspensão de nanopartículas carregadas com ativos foi aplicada em goiabas e a cobertura forneceu uma barreira semipermeável que manteve a pigmentação verde da fruta por mais tempo. Foi possível observar, visualmente, uma menor deterioração externa e um retardo no amadurecimento, que resultou em uma maior firmeza (17,09 N) ao final de 15 dias de armazenamento. Este estudo foi importante para viabilizar o aproveitamento de resíduos da indústria alimentícia, simplificar a produção de nanopartículas

de quitosana com ativos e demonstrar uma potencial aplicação destas partículas. No que tange a aplicação, novos estudos deverão ser realizados com diferentes concentrações de partículas para melhorar a formação da camada de barreira nas frutas.

**Palavras-chave:** compostos fenólicos totais; nanoencapsulação; quitosana; coberturas ativas; goiaba.

## ABSTRACT

NATALIA, C. S. **Ultrasonic assisted extraction of phenolic compounds from acerola pulp residues: encapsulation in chitosan nanoparticles and application as active coating of guavas.** 2020. 103p. Dissertation (Master) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2020.

Residues obtained after the processing of acerola pulp may still contain high levels of active compounds. However, the compounds are unstable under various conditions and encapsulation can be an alternative to overcome these problems and reuse them. One of the applications for encapsulated active compounds is the use as active coatings for guavas, a high perishability fruit whose physiological damage appears in a short period of time in the post-harvest period. To simplify the production of chitosan nanoparticles as encapsulating system of active compounds, the first objective of this study was to investigate the extraction of active compounds from acerola residue directly in chitosan solution (3.88 mg/mL of 1% acetic acid) using the Rotational Central Composite Design 2<sup>2</sup>, the two variables being independent: initial wet residue mass (g) and tip ultrasound assisted extraction time (min). The optimal condition for extraction of total phenolic compounds (412.3 g of gallic acid/100 g of wet residue) was 3.00 g of wet residue/50 mL chitosan solution and extraction time of 10 minutes. Chitosan extract with actives was submitted to ionic gelation with sodium tripolyphosphate. The charged particles presented encapsulation efficiency of 52% with 295 nm and Zeta potential of +27.4 mV. The particles maintained the amount of phenolic compounds for a period of 15 days (encapsulation efficiency of 37%). Fourier Transform Infrared spectroscopy confirmed the ionic interactions formed between the positive amino groups of chitosan and the negative phosphate ions of sodium tripolyphosphate. Thermogravimetric analysis indicated better thermal stability of the encapsulated system compared to empty particles. The suspension of active nanoparticles was applied to guavas and the coating provided a semi-permeable barrier that kept the fruit green pigmentation for longer. It was possible to observe, visually, a lower external deterioration and a delay in ripening, which resulted in a greater firmness (17.09 N) at the end of 15 days of storage. This study was important to enable the exploitation of food industry residues, simplify the production of chitosan nanoparticles with assets and demonstrate a potential application of these particles. As regards application, further studies should be

carried out with different concentrations of particles to improve the formation of the barrier layer in fruit.

**Keywords:** total phenolic compounds; nanoencapsulation; chitosan; active coatings; guava.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Acerola <i>in natura</i> .....	19
<b>Figura 2</b> - Mecanismo ideal de interação entre sítios positivos da quitosana e sítios negativos do TPP.....	30
<b>Figura 3</b> - Esquema da metodologia de formação de nanopartículas por gelificação iônica. .	31
<b>Figura 4</b> - Modelo idealizado de retenção de ácido ascórbico em sistema de quitosana:TPP.	31
<b>Figura 5</b> - Possíveis tipos de estruturas internas que podem ser formadas em nanopartículas de biopolímeros. ....	33
<b>Figura 6</b> - Sequência ilustrativa da formação de uma cobertura em fruta: (A) contato entre a fruta e a suspensão de recobrimento, (B) atração entre o absorvato (compostos da suspensão de recobrimento) e o absorvente (casca da fruta) e (C) secagem, evaporação do solvente e reticulação do polímero, configurando a formação da cobertura. ....	35
<b>Figura 7</b> - Goiaba vermelha madura (A) inteira e (B) cortada ao meio. ....	37
<b>Figura 8</b> - Fluxograma de execução do trabalho. ....	39
<b>Figura 9</b> - Resíduo da polpa de acerola (A) ao chegar da indústria, (B) úmido e triturado e (C) após secagem a 30 °C por 20 h, triturado e peneirado.....	42
<b>Figura 10</b> - (A) Esquema de gelificação iônica por gotejamento para produção de nanopartículas, (B) suspensão de nanopartículas e (C) gel de nanopartículas após centrifugação. ....	45
<b>Figura 11</b> - Sequência de extração de compostos ativos do resíduo da polpa de acerola em suspensão de quitosana 3,88 mg/mL. Sendo as seguintes etapas: (A) adição da suspensão de quitosana no resíduo; (B) passagem da suspensão em ultrassom de ponteira; (C) filtração; (D) obtenção do filtrado final (extrato de quitosana com ativos a ser analisado).....	46
<b>Figura 12</b> - Fluxograma referente as suspensões de NpQ, NpQ-US e NpQ-At caracterizadas de acordo com o tamanho de partículas e potencial Zeta.....	49
<b>Figura 13</b> - Preparação das suspensões para recobrimento de goiabas a partir de quitosana 3,88 mg/mL e Q-At (quitosana 3,88 mg/mL com ativos). ....	51
<b>Figura 14</b> - Goiabas vermelhas para recobrimento (após higienização). ....	52
<b>Figura 15</b> - (A) Aspersor de pressão utilizado para aplicação das suspensões de coberturas e (B) aplicação nas goiabas. ....	53
<b>Figura 16</b> - Equipamentos utilizados para caracterização das goiabas: (A) cor, (B) perda de massa e (C) firmeza. ....	54
<b>Figura 17</b> - Suspensões de nanopartículas de quitosana:TPP conforme condições determinadas por DCCR 2 <sup>2</sup> e respectivos valores de pH. As suspensões estão representadas pelo número do ensaio seguido pelas concentrações finais de quitosana:TPP, em mg/mL, conforme Tabela 3. ....	55

<b>Figura 18</b> - Diagrama de Pareto considerando as respostas de (A) diâmetro de partícula (nm) e (B) potencial Zeta (mV). Para cada variável foram apresentados os efeitos em níveis de significância de 95% de confiança (p=0,05). .....	57
<b>Figura 19</b> - Superfícies de resposta referente ao (A) diâmetro de partículas (nm) e (B) potencial Zeta, obtidas com nível de significância de 95%. .....	59
<b>Figura 20</b> - Diagrama de Pareto considerando a respostas de teor de compostos fenólicos totais (CFT) com efeito em nível de significância de 95% de confiança (p=0,05).....	65
<b>Figura 21</b> - Superfície de resposta referente ao teor de compostos fenólicos totais (CFT) variando a massa inicial de resíduo em relação a suspensão de quitosana e o tempo de extração, obtida com nível de significância de 95%. .....	67
<b>Figura 22</b> - Gráfico de distribuição do tamanho de partículas para as NpQ, NpQ-US e NpQ-At. ....	71
<b>Figura 23</b> - Imagem de microscopia (MEV-FEG) para as (A) NpQ e (B) NpQ-At.....	72
<b>Figura 24</b> - Espectros de FT-IR para TPP e Q puros e liofilizados de NpQ, Q-At e NpQ-At.75	
<b>Figura 25</b> - Termogramas para liofilizados de (A) Q-At, (B) NpQ e (C) NpQ-At. ....	77
<b>Figura 26</b> - Replicata de goiabas sem cobertura (BRANCO) e com coberturas (Q, NpQ, Q-At e NpQ-At) utilizadas para análises. ....	79
<b>Figura 27</b> - Luminosidade (parâmetro L*) das goiabas durante 15 dias de armazenamento. .	80
<b>Figura 28</b> - Variação do ângulo Hue (H°) para as goiabas ao longo de 15 dias de armazenamento. ....	82
<b>Figura 29</b> - Gráfico de perda de massa (%) das goiabas ao longo de 15 dias de armazenamento e equações lineares provenientes de cada tratamento.....	83
<b>Figura 30</b> - Gráfico de perda de firmeza (N) das goiabas ao longo de 15 dias de armazenamento e equações potencial para os tratamentos sem cobertura (BRANCO) e com NpQ-At. ....	84

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Composição nutricional da acerola por 100 g de parte comestível. ....	20
<b>Tabela 2</b> - Teores de compostos fenólicos totais (CFT), vitamina C e antocianinas (em mg/100 g (b.u)) já relatados na literatura. ....	24
<b>Tabela 3</b> - Concentrações finais de quitosana e TPP, em mg/mL, conforme DCCR 2 <sup>2</sup> ; e concentrações iniciais de quitosana e TPP, em mg/mL, consideradas no preparo das suspensões. ....	44
<b>Tabela 4</b> - Massa inicial de resíduo (em g/50 mL de suspensão de quitosana 3,88 mg/mL) e tempo de extração em ultrassom de ponteira (em min), conforme DCCR 2 <sup>2</sup> . ....	46
<b>Tabela 5</b> - Valores de diâmetros de partículas (nm) e potencial Zeta (mV) para as nanopartículas de quitosana:TPP. ....	56
<b>Tabela 6</b> - Coeficiente de regressão e análise de variância (ANOVA) para as variáveis de resposta diâmetro de partículas (nm) (Y1) e potencial Zeta (mV) (Y2). ....	58
<b>Tabela 7</b> - Teores de vitamina C, antocianinas e compostos fenólicos totais (CFT), em mg/100 de resíduo (b.u ou b.s). ....	61
<b>Tabela 8</b> - Valores de compostos fenólicos totais (CFT) (mg AG/100 g de resíduo (b.u)) a partir da extração variando a massa inicial de resíduo (b.u) (em g/50 mL de suspensão de quitosana 3,88 mg/mL) e o tempo de extração (min). ....	64
<b>Tabela 9</b> - Coeficiente de regressão e análise de variância (ANOVA) para a variável de resposta compostos fenólicos totais (CFT, em mg de AG/100 g de resíduo (b.u)) (Y1). ....	66
<b>Tabela 10</b> - Teor de compostos fenólicos totais (CFT, em mg de AG/100 g de resíduo (b.u)) e capacidades antioxidantes pelos métodos de ABTS.+ e FRAP ( $\mu$ mol de TE/g de resíduo (b.u)) para extratos de compostos ativos em quitosana 3,88 mg/mL, água mili-Q ou etanol 100%. ..	68
<b>Tabela 11</b> - Valores de distribuição de tamanho de partículas (D1, D2 e D3, em nm), índice de polidispersividade (IDP) e potencial Zeta (em mV) para as NpQ, NpQ-US e NpQ-At. ....	70
<b>Tabela 12</b> - Valores de pH, teor de compostos fenólicos totais (CFT, em mg de AG/100 g de resíduo (b.u)) e EE (%) dos CFT. ....	78

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

- a\* – parâmetro de cor referente ao grau de variação entre o verde (-a) e o vermelho (+a)  
AG – Ácido Gálico  
b\* – parâmetro de cor referente ao grau de variação entre o azul (-b) e o amarelo (+b)  
b.s – base seca  
b.u – base úmida  
CFT – Compostos Fenólicos Totais  
CL – Cromatografia Líquida  
cm – centímetro  
cm<sup>-1</sup> – comprimento de onda (1/cm)  
DCCR 2<sup>2</sup> – Delineamento Composto Central Rotacional 2<sup>2</sup>  
EE – Eficiência de Encapsulação  
FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations  
FEG – Field Emission Gun  
FT-IR – Espectroscopia na região do Infravermelho por Transformada de Fourier  
g – grama  
h – hora  
HAc – ácido acético  
H° – Ângulo Hue  
kcal – quilocaloria  
kg – quilograma  
L – litro  
L\* – parâmetro de cor referente à luminosidade  
M – concentração molar (mol/L)  
mesh – unidade de abertura de uma malha  
MEV – Microscopia Eletrônica de Varredura  
mg – miligrama  
min – minuto  
mL – mililitro  
mm – milímetro  
MSR – Metodologia de Superfície de Resposta  
mV – milivolt  
m/v – razão de uma unidade de massa por uma unidade de volume  
nm – nanômetro  
NpQ – nanopartículas de quitosana  
NpQ-At – nanopartículas de quitosana e compostos ativos  
NpQ-US – nanopartículas de quitosana, após passar a suspensão de quitosana em ultrassom de ponteira  
Q – suspensão de quitosana 3,88 mg/mL de ácido acético 1%

Q-At – extrato de quitosana 3,88 mg/mL de ácido acético 1% e compostos ativos

PDI – Índice de Polidispersividade

TACO – Tabela Brasileira de Composição de Alimentos

TGA – Análise Termogravimétrica

TPP – Tripolifosfato de sódio

UV-Vis – Ultravioleta-Visível

v:v – razão entre unidades de volume

µg – micrograma

µL – microlitro

µM – micromolar

µm – micrometro

°C – graus Celsius

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>16</b>
<b>2 OBJETIVOS .....</b>	<b>18</b>
2.1 Objetivo geral .....	18
2.2 Objetivos específicos .....	18
<b>3 REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>19</b>
3.1 Considerações gerais sobre a acerola.....	19
3.2 Potencial nutricional do resíduo agroindustrial de acerola .....	21
3.3 Extração de compostos ativos do resíduo agroindustrial de acerola .....	22
3.4 Propriedades antioxidantes e degradação de compostos ativos naturais .....	27
3.5 Estabilização de compostos ativos através de encapsulação por gelificação iônica.....	29
3.6 Coberturas a base de quitosana e nanopartículas .....	34
3.6.1 Coberturas para alimentos .....	34
3.6.2 Conservação de goiabas frescas pela aplicação de coberturas .....	36
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>39</b>
4.1 Material .....	39
4.2 Caracterização do resíduo da polpa de acerola .....	40
4.3 Determinação da proporção ótima de quitosana:TPP na produção de nanopartículas ...	43
4.4 Otimização e caracterização do extrato de quitosana com ativos.....	45
4.4.1 Otimização da extração de compostos ativos em suspensão de quitosana .....	45
4.4.2 Capacidade antioxidante do extrato otimizado .....	47
4.5 Encapsulação dos compostos ativos pelo sistema de gelificação iônica e caracterização das nanopartículas carregadas com ativos .....	47
4.5.1 Preparo das nanopartículas e eficiência de encapsulação dos compostos fenólicos totais .....	47
4.5.2 Distribuição do tamanho de partículas e potencial Zeta .....	48
4.5.3 Microscopia Eletrônica de Varredura .....	49
4.5.4 Espectroscopia na região do Infravermelho por Transformada de Fourier.....	49
4.5.5 Análise Termogravimétrica.....	50
4.6 Aplicação das suspensões de nanopartículas carregadas com ativos como cobertura ativa para goiabas frescas .....	50

4.6.1	Produção e caracterização de coberturas.....	50
4.6.2	Higienização das goiabas e aplicação das coberturas .....	52
4.6.3	Caracterização das goiabas.....	53
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>55</b>
5.1	Teste preliminar: otimização da produção de nanopartículas de quitosana:TPP utilizando metodologia de superfície de resposta .....	55
5.2	Determinação de compostos ativos no resíduo da polpa de acerola úmido e seco.....	61
5.3	Otimização e caracterização do extrato de quitosana com ativos.....	64
5.3.1	Otimização da extração de compostos ativos do resíduo da polpa de acerola em suspensão de quitosana utilizando metodologia de superfície de resposta .....	64
5.3.2	Capacidade antioxidante do extrato de quitosana com ativos.....	68
5.4	Encapsulação dos compostos ativos pela técnica de gelificação iônica e caracterização das nanopartículas carregadas com ativos .....	69
5.4.1	Eficiência de encapsulação dos compostos fenólicos totais.....	69
5.4.2	Tamanho de partículas, morfologia e potencial Zeta .....	70
5.4.3	Espectroscopia na região do Infravermelho por Transformada de Fourier.....	73
5.4.4	Análise Termogravimétrica.....	75
5.5	Aplicação de coberturas ativas em goiabas frescas .....	78
5.5.1	Teor de compostos fenólicos totais nas coberturas ativas.....	78
5.5.2	Caracterização das goiabas.....	78
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>85</b>
<b>7</b>	<b>PERSPECTIVAS FUTURAS.....</b>	<b>86</b>
<b>8</b>	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>87</b>
	<b>APÊNDICES .....</b>	<b>95</b>
	<b>LISTA DE PUBLICAÇÕES E EVENTOS .....</b>	<b>103</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O processamento de alimentos é amplamente utilizado para aumentar a vida útil dos produtos e garantir a qualidade nutricional e sensorial (RAMASWANY; MARCOTTE, 2005). Frutas e hortaliças, por exemplo, são altamente perecíveis (alguns dias ou semanas) e exigem processamento para atender melhor à demanda global. Apesar do processamento dos alimentos ser uma alternativa viável para o aproveitamento e combate ao desperdício, um grande volume de resíduos ou subprodutos alimentares, que não fazem parte da dieta da população, são gerados no processo (SADH; DUHAN; DUHAN, 2018; TONINI; ALBIZZATI; ASTRUP, 2018). Uma pesquisa realizada pela FAO revelou que 1,3 bilhão de toneladas de alimentos são anualmente desperdiçados ou perdidos em todo o mundo, o que representa cerca de um terço de toda a produção para consumo humano. Cerca de 40% das perdas correspondem a resíduos gerados durante os períodos de processamento e pós-colheita (KUMAR et al., 2017). Os resíduos alimentares descartados no processo fabril compreendem essencialmente caules, cascas, caroços e sementes, que contêm altos teores de macro e micronutrientes e podem ser utilizados para aplicação em diferentes produtos como uma alternativa de aproveitamento e de diminuição da geração de resíduos (CARRILLO-NIEVES et al., 2019; SUN et al., 2004).

A acerola (*Malpighia emarginata*) é um exemplo de fruta cujo processamento é uma alternativa para o aproveitamento, já que apresenta uma grande porção de polpa comestível e alta perecibilidade. Até 2002, estimava-se que, no Brasil, cerca de 34 mil toneladas de acerola fossem processadas por ano para a produção de alimentos comercializados (como polpas, geleias, sorvetes, sucos, bebidas alcóolicas, entre outros) (ALDRIGUE, 2002). Após o processamento, sementes e cascas são descartadas e correspondem a cerca de 15 a 41% da acerola processada (AGUIAR et al., 2010). Os resíduos ainda apresentam consideráveis teores de compostos essenciais para a alimentação humana, tais como: proteínas, fibras, carboidratos, vitamina C, compostos fenólicos totais (CFT) e antocianinas (NASCIMENTO et al., 2019; REZENDE; NOGUEIRA; NARAIN, 2017; SANCHO et al., 2015).

Os compostos ativos ainda presentes no resíduo do processamento da polpa da acerola podem ser extraídos por diferentes técnicas, variando os meios (como etanol, metanol, água) e métodos (como trituração, equipamentos ultrassônicos) de extração a fim de dosar a maior quantidade possível de componentes (NASCIMENTO et al., 2019; REZENDE; NOGUEIRA; NARAIN, 2017; SANCHO et al., 2015). No entanto, após a extração, o uso dos compostos ativos naturais na indústria de alimentos é limitado devido ao seu alto potencial de degradação.

Uma forma de preservar a atividade dos compostos ativos é através de técnicas de encapsulação que mantêm as características do composto encapsulado e, conseqüentemente, permite a sua posterior aplicação (FATHI; MARTÍN; MCCLEMENTS, 2014; FAVARO-TRINDADE; PINHO; ROCHA, 2008). Uma técnica de encapsulação cuja eficácia já foi comprovada e que é satisfatoriamente empregada em alimentos é a gelificação iônica. A utilização de quitosana e tripolifosfato de sódio (TPP) neste processo tem atraído considerável atenção na produção de nanopartículas de quitosana. Os grupos aminos protonados da quitosana (positivamente carregados) interagem com os grupos fosfatos do TPP (negativamente carregados). A partir do entrecruzamento das cargas opostas destes dois compostos ocorre a gelificação, ou seja, a formação de compósitos de estruturas gelatinosas com elevada área superficial (BRITTO et al., 2012; FAN et al., 2012). A eficiência do método para a produção de um material de reforço e para a encapsulação de nutrientes, como vitaminas sintéticas, já é comprovada (BRITTO et al., 2014; BRITTO et al., 2012).

Para alimentos, suspensões de nanopartículas de quitosana carregadas com compostos ativos podem ser utilizadas como coberturas, um método de potencial para proteger e aumentar a vida útil do produto, como frutas e hortaliças (ARAÚJO; SHIRAI, 2016; BRITTO et al., 2014; CHIEN; SHEU; YANG, 2009). Goiabas (*Psidium guajava*) são frutas de alta taxa respiratória e rápido amadurecimento. As mudanças fisiológicas limitam a comercialização de frutas frescas. Uma alternativa para evitar o excessivo contato com o meio e proteger as características fisiológicas e sensoriais da goiaba é através da aplicação de coberturas a base de nanopartículas de quitosana (ARROYO et al., 2019; NAIR; SAXENA; KAURB, 2018).

Assim, este estudo teve duas hipóteses: (i) a possibilidade de extrair compostos ativos a partir de resíduos obtidos após o processamento da polpa de acerola, utilizando suspensão de quitosana e ultrassom de ponteira, para posterior encapsulação pela técnica de gelificação iônica com TPP e (ii) a utilização de coberturas a base de nanopartículas de quitosana carregadas com compostos ativos para aumentar a vida útil de goiabas frescas.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

O objetivo geral do trabalho foi aproveitar o resíduo da polpa de acerola para a extração de compostos ativos em suspensão de quitosana assistida por ultrassom de ponteira e encapsular os compostos pelo sistema de gelificação iônica. Em seguida, a suspensão de nanopartículas carregadas com ativos foi aplicada como cobertura em goiabas, a fim de aumentar seu tempo de vida útil.

### **2.2 Objetivos específicos**

Com base no objetivo geral, os objetivos específicos estão discriminados a seguir:

I) Quantificar os compostos ativos (vitamina C, antocianinas e compostos fenólicos totais) do resíduo (úmido e seco) da polpa de acerola;

II) Estudar a extração de compostos ativos em suspensão de quitosana e estabelecer uma condição ótima (com base na quantidade de resíduo e tempo de extração por ultrassom de ponteira) para a obtenção do extrato de quitosana com ativos;

III) Utilizar o extrato de quitosana com ativos para produção de nanopartículas por gelificação iônica e caracterizar as nanopartículas;

IV) Aplicar a suspensão de nanopartículas de ativos como cobertura ativa para goiabas frescas.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 Considerações gerais sobre a acerola

A acerola (*Malpighia emarginata*) é uma fruta nativa das Antilhas, América Central e norte da América do Sul, pertencente à família *Malpighiaceae* (MAIA et al., 2007; CARVALHO et al., 2000). Devido a boa adaptação, fácil cultivo e composição nutricional, a acerola dispersou-se para outras regiões do mundo, sendo cultivada por vários países de ecossistemas tropicais e subtropicais, com destaque para o Brasil, Porto Rico, Cuba e Estados Unidos (COELHO et al., 2003; QUEIROZ; GOEDERT; RAMOS, 1999). Na Figura 1, a fruta *in natura* é apresentada.

**Figura 1** - Acerola *in natura*.



Fonte: Autoria própria.

No Brasil, a acerola foi introduzida na década de 1950, no estado de Pernambuco, mas apenas a partir da década de 1990, com o aumento da demanda pelos mercados nacional e internacional, a fruta ganhou destaque no cenário econômico brasileiro. Em 1997, a área plantada ultrapassava sete mil hectares e o Brasil se tornou o maior produtor mundial, posição ocupada até hoje (ABREU et al., 2020; CARVALHO et al., 2000; QUEIROZ; GOEDERT; RAMOS, 1999). A produção de acerola é atribuída a diversos estados brasileiros, entre os quais destacam-se Bahia, Ceará, Paraíba, Pernambuco e São Paulo, responsáveis por mais de 60% da produção nacional (NASSER et al., 2018; FURLANETO; NASSER, 2015).

O sucesso econômico da acerola está relacionado ao seu fácil cultivo, que é favorecido pelo clima tropical, onde a aceroleira pode florescer e frutificar cerca de três ou mais safras. A frutificação leva de 21 a 25 dias para ser processada após a maturação da flor (NEVES, 2007; COELHO et al., 2003). Além do cultivo, a alta qualidade nutricional da acerola também foi um ponto de destaque que popularizou a sua comercialização. Os macro e micronutrientes estão resumidos na Tabela 1.

**Tabela 1** - Composição nutricional da acerola por 100 g de parte comestível.

Água (%)	90,5
Energia (kcal)	33
Carboidratos (g)	8
Fibras (g)	1,5
Proteínas (g)	0,9
Cinzas (g)	0,4
Lipídeos	0,2
Potássio (mg)	165
Magnésio (mg)	13
Cálcio (mg)	13
Fósforo (mg)	9
Zinco (mg)	0,1
Ferro (mg)	0,2
Manganês (mg)	0,07
Cobre (mg)	0,07
Ácido ascórbico (Vitamina C) (mg)	941,4
Niacina (Vitamina B3) (mg)	1,38
Riboflavina (Vitamina B2) (mg)	0,04
Retinol (Vitamina A) (µg)	124

Fonte: NEPA – NÚCLEO DE ESTUDOS E PESQUISAS EM ALIMENTAÇÃO. **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO)**. 4ª ed. Campinas: NEPA – UNICAMP, 2011. p. 36-37.

A maior parte dos nutrientes da acerola são encontrados na polpa da fruta. Seu mesocarpo é normalmente constituído por três caroços, podendo ou não conter sementes, enquanto a casca é caracterizada por uma fina película, cuja coloração varia conforme a maturação, de verde (no estágio inicial) para vermelho (quando completamente madura) (LEMOS et al., 2019; MALEGORI et al., 2017). A mudança na pigmentação ao decorrer da maturação está relacionada às mudanças bioquímicas nas moléculas de seus compostos ativos, tais como as vitaminas, já destacadas na Tabela 1, e outros ativos dos grupos dos carotenos, antocianinas, ácidos fenólicos e flavonóis (MALEGORI et al., 2017; MAIA et al, 2007).

Devido aos componentes de interesse para a alimentação humana, a acerola é muito utilizada na fabricação de sorvetes, geleias, polpas, iogurtes, doces e bebidas alcólicas. A industrialização da fruta é também uma forma de evitar grandes perdas, já que, após a colheita,

tem-se um prazo médio de apenas três dias para o consumo da fruta fresca (SILVA et al., 2013; AGUIAR et al., 2010).

### **3.2 Potencial nutricional do resíduo agroindustrial de acerola**

O processamento da acerola é facilitado pela grande quantidade de polpa comestível da fruta, que corresponde a 70-80% da sua massa. A porção restante é atribuída a casca, caroços e sementes da acerola, que compreendem aos resíduos da fruta e que são descartados por não fazerem parte da elaboração do produto final nem dos hábitos alimentares da população (AGUIAR et al., 2010; GARMUS, 2009).

O resíduo agroindustrial da polpa de acerola ainda contém nutrientes de interesse para a alimentação humana. Um estudo feito por Sancho et al. (2015) comprovou que o resíduo possui importantes teores de macronutrientes e, portanto, pode ser aproveitado em conjunto com outros produtos alimentícios para enriquecer a dieta de quem os consome. De acordo com os autores, uma porção de 100 g do resíduo contém cerca de 83,45 g de água, 10,76 g de carboidratos, 3,59 g de lipídeos, 1,65 g de proteínas e 0,55 g de cinzas.

Aguiar et al. (2010) utilizaram sementes desidratadas de acerola para a produção de farinha. O material foi estudado quanto a sua composição química e, em 100 g de farinha, importantes teores de macro e micronutrientes foram obtidos, tais como: carboidratos (57,24 g), proteínas (16,94 g), lipídeos (3,2 g), fibras (26,54 g), ferro (37,23 mg), cálcio (41,76 mg), potássio (41,39 mg), magnésio (22,24 mg), manganês (0,74 mg), zinco (0,09 mg), fósforo (0,08 mg), cobre (0,15 µg) e vitamina C (66 mg).

Lima et al. (2014) e Aquino et al. (2010) também demonstraram o potencial de aplicação de farinhas de resíduos do processamento da polpa de acerola. Lima et al. (2014) produziram uma farinha a base de cascas, caroços e sementes da acerola, que foi utilizada na formulação de biscoitos. Os biscoitos apresentaram maior quantidade de fibras (20,2 g/100 g de biscoito) e menor teor calórico (396,2 kcal) quando comparados aos biscoitos produzidos unicamente com farinha de trigo (17,4 g/100 g de biscoito e 413,4 kcal), além de apresentar boa aceitabilidade do público. Aquino et al. (2010) utilizaram cascas e sementes de resíduos da acerola para a produção de uma farinha utilizada na formulação de cookies. Os cookies apresentaram considerável aceitação sensorial do público, além de um importante teor de vitamina C (2172,60 mg/100 g de cookies), componente que não é comumente encontrado em cookies comerciais. Ao final do estudo, foi possível concluir que a farinha de trigo pode ser substituída parcialmente

pela farinha de resíduo de acerola na produção de cookies, viabilizando a agregação de valor nutricional do produto juntamente com o aproveitamento do resíduo.

Estudos também demonstraram que elevados teores de compostos antioxidantes são encontrados no resíduo do processamento da polpa de acerola. Sancho et al. (2015) estudaram o potencial de aplicação como suplemento alimentar dos resíduos de sete frutas (acerola, maçã, goiaba, manga, mamão, abacaxi e sapoti) em função dos seus componentes ativos. Os autores determinaram que, entre os resíduos estudados, o de acerola foi o que mostrou ser a melhor fonte de CFT (173,30 mg de ácido gálico (AG)/100 g de resíduo em base úmida (b.u)), vitamina C (170,73 mg/100 g de resíduo (b.u)) e antocianinas (60,83 mg/100 g de resíduo (b.u)).

Caetano et al. (2011) estudaram a capacidade antioxidante do resíduo do processamento da polpa de acerola. Os autores relataram uma boa atividade antioxidante para extratos hidroetanólicos (1445  $\mu$ M de Trolox equivalente (TE)/g de resíduo em base seca (b.s)) e hidrometanólicos (1145  $\mu$ M de TE/g de resíduo (b.s)) obtidos por extração sequencial. Altos teores de compostos fenólicos também foram encontrados pelos autores, variando de 4856 a 20531  $\mu$ M de catequina equivalente/L de solvente extrator, a depender do meio de extração.

Os teores de componentes ativos também foram avaliados por Silva et al. (2014), que estudaram a presença dos compostos em polpas e resíduos de 12 frutas tropicais. O resíduo da polpa de acerola apresentou o maior teor de antocianinas (245,90 g/100 g de resíduo (b.s)) e o segundo maior teor de CFT (7265,29 g de AG/100 g de resíduo (b.s)), menor apenas que o resíduo da polpa de cereja (12696,03 g de AG/100 g de resíduo (b.s)). O teor de antocianinas encontrado para o resíduo da polpa de acerola foi maior que o constatado para a própria polpa da fruta (144,27 g de AG/100 g de resíduo (b.s)).

Os estudos demonstram que o resíduo do processamento da polpa de acerola não só é uma importante fonte de macronutrientes que tornam o seu uso interessante para o mercado, mas também de vitamina C e compostos fitoquímicos, como as antocianinas e CFT, que podem ser extraídos e utilizados pelas indústrias alimentícias.

### **3.3 Extração de compostos ativos do resíduo agroindustrial de acerola**

A extração de compostos ativos do resíduo da polpa de acerola já foi estudada por diversos autores variando os meios e métodos de obtenção para dosar a maior quantidade de componentes. Na Tabela 2, são apresentados os parâmetros de extração utilizados nos estudos e os diferentes teores de CFT, vitamina C e antocianinas presentes no resíduo da polpa de acerola. Também estão apresentados os teores de compostos ativos para a fruta fresca e para a

polpa congelada para fins de comparação. Este levantamento foi realizado no intuito de destacar o efeito dos parâmetros de extração e seu rendimento.

**Tabela 2** - Teores de compostos fenólicos totais (CFT), vitamina C e antocianinas (em mg/100 g (b.u)) já relatados na literatura.

