



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos

**EXTRAÇÃO E APLICAÇÃO DE MICROCÁPSULAS DE COMPOSTOS
BIOATIVOS DE FRUTOS DO CERRADO EM FILMES BIODEGRADÁVEIS**

JAQUELINE FERREIRA SILVA

Maringá

2025

JAQUELINE FERREIRA SILVA

**“EXTRAÇÃO E APLICAÇÃO DE MICROCÁPSULAS DE COMPOSTOS
BIOATIVOS DE FRUTOS DO CERRADO EM FILMES BIODEGRADÁVEIS”**

Tese apresentada à Universidade Estadual de Maringá, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Ciência de Alimentos, para obtenção do grau de Doutor em Ciência de Alimentos.



Documento assinado digitalmente
PAULA BECKER PERTUZATTI KONDA
Data: 02/07/2025 13:55:19-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Paula Becker Pertuzatti Konda

Profa. Dra. Ana Paula Stafussa



Documento assinado digitalmente
GRASIELE SCARAMAL MADRONA
Data: 03/07/2025 09:18:14-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Grasielle Scaramal Madrona
Orientadora

Profa. Dra. Emília Savioli Lopes

Profa. Dra. Eloize da Silva Alves

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
(Biblioteca Central - UEM, Maringá - PR, Brasil)

S586e

Silva, Jaqueline Ferreira

Extração e aplicação de microcápsulas de compostos bioativos de frutos do cerrado em filmes biodegradáveis / Jaqueline Ferreira Silva. -- Maringá, PR, 2025.
113 f. : il. color., figs., tabs.

Orientadora: Profa. Dra. Grasielle Scaramal Madrona.

Coorientadora: Profa. Dra. Mônica Regina da Silva Scapim.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, 2025.

1. Compostos bioativos - Extração. 2. Frutas do Cerrado - Uso industrial. 3. Produtos naturais - Encapsulação. 4. Agroindústria - Inovação tecnológica. 5. Alimentos funcionais. I. Madrona, Grasielle Scaramal, orient. II. Scapim, Mônica Regina da Silva, coorient. III. Universidade Estadual de Maringá. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos. IV. Título.

CDD 23.ed. 664.024

Orientadora

Profa. Dra. Grasielle Scaramal Madrona

Coorientadora

Profa. Dra. Mônica Regina da Silva Scapim

BIOGRAFIA

Jaqueline Ferreira Silva, nascida em Montes Claros de Goiás – GO. Possui graduação em Engenharia de Alimentos pela Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT), mestrado em Engenharia de Alimentos e atualmente cursa doutorado em Ciência de Alimentos pela Universidade Estadual de Maringá (UEM), com período sanduíche na École d'Ingénieurs de Purpan, na França. Tem experiência na área de Ciência e Tecnologia de Alimentos, atuando principalmente com extração e encapsulação de compostos bioativos de frutos do Cerrado, com ênfase no uso de polímeros naturais para desenvolvimento de embalagens biodegradáveis ativas e tecnologias sustentáveis de conservação. Além disso, desenvolve pesquisas voltadas à aplicação desses compostos em produtos lácteos e estudos sobre microbiologia e físico-química de alimentos.

Dedico

Dedico este trabalho com todo o meu amor à minha família e aos amigos que, com apoio incondicional, estiveram ao meu lado em cada passo dessa jornada e em todas as minhas conquistas.

AGRADECIMENTOS

A conclusão desta tese representa não apenas o encerramento de uma etapa acadêmica, mas também a concretização de um sonho construído com o apoio de pessoas fundamentais em minha vida.

À minha mãe, Geni Luiz da Silva Santos, e ao meu pai, Miguel Ferreira dos Santos, agradeço imensamente por todo amor, incentivo e pelos valores que me transmitiram, os quais foram essenciais para que eu pudesse chegar até aqui. Vocês são minha base, minha força e meu maior exemplo.

À minha irmã, Pauliana Ferreira Silva, minha gratidão pelo apoio constante, pelas palavras de encorajamento e pelo carinho em todos os momentos dessa jornada. Sua presença sempre foi um alento nos dias mais difíceis.

Ao meu namorado, Marcos Vinicius da Rosa, obrigada por estar ao meu lado em todos os momentos, compartilhando conquistas e desafios com paciência, compreensão e carinho incondicional.

Às minhas amigas Carmen Torres Guedes e Keyle Torres Guedes, minha gratidão pela amizade sincera, pelo apoio constante e por todas as palavras de encorajamento ao longo dessa caminhada.

À minha orientadora, Profa. Dra. Grasielle Scaramal Madrona, e à minha coorientadora, Profa. Dra. Mônica Regina da Silva Scapim, agradeço pela orientação dedicada, pela confiança em meu trabalho e pelos ensinamentos que levarei comigo por toda a minha carreira.

Agradeço também à Universidade Estadual de Maringá e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos pela estrutura e suporte oferecidos durante todo o doutorado. Sou grata à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo financiamento da bolsa de estudos, fundamental para a realização desta pesquisa.

Por fim, estendo meus sinceros agradecimentos à École d'Ingénieurs de Purpan, na França, pela oportunidade enriquecedora de realizar o doutorado sanduíche, que ampliou minha formação acadêmica e minha visão científica.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para esta conquista, meu mais profundo agradecimento.