	<b>CFT<sup>1</sup></b>	<b>Solvente de extração</b>	<b>Método de extração</b>	<b>Método de análise<sup>4</sup></b>	<b>Referência</b>
Fresca	7944,0 – 11317,0	Metanol 100%	Ultrassom de ponteira	Folin-Ciocalteau	DELVA; GOODRICH-SCHNEIDER (2013)
	1489 <sup>2</sup>	Metanol 50%	Não especificado	Folin-Denis	FREIRE et al. (2013)
	1063	Metanol 50% e acetona 70%	Não especificado	Folin-Ciocalteau	RUFINO et al. (2011)
	8050 – 10600	Sem solvente; análise direta no suco filtrado da fruta	Processador de alimentos	Folin-Ciocalteau	MEZADRI et al. (2008)
Polpa congelada	722 – 3954 <sup>3</sup>	Etanol 80%	Misturador magnético	Folin-Ciocalteau	LIMA et al. (2005)
	1079	Metanol 50%	Evaporação parcial do solvente	Folin-Denis	FREIRE et al. (2013)
	4520 – 7510	Sem solvente; análise direta no suco filtrado	Processador de alimentos	Folin-Ciocalteau	MEZADRI et al. (2008)
Resíduo	1130	Etanol 46,5%	Banho de ultrassom	Folin-Ciocalteau	REZENDE; NOGUEIRA; NARAIN (2017)
	130,30	Etanol 50%	Não especificado	Folin-Ciocalteau	SANCHO et al. (2015)
	279,99	Etanol 20%	Agitador magnético	Folin-Ciocalteau	SOUSA; VIEIRA; LIMA (2011)
	247,62	Água	Agitador magnético	Folin-Ciocalteau	SOUSA; VIEIRA; LIMA (2011)
	<b>Vitamina C</b>	<b>Solvente de extração</b>	<b>Método de extração</b>	<b>Método de análise</b>	<b>Referência</b>
Fresca	470,0 – 1744,0	Metanol 100% e fosfato de potássio monobásico (pH 2,4)	Ultrassom de ponteira	Cromatografia Líquida (CL)	DELVA; GOODRICH-SCHNEIDER (2013)
	1457,69	Metanol 50%	Evaporação parcial do solvente	CL	FREIRE et al. (2013)
	478 - 904	Ácido metafosfórico 3%	Processador de alimentos	CL	MEZADRI et al. (2008)
	2294,53	Ácido metafosfórico, ácido acético, ácido sulfúrico e EDTA	Micro-homogeneizador	CL	CARDOSO et al. (2011)
	750 – 1678	Sem solvente; análise direta no suco filtrado da fruta	Não especificado	Análise titulométrica	MACIEL et al. (2010)
	1357,0	Metanol 50% e acetona 70%	Não especificado	Análise titulométrica	RUFINO et al. (2010)
	824 – 145	Ácido metafosfórico 3%	Processador de alimentos	CL	MEZADRI et al. (2008)

Polpa congelada	778,1	Metanol 50%	Evaporação parcial do solvente	CL	FREIRE et al. (2013)
	478 – 904	Ácido metafosfórico 3%	Compressão (em processador de alimentos)	CL	MEZADRI et al. (2008)
Resíduo	1466,0	Ácido oxálico 0,5%	Não especificado	Espectroscopia no Ultravioleta-Visível (UV-Vis)	NASCIMENTO et al. (2019)
	408	Ácido oxálico 2%	Banho de ultrassom	Análise titulométrica	REZENDE; NOGUEIRA; NARAIN (2017)
	170,73	Ácido oxálico 0,5%	Homogeneização não especificada	Análise titulométrica	SANCHO et al. (2015)
	730,0 – 939,0	Sem solvente; análise direta no suco filtrado da fruta	Não especificado	Análise titulométrica	BRAGA et al. (2011)
<b>Antocianinas</b>					
	<b>4,35 – 14,93</b>	<b>Sem solvente; análise direta no suco filtrado da fruta</b>	<b>Não especificado</b>	<b>Método diferencial de pH</b>	<b>MACIEL et al. (2010)</b>
	18,9	Metanol 50% e acetona 70%	Não especificado	Método diferencial de pH	RUFINO et al. (2010)
Fresca	46,9 – 52,3	Acetonitrila e ácido acético 4%	Processador de alimentos	Método diferencial de pH	MEZADRI et al. (2008)
	37,5	Metanol acidificado com ácido cítrico 0,1%	Evaporação parcial	CL	VENDRAMINI; TRUGO (2004)
Polpa congelada	27,0 – 28,2	Acetonitrila e ácido acético 4%	Processador de alimentos	Método diferencial de pH	MEZADRI et al. (2008)
	3,18 – 59,74	Etanol acidificado com ácido clorídrico 1,5N	Lavagens sucessivas com a solução extratora	Medida direta em UV-Vis	LIMA et al. (2003)
Resíduo	16,9	Etanol 46,5% acidificado com ácido clorídrico 2M (pH 2)	Banho de ultrassom	Medida direta em UV-Vis	REZENDE; NOGUEIRA; NARAIN (2017)
	60,83	Etanol acidificado com ácido clorídrico 0,1%	Não especificado	Medida direta em UV-Vis	SANCHO et al. (2015)

<sup>1</sup>: todos os CFT foram expresso em mg de AG/100 g de amostra, com exceções: <sup>2</sup> expresso em mg de ácido tânico/100 g de amostra e <sup>3</sup> expresso em mg de catequina/100 g de amostra.

<sup>4</sup>: todos os métodos de análises para CFT utilizaram UV-Vis para caracterização.

Fonte: Autoria própria.

De forma geral, a composição da fruta, incluindo o teor de compostos ativos, depende de alguns fatores, tais como: condições climáticas, tratamento da cultura, localização geográfica, aplicação de pesticidas, estágio de maturação, tipo de processamento e condições de armazenamento (SILVA et al., 2014; MEZADRI et al., 2008). Pode-se observar na Tabela 2 que o tipo de solvente e procedimento de extração influenciam diretamente na obtenção do composto ativo. O método de análise para quantificação também é um interferente, já que alguns protocolos e equipamentos são mais sensíveis do que outros.

De acordo com Pérez-Jimenez et al. (2008), a extração de compostos ativos é normalmente realizada em alimentos com o uso de solventes orgânicos, tais como metanol, etanol e acetona. No entanto, não existe um solvente universal, que seja capaz de extrair os compostos ativos ou antioxidantes em sua totalidade, especialmente quando o material estudado está associado a macronutrientes, como gorduras e proteínas, como no resíduo do processamento da polpa de acerola. Assim, a quantidade de compostos extraída está relacionada às interações que ocorrem entre os compostos de interesse e o solvente. Portanto, é possível que quantidades consideráveis de compostos antioxidantes, ainda presentes em uma determinada matriz, não sejam identificadas com apenas um meio de extração.

A metodologia de extração é outro fator que deve ser levado em consideração. Quanto maior o contato entre a matriz e o meio, mais efetiva é a extração, ou seja, maior quantidade de compostos extraídos no menor tempo, evitando possíveis degradações dos compostos (LIAZID et al., 2007). Uma técnica que vem se mostrando viável na obtenção de compostos ativos de produtos naturais e chamando a atenção do ponto de vista industrial é a extração assistida por ultrassom. A técnica é caracterizada pela emissão de micro-ondas de alta frequência que causam a ruptura do tecido da matriz e melhora a liberação de substâncias intracelulares no solvente. Como resultado, as extrações apresentam altos rendimentos em poucos minutos e com grande reprodutibilidade, o que simplifica a manipulação e o processamento (CHEMAT et al., 2017; GOULA et al., 2017; PANIWNYK et al., 2017). Um tipo de equipamento ultrassônico comumente utilizado e já muito conhecido é sob a forma de um banho ultrassônico, em que as amostras são inseridas em um banho com água pela qual percorrem as micro-ondas geradas em diferentes frequências (PANIWNYK et al., 2017; REZENDE; NOGUEIRA; NARAIN, 2017). No entanto, há outros equipamentos ultrassônicos já disponíveis que se mostram ainda mais potentes que os tradicionais banhos, como as sondas ultrassônicas ou ultrassons de ponteira, que possuem uma espécie de ponteira que permite o contato direto com a amostra e evita perda de energia (SUKOR et al., 2019; PANIWNYK et al., 2017).

Recentemente, Sukor et al. (2019) estudaram a extração de compostos fenólicos de galhas de carvalho utilizando banho ultrassônico e ultrassom de ponteira, nas mesmas condições de meio e tempo de extração. Os autores comprovaram a eficácia de extração utilizando o ultrassom de ponteira, já que a somatória de todos os compostos fenólicos estudados chegou a 1865,96 mg/g de amostra quando este equipamento foi utilizado, enquanto o máximo obtido utilizando banho ultrassônico foi de 997,57 mg/g de amostra. Salehan, Sulaiman e Ajit et al. (2016) também comprovaram que a extração assistida por ultrassom de ponteira acelerou o processo de obtenção de CFT extraídos de uma planta natural do sudeste asiático (*Labisia pumila*). Cerca de 1845,863 mg de AG/kg de amostra foram obtidos a 50 °C em 6 horas de extração, enquanto que, pelo método utilizando banho, a mesma quantidade só foi atingida a 80 °C com 8 horas de extração.

Tendo em vista os altos teores de CFT, vitamina C e antocianinas no resíduo da polpa de acerola (Tabela 2) e a eficiência do método de extração por ultrassom de ponteira já comprovado para outras espécies vegetais, a extração destes compostos associada a esta promissora metodologia de extração pode ser uma alternativa de aproveitamento sustentável do resíduo. Na literatura, não foram encontrados trabalhos que otimizem a extração de compostos ativos do resíduo da polpa acerola utilizando ultrassom de ponteira.

### **3.4 Propriedades antioxidantes e degradação de compostos ativos naturais**

A capacidade antioxidante dos alimentos vegetais é decorrente da ação conjunta e cumulativa de uma grande variedade de compostos ativos, tais como CFT, antocianinas, carotenoides, vitaminas C e E e minerais. Sendo assim, a quantificação destes componentes é uma forma de avaliar o potencial antioxidante de uma determinada espécie (HOU et al., 2013; PÉREZ-JIMÉNEZ, et al., 2008; KARAKAYA et al., 2004).

De forma geral, os compostos ativos e antioxidantes desempenham um papel importante na prevenção de doenças. Estudos anteriores já comprovaram que a queda nas taxas de doenças cardíacas, câncer, cataratas, disfunção imunológica e derrame está associada a uma boa alimentação a base de frutas, legumes e hortaliças, principais fontes de compostos ativos (PARR; BOLWELL, 2000; STEINMETZ; POTTER, 1996).

Uma série de estudos demonstraram que a grande classe de CFT (na qual as antocianinas estão inseridas) tem múltiplos efeitos biológicos para os seres humanos, como atividades anti-inflamatórias e prevenção de doenças cardiovasculares, aumento da pressão e dilatação arterial, certos tipos de câncer e distúrbios neurodegenerativos (AGUILERA; MARTIN-CABREJAS;

MEJIA, 2015; KARAKAYA et al., 2004; PARR; BOLWELL, 2000). Um estudo clínico realizado por Bettuzzi et al. (2006) utilizou cápsulas de compostos fenólicos do chá verde para proteção contra o câncer e foi observada uma diminuição no número de diagnósticos da doença. Pérez-Sanches et al. (2014) estudaram o efeito do consumo de compostos fenólicos provenientes do extrato de alecrim na prevenção contra absorção de raios ultravioleta, principal causa do câncer de pele. O estudo mostrou que, em indivíduos que consumiram este extrato via oral, as células da pele que absorvem a radiação sobreviveram por mais tempo. Para a vitamina C, estudos também demonstram sua eficácia na redução do risco de doenças cardiovasculares, cataratas, diabetes, mal de Alzheimer, câncer, prevenção ao escorbuto, acidente vascular cerebral e complicações gestacionais (BAIERLE et al., 2012; ROSA et al., 2007).

Apesar do efeito benéfico dos compostos ativos na saúde humana, o seu uso é limitado devido ao alto potencial de degradação em função dos parâmetros de processos utilizados, como temperatura, luz, oxigênio, dentre outros. Liazid et al. (2007) estudaram a estabilidade de 22 compostos fenólicos presentes na pele e sementes de uvas. Os autores identificaram que a extração assistida por micro-ondas foi possível a 100 °C por 20 minutos, no entanto, a partir desta temperatura, uma considerável degradação foi observada para todos os compostos fenólicos estudados, que degradaram mais ou menos a depender da sua estrutura molecular. Santos et al. (2017) estudaram a estabilidade de compostos fenólicos em função do pH. Neste caso, a quantidade de compostos fenólicos no subproduto, extrato e microcápsula de amora foi constante até o pH 5, a partir do qual começou a diminuir.

O pH também mostrou ser um parâmetro de interferência na estabilidade de antocianinas. Hou et al. (2013) estudaram a estabilidade de antocianinas extraídas do arroz preto variando os valores de pH de 1 a 6 e relataram uma diminuição na estabilidade conforme o pH era aumentado. Lima et al. (2003) estudaram a taxa de degradação das antocianinas em polpas de acerolas congeladas, sendo as frutas colhidas de 12 aceroleiras diferentes. Uma queda entre 3,4% a 23,6% no teor das antocianinas ao longo de seis meses de armazenamento foi relatada. Segundo os autores, o congelamento a -18 °C colaborou para uma menor perda destes compostos, mas não evitou totalmente, pois as reações metabólicas são reduzidas, e não inibidas, a baixas temperaturas.

O controle do pH e da temperatura também é importante para a estabilização da vitamina C. Segundo Rosa et al. (2007), em pH neutro e a 37 °C, o ácido ascórbico (comumente chamado de vitamina C) pode ser hidrolisado irreversivelmente, formando um novo composto que não possui propriedades vitamínicas. Gabas, Telis-Romero e Menegalli (2003) estudaram a cinética de degradação da vitamina C em ameixas liofilizadas ao longo de 5 dias, variando a temperatura

de armazenamento de 40 a 80 °C. Os autores demonstraram que, quanto mais perto de 80 °C, maior era a perda de vitamina na amostra.

Uma alternativa estudada para proteger as propriedades benéficas dos compostos ativos contra fatores externos é a micro/nanoencapsulação. Este processo significa a aplicação de coberturas relativamente simples na forma de pequenas partículas sólidas, gotas de líquidos puros, soluções ou dispersões, que tem por objetivo “aprisionar” o composto de interesse e preservar as suas propriedades. A tecnologia pode ser utilizada em diversos setores industriais como o farmacêutico, alimentício, químico e agrônômico (FATHI; MARTÍN; MCCLEMENTS, 2014; FAVARO-TRINDADE; PINHO; ROCHA, 2008).

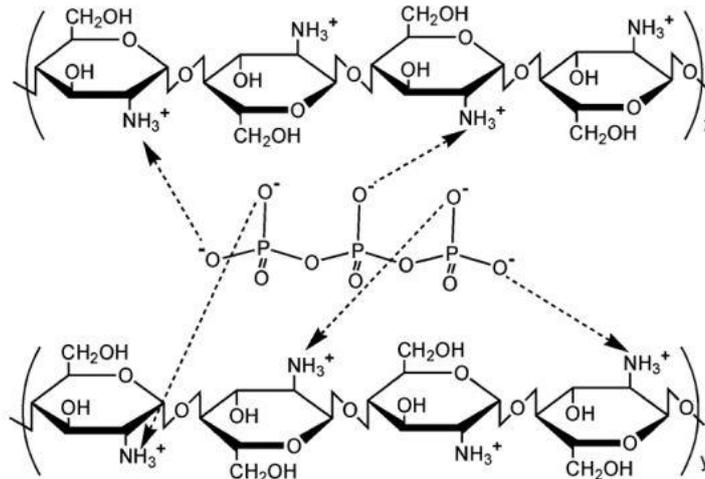
### **3.5 Estabilização de compostos ativos através de encapsulação por gelificação iônica**

A produção de nanopartículas vem ganhando destaque devido a possibilidade de imobilizar diversos compostos em seu interior, preservar as suas propriedades ativas e promover a sua liberação de forma controlada para o meio. A técnica de gelificação iônica (ou “gelificação induzida por íon” ou “gelificação ionotrópica”) é eficaz e pode ser empregada em sistemas de encapsulação. Esta técnica é baseada na habilidade que os polieletrólitos (moléculas poliméricas que adquirem cargas em meio aquoso) têm de entrecruzarem na presença de contra-íons e formarem estruturas gelatinosas denominadas “gelisferas”. As gelisferas têm afinidades por compostos que apresentam terminais carregados e têm a capacidade de intumescimento, controlado pela relaxação polimérica, que permite a liberação reduzida ou controlada de um composto encapsulado (PATIL; CHAVANKE; WAGH, 2012).

A utilização de quitosana e de TPP no processo de gelificação iônica tem atraído considerável atenção por se tratar de um processo atóxico, de baixo custo, rápido e controlável (FAN et al., 2012; ZHAO et al., 2011). A quitosana é um polímero natural obtido a partir da desacetilação da quitina, em que ocorre a substituição de um grupo acetamino por um grupo amino na estrutura molecular (MOURA et al., 2006). Este polímero é solúvel em solução ácida diluída ( $\text{pH} < 6$ ), como a de ácido acético 1%, que favorece a protonação dos grupos amino livres ( $-\text{NH}_3^+$ ) de suas unidades glicosaminas e lhe confere um caráter de polieletrólito catiônico (ABREU et al., 2013). No geral, a quitosana apresenta diversas propriedades interessantes, como bioatividade, biodegradabilidade, atoxidade e habilidade em formar géis e filmes (DASH et al., 2011). Já o TPP é um agente reticulante, não tóxico, de comportamento aniônico em suspensão e com a capacidade de formar géis por interação iônica com a quitosana (BRITTO et al., 2012).

Segundo Koukaras et al. (2012), a gelificação ocorre pela interação entre os grupos fosfatos carregados do TPP com os grupos amino protonados da quitosana, promovendo o entrecruzamento dos grupos de cargas opostas. Este mecanismo de interação é esquematizado na Figura 2.

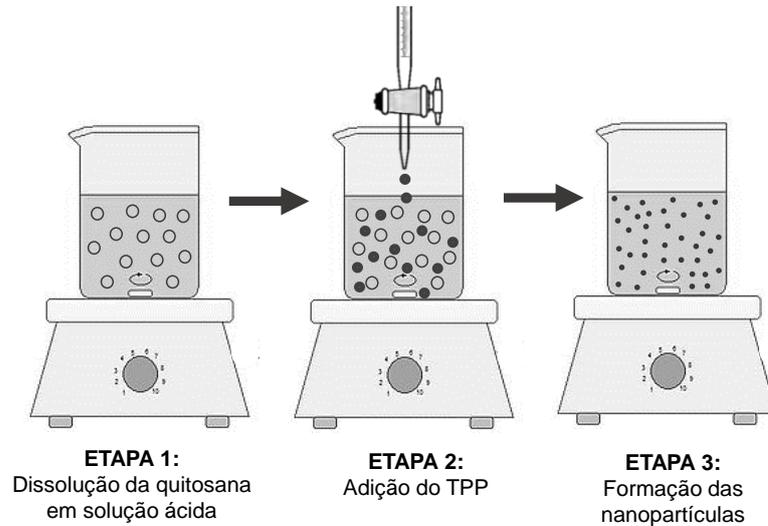
**Figura 2** - Mecanismo ideal de interação entre sítios positivos da quitosana e sítios negativos do TPP.



Fonte: YANG, C. H. et al. Microfluidic emulsification and sorting assisted preparation of monodisperse chitosan microparticles. *Lab on a Chip*, v. 9, n. 1, 2009. p. 146.

Um dos métodos utilizados em gelificação iônica tem por base a metodologia de produção por gotejamento. O processo consiste na preparação de uma suspensão aquosa de quitosana seguido do gotejamento controlado de TPP, para que a interação iônica ocorra e haja a formação das nanopartículas. O tamanho e estabilidade destas nanopartículas variam conforme os parâmetros de preparação, tais como: concentração das soluções, velocidade de agitação do meio, altura e velocidade de gotejamento (CUNHA, BARROS-ALEXANDRINO, ASSIS, 2017; BRITTO et al., 2012). Na Figura 3, adaptada do esquema de Cunha, Barros-Alexandrino e Assis (2017), este procedimento é ilustrado.

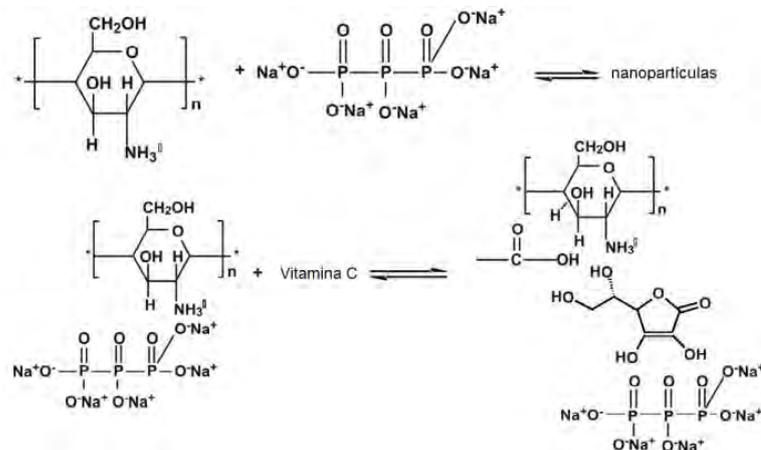
**Figura 3** - Esquema da metodologia de formação de nanopartículas por gelificação iônica.



Fonte: Autoria própria.

Estudos prévios confirmaram a viabilidade do sistema na produção de nanopartículas de quitosana, tanto no emprego como material de reforço quanto para a encapsulação de compostos ativos (BRITTO et al., 2014; BRITTO et al., 2012). Segundo Britto et al. (2014) e Zhao et al. (2011), o mecanismo de encapsulação de compostos ativos ocorre pela afinidade entre os grupos funcionais destes compostos e dos polímeros. A liberação controlada destes compostos encapsulados em meio aquoso neutro (fisiológico) ocorre pelo intumescimento da camada protetora e a solvatação dos grupos carregados. Na Figura 4, este sistema é esquematizado utilizando, como exemplo, a vitamina C (ácido ascórbico) como composto ativo a ser encapsulado.

**Figura 4** - Modelo idealizado de retenção de ácido ascórbico em sistema de quitosana:TPP.

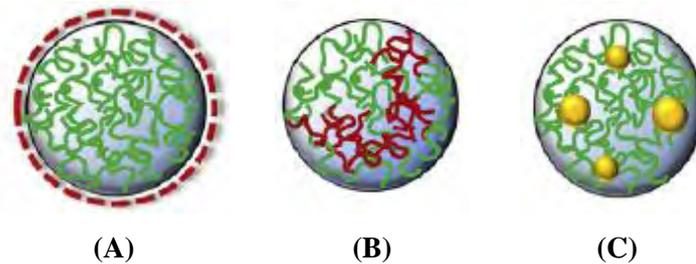


Fonte: ZHAO, L. M. et al. Preparation and application of chitosan nanoparticles and nanofibers. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 28, n. 3, 2011. p. 359.

A técnica de nanoencapsulação por gelificação iônica tem se mostrado adequada para reduzir a degradação de compostos ativos e altamente instáveis. Trabalhos anteriores demonstram a eficiência de encapsulação de vitaminas sintéticas por esta técnica. Britto et al. (2014) obtiveram sucesso na encapsulação de vitaminas C, B9 e B12. As vitaminas sintéticas foram adicionadas a suspensão de quitosana e o TPP foi gotejado para que houvesse a formação das nanopartículas carregadas de ativos. Foi possível encapsular até 28% de vitamina C, 42,4% de vitamina B9 e 16,1% de vitamina B12. As nanopartículas também apresentaram diferentes valores de potencial Zeta e diâmetros: +30,7 mV e 325 nm para a vitamina C, +64,9 mV e 809 nm para a vitamina B9, e +29,4 mV e 326 nm para a vitamina B12. Britto, Pinola e Assis (2017) estudaram a degradação em meio aquoso de vitamina C encapsulada pelo sistema de gelificação iônica utilizando quitosana e TPP. Os autores relataram que, após 17 dias, 28% da vitamina C encapsulada ainda era preservada em relação a quantidade inicial, enquanto que apenas 3% de vitamina C era preservada no sistema controle sem encapsulação. Recentemente, Nascimento et al. (2019) estudaram a extração de vitamina C de resíduos de acerola utilizando a suspensão de quitosana e, em seguida, produziram nanopartículas por gelificação iônica. Foi possível encapsular cerca de 64% de vitamina C por este sistema.

Matalanis, Jones e McClements (2011) e Agnihotri, Mallikarjuna e Aminabhavi (2004) explicam a eficiência de encapsulação dos compostos através de ligações eletrostáticas que são formadas entre o composto e a suspensão polimérica (como a quitosana), gerando um novo complexo polímero-componente. Em seguida, ao adicionar um agente encapsulante de cargas opostas a este complexo (como o TPP), os sítios livres do polímero se ligam aos sítios livres deste agente e formam as partículas com o complexo polímero-componente. Matalanis, Jones e McClements (2011) esquematizaram algumas das possíveis organizações que ocorrem durante a formação de nanopartículas a base de polímeros carregados com compostos ativos, conforme apresentado na Figura 5. A Figura 5A representa uma partícula de polímero que consiste em mais de uma fase, em que uma das fases se organiza ao redor da outra. O polímero se organiza ao redor do composto encapsulado ou ao contrário, uma situação bastante comum na encapsulação de óleos. Já nas Figuras 5B e C, o polímero interage diretamente com o composto encapsulado, que são as situações mais prováveis quando o composto a ser encapsulado é extraído ou adicionado diretamente a suspensão polimérica.

**Figura 5** - Possíveis tipos de estruturas internas que podem ser formadas em nanopartículas de biopolímeros.



Fonte: MATALANIS, A.; JONES, O. G.; MCCLEMENTS, D. J. Structured biopolymer-based delivery systems for encapsulation, protection, and release of lipophilic compounds. **Food Hydrocolloids**, v. 25, n. 8, 2011. p. 1867.

Dentre as vantagens da aplicação da técnica de encapsulamento, destaca-se a fortificação nutricional de alimentos pela inserção das nanopartículas carregadas. Lee et al. (2017) produziram nanopartículas de lipídeos revestidas por quitosana carregadas com ferro. As nanopartículas foram utilizadas para a fortificação de leite, cuja concentração de ferro é baixa. Estudos de liberação controlada de ferro sob condições gástricas e intestinais simuladas mostraram uma maior absorção deste componente em sistemas de leite contendo as nanopartículas de quitosana. As partículas demonstraram um potencial de aplicação como transportadoras de ferro para leite e outros produtos alimentícios com baixo teor deste componente (como suco de frutas ou iogurtes). Gültekin-Ozguven et al. (2016) também utilizaram quitosana para encapsular antocianinas, que foram utilizadas para fortificação de licor de chocolate. As formulações contendo as nanopartículas apresentaram altos teores de compostos ativos em sua composição em diferentes condições de pH e temperaturas, enquanto que nas amostras sem nanopartículas a taxa de antocianinas diminuía rapidamente nas mesmas condições, demonstrando ser mais suscetíveis a degradação quando não encapsuladas.

Outra possível aplicação para suspensões de nanopartículas carregadas com ativos extraídos de resíduos da agroindústria é como cobertura ativa de frutas, uma utilização ainda escassa na literatura. Desta forma, a extração de compostos ativos do resíduo da polpa de acerola e posterior encapsulação pelo sistema de aprisionamento intermediário por gelificação iônica é uma forma de aproveitamento do resíduo e preservação das propriedades ativas dos componentes ativos. As nanopartículas de compostos ativos encapsulados podem ser aplicados como cobertura ativa para proteger a qualidade nutricional de frutas frescas.

## 3.6 Coberturas a base de quitosana e nanopartículas

### 3.6.1 Coberturas para alimentos

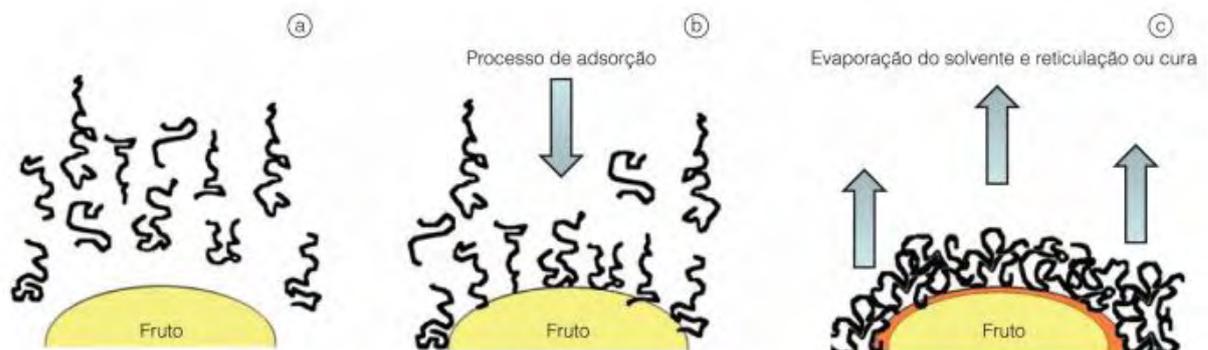
A utilização de coberturas ativas e/ou comestíveis pela indústria de alimentos tem sido estudada com o objetivo de aumentar a vida útil de inúmeros produtos, como frutas e hortaliças, cuja qualidade pode ser prejudicada no período pós-colheita e durante o processamento, transporte ou armazenamento (ASSIS, 2012; VALENCIA-CHAMORRO et al., 2009). Alterações na qualidade do alimento, como escurecimento, alteração sensorial, diminuição da massa, perda de água, estão diretamente relacionadas à interação entre os alimentos e o ambiente circundante, o que pode levar a deterioração. A aplicação de uma camada protetora e comestível no alimento é uma alternativa para preservar a sua qualidade e prolongar o seu tempo de prateleira, já que oferece uma série de benefícios ao alimento, tais como a barreira à umidade e ao oxigênio e a retenção da firmeza (ANDRADE; SKUTS; OSORIO, 2012).

O processo de recobrir um alimento consiste em aplicar uma suspensão, por imersão ou aspersão, e secá-lo posteriormente para formação de um filme. A técnica por imersão consiste em mergulhar a fruta ou a hortaliça, por exemplo, em uma suspensão de cobertura e tem se mostrado bastante eficaz, já que garante que toda a superfície do alimento entre em contato com a suspensão de recobrimento. Já a técnica por aspersão consiste em aplicar a suspensão de cobertura através de um *spray*, utilizando, por exemplo, um borrifador. A seleção do método de recobrimento depende do produto final desejado, espessura desejada da cobertura, reologia da suspensão e tecnologia de secagem a ser empregada. No método por imersão, quantidades adequadas de suspensão de cobertura não podem ser controladas facilmente e o processo de secagem é mais lento (uma vez que uma camada mais espessa é formada), o que pode dificultar sua aplicação industrial. Além disso, a mesma suspensão entra em contato com vários produtos. Já a aplicação por aspersão utilizando *spray* pode ser realizada de forma controlada, pois é possível estabelecer a quantidade de suspensão aplicada (controlando a espessura da cobertura) e o local de aplicação (o que torna possível revestir as partes superior e inferior da fruta em diferentes momentos). Conseqüentemente, o processo de secagem também é mais vantajoso, facilitando a implementação em escala fabril (ASSIS; BRITTO, 2014; ANDRADE; SKUTS; OSORIO, 2012; CUTTER, 2006).

Para assegurar o recobrimento dos alimentos, deve-se garantir uma interação entre a sua superfície e os compostos da suspensão de cobertura. Ao colocar uma suspensão polimérica em contato com uma fruta, por exemplo, a cobertura se forma pela deposição das espécies

poliméricas dissolvidas no meio, estabelecendo ligações com a superfície da fruta (RASHIDOVA et al., 2004). Na Figura 6 é possível visualizar o esquema proposto por Assis e Britto (2014), que representa a sequência da formação de uma cobertura por imersão em uma fruta. Primeiramente, ocorre o contato inicial da fruta com a suspensão de cobertura a base de um biopolímero (Figura 6A). Em seguida, ocorre a atração entre o adsorvato (compostos da suspensão de recobrimento) e o adsorvente (superfície da fruta) (Figura 6B). Após um período de deposição e secagem da suspensão, ocorre a reticulação do polímero, formando, então, a cobertura (Figura 6C). Na técnica por aspersão, a etapa C é a que representa todo o procedimento.

**Figura 6** - Sequência ilustrativa da formação de uma cobertura em fruta: (A) contato entre a fruta e a suspensão de recobrimento, (B) atração entre o adsorvato (compostos da suspensão de recobrimento) e o adsorvente (casca da fruta) e (C) secagem, evaporação do solvente e reticulação do polímero, configurando a formação da cobertura.



FONTE: ASSIS, O. B. G.; BRITTO, D. Revisão: coberturas comestíveis protetoras em frutas: fundamentos e aplicações. *Brazilian Journal Food Technology*, v. 17, n. 2, 2014. p. 89.

Na literatura, coberturas a base de quitosana já são amplamente estudadas e promissoras no retardo do amadurecimento e preservação da composição nutritiva de alimentos. Chien et al. (2007) estudaram o efeito de coberturas a base de quitosana em mangas fatiadas e comprovaram a sua eficácia na prolongação da vida útil da fruta em até sete dias. A cobertura também foi efetiva na preservação do teor de vitamina C na fruta: as fatias de manga, que inicialmente continham cerca de 25,02 mg de vitamina C/100 mL de suco, apresentaram 16,29 e 20,87 mg de vitamina C/100 mL de suco, para as fatias sem e com cobertura de quitosana, respectivamente. Araújo e Shirai (2016) também confirmaram a eficácia da cobertura a base de quitosana para brócolis minimamente processados, obtendo uma diminuição na contagem de bolores e leveduras, o que colaborou para um tempo de armazenamento prolongado em seis dias. Han et al. (2005) recobriram morangos com suspensão de quitosana e relataram uma

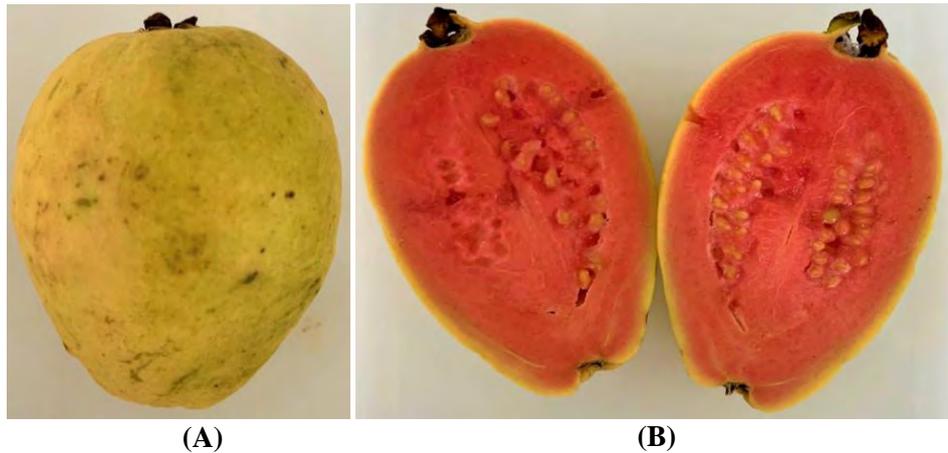
diminuição na perda de massa ao decorrer dos dias e um tempo de vida útil prolongado de sete para 14 dias.