APRESENTAÇÃO

Esta tese de doutorado está apresentada na forma de três artigos científicos submetidos em periódicos

Artigo 1

Autores: Jaqueline Ferreira Silva, Carmen Torres Guedes, Eloize da Silva Alves, Évelin Lemos de Oliveira, Eduardo Cesar Meurer, Suelen Siqueira dos Santos, Mônica Regina da Silva Scapim E Grasielle Scaramal Madrona

Título: Enhanced Recovery of Bioactive Compounds from Cagaita and Mamacadela Fruits Using Natural Deep Eutectic Solvents (NADES) and Ethanol: A Comparative Study

Revista: Plants

Situação: Aceito

Artigo 2

Autores: Jaqueline Ferreira Silva, Carmen Torres Guedes, Eloize da Silva Alves, Oscar de Oliveira Santos Júnior, Rosane Marina Peralta, Suelen Siqueira dos Santos, Mônica Regina da Silva Scapim, Grasielle Scaramal Madrona

Título: Effects of *In Vitro* Digestion on the Bioactivity and Bioaccessibility of Mamacadela (*Brosimum Gaudichaudii*) Microcapsules

Revista: Journal of Food Measurement and Characterization

Situação: Publicado

<https://doi.org/10.1007/s11694-025-03451-y>

Artigo 3

Autores: Jaqueline Ferreira Silva, Carmen Torres Guedes, Eloize da Silva Alves, Bruno Henrique Figueiredo Saqueti, Cintia Stefhany Ripke Ferreira, Ana Paula Monteiro de Mendonça, Marcos William Crisóstomo Silva, Francielle Sato, Benicio Alves de Abreu Filho, Oscar de Oliveira Santos Júnior, Silvio Claudio da Costa, Suelen Siqueira dos Santos, Mônica Regina da Silva Scapim, Grasielle Scaramal Madrona

Título: Biodegradable Active Films Incorporating Mamacadela (*Brosimum gaudichaudii*) Microcapsules with Antioxidant and Antibacterial Activity

Revista: Food Chemistry

Situação: Submetido

GENERAL ABSTRACT

INTRODUCTION: The Cerrado is considered a type of tropical savannah that is currently under greater threat. It is home to the greatest diversity of flora in the world. Due to the current rates of deforestation in the Cerrado, about 60% to 80% of the typical flora of the region may be at risk of extinction. Several of its fruit and tree species are potentially interesting for agroindustry, but they are still unknown, little exploited, and/or underutilized. The fruits (cagaita and mamacadela) native to the Cerrado have an interesting composition of bioactive compounds responsible for antioxidant, anti-inflammatory, and antimicrobial activities, with technological potential for industries. Encapsulation is a preservation technique for bioactive compounds that aims to increase the number of compounds absorbed by the body due to their controlled release. Studies aimed at valuing native fruits through the involvement of local communities and the recovery of traditional and popular knowledge about these fruits contribute to increasing their added value, thus promoting opportunities for sustainable economic development.

AIMS: Investigate the extraction, characterization, and application of bioactive compounds from Cerrado fruits, using sustainable solvents and encapsulation technologies. **Article 1** - This work aimed to investigate the extraction of bioactive compounds in fruits cagaita and mamacadela, under different conditions, using eutectic solvents and ethanol and extraction techniques with conventional bath (CB) and bath with agitation (BA). **Article 2** - This work aimed to extract its bioactive compounds using ethanol, a safe and sustainable solvent, and sought to maintain stability using encapsulation using a natural polymer followed by drying by spray drying and lyophilization and identification by mass spectrometry by ionization electrospray (ESI-MS). **Article 3** - This study developed microcapsules using lyophilization (ML) and spray drying (MSD) for use in active packaging films with concentrations of 2.5%, 5.0%, and 10.0%.

MATERIAL AND METHODS: The fruit samples (cagaita and mamacadela) were collected in the rural area of Jussara, Goiás, Brazil (Latitude: 15° 51' 31" S, Longitude: 50° 52' 9" W) during the 2023 harvest. After collection, the samples were cleaned and depulped. They were stored in polyethylene packaging and frozen at -18 °C. The samples were kept frozen and transported to the Laboratory of the State University of Maringá, Paraná, Brazil. For clarity, this section is described separately for each article, as follows: **Article 1** - Extracts were prepared using natural deep eutectic solvents (NADEs) based on choline chloride (CC) combined with citric acid (CA) or tartaric acid (TA), with ethanol used as a reference solvent. The extraction process was optimized by varying parameters such as extraction temperature (30 and 60 °C), extraction time (30 and 60 minutes), and extraction equipment (conventional water bath and agitated bath), to evaluate the bioactive compounds for a better understanding of the extracts. Antioxidant capacity was assessed using DPPH•, FRAP, and ABTS•+ assays, as well as total phenolic content and flavonoid content. In addition, the extracts were evaluated for color, water activity, and identification of bioactive compounds via mass spectrometry. Carotenoid content was determined in the ethanolic extracts due to the specificity of the method. **Article 2** - Extraction was performed using ethanol as the solvent (1 g/10 mL). The extract was subjected to rotary evaporation, resuspended in a 10% ethanolic solution, and then submitted to the encapsulation process via spray drying and freeze-drying (lyophilization). The resulting capsules were evaluated for bioactive compound content, encapsulation efficiency, water activity, color, bioaccessibility after in vitro digestion, identification of bioactive compounds by electrospray ionization mass spectrometry (ESI-MS), and morphological characteristics. **Article 3** - The ethanolic extract (1 g/10 mL) was

subjected to rotary evaporation, resuspended in a 10% ethanolic solution, and then used in the encapsulation process via spray drying and freeze-drying (lyophilization). In this study, the capsules were evaluated for β -carotene encapsulation efficiency, scanning electron microscopy (SEM), antimicrobial activity, and their application in biodegradable packaging using the casting method. Subsequently, the films were analyzed for water vapor permeability, maximum tensile strength, elongation at break, elastic modulus, thickness, opacity, UV barrier, Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR), and the antioxidant capacity of bioactive compounds. The results were obtained in triplicate and analyzed by analysis of variance (ANOVA), followed by Tukey's test for mean comparison ($p < 0.05$), using Sisvar software.