Coberturas a base de quitosana nanoparticulada são estudadas a fim de aumentar a eficácia das coberturas, já que materiais em nanoescala, devido à alta área superficial, são mais reativos e interagem melhor com a superfície do alimento, podendo melhorar as propriedades mecânicas, térmicas e de barreira físico-química (LUSTRIANE et al., 2018). Lustriane et al. (2018) estudaram a aplicação de suspensão de quitosana e de nanopartículas de quitosana como cobertura para bananas e relataram um aspecto visual mais “brilhante” das frutas recobertas com as nanopartículas. Abdou, Osheba e Sorour (2012) também realizaram um estudo comparativo para o recobrimento de peixes e relataram um maior efeito antimicrobiano das coberturas de nanopartículas de quitosana frente as de quitosana, indicando que a atividade antimicrobiana aumentou com a diminuição do tamanho das partículas. Divya, Smitha e Jisha (2018) demonstraram que a perda de massa para tomate, berinjela e pimenta frescos foi menor para amostras recobertas com quitosana nanoparticulada (0,21%, 0,53% e 3,30%, respectivamente) do que para as amostras recobertas com quitosana não nanoparticulada (9,33%, 15,76% e 25,78%, respectivamente).

### **3.6.2 Conservação de goiabas frescas pela aplicação de coberturas**

A goiaba (*Psidium guajava*) é uma fruta da família das *Myrtaceae* de grande importância no contexto da fruticultura brasileira, sendo os estados de São Paulo e Pernambuco os principais produtores. A goiaba é classificada em duas espécies, vermelha ou branca, a depender da coloração da polpa, mas há diferentes variações dentro dos grupos (maçã, paluma, tailandesa, ogawa, rica, guanabara, entre outras). Devido ao aroma, sabor agradável e elevado valor nutricional, ambas as espécies são comumente consumidas frescas. Além disso, a goiaba vermelha (Figura 7) ganha grande destaque no setor industrial, sendo muito utilizada no processamento de diversos produtos (como sucos, néctares, polpas, geleias, iogurtes, gelatinas) (CERQUEIRA et al., 2011).

**Figura 7** - Goiaba vermelha madura (A) inteira e (B) cortada ao meio.



Fonte: Autoria própria.

A goiaba é uma fruta climatérica, ou seja, continua a amadurecer ainda após a sua colheita. Estudos demonstraram que, entre 6 e 8 dias após a colheita, quando em temperatura ambiente, a fruta não está mais apta para o consumo; assim como, a temperaturas abaixo de 10 °C, seus atributos sensoriais são danificados pela refrigeração (REYES; PAULL, 1995; TANDON, SINGH, KALRA, 1989). Por esse motivo, mudanças nas características fisiológicas, como perda de massa, perda de firmeza e escurecimento, são rapidamente observadas no período pós-colheita, o que impede seu armazenamento por longos períodos (ARROYO et al., 2019; NAIR; SAXENA; KAURB, 2018).

O recobrimento de goiabas é uma alternativa para evitar as excessivas trocas gasosas entre o meio e a fruta. As coberturas criam uma espécie de barreira aos gases, resultando em uma atmosfera modificada entre a fruta e a camada que pode reduzir a respiração e transpiração, prolongando o tempo de prateleira e aumentando o período de comercialização (ARROYO et al., 2019; NAIR; SAXENA; KAURB, 2018).

Trabalhos anteriores demonstraram a eficácia de coberturas a base de quitosana no aumento do tempo de prateleira das goiabas. Arroyo et al. (2019) revestiram goiabas com suspensão de quitosana adicionada de nanopartículas de zinco e relataram um aumento no tempo de armazenamento de 7 dias, para as frutas não recobertas, para 20 dias, para as frutas recobertas. As coberturas também tiveram efeito na textura das frutas, em que as frutas recobertas apresentaram uma rigidez cerca de 80% maior que as sem cobertura. Quanto ao aspecto visual, observou-se que, para aquelas recobertas, a perda da coloração verde aconteceu em um maior intervalo de tempo, indicando que a cobertura prolongou o tempo de degradação dos pigmentos da casca. Gad e Zagzog (2017) estudaram o efeito da aplicação de coberturas de

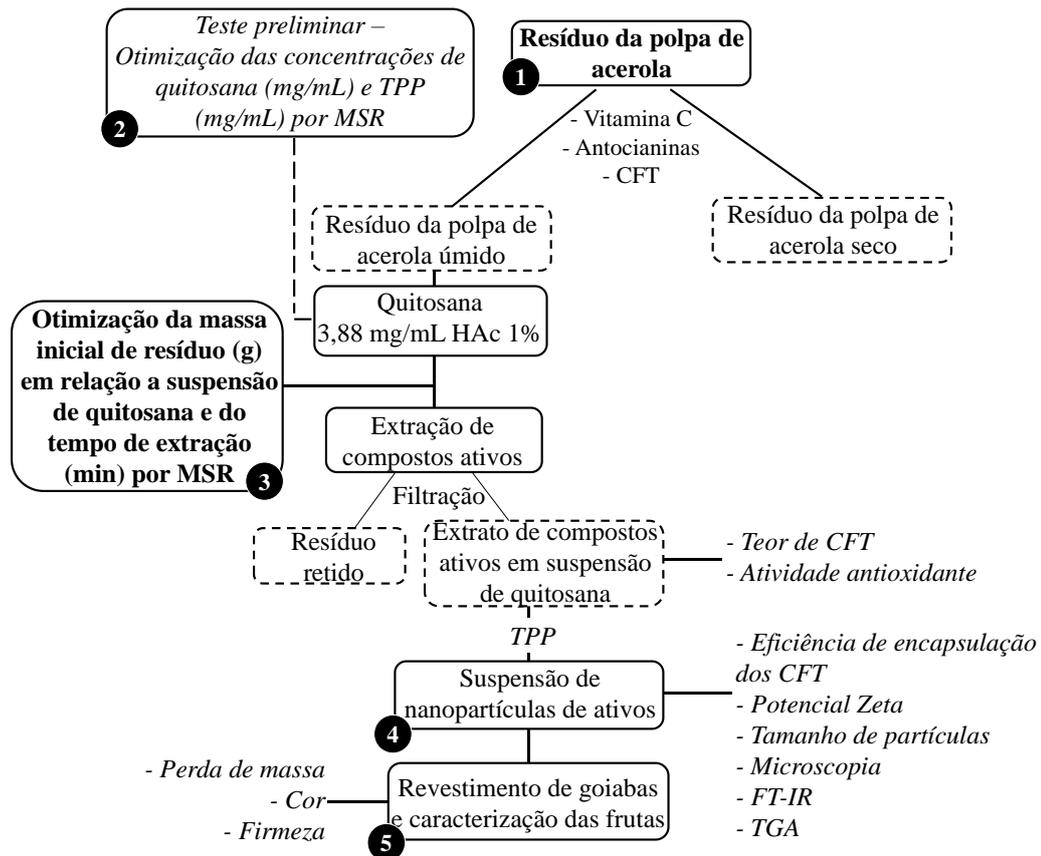
goma xantana adicionada de nanopartículas de quitosana. Observou-se que as frutas recobertas com coberturas contendo nanopartículas de quitosana tiveram menor perda de massa e firmeza ao longo dos dias de armazenamento, além de conter, no último dia de análise, maior teor de vitamina C (107,3 mg de vitamina C/100 mL de suco) em relação aquelas sem cobertura (100,5 mg de vitamina C/100 mL de suco) ou recobertas unicamente com a goma xantana (103,1 mg de vitamina C/100 mL de suco).

Até o presente, não foram encontrados trabalhos que utilizem nanopartículas de quitosana carregadas com compostos ativos de uma fonte natural, como o resíduo do processamento da polpa de acerola, para aplicação como coberturas para frutas, a fim de aumentar o seu tempo de vida útil e preservar as suas propriedades.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

Um fluxograma resumido dos procedimentos realizados neste trabalho é esquematizado na Figura 8.

**Figura 8** - Fluxograma de execução do trabalho.



Fonte: Autoria própria.

### 4.1 Material

Os reagentes adquiridos da Labsynth (Brasil) foram: acetato de sódio anidro, ácido clorídrico, ácido oxálico e cloreto de ferro anidro.

Os reagentes adquiridos da Sigma-Aldrich (Brasil) foram: ácido acético PA, ácido fórmico, ácido gálico, ácido metafosfórico, etanol, ferro reagente TPTZ, quitosana de média massa molar com grau de desacetilação de 80%, solução padrão de Trolox e tripolifosfato de sódio.

O ácido ascórbico foi adquirido da LS Chemicals (Brasil); a água ultrapura, pelo sistema de purificação Direct Q3 da Millipore (Estados Unidos); o carbonato de sódio anidro, da Dinâmica (Brasil); e o reagente de Folin-Ciocalteu, da Dutral (Brasil).

O resíduo da polpa de acerola foi fornecido pela empresa Ricaeli Alimentos (Cabreúva, São Paulo, Brasil).

As goiabas vermelhas foram adquiridas do estabelecimento Varejão da Qualidade (São Carlos, São Paulo, Brasil), todas de um mesmo lote e selecionadas de acordo com o estágio de maturação I (verde-escuro).

## **4.2 Caracterização do resíduo da polpa de acerola**

As análises de composição centesimal foram realizadas pelo Laboratório de Bromatologia, do Departamento de Zootecnia (ZAZ) da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA), seguindo as metodologias descritas por Silva e Queiroz (2009). Foram determinados os teores de matéria mineral, extrato etéreo, proteína bruta, fibra fruta e carboidratos. Todos os resultados foram expressos em base seca. O resíduo foi caracterizado após chegar da indústria, sem passar por qualquer tipo de tratamento físico ou químico (Figura 9A).

Para a determinação de matéria mineral, a amostra foi calcinada a 600 °C durante 4 horas para combustão total. A quantificação foi feita pela diferença de massa entre os resíduos úmido e calcinado.

A determinação do extrato etéreo consistiu em submeter a amostra seca à extração com éter, partindo do princípio da solubilidade dos lipídeos. O processamento foi realizado em um aparelho para extração de gordura e acessórios, tipo “Goldfish”. O éter usado no processo foi aquecido até tornar-se volátil. Ao condensar-se, o éter circulou sobre a amostra em análise, arrastando toda a fração gordurosa e demais substâncias solúveis. O éter foi recuperado em outro recipiente, enquanto a gordura extraída foi calculada por diferença de peso.

A quantificação de proteína bruta foi feita utilizando o método Kjeldahl. Neste método, o teor de nitrogênio contido na matéria orgânica foi determinado, incluindo o nitrogênio proteico, e, por meio de um fator de conversão, obteve-se o teor de proteína bruta. O método consistiu 1) na digestão da amostra em ácido sulfúrico com um catalisador, que resultou em conversão de nitrogênio em amônia, 2) na destilação da amônia em uma solução receptora e 3) na quantificação da amônia por titulação com uma solução padrão.

A determinação de fibra bruta consistiu em secar e desengordurar as amostras e submetê-las às digestões ácida e básica, utilizando ácido sulfúrico 1,25% e hidróxido de sódio 1,25%, respectivamente, durante 30 minutos. O total de fibra bruta foi calculado pela diferença de peso do cadinho antes e após a queima do resíduo em mufla, a 500 °C.

Por último, a determinação de carboidratos foi atribuída a matéria remanescente das demais caracterizações.

O teor de umidade foi determinado de acordo com o método oficial da AOAC (1997). A amostra foi seca em estufa a 105 °C por 24 horas. O teor de umidade foi expresso como a razão entre o peso da amostra seca e o peso da amostra total pesada multiplicado por 100.

O resíduo também foi caracterizado de acordo com os teores de compostos ativos. Para a caracterização do resíduo úmido, uma amostra foi mantida congelada em freezer a -18 °C até a sua caracterização e, em seguida, triturada (Figura 9B). Para a caracterização do resíduo seco, uma amostra foi seca em estufa com circulação forçada de ar (Tecnal, Brasil) a 30 °C por 20 horas e, em seguida, triturada e peneirada utilizando peneira com abertura de 1,0 mm/µm e 16 mesh (Bectel, Brasil) (Figura 9C).

O teor de antocianinas foi determinado seguindo a metodologia descrita por Lee, Durst e Wrolstad (2005), utilizando ácido metafosfórico 6% para extração. A quantificação foi realizada por espectrofotometria, sendo a medida de absorvância realizada em um espectrofotômetro Shimadzu UV-1601PC (Shimadzu Co., Japão). As absorvâncias foram determinadas após ajustar o pH das soluções de extrato para 1,0 e 4,5, cujos comprimentos de ondas foram medidos a 520 e 700 nm, para ambos os pH. A eq(1) foi utilizada para obtenção do teor de antocianinas. O valor final foi expresso em teor de antocianina em mg/100 g de resíduo (b.u ou b.s).

$$TA = \frac{(A \times MM \times FD \times 1000)}{\epsilon} \quad (1)$$

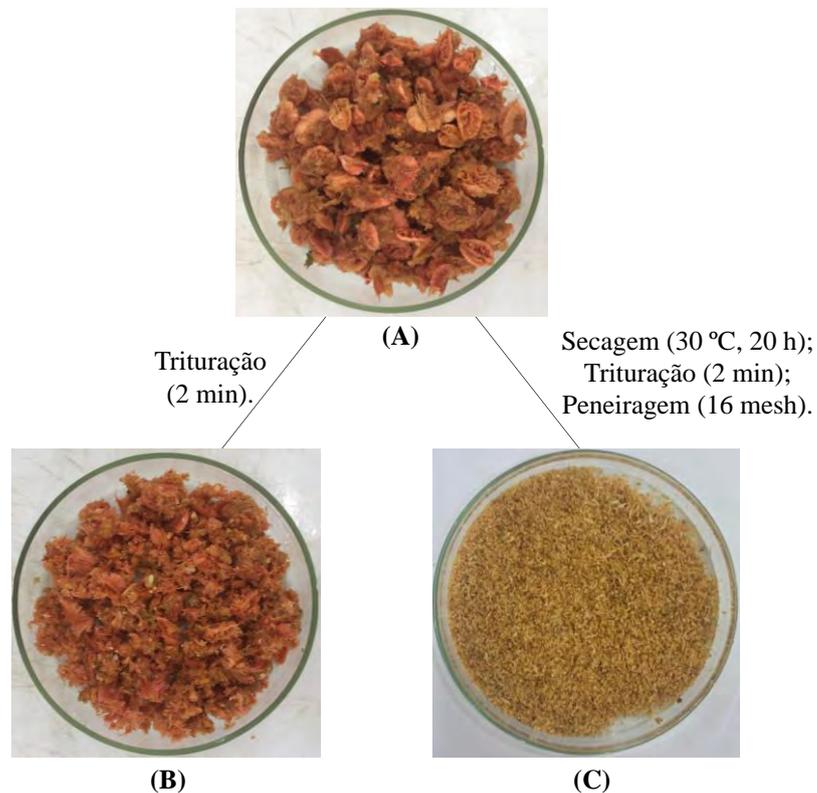
Sendo: *TA*: teor de antocianinas (mg/100 g de resíduo); *A*: {[Absorvância em 520 nm – Absorvância em 700nm) pH 1] – [(Absorvância em 520 nm – Absorvância em 700 nm) pH 4,5]}; *FD*: fator de diluição;  $\epsilon$ : 26900 L/mol.cm.

O teor de CFT foi determinado pelo método colorimétrico de Folin-Ciocalteu, de acordo com o método descrito por Swain e Hillis (1959), utilizando etanol 100% para extração. A absorvância foi medida em comprimento de onda de 725 nm. O teor de CFT foi determinado

utilizando uma curva padrão de ácido gálico e o resultado foi expresso em mg de AG/100 g de resíduo (b.u ou b.s).

Para a quantificação de vitamina C, as amostras foram adicionadas a uma solução de ácido oxálico 2% e homogeneizadas (em liquidificador, por 2 minutos). As soluções foram submetidas a banho ultrassônico (Unique, UltraCleaner) por 30 minutos. Em seguida, as amostras foram filtradas e a porção líquida foi recolhida para análise. A quantificação de vitamina C foi realizada por cromatografia líquida (Shimadzu, Prominence, Japão), seguindo a metodologia de Vinci et al. (1995) com modificações. A separação cromatográfica foi realizada utilizando coluna de fase reversa C18 Shim-pack GIST (250 mm x 4,6 mm x 5 µm) mantida a 30 °C. A fase móvel utilizada foi água ultrapura com pH ajustado para 3,0 com ácido fórmico, degaseificada em banho ultrassônico por 5 minutos. As análises foram realizadas com fluxo de 0,9 mL/min, utilizando modo isocrático. 10 µL das amostras foram injetados e o tempo de corrida total foi de 9 minutos. Os sinais referentes a vitamina C foram identificados pela comparação com o tempo de retenção do padrão de ácido ascórbico. A quantificação foi baseada na curva de calibração do padrão de ácido ascórbico e os resultados foram expressos em mg de vitamina C/100 g de resíduo (Apêndice A, para b.u, e Apêndice B, para b.s).

**Figura 9** - Resíduo da polpa de acerola (A) ao chegar da indústria, (B) úmido e triturado e (C) após secagem a 30 °C por 20 h, triturado e peneirado.



### 4.3 Determinação da proporção ótima de quitosana:TPP na produção de nanopartículas

Um teste preliminar foi inicialmente realizado para determinar a proporção ótima de quitosana e TPP na produção de nanopartículas de menor tamanho e potencial Zeta em torno de  $\pm 20$  mV.

As nanopartículas de quitosana:TPP foram preparadas com base na técnica de gelificação iônica, seguindo os procedimentos básicos detalhados por Britto et al. (2012). Primeiramente, foi preparada uma suspensão de quitosana em ácido acético 1%, deixada sob agitação por 16 horas a temperatura ambiente (25 °C). Para a produção das nanopartículas, 25,0 mL de suspensão de TPP foram gotejados em 25,0 mL da suspensão de quitosana, deixada sob agitação durante o gotejamento. As concentrações de quitosana (mg/mL) e TPP (mg/mL) foram avaliadas por Delineamento Composto Central Rotacional 2<sup>2</sup> (DCCR 2<sup>2</sup>) (4 experimentos + 3 pontos axiais + 3 pontos centrais). Os demais parâmetros utilizados para o preparo das nanopartículas foram padronizados de acordo com o estabelecido por Cunha, Barros-Alexandrino e Assis (2017): vazão do TPP de 20 gotas/min (ou 1 mL/min), intensidade de circulação da suspensão de quitosana de 1500 rpm e altura do gotejamento de 8 centímetros (distância entre a bureta contendo TPP e o béquer contendo quitosana).

Os valores estabelecidos por DCCR 2<sup>2</sup>, utilizado para determinar as concentrações de quitosana (mg/mL) e TPP (mg/mL), estão apresentado na Tabela 3. As respostas para escolha da condição ótima foram o menor tamanho de partículas e valor de potencial Zeta da suspensão maior que  $\pm 20$  mV. A análise dos efeitos destas variáveis sobre a produção das nanopartículas foi avaliada utilizando o software *Statistica 7.0*. Os dados foram ajustados ao modelo polinomial de segunda ordem, conforme eq.(2), segundo a Metodologia de Superfície de Resposta (MSR). A análise de variância (ANOVA) foi realizada para avaliar a significância do modelo obtido para cada variável de resposta a 95% de intervalo de confiança.

$$Y_i = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_{12}X_1 X_2 + b_{11}X_1^2 + b_{22}X_2^2 \quad (2)$$

Sendo:  $Y_i$ : função resposta;  $X_1, X_2$ : valor das variáveis independentes;  $b_0$ : coeficiente relativo à interpretação do plano com o eixo resposta;  $b_1, b_2$ : coeficientes lineares estimados pelo método dos mínimos quadrados;  $b_{11}, b_{22}$ : coeficiente das variáveis quadráticas;  $b_{12}$ : coeficiente de interação entre as variáveis independentes.

**Tabela 3** - Concentrações finais de quitosana e TPP, em mg/mL, conforme DCCR 2<sup>2</sup>; e concentrações iniciais de quitosana e TPP, em mg/mL, consideradas no preparo das suspensões.

Ensaio	Concentrações consideradas no preparo das suspensões		Concentrações finais após gelificação iônica <sup>1</sup>	
	Concentração de quitosana (X <sub>1</sub> )	Concentração de TPP (X <sub>2</sub> )	Concentração de quitosana (X <sub>1</sub> )	Concentração de TPP (X <sub>2</sub> )
1	3,88 (-1)	1,30 (-1)	1,94 (-1)	0,65 (-1)
2	8,12 (+1)	1,30 (-1)	4,06 (+1)	0,65 (-1)
3	3,88 (-1)	2,70 (+1)	1,94 (-1)	1,35 (+1)
4	8,12 (+1)	2,70 (+1)	4,06 (+1)	1,35 (+1)
5	3,00 (-1,41)	3,00 (0)	1,50 (-1,41)	1,00 (0)
6	4,50 (+1,41)	3,00 (0)	4,50 (+1,41)	1,00 (0)
7	6,00 (0)	1,00 (-1,41)	3,00 (0)	0,50 (-1,41)
8	6,00 (0)	3,00 (+1,41)	3,00 (0)	1,50 (+1,41)
9	6,00 (0)	3,00 (0)	3,00 (0)	1,00 (0)
10	6,00 (0)	3,00 (0)	3,00 (0)	1,00 (0)
11	6,00 (0)	3,00 (0)	3,00 (0)	1,00 (0)

<sup>1</sup>Como a proporção de reagentes é de 1:1, v:v (quitosana:TPP), todas as concentrações iniciais são reduzidas pela metade após o processo de gelificação iônica.

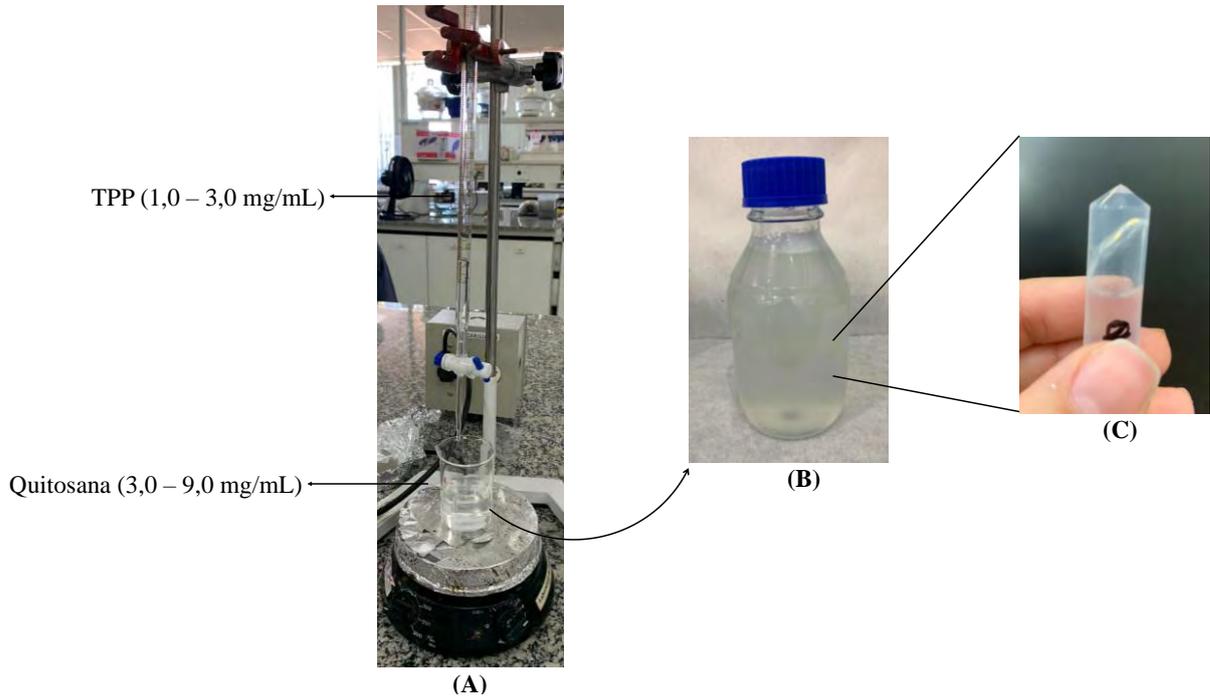
(X<sub>1</sub>) e (X<sub>2</sub>): Valores codificados.

Fonte: Autoria própria.

Para simplificar a leitura, a suspensão de nanopartículas de quitosana:TPP obtida na condição ótima será denominada como NpQ.

Na Figura 10, é apresentado o procedimento utilizado para a síntese das nanopartículas. Na Figura 10A, observa-se o sistema de gelificação iônica, em que o TPP é gotejado na suspensão de quitosana (utilizando as concentrações consideradas no preparo das suspensões, Tabela 3); enquanto na Figura 10B, observa-se a suspensão de nanopartículas resultante deste sistema (obtidas nas concentrações finais após gelificação iônica, Tabela 3). Na Figura 10C, é possível visualizar o aspecto gelatinoso das nanopartículas após a centrifugação da suspensão de nanopartículas.

**Figura 10** - (A) Esquema de gelificação iônica por gotejamento para produção de nanopartículas, (B) suspensão de nanopartículas e (C) gel de nanopartículas após centrifugação.



Fonte: Autoria própria.

#### 4.4 Otimização e caracterização do extrato de quitosana com ativos

##### 4.4.1 Otimização da extração de compostos ativos em suspensão de quitosana

Após determinar a concentração ótima de quitosana (3,88 mg/mL) para a produção de nanopartículas em teste preliminar, esta suspensão foi utilizada como meio de extração de compostos ativos do resíduo da polpa de acerola.

A extração foi otimizada conforme DCCR 2<sup>2</sup> e estudada de acordo com o que já foi descrito para este tipo de planejamento na Subseção 4.3. No entanto, as variáveis independentes utilizadas foram a massa inicial de resíduo em relação a suspensão de quitosana e o tempo de extração em ultrassom de ponteira. Foi pesado de 3,00 a 7,00 g do resíduo úmido da polpa de acerola, ao qual foi adicionado 50 mL de suspensão de quitosana 3,88 mg/mL. A mistura foi sonicada em ultrassom de ponteira (Ultrasonic Processor, Sonics, Estados Unidos) por 10 a 60 minutos, a uma amplitude de 40% e potência de 550W, sendo a amostra mantida em banho de gelo durante a extração. A amostra foi filtrada e o filtrado foi caracterizado de acordo com o teor de CFT (SWAIN; HILLIS, 1959), que foi a resposta para este planejamento. Os teores de antocianinas (LEE; DURST; WROLSTAD, 2005) e vitamina C (VINCI et al. 1995) também

foram analisados, mas não obteve-se respostas, o que indicou que a quitosana não foi efetiva na extração destes compostos.

Para simplificar a leitura, o extrato de quitosana com ativos obtido na condição ótima será chamado de Q-At.

A quantidade inicial de massa de resíduo e o tempo de extração estabelecidos por DCCR 2<sup>2</sup> estão apresentadas na Tabela 4. Em seguida, na Figura 11, é apresentada a sequência de extração dos compostos ativos em suspensão de quitosana.

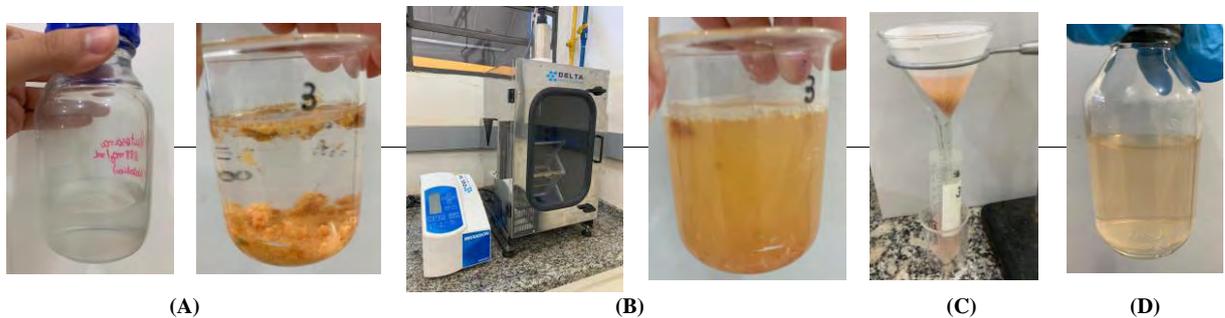
**Tabela 4** - Massa inicial de resíduo (em g/50 mL de suspensão de quitosana 3,88 mg/mL) e tempo de extração em ultrassom de ponteira (em min), conforme DCCR 2<sup>2</sup>.

Ensaio	Massa inicial de resíduo (X <sub>1</sub> )	Tempo de extração (X <sub>2</sub> )
1	3,59 (-1)	17,32 (-1)
2	6,41 (+1)	17,32 (-1)
3	3,59 (-1)	52,68 (+1)
4	6,41 (+1)	52,68 (+1)
5	3,00 (-1,41)	35 (0)
6	7,00 (+1,41)	35 (0)
7	5,00 (0)	10 (-1,41)
8	5,00 (0)	60 (+1,41)
9	5,00 (0)	35 (0)
10	5,00 (0)	35 (0)
11	5,00 (0)	35 (0)

(X<sub>1</sub>) e (X<sub>2</sub>): Valores codificados.

Fonte: Autoria própria.

**Figura 11** - Sequência de extração de compostos ativos do resíduo da polpa de acerola em suspensão de quitosana 3,88 mg/mL. Sendo as seguintes etapas: (A) adição da suspensão de quitosana no resíduo; (B) passagem da suspensão em ultrassom de ponteira; (C) filtração; (D) obtenção do filtrado final (extrato de quitosana com ativos a ser analisado).



Fonte: Autoria própria.

#### **4.4.2 Capacidade antioxidante do extrato otimizado**

O Q-At foi também caracterizado de acordo com a sua capacidade antioxidante.

A determinação da capacidade antioxidante pelo método de sequestro do radical livre 2,2'-Azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônicoácido) (ABTS<sup>+</sup>) foi realizada seguindo a metodologia de Re et al. (1999). A absorbância da amostra foi medida em comprimento de onda de 734 nm e a capacidade antioxidante foi calculada usando uma curva padrão de Trolox. O resultado final foi expresso em  $\mu\text{M}$  de TE/g de resíduo (b.u).

A determinação da capacidade antioxidante pelo método de redução do ferro (FRAP) foi realizada seguindo a metodologia de Pulido, Bravo e Saura-Calixto (2000). As absorbâncias foram medidas em comprimento de onda de 595 nm e a capacidade antioxidante foi calculada usando uma curva padrão de Trolox. O resultado final foi expresso em  $\mu\text{M}$  de TE/g de resíduo (b.u).

Para comparação, extratos em água e em etanol 100% também foram analisados, seguindo a mesma metodologia de preparo do ponto ótimo determinado anteriormente (Q-At). Os extratos também foram comparados de acordo com o teor de CFT.

#### **4.5 Encapsulação dos compostos ativos pelo sistema de gelificação iônica e caracterização das nanopartículas carregadas com ativos**

##### **4.5.1 Preparo das nanopartículas e eficiência de encapsulação dos compostos fenólicos totais**

Após a extração de compostos ativos em suspensão de quitosana 3,88 mg/mL, procedeu-se, nesta mesma suspensão, com o gotejamento de TPP para a formação de nanopartículas de compostos ativos. A mesma metodologia de gelificação iônica já descrita para a produção de NpQ (Subseção 4.3) foi utilizada. 25,0 mL de TPP (1,30 mg/mL) foi gotejado sobre 25,0 mL de Q-At mantido sob agitação. Os demais parâmetros utilizados no preparo das nanopartículas foram os mesmos já descritos: vazão do TPP de 20 gotas/min (ou 1 mL/min), intensidade de circulação do extrato de compostos ativos em suspensão de quitosana de 1500 rpm e altura do gotejamento de 8 centímetros (BRITTO et al., 2012; CUNHA; BARROS-ALEXANDRINO; ASSIS, 2007).

Neste trabalho, a suspensão das nanopartículas carregadas com ativos será chamada de NpQ-At.

Para determinar o conteúdo de CFT encapsulados, a eficiência de encapsulação (EE) foi estudada. Utilizou-se filtro Amicon Ultra-0,5 Centrifugal Filter Unit (Sigma-Aldrich, 30KDa). As suspensões de NpQ-At foram colocadas no filtro e centrifugadas (13000 rpm, 10 minutos, 10 °C) a fim de separar a porção encapsulada (retida no filtro) da não encapsulada (suspensão de extrato livre que foi filtrada). O teor de CFT foi avaliado seguindo a metodologia de Swain e Hillis (1959), na suspensão antes da centrifugação e na porção não encapsulada de suspensão. Através da diferença, foi possível determinar quanto dos CFT estavam encapsulados.

A EE foi calculada segundo a relação de proporcionalidade expressa pela eq.(3).

$$EE = \frac{C_T - C_E}{C_T} \times 100 \quad (3)$$

Sendo: *EE*: eficiência da encapsulação (%); *C<sub>T</sub>*: conteúdo total de CFT, determinado na suspensão inicial; *C<sub>E</sub>*: conteúdo encapsulado de CFT, obtido pela diferença de CFT na porção total e na porção não encapsulada.

#### 4.5.2 Distribuição do tamanho de partículas e potencial Zeta

As nanopartículas em suspensão foram caracterizadas quanto à distribuição do tamanho médio de partículas e potencial Zeta. Os parâmetros foram determinados em um equipamento Zetasizer Nano ZS Zen 36000 (Malvern Instruments Ltd., Inglaterra), com base na técnica de espalhamento dinâmico da luz. Para o tamanho de partículas, as suspensões foram diluídas em água 50 vezes. Para a medida de potencial Zeta, não houve necessidade de diluição. As medidas foram realizadas a 25 °C e em triplicatas.

Para comparação, um Branco foi preparado e igualmente analisado. Neste caso, 50 mL de uma suspensão de quitosana 3,88 mg/mL passou por ultrassom de ponteira por 10 minutos e foi filtrada. Em seguida, foi adicionado TPP 1,30 mg/mL para a preparação das nanopartículas. Este Branco será chamado de NpQ-US.

Os resultados obtidos foram comparados com o tamanho de partículas e valores de potencial Zeta estudados para as suspensões de NpQ. Portanto, nesta parte do trabalho, três ensaios foram comparados, conforme esquematizado pelo fluxograma da Figura 12.



#### 4.5.5 Análise Termogravimétrica

A análise termogravimétrica (TGA) avaliou as propriedades térmicas das amostras em um analisador termogravimétrico TGA-Q500 (TA Instruments, Estados Unidos). 10 mg de cada amostra foram pesadas em placas de platina. A faixa de temperatura estudada foi de 25 a 800 °C e a taxa de aquecimento foi de 10°C/min, sob atmosfera de ar. As mudanças de massa foram registradas continuamente como uma função da temperatura.

As amostras analisadas foram os liofilizados de Q-At (novamente diluído em água, Q-At:água, 1:1, v:v), NpQ-At e NpQ.

#### 4.6 Aplicação das suspensões de nanopartículas carregadas com ativos como cobertura ativa para goiabas frescas

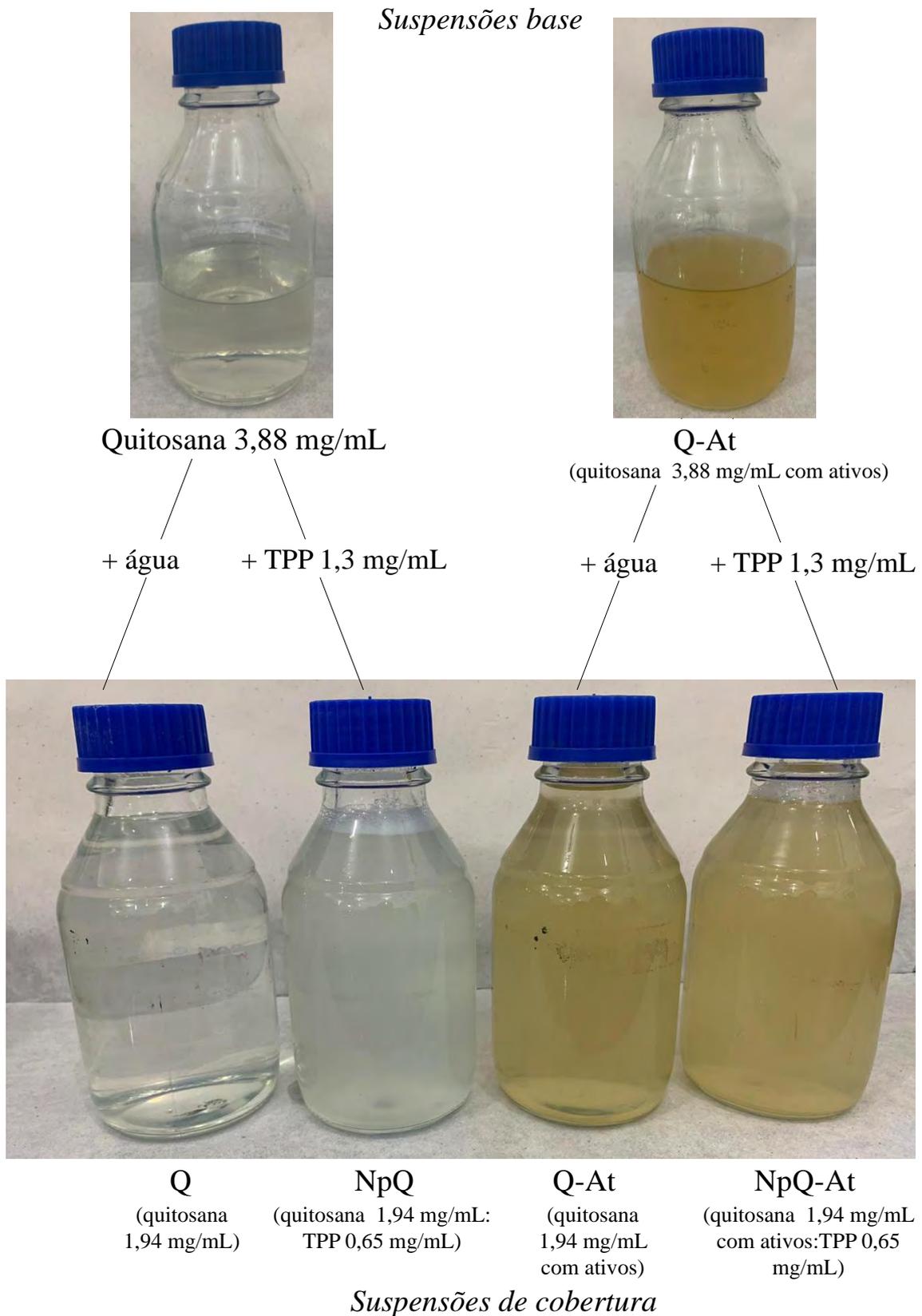
##### 4.6.1 Produção e caracterização de coberturas

Após a encapsulação de compostos ativos e obtenção da suspensão de NpQ-At, a suspensão foi utilizada como cobertura para goiabas vermelhas. Para fins comparativos, as suspensões de NpQ também foram aplicadas, bem como suspensões de quitosana controle com a mesma concentração que as contendo nanopartículas sem ou com ativo. Um esquema de preparo das suspensões está apresentado na Figura 13. Os ensaios foram divididos da seguinte maneira:

- 1) Sem aplicação de cobertura (BRANCO);
- 2) Controle I: aplicação de suspensão de quitosana 1,94 mg/mL (Q);
- 3) aplicação de suspensão de nanopartículas de quitosana (1,94 mg/mL):TPP (0,65 mg/mL) sem ativos (NpQ);
- 3) Controle II: aplicação de suspensão de extrato de quitosana (1,94 mg/mL) com compostos ativos não encapsulados (Q-At);
- 5) aplicação de suspensão contendo compostos ativos encapsulados em nanopartículas de quitosana (1,94 mg/mL):TPP (0,65 mg/mL) (NpQ-At).

O pH de todas as suspensões foi medido no dia 01 e no dia 18 após o armazenamento com auxílio de um pHmetro (Denver Instrument, Brasil). As suspensões de cobertura contendo ativos (Q-At e NpQ-At) foram caracterizadas de acordo com o teor de CFT nos mesmos dias (SWAIN; HILLIS, 1959). Para as NpQ-At ainda foi verificada a eficiência de encapsulação dos CFT após os 18 dias de armazenamento.

**Figura 13** - Preparação das suspensões para recobrimento de goiabas a partir de quitosana 3,88 mg/mL e Q-At (quitosana 3,88 mg/mL com ativos).



#### 4.6.2 Higienização das goiabas e aplicação das coberturas

Antes do recobrimento, as goiabas foram selecionadas considerando o tamanho, ausência de danos mecânicos visíveis e podridão. Para higienização, as goiabas foram lavadas e sanitizadas por imersão em solução de hipoclorito de sódio 1%. Em seguida, foram imersas em solução de água pura. Todas as frutas encontravam-se em estágio de maturação e com coloração verde, conforme mostrado na Figura 14.

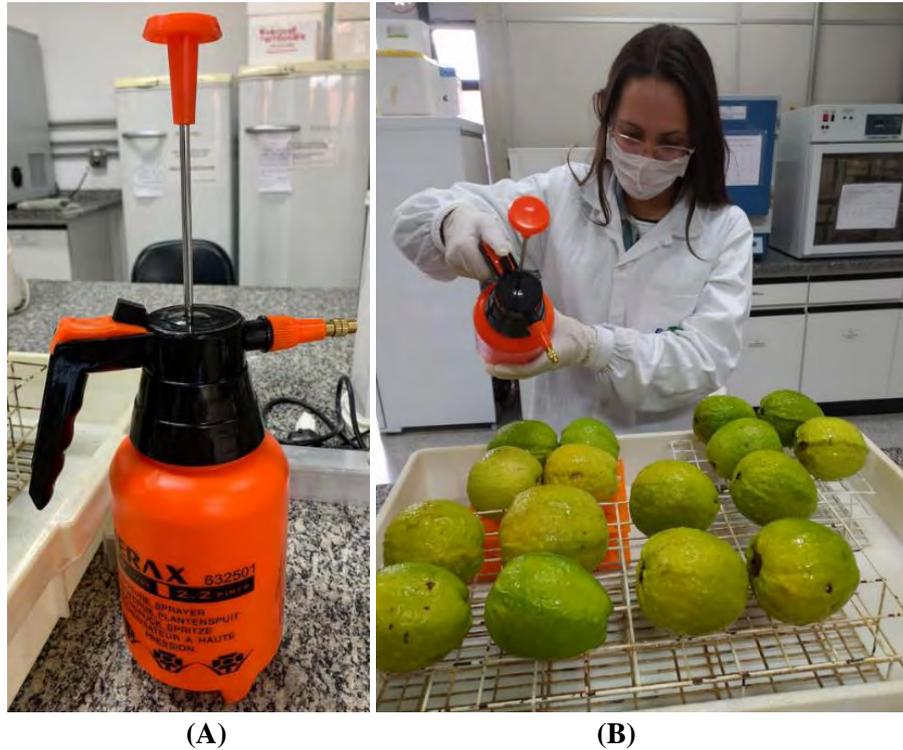
**Figura 14** - Goiabas vermelhas para recobrimento (após higienização).



Fonte: Autoria própria.

Para o recobrimento por aspersão, as suspensões foram colocadas em um aspersor de pressão (Figura 15A) e depositadas sobre as frutas (Figura 15B). Após a secagem, as goiabas foram acondicionadas a temperatura ambiente ( $20,1 \pm 1,8$  °C), com umidade relativa de  $52,8 \pm 8,2\%$ .

**Figura 15** - (A) Aspersor de pressão utilizado para aplicação das suspensões de coberturas e (B) aplicação nas goiabas.



Fonte: Autoria própria.

#### 4.6.3 Caracterização das goiabas

As análises de caracterização foram realizadas em triplicata a partir do dia seguinte ao recobrimento (dia 1) e após 4, 6, 8, 11, 13 e 15 dias de armazenamento.

A análise de cor foi realizada utilizando colorímetro (CR-400, Konica Minolta) (Figura 16A), sendo as amostras avaliadas no sistema  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ . O parâmetro  $L^*$  foi analisado de acordo com a luminosidade. Os parâmetros  $a^*$  e  $b^*$  foram utilizados no cálculo do ângulo Hue ( $H^\circ$ ), seguindo a eq.(4) (MCGUIRE, 1992).

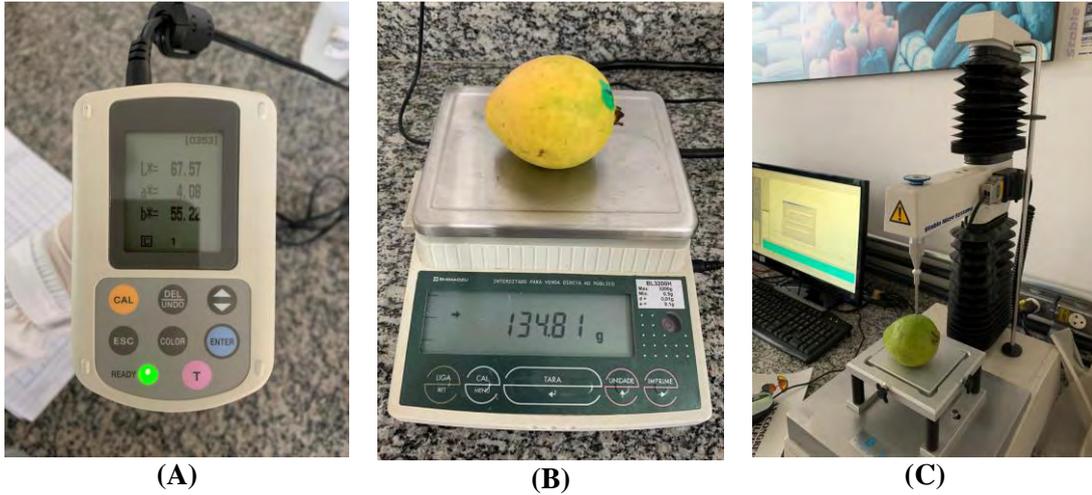
$$H^\circ = \tan^{-1} b^*/a^* \quad (4)$$

Sendo:  $H^\circ$  = ângulo Hue e  $\tan^{-1}$  = arco tangente de  $b^*/a^*$ .

A perda de massa foi realizada através de pesagem (BL3200H, Shimadzu), considerando a diferença entre o peso inicial da fruta e o obtido ao final de cada tempo de armazenamento (Figura 16B).

As medidas de firmeza foram determinadas utilizando um texturômetro (TA.XTplus, Stable Micro Systems) com ponteira cilíndrica (4 mm) em velocidade de 5 mm/s e profundidade de penetração de 30 mm (Figura 16C).

**Figura 16** - Equipamentos utilizados para caracterização das goiabas: (A) cor, (B) perda de massa e (C) firmeza.



Fonte: Autoria própria.

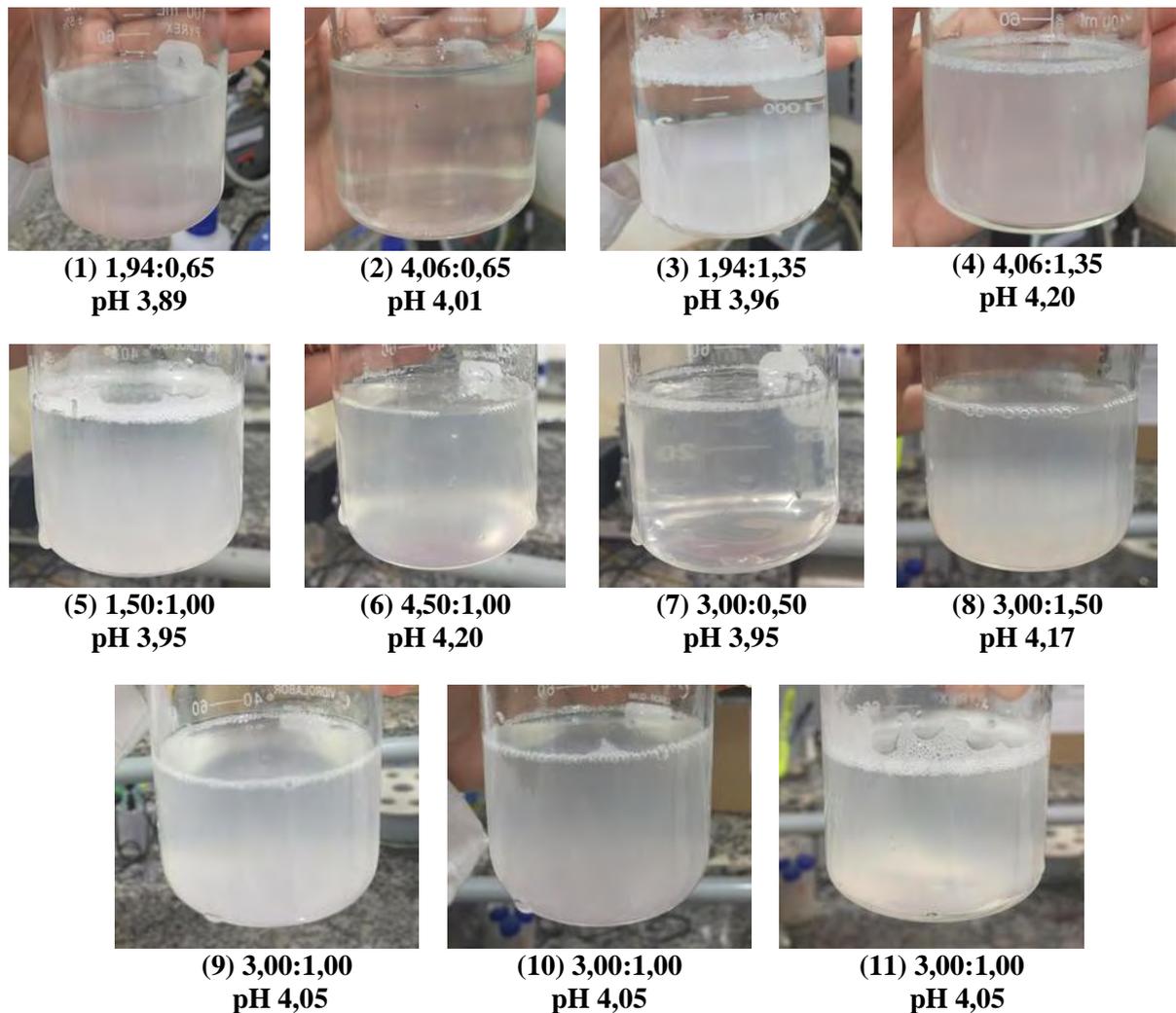
## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Teste preliminar: otimização da produção de nanopartículas de quitosana:TPP utilizando metodologia de superfície de resposta

Inicialmente, 11 ensaios para obtenção de nanopartículas foram analisados, conforme obtido por DCCR 2<sup>2</sup> (Tabela 3). Este teste inicial foi importante para estabelecer qual a proporção ótima de quitosana:TPP para a formação das nanopartículas.

Na Figura 17, é possível observar cada uma das suspensões.

**Figura 17** - Suspensões de nanopartículas de quitosana:TPP conforme condições determinadas por DCCR 2<sup>2</sup> e respectivos valores de pH. As suspensões estão representadas pelo número do ensaio seguido pelas concentrações finais de quitosana:TPP, em mg/mL, conforme Tabela 3.



Fonte: Autoria própria.

Como pode ser observado pela Figura 17, houve turbidez em todas as 11 suspensões, que também apresentaram certo grau de opalescência, indicando subjetivamente que a suspensão coloidal de nanopartículas foi obtida. A suspensão é resultante da interação iônica entre os grupos amino carregados positivamente da quitosana em meio ácido e terminais negativos do TPP, conforme já esquematizado na Figura 2. A formação de partículas em escala nanométrica e a estabilidade por cargas em suspensão só foram comprovadas através das análises de tamanho de partículas e potencial Zeta, cujos resultados estão apresentados na Tabela 5. É importante ressaltar que, para o estudo estatístico dos tamanhos de partículas, foram considerados os picos de maior intensidade das curvas bi ou trimodal obtidas. Os gráficos de distribuição de tamanhos para as 11 suspensões de nanopartículas obtidas no teste experimental e as porcentagens de distribuição para cada pico estão apresentados no Apêndice C.

**Tabela 5** - Valores de diâmetros de partículas (nm) e potencial Zeta (mV) para as nanopartículas de quitosana:TPP.

Ensaio	Concentração de quitosana (X <sub>1</sub> )	Concentração de TPP (X <sub>2</sub> )	Diâmetro de partícula (nm)	Potencial Zeta (mV)
1	1,94 (-1)	0,65 (-1)	170,0	+ 23,4
2	4,06 (+1)	0,65 (-1)	397,0	+ 49,5
3	1,94 (-1)	1,35 (+1)	382,2	+ 6,2
4	4,06 (+1)	1,35 (+1)	284,6	+ 20,9
5	1,50 (-1,41)	1,00 (0)	287,1	+ 15,8
6	4,50 (+1,41)	1,00 (0)	384,1	+ 43,7
7	3,00 (0)	0,50 (-1,41)	274,3	+ 47,3
8	3,00 (0)	1,50 (+1,41)	385,1	+ 16,1
9	3,00 (0)	1,00 (0)	172,8	+ 21,8
10	3,00 (0)	1,00 (0)	253,4	+ 31,8
11	3,00 (0)	1,00 (0)	178,7	+ 22,0

(X<sub>1</sub>) e (X<sub>2</sub>): valores codificados.

Fonte: Autoria própria.

O mecanismo de gelificação iônica empregado para a obtenção das nanopartículas mostrou-se eficaz, independente da concentração testada, pois partículas em escala nano/micrométrica foram obtidas. A quitosana, tendo um caráter de base fraca, ioniza-se a medida que o pH do meio diminui (ou seja, seus grupos amino estão disponíveis e protonados), enquanto o TPP está dissociado, o que permite que ocorra a reação entre os dois compostos.

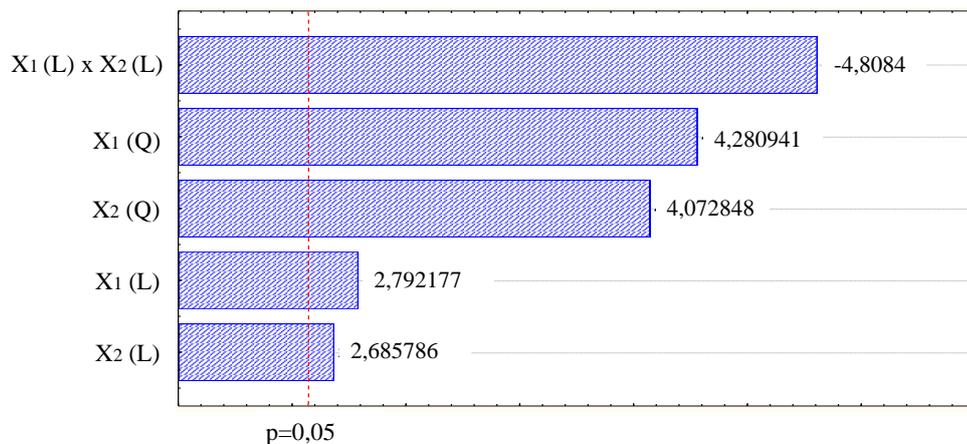
Através dos resultados da Tabela 5, foi possível avaliar os efeitos das variáveis no tamanho de partículas e potencial Zeta, sendo estas respostas mostradas na Figura 18, através do diagrama de Pareto. O diagrama de Pareto está associado aos efeitos de cada variável independente (no caso, concentração de quitosana (mg/mL) e concentração de TPP (mg/mL))

individualmente e suas interações, sendo que os valores de  $t_{\text{calculado}}$  fornecem os valores dos comprimentos das barras. Quando  $t_{\text{calculado}}$  é igual a  $t_{\text{tabelado}}$ , é possível afirmar que os efeitos foram significativos no nível de significância de 95% de confiança ( $p=0,05$ ). Assim, diz-se que o efeito de cada variável é significativo quando  $t_{\text{calculado}} > t_{\text{tabelado}}$ , ou seja, quando o comprimento da barra estiver mais à direita da linha vermelha ( $p < 0,05$ ). Por outro lado, quando  $t_{\text{calculado}} < t_{\text{tabelado}}$ , os ensaios não apresentaram diferença significativa ( $p > 0,05$ ). Todas as determinações para cálculos de efeito ou modelo foram realizadas pelo erro residual (RODRIGUES; IEMMA, 2014).

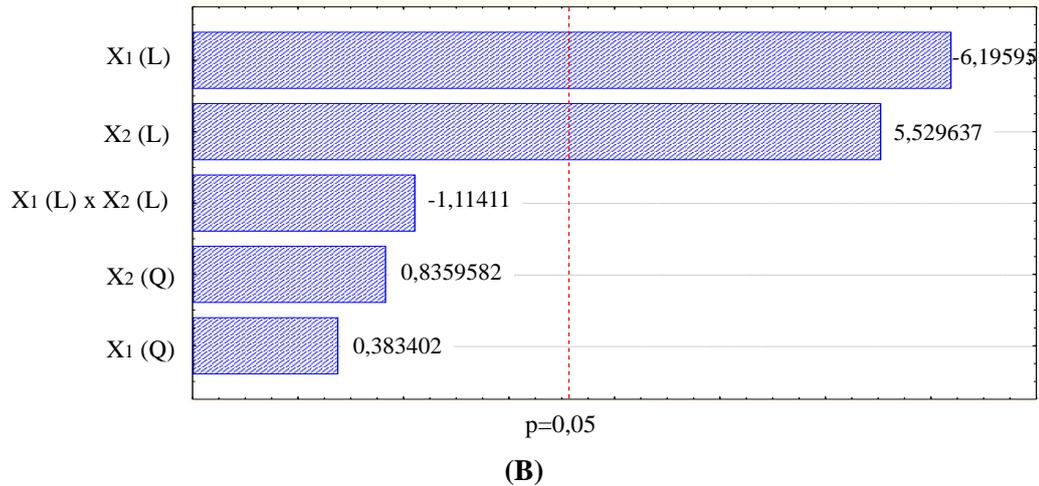
Analisando o diagrama de Pareto obtido para o diâmetro de partículas no pico mais representativo (Figura 18A), é possível observar que todos os parâmetros tiveram efeito significativo no tamanho das partículas, indicando que qualquer alteração nas variáveis independentes (concentração de quitosana ou TPP), leva a uma alteração na variável dependente (tamanho de partículas). O efeito significativo de interação entre os parâmetros lineares ( $X_1(L) \times X_2(L)$ ) foi negativo, o que indica que menores tamanhos de partículas são obtidos ao diminuir as concentrações de quitosana e TPP simultaneamente.

Para os valores de potencial Zeta (Figura 18B), os parâmetros lineares de concentração de quitosana ( $X_1(L)$ ) e de concentração de TPP ( $X_2(L)$ ) tiveram efeito significativo positivo e negativo, respectivamente, indicando que, ao aumentar a concentração de quitosana e diminuir a concentração de TPP, maiores valores de potencial Zeta são obtidos.

**Figura 18** - Diagrama de Pareto considerando as respostas de (A) diâmetro de partícula (nm) e (B) potencial Zeta (mV). Para cada variável foram apresentados os efeitos em níveis de significância de 95% de confiança ( $p=0,05$ ).



(A)



X<sub>1</sub> = concentração de quitosana (mg/mL); X<sub>2</sub> = concentração de TPP (mg/mL); (L) = referente ao parâmetro linear; (Q) = referente ao parâmetro quadrático.

Fonte: Autoria própria.

Os valores de diâmetro de partícula (nm) e potencial Zeta apresentados na Tabela 5 foram ajustados ao modelo quadrático polinomial segundo o DCCR 2<sup>2</sup> a 95% de confiança. Os coeficientes de regressão e a análise de variância (ANOVA) para as variáveis de resposta estão apresentadas na Tabela 6.

**Tabela 6** - Coeficiente de regressão e análise de variância (ANOVA) para as variáveis de resposta diâmetro de partículas (nm) (Y1) e potencial Zeta (mV) (Y2).

	Diâmetro de partícula (Y1)	Potencial Zeta (Y2)
$\beta_0$	<b>10,35*</b>	<b>8,52*</b>
Coeficientes lineares		
$\beta_1$	<b>2,79*</b>	<b>5,53*</b>
$\beta_2$	<b>2,68*</b>	<b>-6,19*</b>
Coeficientes quadráticos		
$\beta_{11}$	<b>4,28*</b>	0,38
$\beta_{22}$	<b>4,07*</b>	0,83
Interação		
$\beta_{12}$	<b>-4,81*</b>	-1,11
R <sup>2</sup>	0,93	0,93
F <sub>calculado</sub>	14,90	19,81
F <sub>tabelado1 (p=0,10)</sub>	3,50	3,84
F <sub>falta de ajuste</sub>	0,27	0,60
F <sub>tabelado2 (p=0,10)</sub>	19,16	19,33

F<sub>calculado</sub> > F<sub>tabelado1</sub>: modelo significativo;

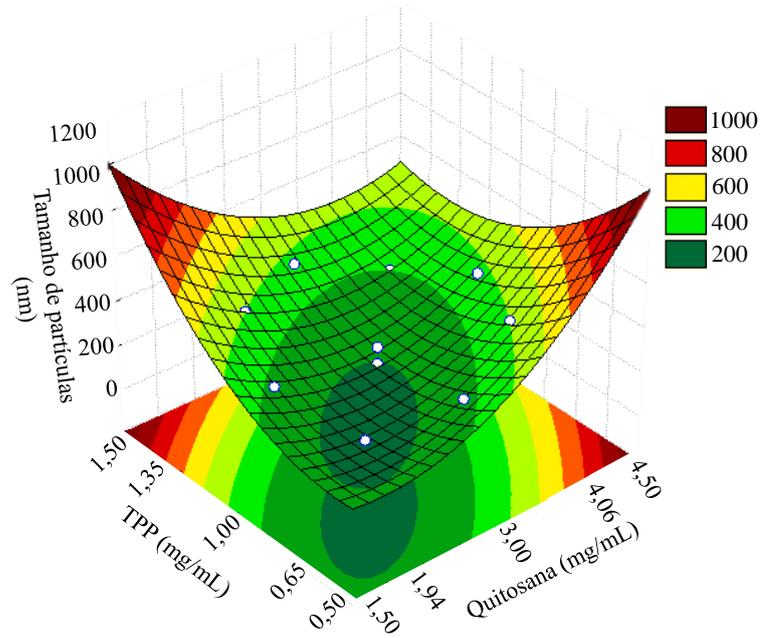
F<sub>falta de ajuste</sub> < F<sub>tabelado2</sub>: modelo significativo e preditivo, p < 0,05 (95 % de confiança) para Y1 e Y2.

\* Indica significância a 95% de intervalo de confiança.

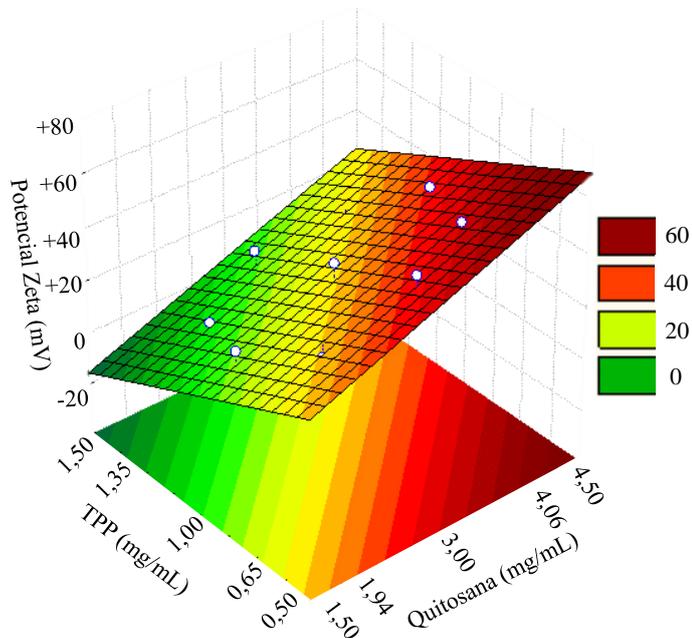
Fonte: Autoria própria.

Pela Tabela 6, observa-se que, tanto para Y1 quanto para Y2,  $F_{\text{calculado}} > F_{\text{tabelado1}}$  e  $F_{\text{Falta de ajuste}} < F_{\text{tabelado2}}$ , portanto, foi possível gerar a superfície de resposta para as duas variáveis dependentes. As superfícies de respostas obtidas para cada um destes parâmetros podem ser visualizadas na Figura 19A e B, respectivamente, para o diâmetro e potencial Zeta.

**Figura 19** - Superfícies de resposta referente ao (A) diâmetro de partículas (nm) e (B) potencial Zeta, obtidas com nível de significância de 95%.



(A)



(B)

Fonte: Autoria própria.

Pela Figura 19A, referente a superfície de resposta para o diâmetro de partículas, é possível comprovar a conclusão tirada do diagrama de Pareto: para obter o menor tamanho de partículas possível (até 200 nanômetros), é necessário diminuir as concentrações tanto de quitosana como de TPP. Sistemas coloidais com partículas em menores tamanhos destacam-se tanto do ponto de vista de encapsulação, pois ao encapsular um componente a tendência é aumentar o tamanho das partículas em suspensão, quanto do ponto de vista alimentício para consumo, já que partículas menores terão menor interferência na alteração de sabores (FAN et al., 2012).

Pela Figura 19B, referente a superfície de resposta para o potencial Zeta, é notável que os valores aumentam à medida em que a concentração de quitosana também aumenta e a concentração de TPP diminui. O potencial Zeta é o potencial elétrico no plano hidrodinâmico de cisalhamento entre a superfície da partícula carregada e o meio dispersante. Assim, a medida de potencial Zeta permite verificar a estabilidade por cargas das partículas e, conseqüentemente, a estabilidade da suspensão coloidal. De acordo com sistemas modelos, valores maiores, em módulo, que 30 mV permitem prever essa estabilidade, em que as forças repulsivas entre as partículas são predominantes em relação às forças atrativas (principalmente van der Waals) (SHAW, 1992). Para nanopartículas de quitosana, este valor pode estar em 20 mV (FAN et al., 2012; SCHAFFAZICK et al., 2003).

Para a determinação da condição ótima de concentrações de quitosana e TPP, foi necessário encontrar um ponto cuja proporção contemplasse um menor tamanho de partícula e um valor de potencial Zeta maior que  $\pm 20$  mV. O ponto 1 (Tabela 5) foi escolhido como ótimo, uma vez que, como pode ser observado pelos gráficos de superfície de respostas (Figuras 19A e B), é o ponto em que se encontra partículas menores que 200 nm e com valores de potencial Zeta acima de +20 mV. Além disso, este ponto segue a proporção de 3:1 (quitosana:TPP) que é comumente utilizada na literatura. Cada unidade da molécula de quitosana contém um sítio positivo de  $\text{NH}_3^+$ , que interage com um dos três sítios negativos de uma unidade de TPP, como já demonstrado na Figura 2, o que justifica a condição ideal ser de três unidades de quitosana para uma de TPP (BRITTO et al., 2012; CUNHA; BARROS-ALEXANDRINO; ASSIS, 2007).

O ponto 1 foi analisado em triplicata a fim de verificar a confiabilidade do resultado, obtendo-se um diâmetro em torno de 164 nm e  $+28 \pm 2$  mV.

Os resultados obtidos a partir desta primeira etapa foram utilizados para 1) estabelecer qual concentração de quitosana seria utilizada para extração de compostos ativos do resíduo da polpa de acerola e para 2) determinar qual concentração da solução de TPP para a formação de

nanopartículas de compostos ativos com menores tamanhos de partículas e valor de potencial Zeta acima de  $\pm 20$  mV.