RESULTS AND DISCUSSION: This item was also described separately for each article, as follows: **Article 1** - The results showed that ethanol was efficient for the extraction of flavonoids and presented advantages demonstrated in the antioxidant analysis of ABTS•+ and FRAP. However, eutectic solvents stood out in the extraction of phenolic compounds, with yields 14.0 and 4.5 times higher than ethanol for mamacadela and cagaita, respectively. When compared to cagaita, mamacadela had twice the content of carotenoids. In addition, the solvent CC: AT (choline chloride and tartaric acid) was the most efficient, demonstrating, by ESI-MS, the identification of 29 phenolic compounds for the suckling bottle and 27 for cagaita. **Article 2** - The extract, obtained with ethanol, a safe and sustainable solvent, was rich in carotenoids. The microcapsules obtained by spray drying (MSD) showed higher encapsulation efficiency. At the same time, lyophilization (ML) produced capsules with more intense yellow color and greater antioxidant capacity by the different methodologies, ABTS (6402.32 ± 427.33 mg Trolox/g), DPPH (11279.00 ± 1151.12 mg Trolox/g), FRAP (4384.93 ± 199.30 mg Trolox/g), phenolic compounds (57.87 ± 3.82 mg gallic acid equivalent/g), flavonoids (19.86 ± 2.76 mg quercetin equivalent/g) and carotenoids (27.86 ± 0.13 mg/g). Seventeen compounds were identified in both microcapsules, and lyophilized capsules presented 71.83% of the total carotenoids, and spray drying capsules showed better preservation of antioxidant phenolic compounds. The capsules showed potential for use in food, not only because they are rich in bioactive compounds, but also as a colorant. **Article 3** - ML microcapsules presented better antioxidant and antimicrobial performance, with a beta-carotene encapsulation efficiency of 80.94%, 1.21 times higher than the MSD probably due to the better solubility of maltodextrin. The films with ML were more uniform, with greater mechanical strength, water and UV barriers, and functional interactions of the groups. ML also increased antioxidant activity, promoting the efficient release of bioactive compounds. However, MSD films with 10.0% microcapsules offered the best UV protection (12.26% reduction) and higher contents of carotenoids and phenolics. Overall, incorporating 10.0% microcapsules is recommended to create active films with great functional properties and enhanced protective effects.

CONCLUSIONS: Therefore, the extracts (from cagaita and mamacadela) demonstrate potential for application as natural pigments, adding value to these fruits and encouraging their use by the food industry. In addition, the presence of bioactive compounds reinforces their commercial value, offering an alternative source of income and contributing to the conservation of the biome. In general, the fruits of this ecosystem have high technological potential, especially with regard to applications in the food industry, particularly for active packaging. Furthermore, mamacadela stood out due to its higher content of carotenoids and phenolic compounds, which makes encapsulation a promising strategy to maintain the stability of bioactives. Moreover, the incorporation of 10% microcapsules is recommended for the development of active films with

optimized functional properties.

Keywords: Mamacadela; Cagaita; Natural Deep Eutectic Solvents (NADES);
Drying Techniques; Technological Innovation.

RESUMO GERAL

INTRODUÇÃO: O Cerrado é considerado um tipo de savana tropical que atualmente se encontra em maior ameaça. Ele abriga a maior diversidade de flora do mundo. Devido às taxas atuais de desmatamento do Cerrado, cerca de 60% a 80% da flora típica da região pode estar em risco de extinção. Várias de suas espécies frutíferas e arbóreas são potencialmente interessantes para a agroindústria, mas ainda são desconhecidas, pouco exploradas e/ou subutilizadas. Os frutos (cagaita e mamacadela) nativos do Cerrado possuem uma interessante composição de compostos bioativos responsáveis por atividades antioxidantes, anti-inflamatórias e antimicrobianas, com potencial tecnológico para indústrias. A encapsulação é uma técnica de preservação para compostos bioativos que visa aumentar o número de compostos absorvidos pelo organismo devido à sua liberação controlada. Estudos que visam à valorização de frutos nativos por meio do envolvimento das comunidades locais e do resgate do conhecimento tradicional e popular sobre esses frutos contribuem para o aumento de seu valor agregado, promovendo, assim, oportunidades de desenvolvimento econômico sustentável.

OBJETIVOS: Investigar a extração, caracterização e aplicação de compostos bioativos de frutos do Cerrado, utilizando solventes sustentáveis e tecnologias de encapsulamento. **Artigo 1** – Este trabalho teve como objetivo investigar a extração de compostos bioativos em frutos cagaita e mamacadela, sob diferentes condições, utilizando solventes eutéticos e etanol e técnicas de extração com banho convencional (CB) e banho com agitação (BA). **Artigo 2** – Este trabalho teve como objetivo extrair seus compostos bioativos utilizando etanol, um solvente seguro e sustentável, e buscou manter a estabilidade por meio de encapsulamento aplicando um polímero natural seguido de secagem por *spray drying* e liofilização e identificação por espectrometria de massa por ionização *eletrospray* (ESI-MS). **Artigo 3** – Este estudo visou desenvolver microcápsulas usando liofilização (ML) e secagem por *spray drying* (MSD) para uso em filmes de embalagem ativos com concentrações de 2,5%, 5,0% e 10,0%.

MATERIAIS E MÉTODOS: As amostras de frutas (cagaita e mamacadela) foram coletadas, na área rural de Jussara - Goiás - Brasil (Latitude: 15° 51' 31" S, Longitude: 50° 52' 9" W) durante a safra 2023. Após a coleta, as amostras foram limpas e despolpadas. Foram armazenadas em embalagens de polietileno e congeladas a -18 °C. As amostras foram mantidas congeladas e transportadas para o laboratório da Universidade Estadual de Maringá, Paraná, Brasil. Para um melhor entendimento, este item foi descrito separadamente para cada artigo, conforme a seguir: **Artigo 1** – Foram feitas extrações utilizando solventes eutéticos orgânicos naturais (NADEs) à base de cloreto de colina (CC) com ácido cítrico (AC) ou ácido tartárico (AT), e etanol como referência, a extração foi otimizada utilizando diferentes parâmetros de extração de temperatura (30 e 60 °C), tempo de extração (30 e 60 min) e equipamento de extração (banho convencional e banho com agitação). avaliando os compostos bioativos para uma melhor compreensão dos extratos. Sua capacidade antioxidante foi avaliada pelos métodos de DPPH[•], FRAP, ABTS^{•+} e ensaios de compostos fenólicos totais e flavonoides, bem como pela cor, atividade da água e identificação de compostos bioativos por espectrometria de massa. Adicionalmente, os teores de carotenoides foram avaliados nos extratos etanólicos, devido a especificidade do método. **Artigo 2** – Foi realizada a extração utilizando o etanol como solvente (1 g/10 mL), este extrato foi rotaevaporado, resuspendido em solução etanólica a 10 % e em seguida submetido ao processo de encapsulação por *spray drying* e liofilização. As cápsulas obtidas foram avaliadas quanto a compostos bioativos, eficiência de encapsulação, atividade de água, cor, a bioacessibilidade após o processo digestivo, identificação de compostos bioativos por espectrometria de massa de ionização *eletrospray* (ESI-MS) e sua morfologia. **Artigo 3** – O extrato etanólico (1 g/10 mL) obtido, foi rotaevaporado, resuspendido em solução etanólica

a 10 % e seguida para o processo de encapsulação por *spray drying* e liofilização. Neste artigo, para as cápsulas avaliou-se a eficiência de encapsulação de betacaroteno, microscopia eletrônica de varredura, atividade antimicrobiana e sua aplicação em embalagem biodegradável utilizando a metodologia de *casting*. Posteriormente os filmes foram avaliados quanto a permeabilidade ao vapor de água, resistência à tração máxima, alongamento na ruptura e módulo de elasticidade, espessura, opacidade, barreira UV, espectroscopia infravermelha de transformação de Fourier (FTIR) e capacidade antioxidante de compostos bioativos. Os resultados foram obtidos em triplicata e submetidos à análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey para comparação de médias ($p < 0,05$), utilizando o *software* Sisvar.

RESULTADOS E DISCUSSÃO: Este item também foi descrito separadamente para cada artigo, conforme segue: **Artigo 1** - Os resultados mostraram que o etanol foi eficiente para a extração de flavonoides e apresentou vantagens demonstradas nas análises antioxidantes do ABTS⁺ e do FRAP. No entanto, os solventes eutéticos se destacaram na extração de compostos fenólicos, com rendimentos 14,0 e 4,5 vezes maiores que o etanol para mamacadela e cagaita, respectivamente. Quando comparada à cagaita, a mamacadela apresentou o dobro do conteúdo de carotenoides. Além disso, o solvente CC:AT (Cloreto de colina e ácido tartárico) foi o mais eficiente, demonstrando, por ESI-MS, a identificação de 29 compostos fenólicos para a mamacadela e 27 para a cagaita. **Artigo 2** - O extrato, obtido com etanol, solvente seguro e sustentável, foi rico em carotenoides. As microcápsulas obtidas por secagem em *spray drying* (MSD) apresentaram maior eficiência de encapsulamento, enquanto a liofilização (ML) produziu cápsulas com cor amarela mais intensa e maior capacidade antioxidante pelas diferentes metodologias, ABTS ($6402,32 \pm 427,33$ mg Trolox/g), DPPH ($11279,00 \pm 1151,12$ mg Trolox/g), FRAP ($4384,93 \pm 199,30$ mg Trolox/g), compostos fenólicos ($57,87 \pm 3,82$ mg equivalente de ácido gálico/g), flavonoides ($19,86 \pm 2,76$ mg equivalente de quercetina/g) e carotenoides ($27,86 \pm 0,13$ mg/g). Dezesete compostos foram identificados em ambas as microcápsulas, sendo que as cápsulas liofilizadas apresentaram 71,83 % do total de carotenoides, e as cápsulas secas por *spray drying* apresentaram melhor preservação dos compostos antioxidantes. As cápsulas mostraram potencial para uso em alimentos, não só por serem ricas em compostos bioativos, mas também como corante. **Artigo 3** - As microcápsulas de ML apresentaram melhor desempenho antioxidante e antimicrobiano, com uma eficiência de encapsulamento de betacaroteno de 80,94 %, 1,21 vezes maior que a MSD provavelmente devido à melhor solubilidade da maltodextrina. Os filmes com ML foram mais uniformes, com maior resistência mecânica, barreiras de água e UV e interações funcionais dos grupos. ML também aumentou a atividade antioxidante, promovendo a liberação eficiente de compostos bioativos. No entanto, os filmes MSD com 10,0 % de microcápsulas ofereceram a melhor proteção UV (12,26 % de redução) e maiores teores de carotenoides e fenólicos. No geral, incorporar 10,0 % de microcápsulas é recomendado para criar filmes ativos com grandes propriedades funcionais e efeitos protetores ampliados.