## 5.2 Determinação de compostos ativos no resíduo da polpa de acerola úmido e seco

O resíduo da polpa de acerola apresentou, em base seca,  $2,8 \pm 0,0\%$  de matéria mineral,  $2,9 \pm 0,2\%$  de extrato etéreo,  $8,3 \pm 0,3\%$  de proteína bruta,  $34,2 \pm 0,4\%$  de fibra bruta e 52% de carboidratos. O resíduo também apresentou  $77,0 \pm 1,7\%$  de água.

Para a caracterização de compostos ativos, os resíduos úmido (Figura 9B) e seco (Figura 9C) foram caracterizados. O resíduo úmido, apesar de triturado, continuou a apresentar uma distribuição heterogênea. Já após a secagem e classificação por peneira, o material foi mais homogêneo.

Na literatura, há controvérsias sobre a caracterização de resíduos úmido ou seco. Estudos que utilizaram o resíduo do processamento de acerola em base úmida obtiveram bons resultados na caracterização de compostos ativos (NASCIMENTO et al., 2019; REZENDE; NOGUEIRA; NARAIN, 2017; SANCHO et al., 2015). De acordo com Nascimento et al. (2019), a caracterização do resíduo úmido é utilizada para que não ocorra perda de nutrientes durante o processo de secagem. No entanto, é confirmado que aquecimentos brandos podem melhorar a extração de compostos presentes no material, já que elimina a proporção aquosa e favorece a quantificação (BERY et al., 2014; AQUINO et al., 2010).

Os teores de vitamina C, antocianinas e CFT totais obtidos antes e após secagem do resíduo da polpa de acerola constam na Tabela 7.

**Tabela 7** - Teores de vitamina C, antocianinas e compostos fenólicos totais (CFT), em mg/100 de resíduo (b.u ou b.s).

	Resíduo (b.u)	Resíduo (b.s)
Vitamina C	$244,5 \pm 0,0$	$2805,4 \pm 138,0$
Antocianinas	$9,7 \pm 0,0$	$10,5 \pm 0,0$
CFT	$265,4 \pm 0,0$	$339,3 \pm 0,5$

Fonte: Autoria própria.

Foi obtido um total de  $244,5 \pm 0,00$  mg de vitamina C/100 g de resíduo (b.u). Esta concentração é maior que as obtidas por autores que utilizaram o resíduo igualmente sem tratamentos térmicos e ácido oxálico como solução extratora. Sancho et al. (2015) e Sousa et

al. (2011) relataram teores de 170,73 mg/100 g e 89,55 mg de vitamina C/100 g de resíduo (b.u), respectivamente.

Cefali et al. (2018) utilizaram polpa de acerola para a quantificação de vitamina C, obtendo cerca de 273,2 mg de vitamina C/100 g de polpa, uma quantidade muito próxima a obtida pelo resíduo úmido neste trabalho. Além disso, o teor de vitamina C obtido no resíduo úmido é ainda maior que o teor deste mesmo composto encontrado na polpa de outras frutas, tais como: mamão (121,95 mg de vitamina C/100 g de polpa), goiaba (75,90 mg de vitamina C/100 g de polpa), graviola (64,35 mg de vitamina C/100 g de polpa) e abacaxi (51,83 mg de vitamina C/100 g de polpa) (SANCHO et al., 2015; SOUSA et al., 2011).

Em relação a fruta, um estudo de Cardoso et al. (2011) revelou cerca de 2294 mg de vitamina C/100 g de acerola cultivada convencionalmente. Isso significa que, com o resíduo úmido utilizado no presente trabalho, foi possível recuperar até 8% de vitamina C presente na fruta.

Em relação ao resíduo seco, um total de  $2805,4 \pm 138,0$  mg de vitamina C/100 g de resíduo (b.s) foi obtido. Considerando que o resíduo úmido possui cerca de 77% de água, esperava-se encontrar em torno de 1060,9 mg de vitamina C/100 g de resíduo (b.s), o que mostra que o processo de secagem não degradou a vitamina C. Como mencionado anteriormente, o resíduo seco passou pelo processo de seleção por peneiras. Sabe-se que o tamanho de partículas influencia na eficácia do processo de extração. Assim, no produto seco, a extração foi facilitada devido às partículas menores, mais homogêneas e devido a maior superfície de contato entre o resíduo e a solução extratora.

De forma geral, resíduos com altas concentrações de vitamina C apresentam potencial de aproveitamento e aplicação, principalmente no ramo alimentício. A vitamina C é uma vitamina essencial, não sintetizada pelo organismo humano, sendo necessária sua ingestão pela dieta. De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), a necessidade diária de vitamina C para adultos é de 45 mg/dia (VANNUCCHI; ROCHA, 2012). Portanto, o resíduo da polpa de acerola utilizado no presente trabalho, tanto úmido quanto seco, consiste em uma fonte importante de vitamina C.

Quanto ao teor de antocianinas, quantidades muito próximas foram obtidas para os resíduos úmido (9,7 mg de antocianinas/100 g de resíduo) e seco (10,5 mg de antocianinas/100 g de resíduo), o que indica que a secagem degradou estes compostos, visto que esperava-se cerca de 42,1 mg de antocianinas/100 g de resíduo (b.s). Assim, aproximadamente 75% dos compostos foram degradados com o processo de secagem.

Sancho et al. (2015) obtiveram cerca de 60 mg de antocianinas/100 g de resíduo da polpa de acerola. Segundo os autores, os compostos são encontrados em maior quantidade nas cascas das frutas quando comparado a porção comestível. A presença de compostos ativos na acerola, incluindo antocianinas, aumenta com o grau de maturação da fruta. A coloração da casca da acerola varia em uma escala de verde, que vai para alaranjado, no início da maturação, e chega ao vermelho, quando totalmente madura (CRUZ et al., 2019; LIMA et al., 2003). Assim, a baixa concentração de antocianinas encontradas no resíduo (b.u e b.s) da polpa de acerola está relacionada a grande quantidade de sementes e caroços no resíduo e ao grau de maturação.

Outro fator importante na identificação das antocianinas é a instabilidade na presença de luz e a temperatura do meio. Lima et al. (2003) identificaram de 3,79 a 59,74 mg de antocianinas/100 g de polpa de acerola, dependendo do grau de maturação da fruta, e relataram uma redução de até 23,6% de antocianinas nas polpas ao longo de seis meses de armazenamento (em *freezer* doméstico com iluminação). Assim, é correto dizer que parte dos compostos inicialmente presentes no resíduo pode ter sido degradada desde a separação do resíduo até a sua caracterização.

A quantificação de CFT resultou em  $265,4 \pm 0,0$  mg de AG/100 g de resíduo (b.u). O valor está próximo ao obtido por Sousa, Vieira e Lima (2011), em que foram quantificados 247,62 mg de AG/100 g de resíduo (b.u) (em extrato hidroalcolico). O valor encontrado é também cerca de 53% acima do obtido por Sancho et al. (2015), em que uma quantidade de 173,30 mg de AG/100 g de resíduo (b.u) foi relatada (em extrato metanólico). Quanto ao teor de CFT no resíduo seco, o esperado era cerca de 1153,9 mg de AG/100 g de resíduo (b.s), no entanto, foi quantificado apenas  $339,3 \pm 0,5$  mg de AG/100 g de resíduo (b.s), o que indica que o processo de secagem não foi efetivo para a quantificação.

Os teores de CFT encontrados para os resíduos, úmido ou seco, destaca-se em relação a resíduos de polpas de outras frutas que recebem interesse por sua alta concentração de fenólicos, tais como: manga (42,30 mg de AG/100 g de polpa), mamão (34,65 mg de AG/100 g de polpa), goiaba (24,66 mg de AG/100 g de polpa) e abacaxi (15,18 mg de AG/100 g de polpa) (SANCHO et al., 2015; SOUSA et al., 2011).

Na fruta, Delva e Goodrich-Schneider (2013) relataram uma concentração máxima de 1628,5 mg de AG/g de acerola e afirmam que os compostos correspondem até 36,5% da atividade antioxidante presente nas propriedades da acerola. Sendo assim, pode-se dizer que o resíduo caracterizado no presente trabalho apresenta consideráveis propriedades antioxidantes.

De forma geral, o resíduo do processamento da polpa de acerola apresentou importantes teores de compostos ativos. Comprovou-se a viabilidade dos processamentos de secagem e

classificação por peneira para a extração de vitamina C e a não eficácia para os CFT e antocianinas. Portanto, o resíduo úmido foi escolhido para dar sequência ao trabalho, pois mostrou ser uma fonte de compostos ativos e o seu uso desta forma é promissor do ponto de vista industrial, já que dispensa processamentos adicionais, barateando a extração e otimizando o tempo.

### 5.3 Otimização e caracterização do extrato de quitosana com ativos

#### 5.3.1 Otimização da extração de compostos ativos do resíduo da polpa de acerola em suspensão de quitosana utilizando metodologia de superfície de resposta

A partir da determinação da concentração ótima de quitosana (3,88 mg/mL no preparo inicial) realizada em teste preliminar, deu-se sequência extraíndo compostos ativos nesta suspensão. A suspensão de quitosana não foi um bom meio de extração para vitamina C e antocianinas. Por outro lado, elevados teores de CFT foram quantificados no extrato, o que justifica a escolha deste composto como resposta para o planejamento proposto.

Nesta etapa, 11 ensaios foram realizados variando a massa inicial de resíduo (b.u) e o tempo de extração em ultrassom de ponteira, conforme obtido por DCCR 2<sup>2</sup>. A resposta para o planejamento foi a quantidade de CFT extraídos em quitosana, apresentados na Tabela 8.

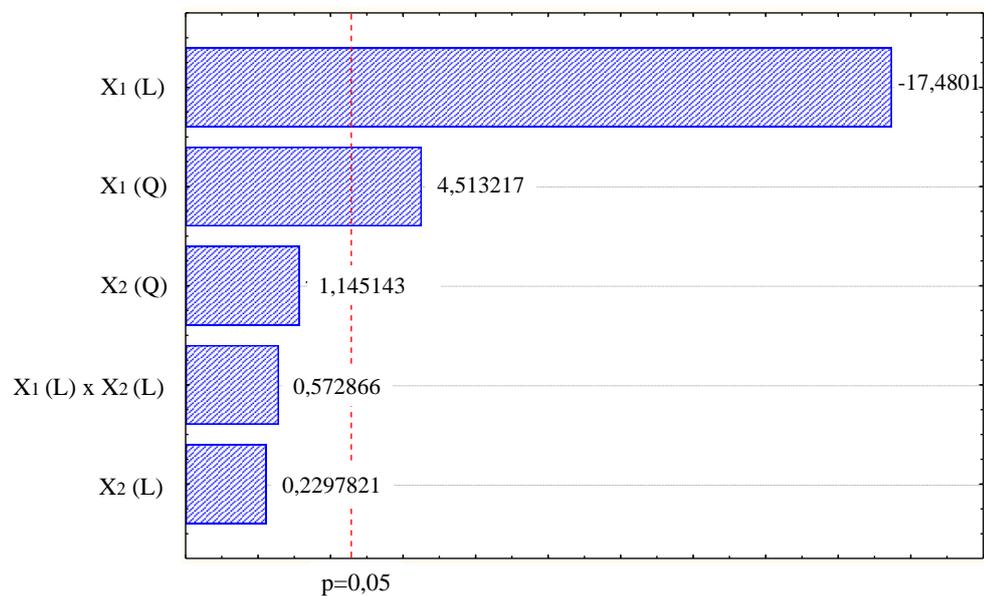
**Tabela 8** - Valores de compostos fenólicos totais (CFT) (mg AG/100 g de resíduo (b.u)) a partir da extração variando a massa inicial de resíduo (b.u) (em g/50 mL de suspensão de quitosana 3,88 mg/mL) e o tempo de extração (min).

Ensaio	Massa inicial de resíduo (X <sub>1</sub> )	Tempo de extração (X <sub>2</sub> )	CFT
1	3,59 (-1)	18,00 (-1)	325,08
2	6,41 (+1)	18,00 (-1)	200,61
3	3,59 (-1)	53,00 (+1)	328,48
4	6,41 (+1)	53,00 (+1)	192,30
5	3,00 (-1,41)	35,00 (0)	355,17
6	7,00 (+1,41)	35,00 (0)	182,09
7	5,00 (0)	10,00 (-1,41)	235,61
8	5,00 (0)	60,00 (+1,41)	243,80
9	5,00 (0)	35,00 (0)	222,51
10	5,00 (0)	35,00 (0)	248,31
11	5,00 (0)	35,00 (0)	229,88

(X<sub>1</sub>) e (X<sub>2</sub>): valores codificados.  
Fonte: Autoria própria.

Através dos resultados da Tabela 8, foi possível avaliar os efeitos da massa inicial de resíduo (b.u) e do tempo de extração no teor de CFT. Pelo diagrama de Pareto (Figura 20), observa-se que os parâmetros quadrático ( $X_1(Q)$ ) e linear ( $X_1(L)$ ) da quantidade de massa inicial de resíduo em relação à suspensão de quitosana tiveram efeito significativo positivo e negativo, respectivamente, o que significa que a diminuição da quantidade de massa inicial, independentemente do tempo da amostra em ultrassom, resulta em um maior teor de CFT pela menor relação resíduo:solvente.

**Figura 20** - Diagrama de Pareto considerando a respostas de teor de compostos fenólicos totais (CFT) com efeito em nível de significância de 95% de confiança ( $p=0,05$ ).



$X_1$  = massa inicial de resíduo (g);  $X_2$  = tempo de extração em ultrassom (min); (L) = referente ao parâmetro linear; (Q) = referente ao parâmetro quadrático.

Fonte: Autoria própria.

Os valores de CFT apresentados na Tabela 8 foram ajustados ao modelo quadrático polinomial segundo o DCCR  $2^2$  a 95% de confiança. Os coeficientes de regressão e a análise de variância (ANOVA) para estas variáveis de resposta estão apresentadas na Tabela 9.

**Tabela 9** - Coeficiente de regressão e análise de variância (ANOVA) para a variável de resposta compostos fenólicos totais (CFT, em mg de AG/100 g de resíduo (b.u)) (Y1).

	CFT (Y1)
$\beta_0$	<b>39,57*</b>
Coeficientes lineares	
$\beta_1$	<b>-17,48*</b>
$\beta_2$	0,23
Coeficientes quadráticos	
$\beta_{11}$	<b>4,51*</b>
$\beta_{22}$	1,14
Interação	
$\beta_{12}$	0,57
$R^2$	0,98
$F_{\text{calculado}}$	27,75
$F_{\text{tabelado1}} (p=0,05)$	3,84
$F_{\text{falta de ajuste}}$	2,20
$F_{\text{tabelado2}} (p=0,05)$	19,33

$F_{\text{calculado}} > F_{\text{tabelado1}}$ : modelo significativo;

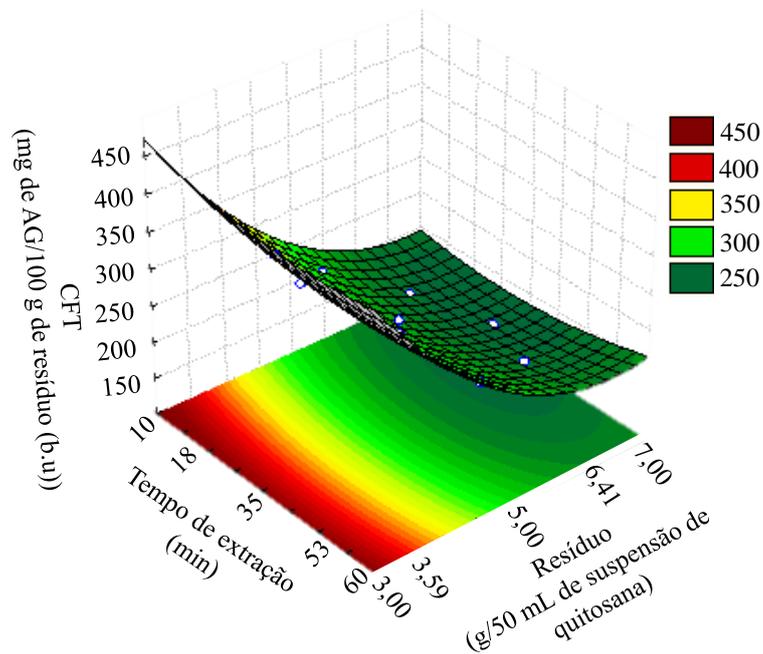
$F_{\text{falta de ajuste}} < F_{\text{tabelado2}}$ : modelo significativo e preditivo,  $p < 0,05$  (95% de confiança) para Y1.

\* Indica significância a 95% de intervalo de confiança.

Fonte: Autoria própria.

Pode-se observar que os coeficientes médios ( $\beta_0$ ), linear referente à massa de resíduo inicial ( $\beta_1$ ) e quadrático, também referente a massa de resíduo inicial ( $\beta_{11}$ ), tiveram efeito significativo a 95% de intervalo de confiança, como já havia sido discutindo anteriormente pelo diagrama de Pareto. O modelo foi significativo, pois observou-se que  $F_{\text{calculado}}$  (27,75) foi maior que  $F_{\text{tabelado1}}$  (3,84) e preditivo, pois  $F_{\text{falta de ajuste}}$  (2,20) foi menor que  $F_{\text{tabelado2}}$  (19,33). Sendo assim, foi possível obter a superfície de resposta, apresentada na Figura 21.

**Figura 21** - Superfície de resposta referente ao teor de compostos fenólicos totais (CFT) variando a massa inicial de resíduo em relação a suspensão de quitosana e o tempo de extração, obtida com nível de significância de 95%.



Fonte: Autoria própria.

É possível observar que o tempo não interfere na extração dos CFT e que, a partir da proporção de 6,41 g de resíduo (b.u) para 50 mL de suspensão de quitosana 3,88 mg/mL, não há alterações nos teores de CFT. Portanto, determinou-se que o ponto ótimo para extração de fenólicos foi a mínima quantidade de resíduo (b.u) (3,00 g) no menor tempo avaliado (10 minutos). O aumento na razão solvente:soluto (3,00 g de resíduo (b.u):50 mL de quitosana 3,88 mg/mL) facilita o acesso do solvente ao subproduto e resulta em maior dissolução dos componentes ativos na suspensão. Enquanto o mínimo tempo de extração utilizando ultrassom de ponteira é justificado pela emissão de micro-ondas de alta frequência capazes de romper rapidamente o tecido da matriz do resíduo e liberar as substâncias ativas no solvente (CHEMAT et al., 2017; REZENDE; NOGUEIRA; NARAIN, 2017).

O ponto determinado como ótimo foi analisado em triplicata e um teor de  $412,3 \pm 13,3$  mg AG/100 g de resíduo (b.u) foi obtido. O estudo de CFT é uma forma de avaliar indiretamente o potencial antioxidante de uma determinada amostra, já que tem como princípio medir o seu poder redutor (KARAKAYA, 2004). Portanto, o alto teor de CFT obtido em quitosana também demonstra a capacidade antioxidante da amostra Q-At. No entanto, é importante ressaltar que o método de Folin-Ciocalteu utilizado neste trabalho não é específico para grupos fenólicos, já que sofre interferências de outras substâncias redutoras (como ácido ascórbico ou açúcares)

(IKAWA et al., 2003). Portanto, é coerente considerar que o alto teor de CFT obtido em quitosana está relacionado às interações entre os CFT e o meio, mas também às interações da suspensão de quitosana com possíveis interferentes. Portanto, não é possível determinar, por esta técnica, quanto dos compostos quantificados são de fato CFT ou interferentes. Por convenção, optou-se por chamar estes compostos redutores de “fenólicos totais” devido ao amplo grupo de substâncias fenólicas (flavonoides e ácidos fenólicos) que são mais comuns de serem encontradas em fontes naturais como o resíduo da acerola (IKAWA et al., 2003; PÉREZ-JIMÉNEZ, 2008).

### 5.3.2 Capacidade antioxidante do extrato de quitosana com ativos

Tendo em vista que a suspensão de quitosana demonstrou ser um bom meio de extração para CFT, os extratos também foram caracterizados e comparados de acordo com a sua capacidade antioxidante, estudada pelos métodos de redução do ferro (FRAP) e de sequestro de radical livre ABTS<sup>•+</sup>.

Para comparação, extratos utilizando etanol e água como meios de extração de CFT também foram estudados. A extração foi realizada na mesma condição já determinada como ótima para Q-At: 3,00 g de resíduo (b.u) em 50 mL de solução/suspensão extratora submetidos a 10 minutos de extração.

Os teores de CFT (em mg de AG/100 g de resíduo (b.u)) e as capacidades antioxidantes (em  $\mu\text{mol TEq/g}$  de resíduo (b.u)) para cada um dos extratos estão apresentados na Tabela 10.

**Tabela 10** - Teor de compostos fenólicos totais (CFT, em mg de AG/100 g de resíduo (b.u)) e capacidades antioxidantes pelos métodos de ABTS.<sup>+</sup> e FRAP ( $\mu\text{mol}$  de TE/g de resíduo (b.u)) para extratos de compostos ativos em quitosana 3,88 mg/mL, água mili-Q ou etanol 100%.

Meio de extração	CFT	ABTS <sup>+</sup>	FRAP
Quitosana 3,88 mg/mL	412,3 $\pm$ 13,3 <sup>b</sup>	18,7 $\pm$ 1,8 <sup>a</sup>	64,2 $\pm$ 2,3 <sup>a</sup>
Água	587,8 $\pm$ 14,9 <sup>a</sup>	11,1 $\pm$ 1,0 <sup>b</sup>	63,0 $\pm$ 4,2 <sup>a</sup>
Etanol 100%	372,8 $\pm$ 15,3 <sup>c</sup>	10,6 $\pm$ 0,8 <sup>b</sup>	21,4 $\pm$ 0,6 <sup>b</sup>

<sup>a, b, c</sup>: Análise estatística obtida por Turkey ( $p < 0,05$ ). Letras diferentes na mesma coluna mostram que houve diferenças significativas entre os resultados.

Fonte: Autoria própria.

O maior teor de CFT foi obtido em extrato aquoso (575,5  $\pm$  7,2 mg de AG/100 g de resíduo), seguido pelo extrato de quitosana 3,88 mg/mL (412,0  $\pm$  0,0 mg de AG/100 g de resíduo) e, por último, pelo extrato de etanol 100% (372,8  $\pm$  15,3 mg de AG/100 g de resíduo) (Tabela 10). De acordo com Santos et al. (2017) e Kuskoski et al. (2006), os CFT são os

principais responsáveis pela atividade antioxidante de uma determinada espécie. Sendo assim, já era esperado que as medidas antioxidantes para extratos de quitosana e água fossem maiores que para o extrato de etanol, coincidindo de forma proporcional com os teores de CFT.

Estudos anteriores já demonstraram a eficiência de extração de compostos ativos ou antioxidantes em soluções mistas de solventes aquosos e orgânicos, com diferentes polaridades que colaboram para a extração de compostos com diferentes estruturas químicas (PROESTOS; KOMAITIS, 2008; WANG et al., 2008; LIYANA-PATHIRANA; SHAHIDI, 2005). Isso justifica o fato de o extrato etanólico apresentar o menor teor de CFT, bem como menores valores para a capacidade antioxidante, já que, ao utilizar-se um único solvente orgânico, a extração foi limitada aos componentes que interagiram e dependiam exclusivamente das condições deste meio (polaridade e pH, por exemplo). No caso da água, apesar de também ter sido utilizado um único solvente para a extração, a polaridade é maior, favorecendo a interação com os CFT do resíduo da acerola, cuja predominância de moléculas com grupos polares (como quercetina e kaempferol) em sua composição já é conhecida (BATAGLION et al., 2015). Portanto, o alto teor de CFT ( $412,8 \pm 0,0$  mg de AG/100 g de resíduo (b.u)) obtido em suspensão de quitosana pode ser explicado pela composição do meio, que consistiu em uma alta porcentagem de solução aquosa associada a presença de componentes orgânicos (como o ácido acético e a própria quitosana), e a sua boa interação com os grupos funcionais dos CFT.

A suspensão de quitosana mostrou ser um bom meio de extração para agentes antioxidantes, além de ser um método inovador neste sentido, pois combina um método de extração rápido para posterior produção de nanopartículas de quitosana pela técnica de gelificação iônica.

## **5.4 Encapsulação dos compostos ativos pela técnica de gelificação iônica e caracterização das nanopartículas carregadas com ativos**

### **5.4.1 Eficiência de encapsulação dos compostos fenólicos totais**

Após a produção das nanopartículas utilizando a suspensão de quitosana com ativos, obteve-se uma eficiência de encapsulação dos CFT de  $52\% \pm 1$ . Isso significa que mais da metade dos CFT extraídos em quitosana foram encapsulados, enquanto o restante foi mantido livre em suspensão. Como as partículas obtidas neste trabalho apresentaram cerca de 295 nm, foi necessário empregar uma força centrífuga para separar a porção encapsulada, mas, ainda assim, não é garantido que 100% do encapsulado tenha sido identificado, já que as

nanopartículas podem ser mantidas na suspensão livre de extrato (a qual foi considerada como porção não encapsulada). Ainda assim, a porcentagem de encapsulação dos CFT provenientes de uma fonte natural foi maior do que o que já foi estudado na literatura para antioxidantes sintéticos, como o padrão de ácido ascórbico, em que a eficiência de encapsulação variou de 15 a 28% (BRITTO et al., 2014; BRITTO et al., 2012).

A alta eficiência de encapsulação destes CFT pode ser justificada pela boa interação entre os sítios livres do complexo Q-At e o TPP, resultando na formação das NpQ-At, cuja organização mais provável é o esquematizado por Matalanis, Jones e McClements (2011) nas Figuras 5B e C, em que o CFT foram mantidos coesos por ligações eletrostáticas por toda a rede que é formada entre o TPP e o Q-At.

#### 5.4.2 Tamanho de partículas, morfologia e potencial Zeta

A análise de distribuição de tamanho de partículas para as NpQ e para as NpQ-US permitiu verificar a influência do processo de ultrassom na estrutura da quitosana. Para as NpQ-At, a análise permitiu comprovar a encapsulação dos CFT pelo aumento do tamanho.

Na Tabela 11 são apresentados os valores de tamanho das nanopartículas, índice de polidispersividade e potencial Zeta. Na Figura 22, é mostrado o perfil representativo de distribuição de tamanho para as nanopartículas.

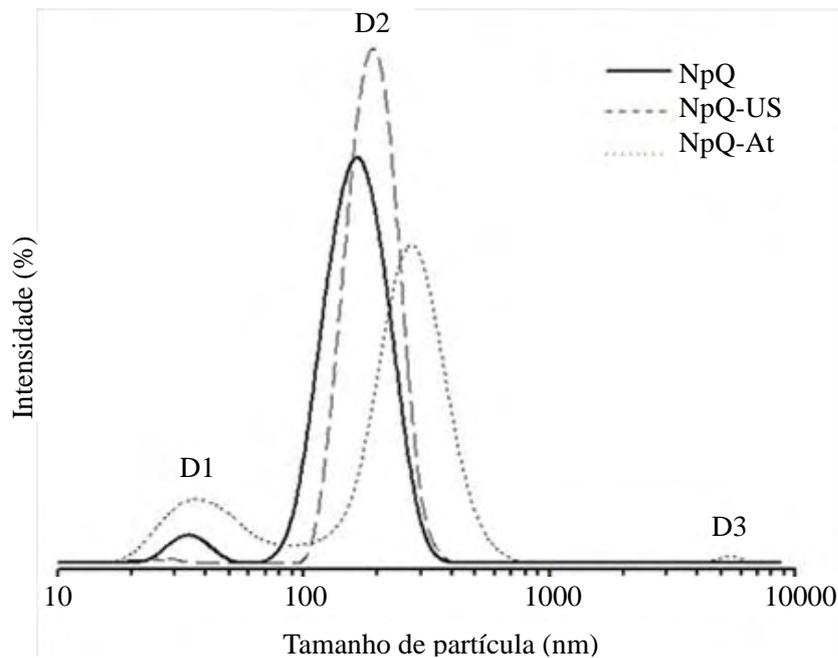
**Tabela 11** – Valores de distribuição de tamanho de partículas (D1, D2 e D3, em nm), índice de polidispersividade (IDP) e potencial Zeta (em mV) para as NpQ, NpQ-US e NpQ-At.

	<b>D1</b>	<b>D2</b>	<b>D3</b>	<b>IDP</b>	<b>Potencial Zeta</b>
NpQ	33	164	-	0,28 ± 0,2	+ 28,0 ± 2,0 <sup>b</sup>
NpQ-US	-	190	-	0,17 ± 0,1	+ 31,8 ± 0,7 <sup>a</sup>
NpQ-Ac	38	295	5339	0,47 ± 0,0	+ 27,4 ± 0,9 <sup>b</sup>

<sup>a, b, c</sup>: Análise estatística obtida por Turkey ( $p < 0,05$ ). Letras diferentes na mesma coluna mostram que houve diferenças significativas entre os resultados.

Fonte: Autoria própria.

**Figura 22** - Gráfico de distribuição do tamanho de partículas para as NpQ, NpQ-US e NpQ-At.



Fonte: Autoria própria.

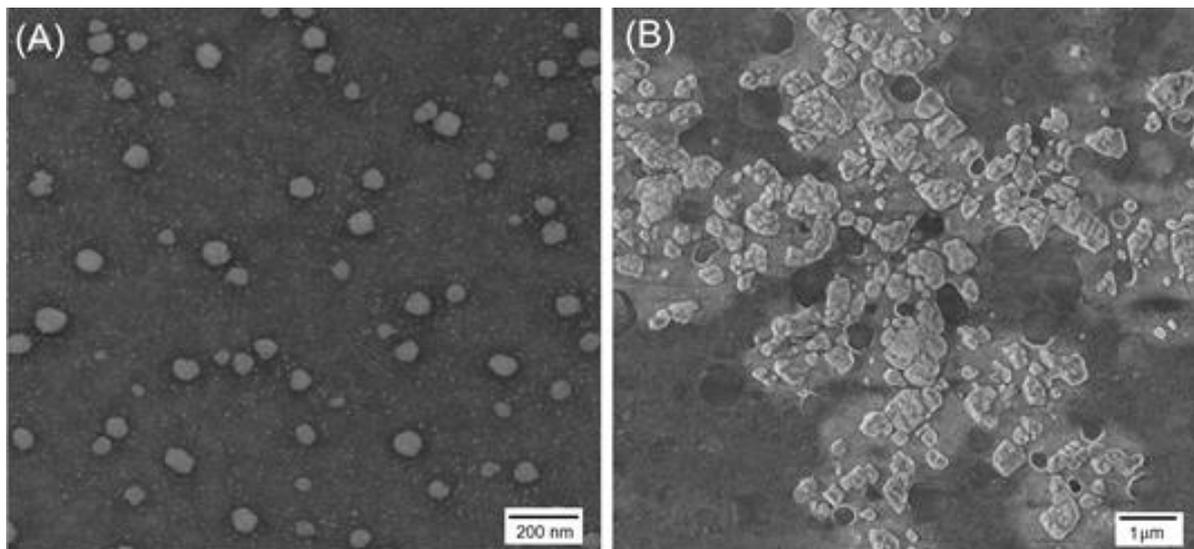
As NpQ são caracterizadas por uma distribuição bimodal bem definida, com um pico em 33 nm (D1), que corresponde a 8% da fração de nanopartículas, e um pico de maior intensidade em 164 nm (D2), que corresponde a fração restante (92%). As NpQ-US apresentaram um perfil mais homogêneo, com um único pico concentrado em 190 nm (D2). Este perfil pode ser associado ao efeito do ultrassom de ponteira, que promove a decomposição das moléculas de quitosana agregadas em grupos menores, favorecendo as interações com o TPP. A distribuição monomodal e mais estreita para as NpQ-US é confirmada pelo IDP, cujo valor é inferior ao observado para as outras amostras. Um valor mais alto de potencial Zeta para NpQ-US também indicou que o ultrassom reduziu a tendência de formação de agregados. Para as NpQ-At, observa-se que o uso de ultrassom para extrair os CFT associado ao posterior processo de gelificação para aprisionar estes compostos resultou em um perfil trimodal de distribuição. Um pico amplo e pouco intenso é observado em 38 nm (D1), compreendendo a 16% do total de nanopartículas formadas. Um segundo pico, que corresponde a maior fração de nanopartículas (82%), é observado em 295 nm. Por último, 2% da fração total é observada em 5339 nm (D3), correspondendo a aglomerações ou impurezas.

As diferenças entre nanopartículas de ativos e vazias estão relacionadas à competição entre os grupos amino da quitosana e os locais interativos no TPP e nos compostos extraídos. Na formação de partículas vazias, o número de grupos amino livres no esqueleto da quitosana é maior do que aqueles após a extração de CFT, em que os sítios da quitosana interagem com

os componentes. Portanto, a reticulação entre a quitosana e o TPP é maior do que a reticulação entre o complexo Q-At e o TPP, o que explica a distribuição irregular e dispersa dos tamanhos, que pode ser confirmada pelo maior valor de IDP. O número de sítios livres para a reticulação está também relacionado a carga superficial das nanopartículas, o que pode ser observado pela diferença significativa entre os valores de potencial Zeta das NpQ-US e as NpQ-At, indicando que a estabilidade das cargas foi influenciada pela presença dos CFT. Este perfil de comportamento, em que observa-se um aumento no diâmetro de partícula e uma diminuição no potencial Zeta, também foi relatado por Britto et al. (2012) na encapsulação de vitamina C e vitamina B12 pelo sistema de gelificação iônica utilizando quitosana:TPP. Nascimento et al. (2019) também encapsularam o extrato do resíduo de acerola pelo sistema de gelificação iônica, obtendo um diâmetro em torno de 220 nm e potencial Zeta de +21 nm, valores muito próximos aos obtidos neste trabalho.

O perfil de distribuição de tamanho das NpQ e NpQ-At foi observado por microscopia. A imagem das NpQ (Figura 23A) revela nanopartículas quase esféricas com distribuição de tamanho semelhante à indicada na Tabela 11. As NpQ-At (Figura 23B) apresentaram um aspecto granular, que pode estar associado a coalescência espontânea que ocorreu durante a preparação da amostra para a microscopia.