CONCLUSÃO: Portanto, os extratos (cagaita e mamacadela) obtidos demonstram potencial para aplicação como pigmentos naturais, agregando valor aos frutos e incentivando sua utilização pela indústria. Além disso, a presença de compostos bioativos reforça o valor comercial do fruto, oferecendo uma alternativa de renda e contribuindo para a conservação do bioma. De modo geral, os frutos deste ecossistema apresentam elevado potencial tecnológico, especialmente no que se refere à aplicação tecnológica pela indústria de alimentos, visando embalagens ativas. Além disso, a mamacadela se destacou por seu maior teor de carotenoides e compostos fenólicos, o que torna promissor a encapsulação para manter a estabilidade de bioativos. Além disso, a incorporação de 10% de microcápsulas é recomendada para o desenvolvimento de filmes ativos com propriedades funcionais

otimizadas.

Palavras-chave: Mamacadela; Cagaita; Solventes eutéticos; Técnicas de Secagem; Inovação Tecnológica.

ARTIGO 1

Recuperação Aprimorada de Compostos Bioativos a partir de Frutos de Cagaita e Mamacadela Usando Solventes Eutéticos Profundos Naturais (NADES) e Etanol: um Estudo Comparativo

Jaqueline Ferreira Silva ¹, Carmen Torres Guedes ², Eloize da Silva Alves ¹, Évelin Lemos de Oliveira ³, Eduardo Cesar Meurer ⁴, Suelen Siqueira dos Santos ⁴,
Mônica Regina da Silva Scapim ⁵ e Grasielle Scaramal Madrona ^{5,*}

1 Pós-graduação em Ciências Alimentares, Universidade Estadual de Maringá, Maringá 87020-000 Paraná, Brasil;

jaquelinesferreirasilva@gmail.com (J.S.); eloizeetaus@gmail.com (E.A.)

2 Pós-graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Maringá, Maringá 87020-000 Paraná, Brasil;

ctorresguedes@gmail.com

3 Departamento de Química, Universidade Estadual de Maringá, Maringá 87020-000 Paraná, Brasil;

elemosoliveira01@gmail.com

4 Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná, Jandaia do Sul, 86900-000 Paraná, Brasil;

eduardo.meurer@ufpr.br (E.M.); suelensiqueira@ufpr.br (S.S.)

5 Departamento de Engenharia Alimentar, Universidade Estadual de Maringá, Maringá 87020-000 Paraná, Brasil;

mrsscachim@uem.br

*Correspondência: gsmadrona@uem.br

Resumo

Os frutos nativos do Cerrado possuem uma interessante composição de compostos bioativos responsáveis por atividades antioxidantes, anti-inflamatórias e antimicrobianas, com potencial tecnológico como produto funcional. Este estudo investigou a extração de compostos bioativos em frutos cagaita e mamacadela, sob diferentes condições, utilizando solventes eutéticos à base de cloreto de colina (CC) com ácido cítrico (AC) ou ácido tartárico (AT), mais etanol como referência. Para uma melhor compreensão dos extratos, sua capacidade antioxidante foi avaliada pelos métodos DPPH[•], FRAP, ABTS^{•+}, e ensaios de compostos fenólicos totais e flavonoides, bem como pela cor, atividade da água e identificação de compostos bioativos por espectrometria de massa. Adicionalmente, os teores de carotenoides foram avaliados nos extratos etanólicos. Os resultados mostraram que o etanol foi eficiente para a extração de flavonoides e apresentou vantagens demonstradas nas análises antioxidantes do ABTS^{•+} e do FRAP. No entanto, os solventes eutéticos se destacaram na extração de compostos fenólicos, com rendimentos 14,0 e 4,5 vezes maiores que o etanol para mamacadela e cagaita, respectivamente. Além disso, quando comparada à cagaita, a mamacadela apresentou o dobro do conteúdo de carotenoides, o solvente CCAT (cloreto de colina e ácido tartárico) foi o mais eficiente, demonstrando, por DI-ESI-MS, 29 compostos fenólicos para a mamacadela e 27 para a cagaita. Portanto, os extratos obtidos apresentam potencial para uso como pigmentos naturais, agregando valor aos frutos e incentivando sua exploração por indústrias.

Palavras-chave: *Eugenia dysenterica* DC; *Brosimum Gaudichaudii* Trécul; Extração; Antioxidante; Solventes verdes; Frutos nativos; Cerrado.

1. Introdução

O Cerrado, um dos principais biomas brasileiros, é uma região de grande importância ecológica, social e econômica. É o segundo maior bioma da América do Sul, ocupando cerca de 23,3% do território brasileiro, ou seja, aproximadamente 1983.017 km² [1]. A biodiversidade do Cerrado é notável e é considerado um ponto de acesso global. Este bioma abriga mais de 12.000 espécies vegetais [2] e representa 5% das espécies vegetais e animais do mundo.