**Figura 23** - Imagem de microscopia (MEV-FEG) para as (A) NpQ e (B) NpQ-At.



Fonte: Autoria própria.

### 5.4.3 Espectroscopia na região do Infravermelho por Transformada de Fourier

A técnica de espectroscopia de infravermelho refere-se a identificação de grupos de átomos que aparecem na forma de bandas de um dado espectro. Como cada comprimento de onda de uma absorção depende das massas relativas dos átomos, das constantes de formação das ligações e da geometria dos átomos, é possível identificar grupos funcionais específicos de cada um dos ensaios. Neste trabalho, a técnica foi utilizada para fins qualitativos, a fim de confirmar a formação de nanopartículas (NpQ e NpQ-At) e a extração de compostos ativos em suspensão de quitosana (Q-At). Para comparação, espectros de Q e TPP puros também foram analisados (Figura 24).

O espectro de TPP é caracterizado por picos intensos na faixa de 1208 e 1135  $\text{cm}^{-1}$ , relacionados à vibração simétrica e assimétrica de alongamento dos grupos fosfato ( $-\text{PO}_2$ ). O pico em 884  $\text{cm}^{-1}$  é referente ao alongamento assimétrico de P–O–P (ANTONIOU et al., 2015).

No espectro de Q, bandas típicas são observadas nas regiões de 3320 e 2870  $\text{cm}^{-1}$ . A banda em 3320  $\text{cm}^{-1}$  corresponde ao alongamento axial de  $-\text{OH}$ , que pode ser sobreposto aos picos de ligação N–H. Na região de 2870  $\text{cm}^{-1}$ , uma pequena banda é identificada e atribuída à deformação axial do C–H (ANTONIOU et al., 2015; CHAVES et al., 2009). A banda em 1648  $\text{cm}^{-1}$  é atribuída ao grupo  $-\text{CONH}_2$  da amina primária e está associada à deformação axial de C=O, referente a possíveis remanescentes de quitina ainda presentes na quitosana. A banda ao lado, em menor intensidade e em torno de 1570  $\text{cm}^{-1}$ , é atribuída à amina secundária ( $-\text{NH}$ ). O pico amplo em 1026  $\text{cm}^{-1}$  indica vibração de alongamento de C–O (MARTINS et al., 2012; XU; DU, 2003).

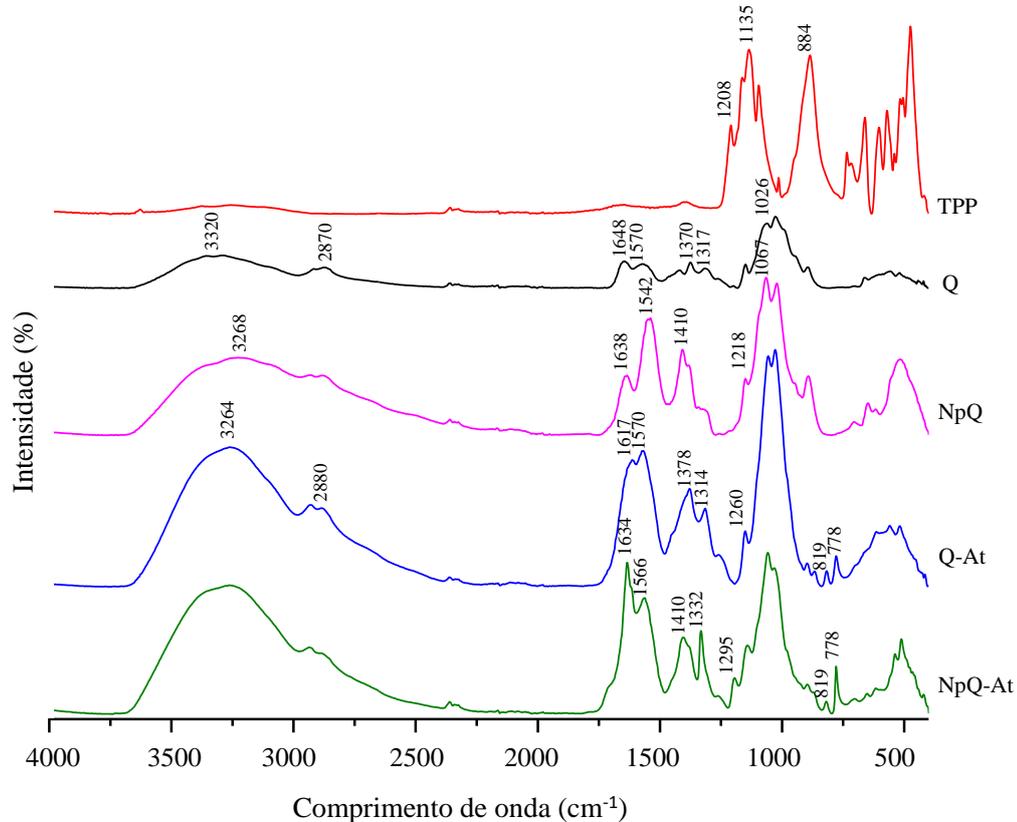
Após o processo de gelificação iônica, são observadas bandas específicas para as NpQ. O deslocamento da banda de 3320  $\text{cm}^{-1}$  da Q para 3268  $\text{cm}^{-1}$  sugere que houve alterações nas ligações de hidrogênio nos grupos  $-\text{OH}$ . O pico em 1208  $\text{cm}^{-1}$ , referente ao alongamento de P–O na estrutura do TPP, apareceu no espectro de NpQ em 1218  $\text{cm}^{-1}$  como resultado da reticulação entre quitosana e TPP (ANTONIOU et al., 2015; MARTINS et al., 2012; QI et al., 2004). No espectro de Q, as vibrações de pico referentes à amina primária (1648  $\text{cm}^{-1}$ ) e secundária (1570  $\text{cm}^{-1}$ ) são deslocadas para 1638 e 1542  $\text{cm}^{-1}$  no espectro de NpQ, sinais atribuídos a protonação destes grupos, que formam  $\text{NH}_3^+$  quando em solução de ácido acético 1% (ANTONIOU et al., 2015; QI et al., 2004). Os picos em 1370 e 1317  $\text{cm}^{-1}$  no espectro de Q desaparecem no espectro de NpQ e, em 1410  $\text{cm}^{-1}$ , um novo pico é observado, indicando a presença dos grupos P–O. Os sinais mostram que a reticulação foi eficaz por meio de interações

iônicas entre porções P–O com carga negativa dos grupos fosfato do TPP e porções protonadas  $\text{NH}_3^+$  das cadeias de quitosana (MARTINS et al., 2012).

O pico de  $3320\text{ cm}^{-1}$  no espectro de Q é deslocado para  $3264\text{ cm}^{-1}$  no espectro de Q-At e um aumento considerável na intensidade é observado, o que está relacionado à vibração –OH, grupo presente na molécula de quitosana e também nas moléculas de compostos do subproduto da acerola, como álcoois, fenóis e ácidos. O pico em  $2880\text{ cm}^{-1}$  é atribuído às vibrações simétricas de alongamento de compostos contendo C–H<sub>2</sub>. O sinal em  $1570\text{ cm}^{-1}$  está associado à presença de lignina, proveniente de remanescentes da porção fibrosa do resíduo, enquanto os sinais observados em  $1378$ ,  $1313$  e  $1245\text{ cm}^{-1}$  estão relacionados às vibrações de N–H (SILVA et al., 2020). A banda em  $1260\text{ cm}^{-1}$  refere-se ao alongamento C–O, característica de CFT (SCHULZ; BARANSKA, 2007). Os picos observados em  $819$  e  $787\text{ cm}^{-1}$  são causados pela deformação de grupos C–H, característicos da estrutura aromática dos polifenóis (BELWAL et al., 2018; MARQUES et al., 2016; RAMOS-TEJADA et al., 2002).

Após a formação de partículas de ativos, o espectro de NpQ-At apresenta vibrações semelhantes às observadas para Q-At. A principal diferença entre eles é a mudança na intensidade de alguns picos, como observado em  $1634\text{ cm}^{-1}$  e  $1566\text{ cm}^{-1}$  e em  $1410\text{ cm}^{-1}$  e  $1332\text{ cm}^{-1}$ , além de uma nova vibração que aparece em  $1295\text{ cm}^{-1}$ . Todas as mudanças estão relacionadas à interação iônica entre quitosana e TTP, como discutido anteriormente.

**Figura 24** - Espectros de FT-IR para TPP e Q puros e liofilizados de NpQ, Q-At e NpQ-At.



Fonte: Autoria própria.

#### 5.4.4 Análise Termogravimétrica

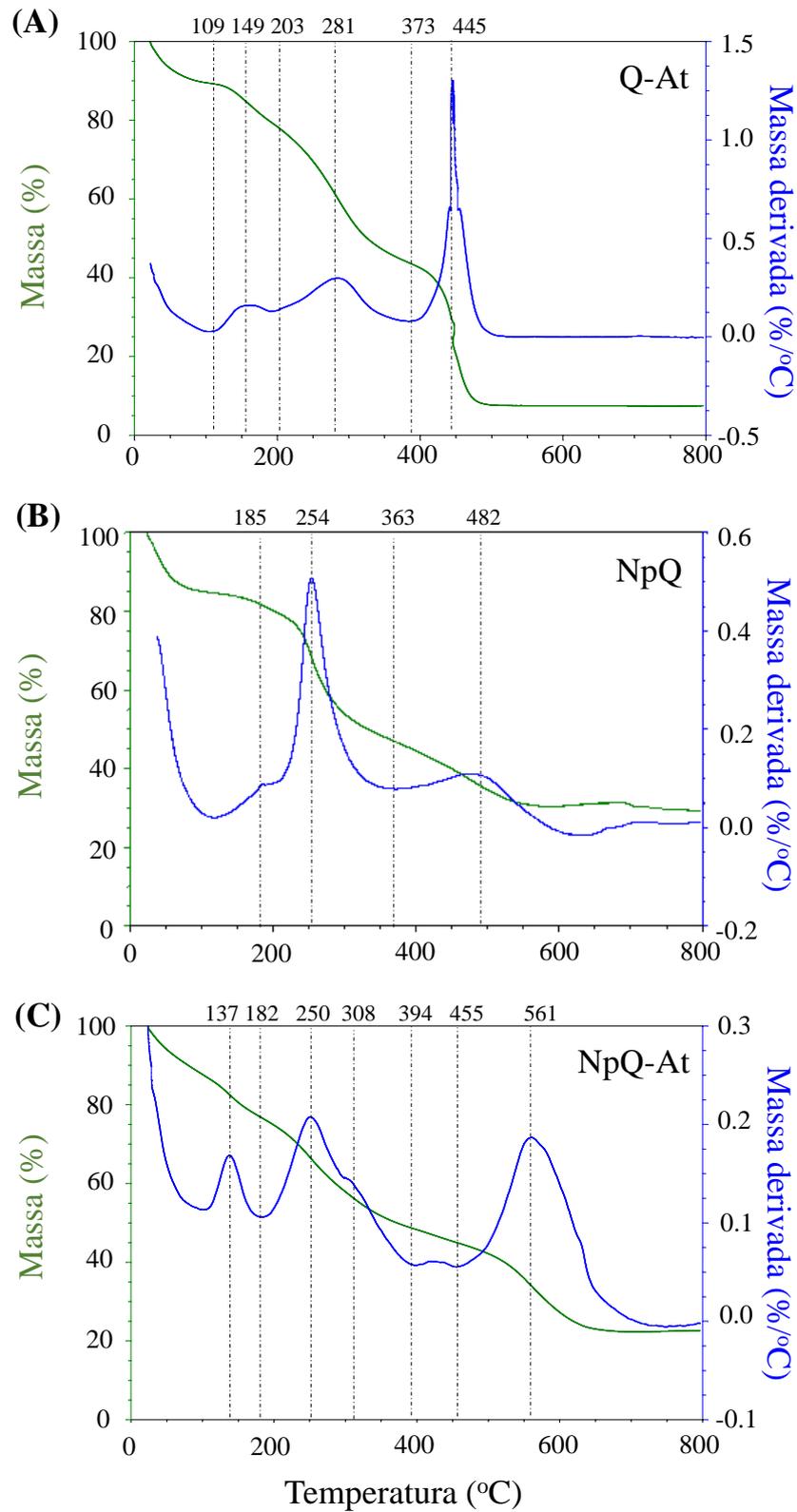
A análise termogravimétrica permitiu analisar a estabilidade do sistema em função da temperatura. A Figura 25 apresenta as curvas obtidas para (A) Q-At, (B) NpQ e (C) NpQ-At.

Em todas as curvas há predominância do perfil térmico da quitosana, pois este é o componente mais estável. Para Q-At (Figura 25A) são observados múltiplos eventos térmicos, iniciando pela evaporação da maioria dos constituintes voláteis, principalmente a água, com descolamento máximo em torno de 109 °C (diminuição de 11% da massa total). A curva indica duas degradações lentas: a 109 °C, atribuída ao extrato de compostos aquosos e voláteis do subproduto da acerola, e a 203 °C, atribuída ao início da decomposição das unidades acetiladas e desacetiladas da estrutura da quitosana. As degradações térmicas ocorrem predominantemente na faixa de 203 a 373 °C, com redução de massa de 33,2%. Neste intervalo, supõe-se que todos os compostos extraídos já estejam comprometidos e degradados. Acima desta temperatura, um pico intenso centrado em 445 °C (perda de massa total de 62,8%) indica um processo de carbonização mais rápido até a completa pirólise, terminando em uma massa residual de 7,6%.

As NpQ (Figura 25B) mostram um perfil térmico típico conforme relatado no sistema de quitosana:TPP. Após a evaporação da umidade (7,6%), um evento intenso a partir de 185 °C e concluído a 363 °C, com máxima degradação a 254°C, indica despolimerização irreversível devido à divisão da estrutura de quitosana associada à clivagem das ligações entre as moléculas de quitosana e TPP (ALI; RAJENDRAN; JOSHI, 2011). Um evento menos intenso e lento perto de 482 °C refere-se à pirólise das estruturas restantes, resultando em uma massa residual de 31%.

O comportamento térmico do sistema carregado (NpQ-At, Figura 25C) apresenta decomposição em cinco fases, com uma inclinação suave do termograma, apontando para uma estrutura mais estável. Após a evaporação da água (11,5%), os eventos seguintes estão associados à evaporação de compostos aquosos e voláteis presos nas cápsulas de quitosana: TPP (a 137 ° C). De 182 °C a 394 °C, as ligações iônicas e a estrutura da quitosana são degradadas, porém mais lentamente (0,21%/°C) do que o observado para as NpQ (0,30%/°C, Figura 26B). A 308 °C, um decaimento reflete a ruptura de ligações mais fortes estabelecidas entre a quitosana e a lignina restante em suspensão, como observado nos espectros de FTIR. A decomposição geral da estrutura ocorre em temperaturas mais altas. A massa residual após o ciclo térmico é medida em 22,6%, valor superior ao observado para Q-At (7,6%), sendo um indicativo de uma melhor estabilidade térmica do sistema encapsulado.

**Figura 25** - Termogramas para liofilizados de (A) Q-At, (B) NpQ e (C) NpQ-At.



Fonte: Autoria própria.

## 5.5 Aplicação de coberturas ativas em goiabas frescas

### 5.5.1 Teor de compostos fenólicos totais nas coberturas ativas

Na Tabela 12 são apresentados os valores de pH para as suspensões de cobertura no dia de preparo e 18 dias depois. Para as suspensões contendo ativos, é também apresentado os teores de CFT. Para as NpQ-At, a eficiência de encapsulação dos CFT foi verificada.

**Tabela 12** - Valores de pH, teor de compostos fenólicos totais (CFT, em mg de AG/100 g de resíduo (b.u)) e EE (%) dos CFT.

Suspensão de cobertura	pH		CFT		EE	
	Dia 1	Dia 18	Dia 1	Dia 18	Dia 1	Dia 18
Q	4,1	3,9	-	-	-	-
NpQ	4,1	4,2	-	-	-	-
Q-At	3,9	4,0	206,1 ± 6,0	95,7 ± 1,2	-	-
NpQ-At	4,1	4,2	244,3 ± 5,0	109,5 ± 7,7	52 ± 1	37 ± 10

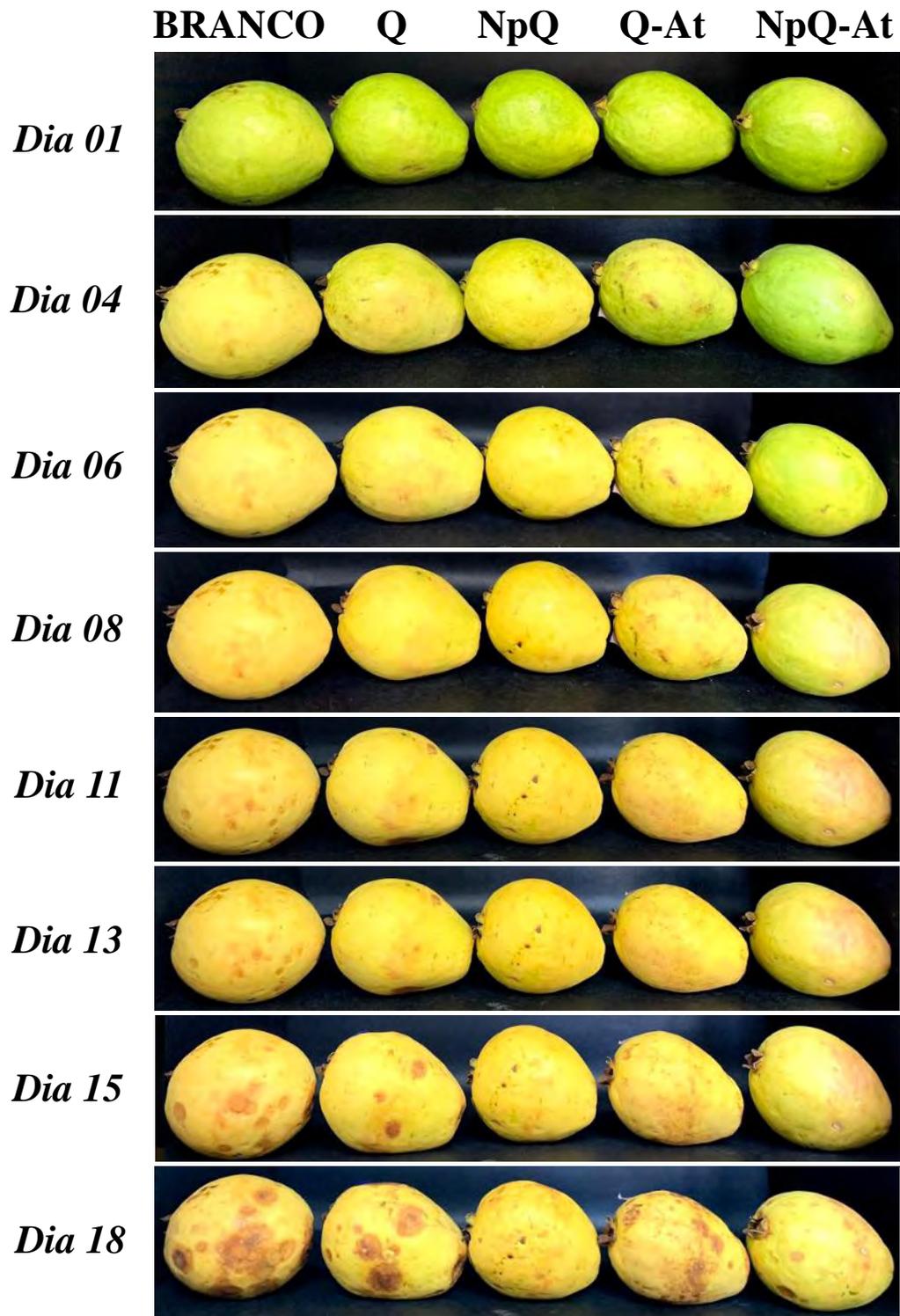
Fonte: Autoria própria.

Não houve alterações significativas no pH das soluções ao longo dos 18 dias. Também não houve diferença na degradação de CFT para as suspensões de ativos encapsulados (NpQ-At, degradação de 55%) ou não (Q-At, degradação de 53%). No entanto, a maior porção de CFT que degradou para a suspensão de NpQ-At está relacionada a porção que estava livre em suspensão de quitosana (porção não encapsulada), já que, ao final dos 18 dias, a eficiência de encapsulação dos CFT nas nanopartículas ainda era de 37%, indicando que apenas 15% dos CFT das nanopartículas degradaram. Assim, espera-se que, a longo prazo, os teores de CFT livres em suspensão degradem exponencialmente com o tempo antes que ocorra a degradação dos CFT encapsulados, que ainda estarão retidos nas nanopartículas.

### 5.5.2 Caracterização das goiabas

Uma análise subjetiva da qualidade das frutas é através da sua aparência, o primeiro ponto a ser observado pelo consumidor, já que que a coloração e ausência de danos aparentes são parâmetros exigidos no momento da compra (NAIRA; SAXENA; KAURB, 2018). Na Figura 26 são apresentadas as replicatas de cada grupo de goiabas, com ou sem coberturas, ao decorrer de 18 dias de armazenamento. As análises seguintes foram feitas até o dia 15, pois as frutas do dia 18 não estavam mais adequadas para consumo.

**Figura 26** - Replicata de goiabas sem cobertura (BRANCO) e com coberturas (Q, NpQ, Q-At e NpQ-At) utilizadas para análises.



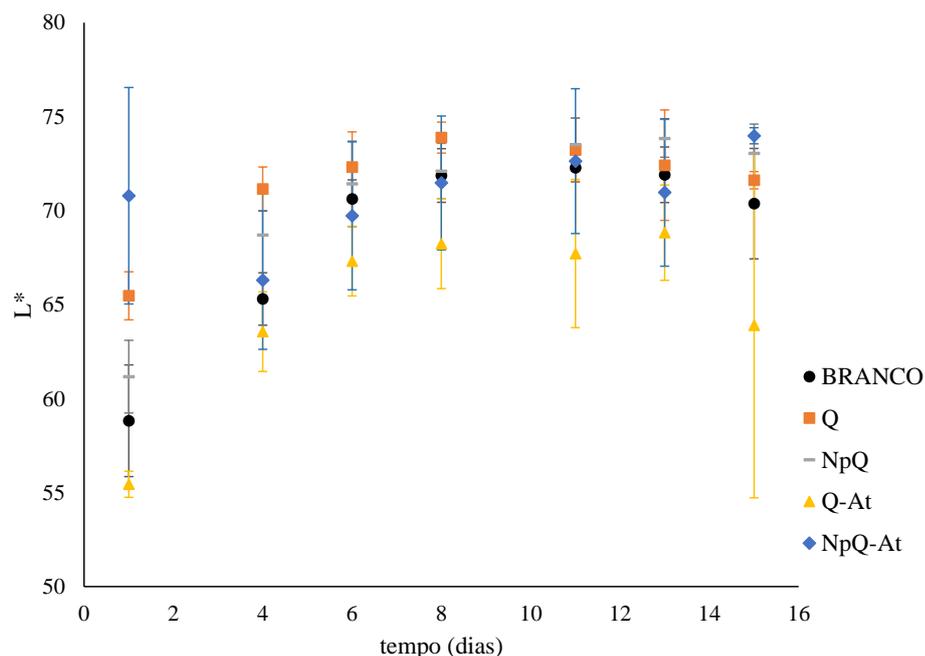
Fonte: Autoria própria.

Os valores de  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$  utilizados na análise de cor estão apresentados no Apêndice D (Tabela 1).

O parâmetro  $L^*$  é referente à luminosidade da casca, indo de 0 (escuro/opaco) a 100 (branco). Para todos os tratamentos, houve um perfil semelhante na variação de  $L^*$  (Figura 27), em que observa-se um aumento de luminosidade ao decorrer de 11 dias de armazenamento e um decaimento a partir do 11º dia. Isso ocorre porque, como a goiaba é uma fruta climatérica (cujo processo de maturação continua a ocorrer no período pós-colheita), a tendência é que ocorra um aumento da intensidade da cor da casca em um primeiro momento pós-colheita (indo de verde intenso para amarelo intenso) e uma diminuição ao longo do armazenamento (indo de amarelo intenso para amarelo opaco, passando pelos primeiros sinais de podridão até ficar completamente madura e escurecida). Portanto, à medida que a casca da fruta escurece e perde parte da luminosidade, os valores de  $L^*$  começam a diminuir (CERQUEIRA et al., 2011; SÁ et al., 2008).

Não houve diferenças significativas para  $L^*$  entre os tratamentos no último dia de análise, no entanto, é possível observar que os valores de luminosidade do dia 1 para o dia 15 foram mais uniformes para as goiabas recobertas com NpQ-At (70,70 no dia 1 e 73,98 no dia 15). Este parâmetro é evidenciado pela Figura 26, em que o tratamento utilizando NpQ-At foi o que manteve uma maior homogeneidade na intensidade de coloração e o que mais demorou a demonstrar sinais de escurecimento dos tecidos.

**Figura 27** - Luminosidade (parâmetro  $L^*$ ) das goiabas durante 15 dias de armazenamento.



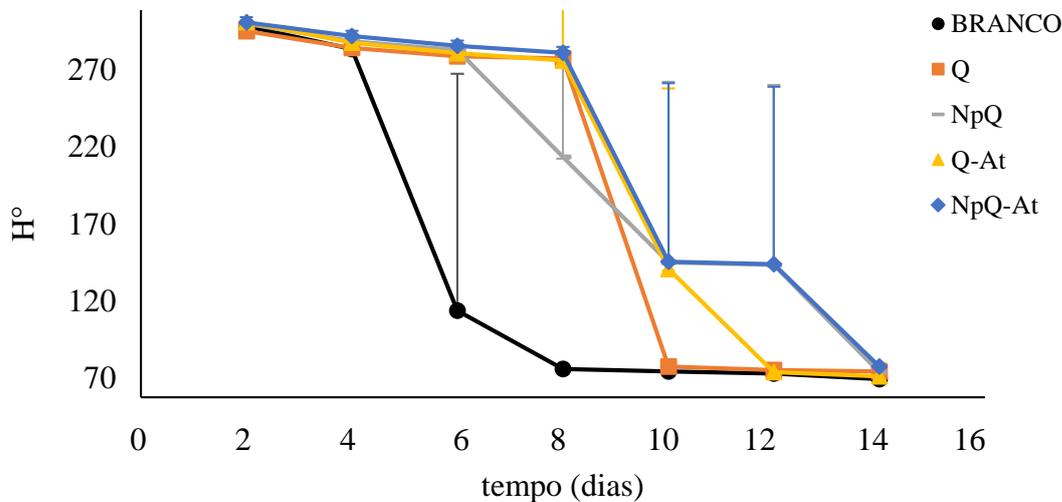
Fonte: Autoria própria.

Os valores de  $a^*$  estão relacionados a variação de cor entre verde (-a) e vermelho (+a), enquanto o parâmetro  $b^*$  está relacionado a variação de cor entre azul (-b) e amarelo (+b). A partir dos valores de  $a^*$  e  $b^*$  foi possível analisar o ângulo Hue das cascas das frutas (Apêndice D, Tabela 2). O  $H^\circ$  é um atributo qualitativo de cor. Graficamente, considera-se o ângulo de  $0^\circ$  como a cor vermelha, o ângulo de  $90^\circ$ , amarelo, o ângulo de  $180^\circ$ , verde, e o ângulo de  $270^\circ$ , azul (PATHARE; OPARA; AL-SAID, 2013). Na Figura 28, é apresentado o gráfico de  $H^\circ$  em função do tempo de armazenamento para cada tratamento.

Observa-se que, no 4º dia, as amostras sem cobertura já apresentavam uma diminuição acentuada de  $H^\circ$ , que vai de  $276,90^\circ$  (4º dia) para  $121,47^\circ$  (6º dia), indicando que foi a primeira a iniciar a mudança de coloração de verde para amarelo. Para as amostras cobertas com suspensões não particuladas, uma diminuição acentuada de  $H^\circ$  ocorre apenas a partir do 8º para o 11º dia: indo de  $271,25^\circ$  para  $86,20^\circ$  para Q e de  $270,18^\circ$  para  $146,11^\circ$  para Q-At. Os tratamentos com nanopartículas (NpQ e NpQ-At) tiveram uma variação de  $H^\circ$  mais gradual ao longo do tempo, o que está associado a interação da maior área superficial das nanopartículas com a casca das frutas. Para o tratamento com NpQ-At, há ainda uma menor variação de  $H^\circ$  ao final da análise, indicando o efeito positivo dos ativos encapsulados.

A perda de cor verde está relacionada à degradação da molécula de clorofila, envolvendo a enzima clorofilase. O aumento da atividade enzimática está associado a produção de etileno durante o amadurecimento das frutas, que leva a uma degradação da clorofila e, conseqüentemente, mudança de coloração do verde para amarelo. A preservação da coloração verde observada para as frutas cobertas, principalmente com NpQ-At, cuja pigmentação esverdeada manteve-se até o 13º dia, pode estar associada à formação de uma atmosfera entre a superfície da fruta e a superfície da cobertura, que prolonga a degradação dos pigmentos pela ausência de oxigênio, retardando o desenvolvimento de cores indesejáveis (ARROYO et al., 2019; PÉREZ-GUZMÁN; SAUCEDO-VELOZ; ARANA-ERRASQUIN, 1999).

**Figura 28** - Variação do ângulo Hue ( $H^\circ$ ) para as goiabas ao longo de 15 dias de armazenamento.



Fonte: Autoria própria.

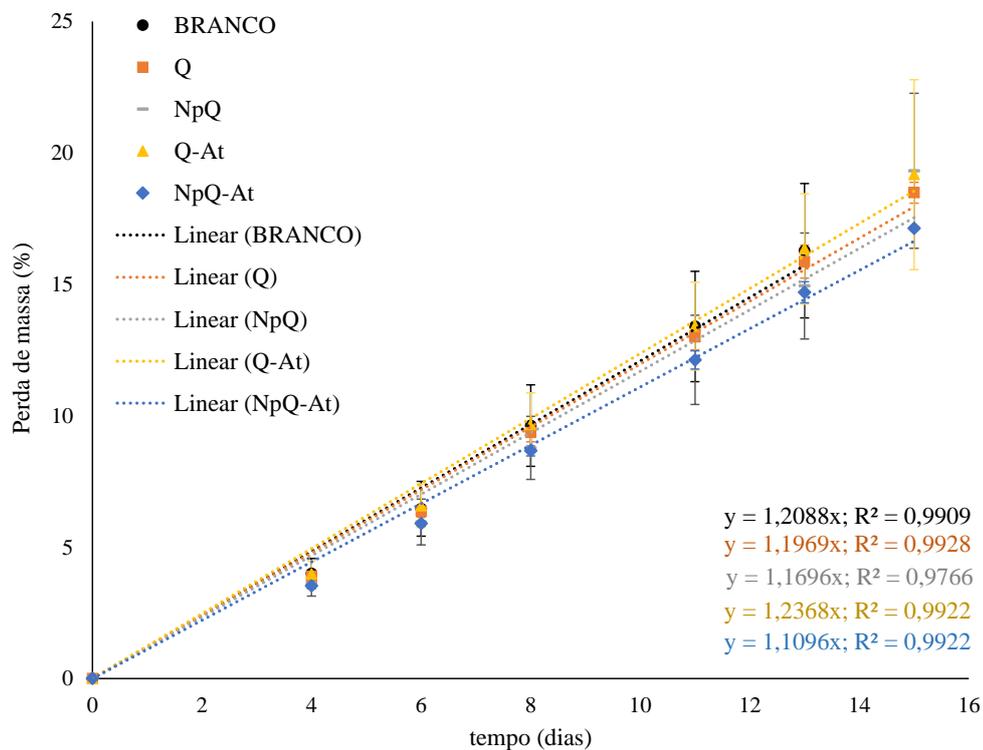
Durante os 15 dias de armazenamento, todas as amostras apresentaram perdas de massa contínuas (Apêndice D, Tabela 3). As goiabas cobertas com NpQ-At apresentaram a menor taxa de perda de massa ao final dos 15 dias (17,13%) em comparação aos outros tratamentos. Apesar deste valor não ser estatisticamente significativo quando comparado aos demais, observou-se que a taxa de diminuição diária de massa para as amostras cobertas com NpQ-At foi de 1,11%/dia, enquanto as perdas nos demais tratamentos variaram entre 1,20 e 1,24%/dia (Figura 29), o que permitiu concluir que houve um efeito de barreira à transpiração da fruta.

A perda de massa da fruta está diretamente relacionada a perda de água, já que é uma forma de minimizar a difusão e a transpiração, mas não é a única consequência deste fator e, portanto, deve estar relacionada com outras características durante o amadurecimento. No período pós-colheita, a perda de água desintegra a membrana celular e causa outras alterações irreversíveis na fruta, como o murchamento, perda de brilho e podridão aparentes (DIAZ-PÉREZ, 2019). Estas características indesejáveis foram observadas no tratamento sem cobertura entre os 8º e 11º dias de análise, enquanto as demais frutas permaneciam adequadas para o consumo até o dia 13. No dia 15, as únicas frutas que ainda não apresentavam sinal de podridão eram aquelas recobertas com NpQ-At (Figura 26).

Os resultados indicaram que todas as coberturas foram efetivas na preservação das características físicas ao longo de 13 dias, mas que apenas a cobertura de NpQ-At resultou em uma menor perda de massa em relação ao controle e menos danos aparentes no decorrer de todo o período de armazenamento (15 dias). A maior eficiência da cobertura de NpQ-At está relacionada tanto à área superficial das nanopartículas quanto à presença dos ativos. No entanto,

melhorias podem ser realizadas a fim de otimizar esta cobertura. Um estudo realizado por Cerqueira et al. (2011) mostrou que a variação na perda de massa diminui conforme aumentasse a concentração de quitosana em suspensão, sendo que soluções de quitosana a 6% foram as que melhor evitaram a perda de massa ao decorrer do armazenamento. Assim, uma alternativa para melhorar o papel da cobertura de NpQ-At em relação a perda de massa seria aumentar a concentração de nanopartículas em suspensão.