Várias de suas espécies frutíferas e arbóreas são potencialmente interessantes para a agroindústria, mas ainda são desconhecidas, pouco exploradas e/ou subutilizadas [3,4]. Além de sua rica flora, o Cerrado desempenha um papel crucial no ciclo hidrológico do Brasil [5], aumentando ainda mais a importância deste bioma. Devido às taxas atuais de desmatamento do Cerrado, cerca de 60% a 80% da flora típica da região pode estar em risco de extinção [6,7].

A rápida expansão do agronegócio, as leis ambientais pouco desenvolvidas e inadequadamente aplicadas e o declínio dos recursos para pesquisa e conservação estão levando ao colapso da biodiversidade. A infraestrutura de transporte é uma das principais causas da perda de habitat, representando uma ameaça significativa para as espécies de mamíferos [8-10].

A pesquisa em frutas nativas promove a preservação ambiental, oferecendo uma alternativa sustentável para culturas como a soja, já que essas frutas fazem parte da flora local e apoiam a conservação e comercialização do bioma [11,12].

Uma das estratégias utilizadas neste tipo de pesquisa é a extração de compostos bioativos com diferentes solventes. O objetivo é identificar o solvente que seja mais eficaz na extração, quantificação e identificação desses compostos em frutos. A escolha do solvente é crítica, pois o uso de cada um resulta em propriedades químicas diferentes, rendimento, peso molecular, seletividade e bioatividade [13,14].

Tendo isto em conta, os solventes eutéticos profundos (NADES) recebem cada vez mais atenção dos investigadores de várias áreas da ciência e tecnologia devido à natureza ambientalmente amigável, biodegradável e altamente solúvel destes solventes. Além de sua ampla gama de aplicações, particularmente aquelas associadas à introdução de novos grupos funcionais e modificações de superfície, um dos principais desafios associados ao seu uso é a alta viscosidade. Isso pode ser reduzido incorporando água no sistema de solvente, aplicando calor ou usando grandes volumes de DESs. Estes solventes são descritos como simples, ecologicamente

correto, custo-benefício e fácil de se obter [15-19].

O etanol é um solvente orgânico de baixa toxicidade, amplamente reconhecido e utilizado para a extração de compostos bioativos, principalmente devido ao seu menor impacto ambiental e toxicidade em comparação com o metanol [20,21]. No entanto, os solventes eutéticos emergiram como uma opção mais segura em relação aos solventes orgânicos convencionais, como o etanol, em comparação com a abordagem anterior, na qual apenas o bom desempenho na extração de compostos bioativos foi considerado de sustentabilidade, mesmo que se tenha considerado menos sustentável [22].

Estudos comparativos sobre a eficiência dos solventes para fins de extração permitem que a indústria selecione a opção mais adequada com base nos compostos bioativos e nas aplicações pretendidas. Assim, este trabalho tem como objetivo (1) extrair compostos bioativos de dois frutos nativos do Cerrado (mamacadela e cagaita), em diferentes condições e utilizando diferentes solventes (eutéticos e orgânicos); (2) avaliar a cor e atividade em água e quantificar os compostos bioativos; e (3) identificar por espectrometria de massa (DI-ESI-MS) os compostos presentes nos diferentes extratos.

2. Resultados

2.1. Coloração e atividade da água de extratos

Os testes de análise de cor e atividade da água (AW) foram realizados nos diferentes extratos estudados, e os valores foram comparados entre si, conforme mostrado na Tabela 1.

Tabela 1. Análise de cor e atividade da água para os extratos de cagaita e mamacadela.