**Figura 29** - Gráfico de perda de massa (%) das goiabas ao longo de 15 dias de armazenamento e equações lineares provenientes de cada tratamento.



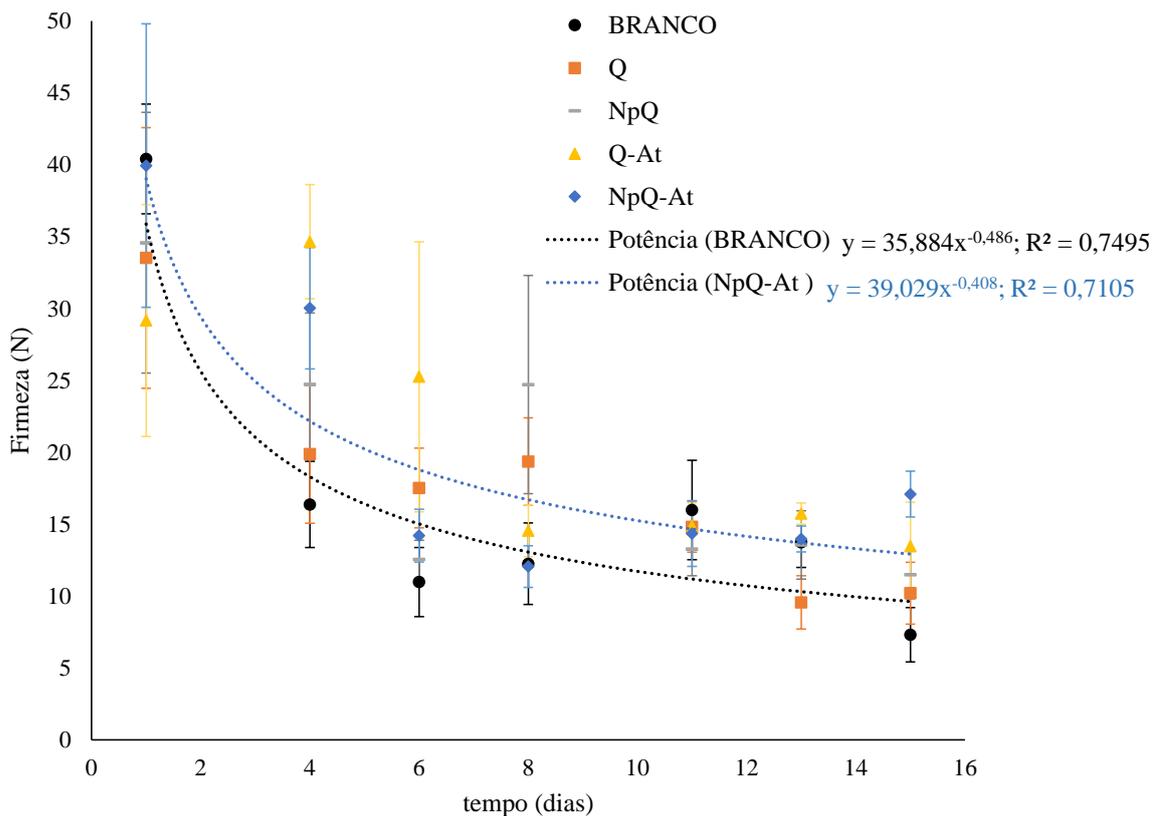
Fonte: Autoria própria.

A medida de firmeza é um dos principais parâmetros para o grau de maturação da fruta, sendo que maiores valores de firmeza indicam menores graus de maturação (YILDIZ; WILEY, 2017). Os resultados mostraram que a firmeza das goiabas diminuiu com o armazenamento em todos os tratamentos (Apêndice D, Tabela 4), indicando perda da integridade estrutural dos tecidos da polpa e da casca decorrente do amadurecimento. No entanto, as goiabas recobertas estavam mais firmes no 15º dia de análise (entre 10,20 e 17,09 N) do que as sem coberturas (7,30 N), o que indica que houve um amadurecimento mais rápido destas últimas. Entre as goiabas cobertas com NpQ-At e Q-At não houve diferença significativa na firmeza no último dia de análise, mas foi observado, pela Figura 30, que a diminuição de firmeza foi mais gradual

para as frutas cobertas com NpQ-At do que para as demais. No dia 15, a perda de firmeza para as goiabas cobertas com NpQ-At era de 57% em relação ao dia 1, enquanto que, para as demais, a variação foi entre 60 (Q-At) e 81% (BRANCO).

Os valores de firmeza das frutas recobertas coincidem com a mudança na pigmentação das cascas da fruta, a depender do grau de maturação (de verde, quando menos maduras, a amarelo, quando mais). Houve uma perda da coloração verde de forma gradual para os tratamentos, sendo a amostra sem cobertura a primeira a perder a coloração verde (4º dia), seguida pelas amostras cobertas com Q, Q-At e NpQ (cuja perda de coloração verde variou entre os 8º e 11º dias). O tratamento com NpQ-At foi o que mais reteve a pigmentação verde, bem como a firmeza ao final dos 15 dias de análise, o que indica que esta cobertura foi efetiva em retardar a maturação da fruta.

**Figura 30** - Gráfico de perda de firmeza (N) das goiabas ao longo de 15 dias de armazenamento e equações potencial para os tratamentos sem cobertura (BRANCO) e com NpQ-At.



Fonte: Autoria própria.

## 6 CONCLUSÃO

O presente estudo propôs uma metodologia eficiente de extração assistida por ultrassom de ponteira de CFT provenientes do resíduo da acerola utilizando suspensão de quitosana, uma vez que foram obtidas quantidades tão altas quanto às obtidas para extratos em água. A otimização do processo de extração foi realizado usando MSR e uma condição ideal foi definida (3,0 g de resíduo (b.u)/50 mL de suspensão de quitosana e 10 min de extração). Este passo foi importante para facilitar o processo de encapsulação de CFT em partículas de quitosana:TPP. As partículas de ativos apresentaram 52% de eficiência de encapsulação, diâmetro na faixa do submicrômetro e valores dentro do esperado para potencial Zeta. O FT-IR confirmou a formação de partículas de quitosana:TPP e o TGA indicou uma melhor estabilidade térmica do sistema encapsulado, em comparação com as partículas vazias. Esta parte do trabalho apresentou um método viável de extrair e encapsular compostos ativos do ponto de vista industrial, uma vez que as sínteses podem ser realizadas rapidamente em larga escala.

A aplicação de nanopartículas de quitosana e ativos do resíduo de acerola como coberturas ativas para goiabas mostrou ser uma alternativa de uso importante do material. O tratamento com NpQ-At foi mais eficaz em relação aos outros tratamentos, já que prolongou o tempo de maturação das frutas, manteve as goiabas com a casca verde por mais tempo, reteve a maior firmeza e apresentou menores índices de podridão aparente, fatores que influenciam na comercialização da fruta e que foram melhorados com a aplicação da cobertura.

Assim, este trabalho oferece uma alternativa sustentável para o aproveitamento do resíduo agroindustrial da acerola e para a conservação de goiabas, consistindo, portanto, em um processo cíclico, em que resíduos alimentares obtidos no período pós-colheita são utilizados para evitar a geração de novos lixos e o desperdício de alimentos também na pós-colheita.

## 7 PERSPECTIVAS FUTURAS

- Expandir este estudo para resíduos de outras polpas;
- analisar o extrato de quitosana com ativos por Espectrometria de massa para identificar os compostos ativos majoritários;
- estudar a estabilidade e cinética de liberação dos compostos encapsulados em nanopartículas;
- otimizar a concentração de partículas para aplicação como cobertura e aumentar o número de frutas nos ensaios para diminuir o coeficiente de variação dos dados;
- verificar a presença de ativos nas frutas recobertas com suspensão de nanopartículas carregadas com ativos.

## 8 REFERÊNCIAS

- ABDOU, E. S.; OSHEBA, A. S.; SOROUR, M. A. Effect of chitosan and chitosan-nanoparticles as active coating on microbiological characteristics of fish fingers. **International Journal of Applied Science and Technology**, v. 2, n. 7, p. 159-169, 2012.
- ABREU, B. B. et al. Desenvolvimento de um “nugget” à base do resíduo da acerola (*Malpighia emarginata* D.C) e feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L.). **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 2, p. 9446–9453, 2020.
- ABREU, F. O. M. et al. Propriedades e características da quitosana obtida a partir do exoesqueleto de caranguejo-uçá utilizando radiação de microondas. **Polímeros**, v. 23, n. 5, p. 630–635, 2013.
- AGNIHOTRI, S. A.; MALLIKARJUNA, N. N.; AMINABHAVI, T. M. Recent advances on chitosan-based micro- and nanoparticles in drug delivery. **Journal of Controlled Release**, v. 100, n. 1, p. 5–28, 2004.
- AGUIAR, T. et al. Caracterização química e avaliação do valor nutritivo de sementes de acerola. **Nutrire: revista da Sociedade Brasileira de Alimentos e Nutrição**, v. 35, n. 2, p. 91–102, 2010.
- AGUILERA, Y; MARTIN-CABREJAS, M. A.; MEJIA, E. G. Phenolic compounds in fruits and beverages consumed as part of the mediterranean diet: their role in prevention of chronic diseases. **Phytochem Rev**, 2015.
- ALDRIGUE, M. L. et al. **Aspectos da ciência e tecnologia de alimentos**. João Pessoa: Editora UFPB, v. 1, 2002.
- ALI, S. W., RAJENDRAN, S., JOSHI, M. Synthesis and characterization of chitosan and silver loaded chitosan nanoparticles for bioactive polyester. **Carbohydrate Polymers**, v. 83, n. 2, p. 438–446, 2011.
- ANTONIOU, J. et al. Physicochemical and morphological properties of size-controlled chitosan-tripolyphosphate nanoparticles. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 465, p. 137–146, 2015.
- ANDRADE, R. D.; SKURTYS, O.; OSORIO, F. A. Atomizing spray systems for application of edible coatings. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 11, p. 323–337, 2012.
- AOAC. official methods of analysis of AOAC International. **Association of Official Analytical Chemists**, ed. 16, Washington, 1997.
- AQUINO A. C. M. S. et al. Avaliação físico-química e aceitação sensorial de biscoitos tipo cookies elaborados com farinha de resíduos de acerola. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 69, n. 3, p. 379–386, 2010.
- ARAÚJO, V. R.; SHIRAI, M. A. Aplicação de revestimento comestível de quitosana em brócolis minimamente processado. **Boletim Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 34, n. 2, 2016.
- ARROYO, B. J. et al. Antimicrobial active edible coating of alginate and chitosan add ZnO nanoparticles applied in guavas (*Psidium guajava* L.). **Food Chemistry**, v. 309, p. 1–19, 2019.

- ASSIS, O. B. G.; BRITTO, D. Revisão: coberturas comestíveis protetoras em frutas: fundamentos e aplicações. **Brazilian Journal Food Technology**, v. 17, n. 2, p. 87–97, 2014.
- BAIERLE, M. et al. Quantificação sérica de vitamina C por CLAE-UV e estudo de estabilidade. **Química Nova**, v. 35, n. 2, p. 403-407, 2012.
- BATAGLION, G. A. et al. Determination of the phenolic composition from Brazilian tropical fruits by UHPLC-MS/MS. **Food Chemistry**, v. 180, p. 280–287, 2015.
- BELWAL, T. et al. Phytopharmacology of Acerola (*Malpighia spp.*) and its potential as functional food. **Trends in Food Science and Technology**, v. 74, p. 99–106, 2018.
- BERY, C. C. S. et al. Caracterização físico-química de polpa de acerola in natura e liofilizada para preparação de sorvetes. In: XX CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA, 2014, Florianópolis. **Anais ...** São Paulo: Blucher, 2015. p. 3542–3546
- BETTUZZI, S. et al. Chemoprevention of human prostate cancer by oral administration of green tea catechins in volunteers with high-grade prostate intraepithelial neoplasia: a preliminary report from a one-year proof-of-principle study. **Cancer Res**, v. 66, n. 2, p. 1234–1240, 2006.
- BRAGA, A. C. D. et al. Caracterização e obtenção de farinha do resíduo gerado no processo industrial de clarificação do suco de acerola. **Revista Semiárido de Visu, Petrolina**, v. 1, n. 2, p. 126–133, 2011.
- BRITTO, D.; PINOLA, F. G.; ASSIS, O. B. G. Avaliação da estabilidade, em meio aquoso, de vitaminas nanoencapsuladas. In: IX WORKSHOP DE NANOTECNOLOGIA APLICADA AO AGRONEGÓCIO, 2017, São Carlos. **Anais...** São Carlos: Embrapa Instrumentação, 2017. p. 257–260.
- BRITTO, D. et al. Entrapment characteristics of hydrosoluble vitamins loaded into chitosan and N,N,N-trimethyl chitosan nanoparticles. **Macromolecular Research**, v. 22, n. 12, p. 1261–1267, 2014.
- BRITTO, D. et al. N,N,N-trimethyl chitosan nanoparticles as a vitamin carrier system. **Food Hydrocolloids**, v. 27, n. 2, p. 487–493, jun. 2012.
- CAETANO, A. C. S. et al. Evaluation of antioxidant activity of agro-industrial waste of acerola (*Malpighia emarginata D.C.*) fruit extracts. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 31, n. 3, p. 769–775, 2011.
- CARDOSO, P. C. et al. Vitamin C and carotenoids in organic and conventional fruits grown in Brazil. **Food Chemistry**, v. 126, n. 2, p. 411–416, 2011.
- CARVALHO, R. A. Análise econômica da produção de acerola no município de Tomé-Açú, Pará, Belém: Embrapa Amazônia Oriental, n. 49, 2000.
- CARRILLO-NIEVES, D. et al. Current status and future trends of bioethanol production from agro-industrial wastes in Mexico. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 102, p. 63–74, 2019.
- CEFALI, L. C. et al. Vitamin C in acerola and red plum extracts: Quantification via HPLC, in vitro antioxidant activity, and stability of their gel and emulsion formulations. **Journal of AOAC International**, v. 101, n. 5, p. 1461–1465, 2018.
- CERQUEIRA, T. S.; JACOMINO, A. P.; SASAKI, F. F.; ALLEONI, A. C. C. Recobrimento de goiabas com filmes proteicos e de quitosana. **Bragantia**, v. 70, n. 1, p. 216–221, 2011.
- CHAVES, J. A. P. et al. Caracterização e aplicação do biopolímero quitosana como removedor de corante têxtil presente em meio aquoso. **Cadernos de Pesquisa**, v. 16, n. 2, p. 36–43, 2009.

- CHEMAT, F. et al. Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications: A review. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 34, p. 540–560, 2017.
- CHIEN, P. J.; SHEU, F.; YANG, F. H. Effects of edible chitosan coating on quality and shelf life of sliced mango fruit. **Journal of Food Engineering**, v. 78, n. 1, p. 225–229, 2007.
- COELHO, Y. S. et al. Proacerola: Programa de Desenvolvimento da Cultura da Acerola no Estado da Bahia. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE INTERAMERICANA DE HORTALICULTURA TROPICAL. Horticultura Tropical em Regiões Semi-Áridas. Fortaleza: Sociedade Interamericana de Horticultura Tropical, n. 49, 2003.
- CRUZ, R. G. et al. Comparison of the antioxidant property of acerola extracts with synthetic antioxidants using an in vivo method with yeasts. **Food Chemistry**, v. 277, p. 698–705, 2019.
- CUNHA, D. A. L. V.; BARROS-ALEXANDRINO, T. T.; ASSIS, O. B. G. Otimização do processo de obtenção de nanopartículas de quitosana-tpg pelo método de gelificação ionotrópica. In: IX WORKSHOP DE NANOTECNOLOGIA APLICADA AO AGRONEGÓCIO, 2017, São Carlos. **Anais...** São Carlos: Embrapa Instrumentação, 2017. p. 56–59.
- CUTTER, C. N. Opportunities for bio-based packaging technologies to improve the quality and safety of fresh and further processed muscle foods. **Meat Science**, v. 74, n. 1, p. 131–142, 2006.
- DASH, M. et al. Chitosan - A versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications. **Progress in Polymer Science**, v. 36, n. 8, p. 981–1014, 2011.
- DELVA, L.; GOODRICH-SCHNEIDER, R. Antioxidant activity and antimicrobial properties of phenolic extracts from acerola (*Malpighia emarginata* DC) fruit. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 48, n. 5, p. 1048–1056, 2013.
- DÍAZ-PÉREZ, J. C. Transpiration. **Postharvest Physiology and Biochemistry of Fruits and Vegetables**, p. 157–173, 2019.
- DIVYA, K.; SMITHA, V., JISHA, M. S. Antifungal, antioxidant and cytotoxic activities of chitosan nanoparticles and its use as an edible coating on vegetables. **Biological Macromolecules**, v. 114, p. 572–577, 2018.
- FATHI, M.; MARTÍN, A.; MCCLEMENTS, D. J. Nanoencapsulation of food ingredients using carbohydrate based delivery systems. **Trends in Food Science & Technology**, v. 39, 2014.
- FAN, W. et al. Formation mechanism of monodisperse, low molecular weight chitosan nanoparticles by ionic gelation technique. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 90, n. 1, p. 21–27, 2012.
- FAVARO-TRINDADE, C. S.; PINHO, S. C.; ROCHA, G. A. Revisão: Microencapsulação de ingredientes alimentícios. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 11, n. 2, p. 103–112, 2008.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO). Perdas e desperdícios de alimentos na América Latina e no Caribe, 22 de julho de 2014. Disponível em: <<http://www.fao.org/americas/noticias/ver/pt/c/239394/>> Acesso em: 11 de maio de 2020.
- FREIRE, J. M. et al. Quantificação de compostos fenólicos e ácido ascórbico em frutos e polpas congeladas de acerola, caju, goiaba e morango. **Ciência Rural**, v.43, n.12, p. 2291–2296, 2013.

- FURLANETO, F.P.B.; NASSER, M.D. Panorama da cultura da acerola no estado de São Paulo. **Pesquisa & Tecnologia**, vol. 12, n. 1, 2015.
- GABAS, A.; TELIS, J.; MENEGALLI, F. Cinética de degradação do ácido ascórbico em ameixas liofilizadas. **Ciência e Tecnologia De Alimentos**, v. 23, p. 66–70, 2003.
- GAD, M. M.; ZAGZOG, O. A. Mixing xanthan gum and chitosan nano particles to form new coating for maintaining storage life and quality of elamoura guava fruits. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 6, n. 11, p. 1582–1593, 2011.
- GARMUS, T. T. et al. Elaboração de biscoitos com adição de farinha de casca de batata (*Solanum tuberosum L.*). **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 3, n. 2, p. 56–65, 2009.
- GOULA, A. M. et al. Green ultrasound-assisted extraction of carotenoids from pomegranate wastes using vegetable oils. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 34, p. 821–830, 2017.
- GÜLTEKIN-ÖZGÜVEN, M. et al. Fortification of dark chocolate with spray dried black mulberry (*Morus nigra*) waste extract encapsulated in chitosan-coated liposomes and bioaccessibility studies. **Food Chemistry**, v. 201, p. 205–212, 2016.
- HAN, C. et al. Sensory evaluation of fresh strawberries (*Fragaria ananassa*) coated with chitosan-based edible coatings. **Sensory and Nutritive Qualities of Food**, v. 70, n. 3, p. 172–178, 2005.
- HOU, Z. et al. Identification of anthocyanins isolated from black rice (*Oryza sativa L.*) and their degradation kinetics. **Food Research International**, v. 50, n. 2, p. 691–697, 2013.
- IKAWA, M. et al. Utilization of folin-ciocalteu phenol reagent for the detection of certain nitrogen compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 7, p. 1811–1815, 2003.
- KARAKAYA, S. Bioavailability of phenolic compounds. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 44, n. 6, p. 453–464, 2004.
- KOUKARAS, E. N. et al. Insight on the formation of chitosan nanoparticles through ionotropic gelation with tripolyphosphate. **Molecular Pharmaceutics**, v. 9, n. 10, p. 2856–2862, 2012.
- KUMAR, K., YADAV, A.N., KUMAR, V., VYAS, P., DHALIWAL, H.S. Food waste: a potential bioresource for extraction of nutraceuticals and bioactive compounds. **Bioresource and Bioprocessing**, v. 4, n. 9, 2017.
- KUSKOSKI, E. M. et al. Frutos tropicais silvestres e polpas de frutas congeladas: Atividade antioxidante, polifenóis e antocianinas. **Ciência Rural**, v. 36, n. 4, p. 1283–1287, 2006.
- LEE, S. A. et al. Preparation of Chitosan-Coated Nanostructured Lipid Carriers (CH-NLCs) to Control Iron Delivery and Their Potential Application to Food Beverage System. **Journal of Food Science**, v. 82, n. 4, p. 904–912, 2017.
- LEE, J.; DURST, R. W.; WROLSTAD, R. E. Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: Collaborative study. **Journal of AOAC International**, v. 88, n. 5, p. 1269–1278, 2005.
- LEMOS, D. M. et al. Elaboração e caracterização de geleia prebiótica mista de jaboticaba e acerola. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 22, p. 1–13, 2019.
- LIAZID, A. et al. Investigation on phenolic compounds stability during microwave-assisted extraction. **Journal of Chromatography**, v. 1140, n. 2, p. 29–34, 2007.

- LIMA, P. C. C. et al. Utilização de Resíduo do processamento de acerola (*Malpighia Emarginata D.C.*) na confecção de biscoito tipo língua de gato. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 8, n., 2014.
- LIMA, V. L. A. G. Total phenolic and carotenoid contents in acerola genotypes harvested at three ripening stages. **Food Chemistry**, v. 90, p. 565–568, 2005.
- LIMA, V. L. A. G. et al. Avaliação do teor de antocianinas em polpa de acerola congelada proveniente de frutos de 12 diferentes aceroleiras (*Malpighia emarginata D.C.*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, n. 1, p. 101–103, 2003.
- LIYANA-PATHIRANA, C., SHAHIDI, F. Optimization of extraction of phenolic compounds from wheat using response surface methodology. **Food Chemistry**, v. 93, n. 1, p. 47–56, 2005.
- LUSTRIANE; DWIVANY, F. M.; SUENDO, V.; REZA, M. Effect of chitosan and chitosan-nanoparticles on postharvest quality of banana fruits. **Journal of Plant Biotechnoly**, v. 45, p. 36–44, 2018.
- MACIEL, M. I. S. et al. Caracterização físico-química de frutos de genótipos de aceroleira (*Malpighia emarginata D.C.*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 4, p. 865–869, 2010.
- MAIA, G. A. et al. Efeito do processamento sobre componentes do suco de acerola. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 1, p. 130–134, 2007.
- MALEGORI, C. et al. Comparing the analytical performances of Micro-NIR and FT-NIR spectrometers in the evaluation of acerola fruit quality, using PLS and SVM regression algorithms. **Talanta**, v. 165, p. 112–116, 2017.
- MARQUES, T. R. et al. Metanolic extract of *Malpighia emarginata* bagasse: Phenolic compounds and inhibitory potential on digestive enzymes. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 26, n. 2, p. 191–196, 2016.
- MARTINS, A. F. et al. Chitosan/TPP microparticles obtained by microemulsion method applied in controlled release of heparin. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 51, n. 5, p. 1127–1133, 2012.
- MATALANIS, A.; JONES, O. G.; MCCLEMENTS, D. J. Structured biopolymer-based delivery systems for encapsulation, protection, and release of lipophilic compounds. **Food Hydrocolloids**, v. 25, n. 8, p. 1865–1880, 2011.
- MCGUIRE, R. G. Reporting of Objective Color Measurements. **HortScience**, v. 27, n. 12, p. 1254–1255, 1992.
- MEZADRI, T. et al. Antioxidant compounds and antioxidant activity in acerola (*Malpighia emarginata DC.*) fruits and derivatives. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 21, n. 4, p. 282–290, 2008.
- MOURA, C. et al. Quitina e quitosana produzidas a partir de resíduos de camarão e siri: avaliação do processo em escala piloto. **Vetor**, v. 16, p. 37–45, 2006.
- NAIR, M. S.; SAXENA, A.; KAURB, C. Effect of chitosan and alginate based coatings enriched with pomegranate peel extract to extend the postharvest quality of guava (*Psidium guajava L.*). **Food Chemistry**, v. 240, p. 245–252, 2018.
- NASCIMENTO, J. A. DE A. et al. Stability of Nanocomposite Edible Films Based on Polysaccharides and Vitamin C from Agroindustrial Residue. **Materials Research**, v. 22, n. 3, p. 1–10, 2019.

NASSER, M. D. et al. Composição da acerola de diferentes genótipos em duas épocas de colheita. **Nativa**, v. 6, n. 1, p. 15, 2018.

NEPA – NÚCLEO DE ESTUDOS E PESQUISAS EM ALIMENTAÇÃO. **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO)**. 4ª ed. Campinas: NEPA – UNICAMP, 2011. p. 36–37.

NEVES, I. P. Cultivo de acerola. Dossiê técnico. Salvador: Rede de tecnologia da Bahia, 2007.

PARR, A. J.; BOLWELL, G. P. Phenols in the plant and in man. The potential for possible nutritional enhancement of the diet by modifying the phenols content or profile. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 80, p. 985–1012, 2000.

PATHARE, P. B.; OPARA, U. L.; AL-SAID, F. A. Colour Measurement and Analysis in Fresh and Processed Foods: A Review. **Food Bioprocess Technology**, v. 6, p. 36–60, 2013.

PATIL, P.; CHAVANKE, D.; WAGH, M. A review on ionotropic gelation method: Novel approach for controlled gastroretentive gelspheres. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 4, n 4, p. 27–32, 2012.

PANIWNYK, L. et al. The Use of Ultrasound as an Enhancement Aid to Food Extraction. **Ingredients Extraction by Physicochemical Methods in Food**, p. 399–440, 2017.

PÉREZ-GUZMÁN, A.E., SAUCEDO-VELOZ, C., ARANA-ERRASQUIN, R. Effect of individual seal packaging in plastic films on the quality of Dancy mandarins stored under refrigeration. **Food science and technology international**, v. 5, n. 3, p. 215–222, 1999.

PÉREZ-JIMÉNEZ, J. et al. Updated methodology to determine antioxidant capacity in plant foods, oils and beverages: Extraction, measurement and expression of results. **Food Research International**, v. 41, p. 274–285, 2008.

PÉREZ-SÁNCHEZ, A. et al. Protective effects of citrus and rosemary extracts on UV-induced damage in skin cell model and human volunteers. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 136, p. 12–18, 2014.

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.

PROESTOS, C.; KOMAITIS, M. Application of microwave-assisted extraction to the fast extraction of plant phenolic compounds. **LWT - Food Science and Technology**, v. 41, n. 4, p. 652–659, 2008.

QI, L. et al. Preparation and antibacterial activity of chitosan nanoparticles. **Carbohydrate Research**, v. 339, n. 16, p. 2693–2700, 2004.

QUEIROZ, M. A; GOEDERT, C. O; RAMOS, S. R. R. Recursos genéticos e melhoramento de plantas para o Nordeste brasileiro. Petrolina: Embrapa Semiárido; Brasília-DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 1999.

RASMAWAMY, H.; MARCOTTE, M. **Food Processing: Principles and Applications**. CrC Press (1<sup>st</sup> ed.); Taylor & Francis Group. Boca Raton, FL. USA, p. 420p, 2005.

RAMOS-TEJADA, M. M. et al. Investigation of alumina/(+)-catechin system properties. Part I: a study of the system by FTIR-UV-Vis spectroscopy. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 24, p. 297–308, 2002.

RE, R. et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 26, p. 1231–1237, 1999.

- REYES, M. U., PAULL, R. E. Effect of storage temperature and ethylene treatment on guava (*Psidium guajava* L.) fruit ripening. Postharvest **Biology and Technology**, v. 6, n. 3-4, p. 357–365, 1995.
- REZENDE, Y. R. R. S.; NOGUEIRA, J. P.; NARAIN, N. Comparison and optimization of conventional and ultrasound assisted extraction for bioactive compounds and antioxidant activity from agro-industrial acerola (*Malpighia emarginata* DC) residue. **LWT - Food Science and Technology**, v. 85, p. 158–169, 2017.
- RODRIGUES, M. I.; IEMMA, A. F. **Planejamento de Experimentos e Otimização de Processos: uma estratégia seqüencial de planejamentos**, Campinas, SP, Casa do Pão Editora, 2005.
- ROSA, J. S. et al. Desenvolvimento de um método de análise de vitamina C em alimentos por cromatografia líquida de alta eficiência e exclusão iônica. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 4, p. 837–846, 2007.
- RUFINO, M. S. M. et al. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v. 121, n. 4, p. 996–1002, 2010.
- SÁ, C. R. L. et al. Efeito do KMnO<sub>4</sub> e 1-MCP com atmosfera modificada na conservação pós-colheita de melão Cantaloupe. **Revista Ciência Agronômica**, v. 39, n. 01, p. 60–69, 2008
- SADH, P. K.; DUHAN, S.; DUHAN, J. S. Agro-industrial wastes and their utilization using solid state fermentation: a review. **Bioresources and Bioprocessing**, v. 5, n. 1, p. 1–15, 2018.
- SALEHAN, N. A. M. D; SULAIMAN, A. Z.; AJIT, A. Effect of temperature and sonication on the extraction of gallic acid from *Labisia Pumila* (*Kacip Fatimah*). **ARPN Journal of Engineering and Applied Sciences**, v. 11, n. 4, p. 2193–2198, 2016.
- SANCHO, S. D. O. et al. Characterization of the industrial residues of seven fruits and prospection of their potential application as food supplements. **Journal of Chemistry**, v. 2015, p. 1–8, 2015.
- SANTOS, S. S. et al. Antioxidant compounds from blackberry (*Rubus fruticosus*) pomace: Microencapsulation by spray-dryer and pH stability evaluation. **Food Packaging and Shelf Life**, n. 20, v. 1, p. 1–6, 2017.
- SCHAFFAZICK, S. R. Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos. **Química Nova**, v. 26, n.5, p. 726–737, 2003.
- SCHULZ, H.; BARANSKA, M. Identification and quantification of valuable plant substances by IR and Raman spectroscopy. **Vibrational Spectroscopy**, v. 43, n. 1, p. 13–25, 2007.
- SILVA, J. D. O. et al. Characterization of acerola (*Malpighia emarginata*) industrial waste as raw material for thermochemical processes. **Waste Management**, v. 107, p. 143–149, 2020.
- SILVA, L. M. R. Quantification of bioactive compounds in pulps and by-products of tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v. 143, p. 398–404, 2014.
- SILVA, M. L. S. et al. Teor de carotenoides em polpas de acerola congeladas. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 8, n. 1, p. 170–173, 2013.
- SILVA, D. J., QUEIROZ, A. C. **Análise de Alimentos: Métodos químicos e biológicos**. 3ª edição, editora UFV. 2009.
- SOUSA, M. S.B. et al. Caracterização nutricional e compostos antioxidantes em resíduos de polpas de frutas tropicais. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n. 3, p. 554–559, 2011.

- SOUSA, M. S. B.; VIEIRA, L. M.; LIMA, A. Fenólicos totais e capacidade antioxidante in vitro de resíduos de polpas de frutas tropicais. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 14, n. 03, p. 202–210, 2011.
- SUKOR, N. F. et al. Synergistic effect of probe sonication and ionic liquid for extraction of phenolic acids from oak galls. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 62, 2020.
- SUN, J. X. et al. Isolation and characterization of cellulose from sugarcane bagasse. **Polymer Degradation and Stability**, v. 84, n. 2, p. 331–339, 2004.
- STEINMETZ, K. A.; POTTER, J. D. Vegetables, fruit, and cancer prevention: A review. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 96, p. 1027–1039, 1996.
- SWAIN, T.; HILLIS, W. E. The phenolic constituents of *Prunus domestica*. I. The quantitative analysis of phenolic constituents. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 10, n. 1, p. 63–68, 1959.
- TANDON, D. K., SINGH, B. P., & KALRA, S. K. Storage behaviour of specific-gravitygraded guava fruits. **Scientia Horticulturae**, v. 41, n. 1–2, p. 35–41, 1989.
- TONINI, D., ALBIZZATI, P. F., ASTRUP, T. F. Environmental impacts of food waste: Learnings and challenges from a case study on UK. **Waste Management**, v. 76, p. 744–766, 2018.
- VALENCIA-CHAMORRO, S. A. et al. Curative and preventive activity of hydroxypropyl methylcellulose-lipid edible composite coatings containing antifungal food additives to control citrus postharvest green and blue molds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 7, p. 2770–2777, 2009.
- VANNUCCHI, H.; ROCHA, M. DE M. Funções plenamente reconhecidas de de nutrientes: Vitamina C (ácido ascórbico). **International Life Sciences Insytute do Brasil**, v. 21, p. 1–12, 2012.
- VENDRAMINI, A. L.; TRUGO, L. C. Chemical composition of acerola fruit (*Malpighia puniceifolia* L.) at three stages of maturity. **Food Chemistry**, v. 71, n. 2, p. 195–198, 2000.
- VINCI, G. et al. Ascorbic acid in exotic fruits: a liquid chromatographic investigation. **Food Chemistry**, v. 53, n. 2, p. 211–214, 1995.
- WANG, J. et al. Optimisation of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from wheat bran. **Food Chemistry**, v. 106, n. 2, p. 804–810, 2008.
- XU, Y., DU, Y. Effect of molecular structure of chitosan on protein delivery properties of chitosan nanoparticles. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 250, n. 1, p. 215–226, 2003.
- YANG, C. H. et al. Microfluidic emulsification and sorting assisted preparation of monodisperse chitosan microparticles. **Lab on a Chip**, v. 9, n. 1, p. 145–150, 2009.
- YILDIZ, F.; WILEY, R. C. Preservation methods for minimally processed refrigerated fruits and vegetables. Minimally processed refrigerated fruits and vegetables. **Food Engineering Series**. p. 187–237, 2017.
- ZHAO, L. M. et al. Preparation and application of chitosan nanoparticles and nanofibers. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 28, n. 3, p. 353–362, 2011.