Mamacadela						
Extratos	L*	a*	b*	Wi	Yi	AW
CC:AT 30 °C (BC)	52,34 ± 0,92 ^{aAB}	4,28 ± 0,13 ^{bB}	19,68 ± 0,83 ^{abDE}	48,25 ± 0,54 ^{aA}	37,58 ± 0,97 ^{dE}	0,50 ± 0,00 ^{cD}
CC:AC 30 °C (BC)	51,01 ± 0,58 ^{aAB}	4,70 ± 0,07 ^{bB}	22,26 ± 0,25 ^{abDE}	45,98 ^{aA} ± 0,41 ^{aA}	43,65 ± 0,14 ^{cdDE}	0,45 ± 0,07 ^{cDE}
Etanol 30 °C (BC)	29,88 ± 2,15 ^{bc}	0,12 ± 2,46 ^{cC}	13,39 ± 3,29 ^{cE}	28,52 ± 1,55 ^{cC}	44,53 ± 8,20 ^{bcdCD}	0,97 ± 0,00 ^{aA}
Etanol 60 °C (BC)	29,42 ± 1,40 ^{bc}	-1,78 ± 0,51 ^{cC}	14,80 ± 1,78 ^{cE}	27,84 ± 0,98 ^{cC}	50,21 ± 3,61 ^{abcC}	0,94 ± 0,02 ^{aA}
Etanol 30 °C (BA)	49,01 ± 7,79 ^{aAB}	11,16 ± 0,86 ^{aA}	28,13 ± 11,61 ^{abCD}	39,65 ± 2,82 ^{bB}	55,77 ± 16,69 ^{abBC}	0,93 ± 0,02 ^{aA}
Etanol 60 °C (BA)	43,96 ± 5,49 ^{aB}	9,55 ± 1,91 ^{aA}	29,96 ± 5,23 ^{aBCD}	35,49 ± 3,51 ^{bB}	68,11 ± 7,72 ^{aAB}	0,84 ± 0,00 ^{bBC}
Cagaita						
Extratos	L*	a*	b*	Wi	Yi	AW
CC:AT 30 °C (BC)	53,73 ± 3,05 ^{aA}	-1,23 ± 0,09 ^{aC}	22,50 ± 1,31 ^{cDE}	48,50 ± 2,20 ^{aA}	41,88 ± 0,06 ^{cDE}	0,40 ± 0,06 ^{aE}
CC:AC 30 °C (BC)	54,36 ± 2,81 ^{aA}	-1,61 ± 0,08 ^{aC}	20,77 ± 1,48 ^{cDE}	49,79 ± 1,96 ^{aA}	38,19 ± 0,76 ^{cDE}	0,50 ± 0,00 ^{aD}
Etanol 30 °C (BC)	53,46 ± 0,80 ^{aA}	-8,81 ± 0,41 ^{bcD}	37,77 ± 2,34 ^{bABC}	39,38 ± 0,87 ^{bB}	70,62 ± 3,36 ^{bAB}	0,93 ± 0,00 ^{aA}
Etanol 60 °C (BC)	52,88 ^a ± 0,99 ^{aAB}	-8,08 ± 0,28 ^{bcD}	40,74 ± 1,26 ^{abA}	37,42 ± 0,22 ^{bcB}	77,02 ± 1,04 ^{aA}	0,91 ± 0,00 ^{aAB}
Etanol 30 °C (BA)	51,93 ± 0,95 ^{aAB}	-8,90 ± 0,39 ^{cD}	37,39 ± 1,90 ^{bABC}	38,42 ± 0,44 ^{bcB}	71,97 ± 2,36 ^{bAB}	0,82 ± 0,00 ^{aC}
Etanol 60 °C (BA)	52,60 ± 0,34 ^{aAB}	-8,32 ± 0,05 ^{bD}	42,94 ± 0,43 ^{aAB}	35,50 ± 0,18 ^{cB}	81,63 ± 0,59 ^{aA}	0,89 ± 0,00 ^{aABC}

Valores médios ± desvio-padrão (DP); n = 3 (triplicata); Letras minúsculas sobrepostas iguais na mesma coluna não diferem significativamente ($p < 0,05$) entre si em relação aos extratos para o mesmo fruto (cagaita ou mamacadela). As letras maiúsculas iguais sobrescritas na mesma coluna não diferem significativamente ($p < 0,05$) entre si em relação aos tratamentos para ambos os frutos analisados (cagaita e mamacadela). CC:AT - Cloreto de colina com ácido tartárico, proporção 1:1; CC:AC - Cloreto de colina com ácido cítrico, proporção 1:1, com adição de 20% de água; CB-Banho convencional; BA-Banho com agitação; WI - Índice de brancura; Yi - Índice de amarelecimento; AW - atividade da água.

A caracterização da cor foi explorada neste estudo através da caracterização de extratos. O uso de diferentes solventes de extração permite que a indústria faça a melhor escolha de acordo com suas necessidades.

Os processos que utilizaram diferentes solventes resultaram em cores diferentes dos extratos, como pode ser visto na Figura 1. Os extratos etanólicos apresentaram principalmente uma cor amarela intensa, comparada aos solventes eutéticos para ambas as frutas.

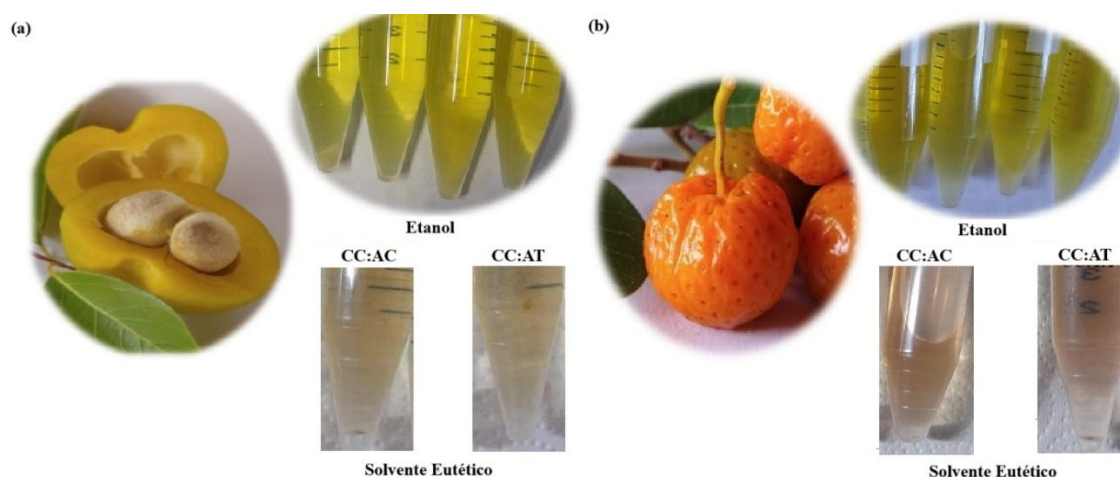


Figura 1. Frutos do Cerrado: extratos obtidos por solventes eutéticos e etanol para (a) cagaita e (b) mamacadela.

2.2. *Compostos bioativos de extratos*

Os extratos de mamacadela e cagaita obtidos por diferentes processos e solventes foram avaliados quanto à capacidade antioxidante e seus compostos bioativos, conforme apresentado na Tabela 2.