## APÊNDICES

**APÊNDICE A** – Condições cromatográficas utilizadas para a caracterização de vitamina C no resíduo da polpa de acerola úmido.

A Tabela 1 mostra os valores de concentração (C) de padrão de vitamina C em µg/mL de ácido oxálico 2% (m/v) e as respectivas áreas obtidas a partir dos sinais dos cromatogramas. Na Tabela 1, também constam o tempo de retenção (Tr') em minutos para cada amostra e o fator de linearidade (FL) dos resultados (calculado pelo produto da área pela concentração).

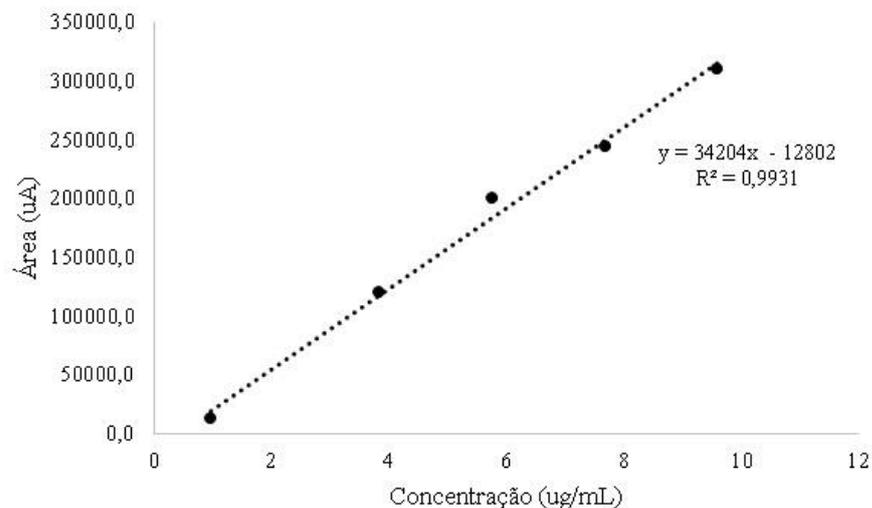
**Tabela 1** - Valores de concentração (µg/mL), área (ua), tempo de retenção (min) e fator de linearidade (FL) referentes aos pontos da curva de calibração.

C	Área	Tr'	FL
9,60	310738,6	4,92	32368,6
7,68	243849,5	4,90	31751,2
5,76	200087,1	4,86	34737,3
3,84	120633,8	4,82	31415,1
0,96	12926,5	4,67	13465,1

Fonte: Autoria própria.

A Figura 1 mostra a curva de calibração utilizada para padronização externa ( $y=34204x-12802$ , com  $r^2=0,9931$ ), com base nos valores de concentração e área da Tabela 1.

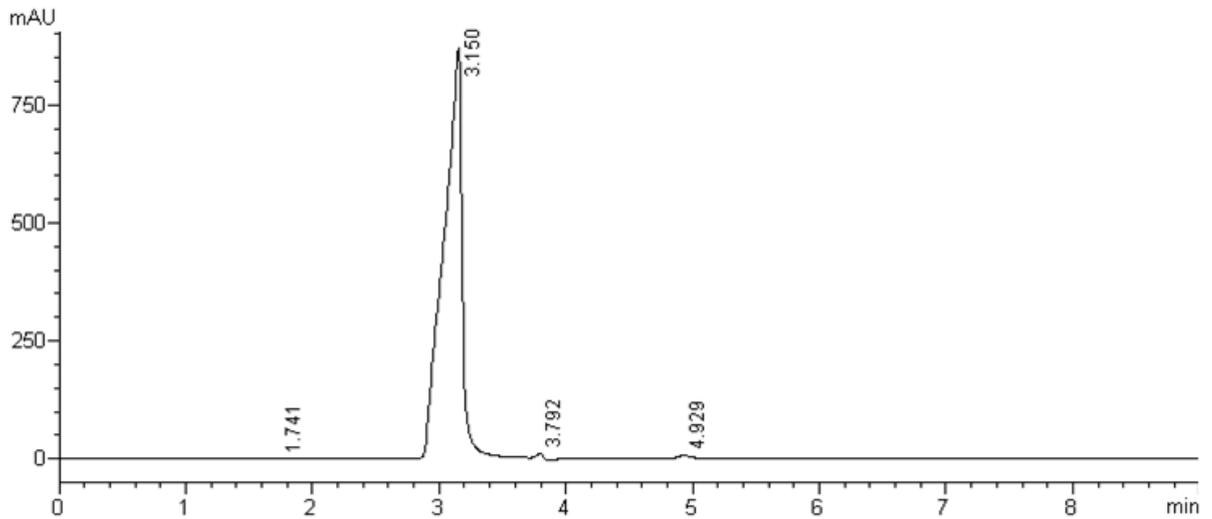
**Figura 1** - Curva de calibração utilizando soluções padrão de vitamina C.



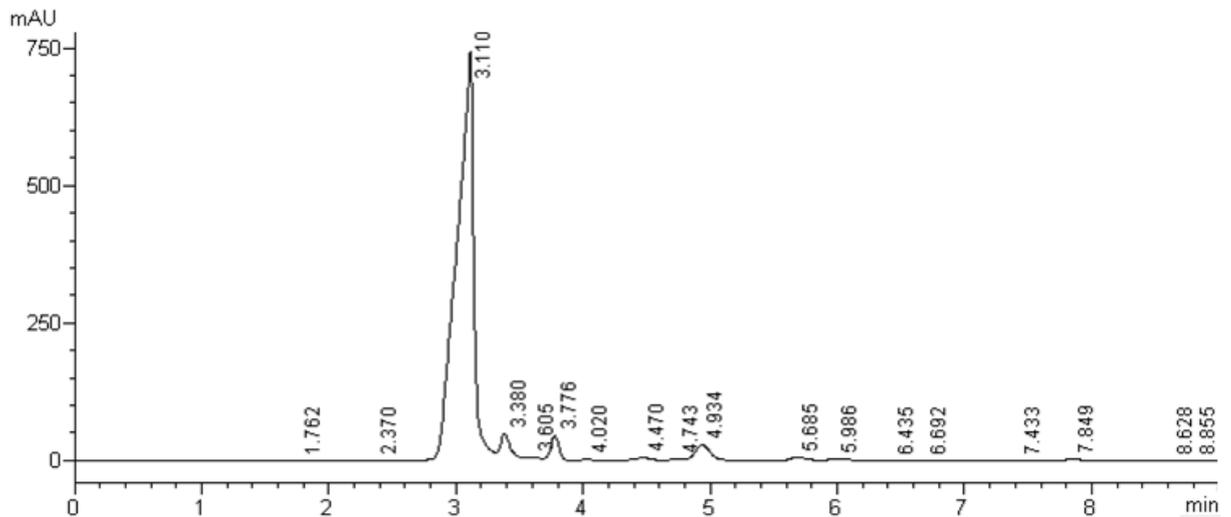
Fonte: Autoria própria.

Na Figura 2, constam os cromatogramas obtidos para o padrão de ácido ascórbico (com tempo de retenção em 4,929 min, Figura 2A) e para o extrato em ácido oxálico (com tempo de retenção em 4,934 min, Figura 2B), cuja área obtida foi 238588,7 uA.

**Figura 2** - Corridas cromatográficas realizadas para (A) o padrão de ácido ascórbico e para (B) o extrato do resíduo da polpa de acerola úmido. As condições cromatográficas foram: C18 Shim-pack GIST (250 mm x 4,6 mm x 5 µm), mantida a 30 °C; amostragem de 10 µL; detector de arranjo de diodo (245 nm); fase móvel de água acidificada com ácido fórmico (pH 3,0); eluição isocrática com fluxo de 0,9 mL/min; tempo total de corrida cromatográfica de 9 min.



(A)



(B)

Fonte: Autoria própria.

**APÊNDICE B** – Condições cromatográficas utilizadas para a caracterização de vitamina C no resíduo da polpa de acerola seco.

A Tabela 1 mostra os valores de concentração (C) de padrão de vitamina C em  $\mu\text{g/mL}$  de ácido oxálico 2% (m/v) e as respectivas áreas obtidas a partir dos sinais dos cromatogramas. Na Tabela 1, também constam o tempo de retenção ( $\text{Tr}'$ ) em minutos para cada amostra e o fator de linearidade (FL) dos resultados (calculado pelo produto da área pela concentração).

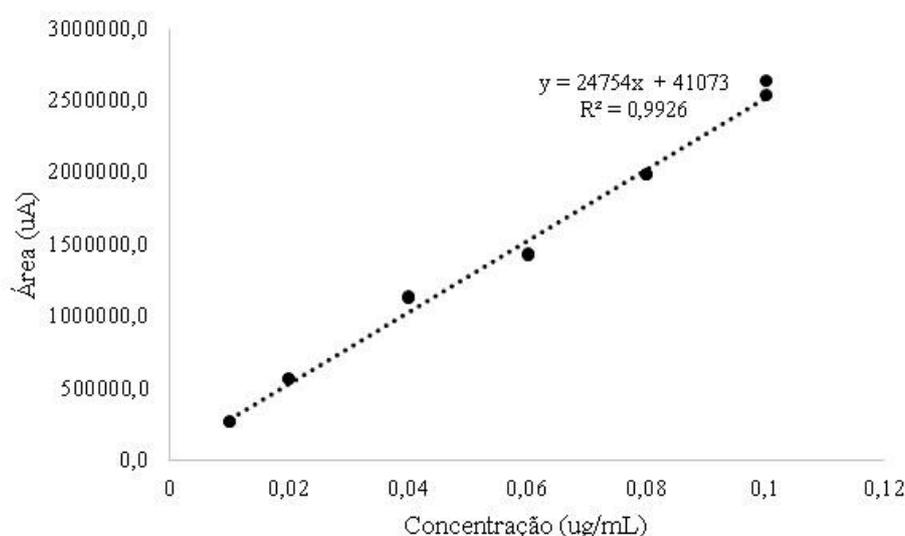
**Tabela 1** - Valores de concentração ( $\mu\text{g/mL}$ ), área (ua), tempo de retenção (min) e fator de linearidade referentes aos pontos da curva de calibração.

C	Área	Tr'	FL
100,4	2535338,5	5,050	25252,4
80,32	1985732,5	5,049	24722,8
60,24	1422578,6	5,047	23615,2
40,16	1122288,2	5,043	27945,4
20,08	557518,4	5,048	27764,9
10,04	268037,2	5,046	26696,9

Fonte: Autoria própria.

A Figura 1 mostra a curva de calibração utilizada para padronização externa neste trabalho ( $y=24754x-41703$ , com  $r^2=0,9926$ ), com base nos valores de concentração e área da Tabela 1.

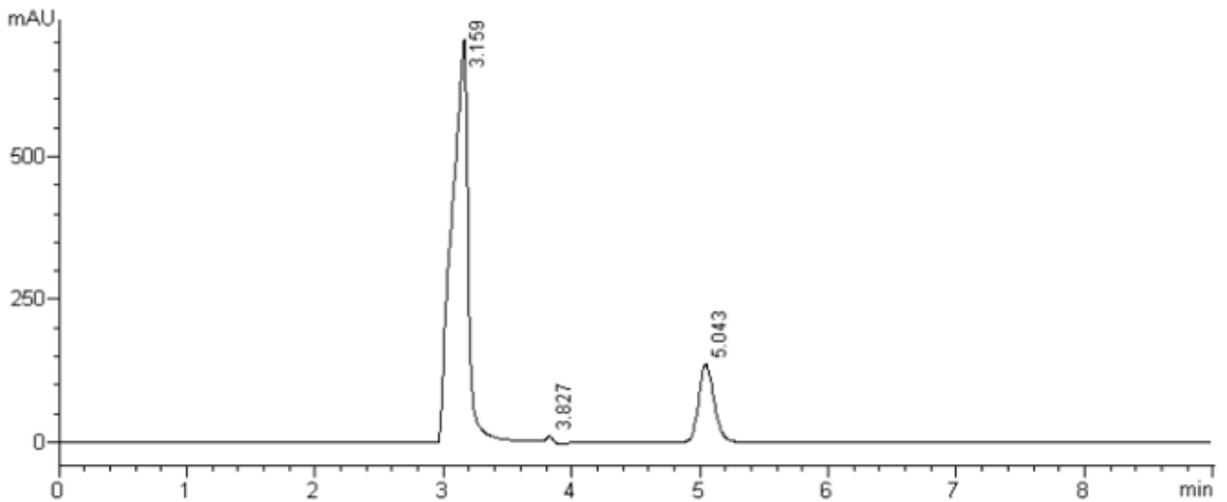
**Figura 1** - Curva de calibração utilizando soluções padrão de vitamina C.



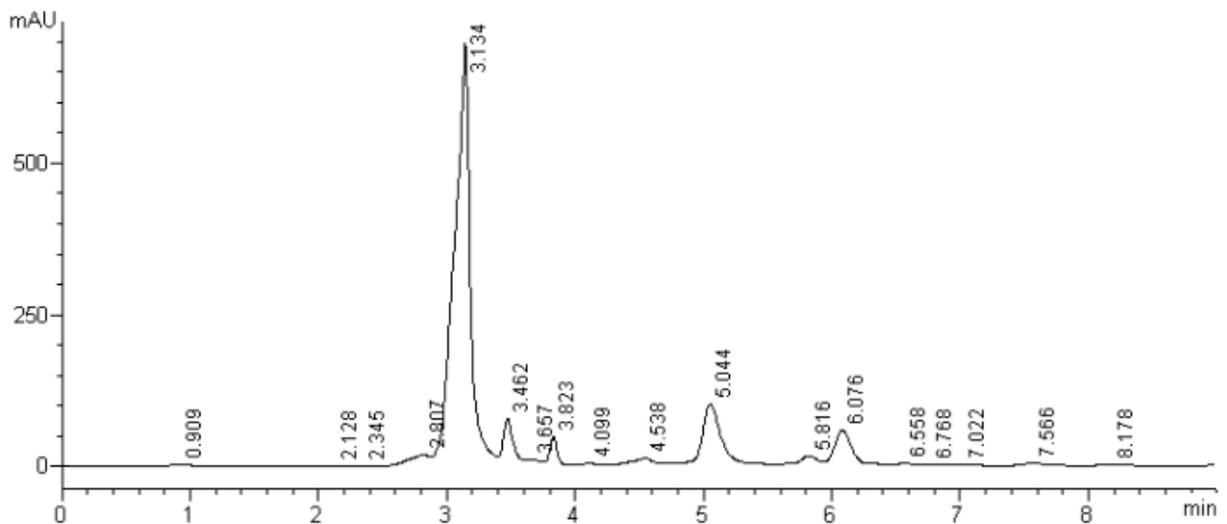
Fonte: Autoria própria.

Na Figura 2, constam os cromatogramas obtidos para o padrão de ácido ascórbico (com tempo de retenção em 5,043 min, Figura 2A) e para o extrato em ácido oxálico (com tempo de retenção em 5,044 min, Figura 2B), cuja área obtida foi 1128137,0 uA.

**Figura 2** - Corridas cromatográficas realizadas para (A) o padrão de ácido ascórbico e para (B) o extrato do resíduo da polpa de acerola seco. As condições cromatográficas foram: C18 Shim-pack GIST (250 mm x 4,6 mm x 5 µm), mantida a 30 °C; amostragem de 10 µL; detector de arranjo de diodo (245 nm); fase móvel de água acidificada com ácido fórmico (pH 3,0); eluição isocrática com fluxo de 0,9 mL/min; tempo total de corrida cromatográfica de 9 min.



(A)

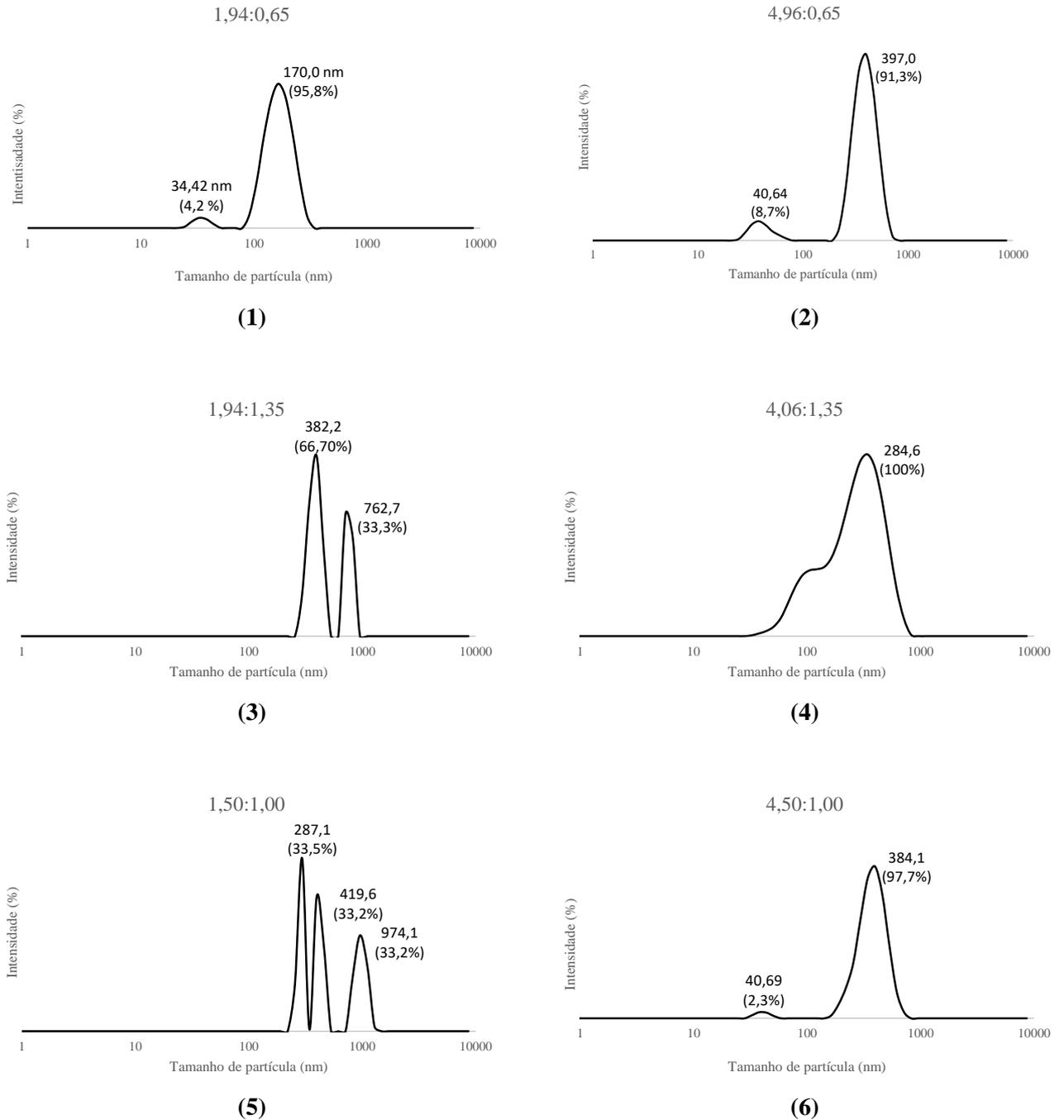


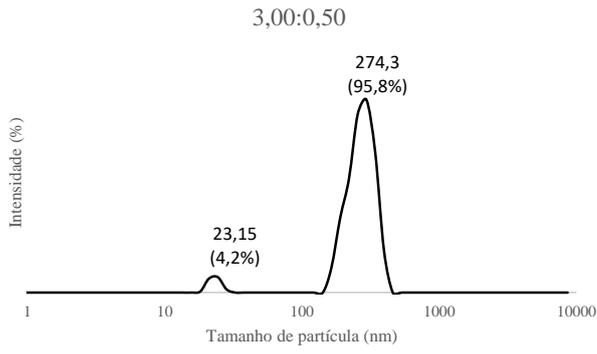
(B)

Fonte: Autoria própria.

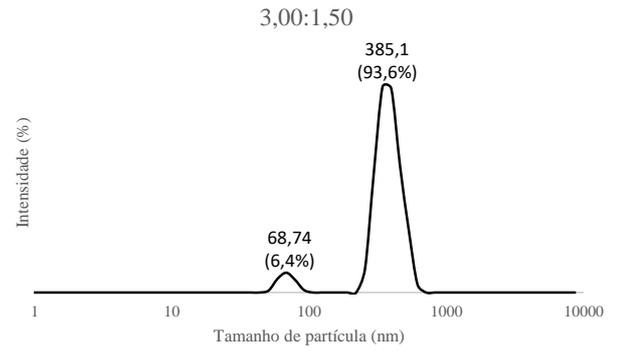
**APÊNDICE C** – Gráficos de distribuição de tamanhos de partículas para as suspensões de nanopartículas de quitosana:TPP.

**Figura 1** - Gráficos de distribuição de tamanhos de partículas para as 11 suspensões de nanopartículas de quitosana:TPP (em mg/mL, considerando as concentrações finais após gelificação iônica).

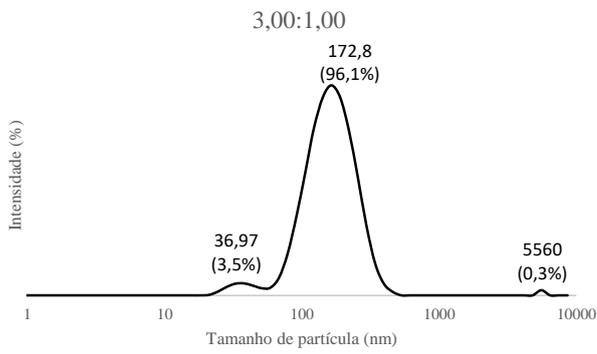




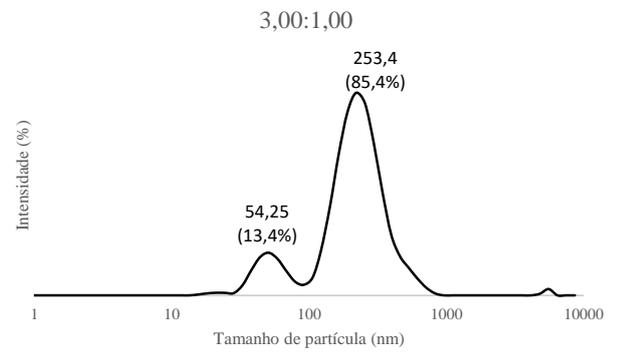
**(7)**



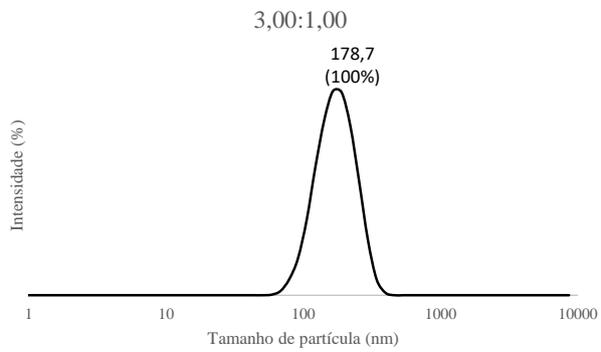
**(8)**



**(9)**



**(10)**



**(11)**

Fonte: Autoria própria.

**APÊNDICE D** – Dados e tratamento estatístico dos resultados de caracterização das goiabas. O teste Turkey foi realizado para todos os resultados e apresentado apenas para os que apresentaram diferença significativa ( $p < 0,05$ ).

**Tabela 1** - Valores dos parâmetros L\*, a\* e b\* para as goiabas durante 15 dias de armazenamento.

	<b>Dia 1</b>	<b>Dia 4</b>	<b>Dia 6</b>	<b>Dia 8</b>	<b>Dia 11</b>	<b>Dia 13</b>	<b>Dia 15</b>
<b>L*</b>							
BRANCO	58,82 ± 2,97 <sup>b,c</sup>	65,30 ± 1,39	70,73 ± 1,01	71,87 ± 1,42	72,28 ± 0,75	71,91 ± 1,47	70,37 ± 2,94
Q	65,47 ± 1,68 <sup>a,b</sup>	71,16 ± 1,16	72,32 ± 1,87	73,88 ± 0,83	73,23 ± 1,68	72,42 ± 1,94	71,62 ± 0,46
NpQ	61,17 ± 1,93 <sup>b,c</sup>	68,70 ± 2,45	71,42 ± 1,28	72,10 ± 1,48	73,51 ± 1,41	73,84 ± 1,00	73,05 ± 1,56
Q-At	55,45 ± 0,69 <sup>c</sup>	63,56 ± 1,12	67,31 ± 1,85	68,23 ± 2,38	67,72 ± 3,94	68,83 ± 2,54	63,90 ± 9,18
NpQ-At	70,70 ± 5,76 <sup>a</sup>	66,30 ± 6,68	69,93 ± 3,93	71,48 ± 3,56	72,63 ± 3,85	70,93 ± 3,93	73,98 ± 0,42
<b>a*</b>							
BRANCO	-16,97 ± 1,98	-6,23 ± 3,95 <sup>b</sup>	-1,44 ± 3,65	1,41 ± 2,56	4,08 ± 1,90	5,30 ± 1,27	8,28 ± 1,12
Q	-14,67 ± 1,59	-6,70 ± 1,24 <sup>a,b</sup>	-2,32 ± 0,68	-1,15 ± 0,78	1,66 ± 0,86	3,26 ± 2,19	4,14 ± 1,24
NpQ	-17,71 ± 0,86	-10,60 ± 1,90 <sup>a,b</sup>	-6,02 ± 3,79	-2,75 ± 4,59	-0,31 ± 3,46	1,08 ± 2,99	4,55 ± 1,24
Q-At	-17,72 ± 0,19	-9,96 ± 1,18 <sup>a,b</sup>	-4,38 ± 1,62	-0,25 ± 1,5	3,58 ± 3,40	4,84 ± 3,29	6,35 ± 5,83
NpQ-At	-17,81 ± 1,39	-13,28 ± 2,35 <sup>a</sup>	-8,31 ± 2,55	-4,47 ± 3,11	-0,47 ± 2,07	0,87 ± 1,89	1,82 ± 1,37
<b>b*</b>							
BRANCO	45,01 ± 2,58	50,89 ± 1,50	53,27 ± 2,46	52,84 ± 2,46	51,53 ± 3,75	51,75 ± 3,06	49,98 ± 4,23
Q	46,77 ± 3,78	50,81 ± 2,34	50,39 ± 2,43	50,94 ± 3,76	50,84 ± 2,75	49,77 ± 3,95	51,02 ± 1,58
NpQ	43,95 ± 2,55	51,99 ± 2,86	53,42 ± 4,26	53,96 ± 4,41	54,94 ± 6,03	55,07 ± 6,04	50,63 ± 2,40
Q-At	41,78 ± 1,91	52,57 ± 4,06	55,86 ± 3,40	55,39 ± 4,29	54,93 ± 4,83	55,04 ± 3,79	52,24 ± 10,54
NpQ-At	42,62 ± 2,58	50,65 ± 2,70	53,79 ± 2,90	54,67 ± 2,81	55,26 ± 0,98	54,24 ± 0,93	55,48 ± 2,55

<sup>a, b, c</sup>: Análise estatística obtida por Turkey ( $p < 0,05$ ). Letras diferentes na mesma coluna mostram que houve diferenças significativas entre os resultados.

Fonte: Autoria própria.

**Tabela 2** - Valores de ângulo Hue (H°) para as goiabas ao longo de 15 dias de armazenamento.

	<b>Dia 1</b>	<b>Dia 4</b>	<b>Dia 6</b>	<b>Dia 8</b>	<b>Dia 11</b>	<b>Dia 13</b>	<b>Dia 15</b>
BRANCO	290,39 ± 3,17	276,90 ± 4,24 <sup>b</sup>	121,47 ± 140,84	86,83 ± 0,56	85,38 ± 2,43	84,11 ± 1,58	80,62 ± 0,48
Q	287,55 ± 3,24	277,52 ± 0,39 <sup>b</sup>	272,63 ± 0,69	271,25 ± 0,78	88,12 ± 0,97	86,20 ± 2,51	85,34 ± 1,53
NpQ	291,97 ± 1,24	281,46 ± 2,62 <sup>a,b</sup>	276,24 ± 3,40	212,69 ± 106,86	150,07 ± 107,28	148,65 ± 106,97	84,83 ± 1,63
Q-At	293,00 ± 0,88	280,73 ± 1,01 <sup>a,b</sup>	274,43 ± 1,34	270,18 ± 180,59	146,11 ± 107,35	84,93 ± 3,50	82,34 ± 7,80
NpQ-At	292,75 ± 3,13	284,73 ± 2,9 <sup>a</sup>	278,86 ± 3,00	274,75 ± 3,48	150,49 ± 106,20	149,09 ± 105,40	88,15 ± 1,33

<sup>a, b, c</sup>: Análise estatística obtida por Turkey ( $p < 0,05$ ). Letras diferentes na mesma coluna mostram que houve diferenças significativas entre os resultados.

Fonte: Autoria própria.

**Tabela 3** - Perda de massa (%) das goiabas ao longo de 15 dias de armazenamento.

	<b>Dia 1</b>	<b>Dia 4</b>	<b>Dia 6</b>	<b>Dia 8</b>	<b>Dia 11</b>	<b>Dia 13</b>	<b>Dia 15</b>
BRANCO	0,00	4,00 ± 0,57	6,46 ± 1,04	9,62 ± 1,55	13,40 ± 2,10	16,80 ± 2,56	17,51 ± 1,66
Q	0,00	3,90 ± 0,18	6,37 ± 0,23	9,36 ± 0,35	13,00 ± 0,49	15,87 ± 0,63	18,49 ± 0,40
NpQ	0,00	3,63 ± 0,49	5,96 ± 0,87	8,78 ± 1,20	12,13 ± 1,70	14,94 ± 2,02	19,32 ± 2,95
Q-At	0,00	3,98 ± 0,51	6,57 ± 0,83	9,66 ± 1,21	13,41 ± 1,67	16,35 ± 2,10	19,17 ± 3,61
NpQ-At	0,00	3,52 ± 0,06	5,89 ± 0,10	8,67 ± 0,19	12,12 ± 0,35	14,70 ± 0,40	17,13 ± 0,07

Fonte: Autoria própria.

**Tabela 4** - Perda de firmeza (N) das goiabas ao longo de 15 dias de armazenamento.

	<b>Dia 1</b>	<b>Dia 4</b>	<b>Dia 6</b>	<b>Dia 8</b>	<b>Dia 11</b>	<b>Dia 13</b>	<b>Dia 15</b>
BRANCO	40,41 ± 3,31	16,37 ± 3,00 <sup>c</sup>	10,98 ± 2,41 <sup>b</sup>	12,25 ± 2,84 <sup>b</sup>	15,99 ± 3,46	13,73 ± 1,74 <sup>a,b</sup>	7,30 ± 1,89 <sup>c</sup>
Q	33,52 ± 9,06	19,88 ± 4,81 <sup>b,c</sup>	17,52 ± 2,77 <sup>a,b</sup>	19,35 ± 3,05 <sup>a,b</sup>	14,82 ± 1,77	9,56 ± 1,86 <sup>b</sup>	10,20 ± 2,15 <sup>b,c</sup>
NpQ	34,58 ± 9,07	24,73 ± 4,97 <sup>a,b,c</sup>	12,54 ± 1,34 <sup>b</sup>	24,71 ± 7,59 <sup>a</sup>	13,27 ± 1,85	13,56 ± 2,38 <sup>a,b</sup>	11,49 ± 1,68 <sup>a,b,c</sup>
Q-At	34,38 ± 4,07	34,65 ± 3,97 <sup>a</sup>	25,25 ± 9,39 <sup>a</sup>	14,54 ± 1,79 <sup>a,b</sup>	14,88 ± 1,61	15,73 ± 0,74 <sup>a</sup>	13,47 ± 3,06 <sup>a,b</sup>
NpQ-At	39,95 ± 9,87	30,03 ± 4,27 <sup>a,b</sup>	14,21 ± 1,84 <sup>a,b</sup>	12,05 ± 1,45 <sup>b</sup>	14,35 ± 2,28	13,97 ± 0,90 <sup>a</sup>	17,09 ± 1,59 <sup>a</sup>

<sup>a, b, c</sup>: Análise estatística obtida por Turkey ( $p < 0,05$ ). Letras diferentes na mesma coluna mostram que houve diferenças significativas entre os resultados.

Fonte: Autoria própria.

## LISTA DE PUBLICAÇÕES E EVENTOS

Os trabalhos apresentados e o artigo submetido referentes a este trabalho estão listados a seguir.

- SILVA, N. C.; BARROS, T. T.; ASSIS, O. B. G.; MARTELLI-TOSI, M. Ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from Acerola (*Malpighia emarginata DC*) pulp by-product as an alternative process for preparing active chitosan nanoparticles. *LWT - Food Science and Technology*, 2020. – Under review.
- SILVA, N. C.; BARROS, T. T.; ASSIS, O. B. G.; MARTELLI-TOSI, M. Otimização da extração de compostos fenólicos do resíduo da polpa de acerola utilizando Delineamento composto central rotacional 2<sup>2</sup>. In: *II WORKSHOP NAPAN: Perspectivas Interdisciplinares em Alimentos e Nutrição*, 2019, São Paulo. NAPAN, 2019. – Apresentação oral.
- SILVA, N. C.; BARROS, T. T.; ASSIS, O. B. G.; MARTELLI-TOSI, M. Evaluation of chitosan and sodium tripolyphosphate concentrations in the production of nanocapsules by response surface methodology. In: *XVIII Brazilian MRS Meeting*, 2019, Balneário Camboriú. XVIII Brazilian MRS Meeting, 2019. – Apresentação em pôster.