Tabela 2. Capacidade antioxidante dos frutos do Cerrado com diferentes solventes de extração e metodologias de quantificação.

Mamacadela					
Extratos	TPC	Flavonoides	ABTS⁺⁺	FRAP	DPPH[*]
CC:AT 30 °C (BC)	144,21 ± 6,37 ^{aA}	18,32 ± 7,03 ^{cC}	26,01 ± 11,43 ^{cC}	246,86 ± 4,98 ^{aB}	349,90 ± 70,77 ^{aCD}
CC:AC 30 °C (BC)	141,91 ± 21,15 ^{aA}	22,03 ± 0,69 ^{cC}	35,49 ± 0,00 ^{cC}	102,92 ± 7,60 ^{bCDE}	255,66 ± 59,83 ^{aDE}
Etanol 30 °C (BC)	1,40 ± 0,70 ^{bE}	81,39 ± 6,82 ^{bB}	2,39 ± 2,01 ^{cC}	156,22 ± 76,88 ^{bCDE}	ND
Etanol 60 °C (BC)	8,30 ± 2,49 ^{bDE}	143,53 ± 5,75 ^{abAB}	138,73 ± 21,62 ^{bBC}	123,04 ± 17,55 ^{bBCD}	ND
Etanol 30 °C (BA)	5,74 ± 3,84 ^{bE}	169,04 ± 5,11 ^{aA}	109,10 ± 10,26 ^{bC}	163,90 ± 54,69 ^{abBCD}	ND
Etanol 60 °C (BA)	11,65 ± 5,59 ^{bDE}	135,18 ± 3,98 ^{abAB}	190,88 ± 20,83 ^{aBC}	153,32 ± 7,47 ^{abCD}	ND
Cagaita					
Extratos	TPC	Flavonoides	ABTS⁺⁺	FRAP	DPPH[*]
CC:AT 30 °C (BC)	64,15 ± 9,38 ^{bB}	20,64 ± 0,00 ^{aC}	131,62 ± 19,80 ^{cBC}	198,75 ± 10,72 ^{bBC}	652,07 ± 7,12 ^{aA}
CC:AC 30 °C (BC)	171,32 ± 21,52 ^{aA}	21,57 ± 0,80 ^{aC}	41,54 ^{cC} ± 32,26 ^{cC}	53,56 ± 4,04 ^{cE}	659,65 ± 35,70 ^{aA}
Etanol 30 °C (BC)	22,52 ± 2,24 ^{cCDE}	12,29 ± 3,87 ^{bcC}	1219,65 ± 448,70 ^{abA}	510,68 ± 58,18 ^{aA}	312,34 ± 2,48 ^{cdCDE}
Etanol 60 °C (BC)	43,82 ± 6,96 ^{bcBC}	1,62 ± 0,80 ^{dC}	1120,09 ± 322,21 ^{abA}	81,77 ± 10,99 ^{cDE}	493,57 ± 38,36 ^{bB}
Etanol 30 °C (BA)	23,49 ± 4,83 ^{cCDE}	14,84 ± 1,06 ^{bC}	1435,36 ± 70,60 ^{aA}	508,40 ± 46,69 ^{aA}	236,55 ± 38,86 ^{dE}
Etanol 60 °C (BA)	37,86 ± 8,03 ^{bcBCD}	8,58 ± 0,80 ^{cC}	597,41 ± 49,78 ^{bcB}	63,51 ^{cE} ± 3,64 ^{cE}	375,93 ± 17,01 ^{cC}

TPC-compostos fenólicos totais, expressos em mg de ácido gálico equivalente (GAE)/100 g; Flavonoides, expressos em mg equivalente de quercetina (EQuer)/100 g; ABTS⁺⁺, FRAP e DPPH^{*}, (mg Trolox/100 g). Valores médios ± desvio padrão (DP); n = 3 (Triplicata); Letras minúsculas sobrescritas iguais na mesma coluna não diferem significativamente (p < 0,05) entre si em relação aos tratamentos para o mesmo fruto (cagaita ou mamacadela). As letras maiúsculas iguais na mesma coluna não diferem significativamente (p < 0,05) entre si quanto aos tratamentos para ambas as frutas analisadas (cagaita e mamacadela). CC:AT - Cloreto de colina com ácido tartárico, proporção 1:1; CC:AC - Cloreto de colina com ácido cítrico, proporção 1:1, com adição de 20% de água; BC - Banho convencional; BA - Banho com agitação. ND - Não detectado.

Os diferentes solventes apresentaram diferenças significativas nos valores antioxidantes, incluindo aqueles para compostos fenólicos totais (TPC), flavonoides, ABTS^{•+}, FRAP e DPPH[•]. Esta variação também foi observada entre os diferentes frutos. Em geral, os solventes eutéticos facilitaram a extração de compostos bioativos (DPPH[•], FRAP e TPC), resultando em valores mais elevados ($p < 0,05$), enquanto o etanol se destacou nos ensaios com flavonoides e ABTS.

Além disso, entre os frutos, a cagaita apresentou diferenças significativas ($p < 0,05$) para todas as outras análises de compostos bioativos (TPC, ABTS^{•+} e DPPH[•]), principalmente quando se utilizou etanol como solvente extrator, quando comparada à mamacadela, exceto para flavonoides, para o qual a mamacadela tinha valores mais elevados.

Os carotenoides totais são descritos na Figura 2, em que a mamacadela tem os maiores valores nos casos com aplicação de agitação, sendo esses valores duas vezes superiores aos registrados para cagaita.

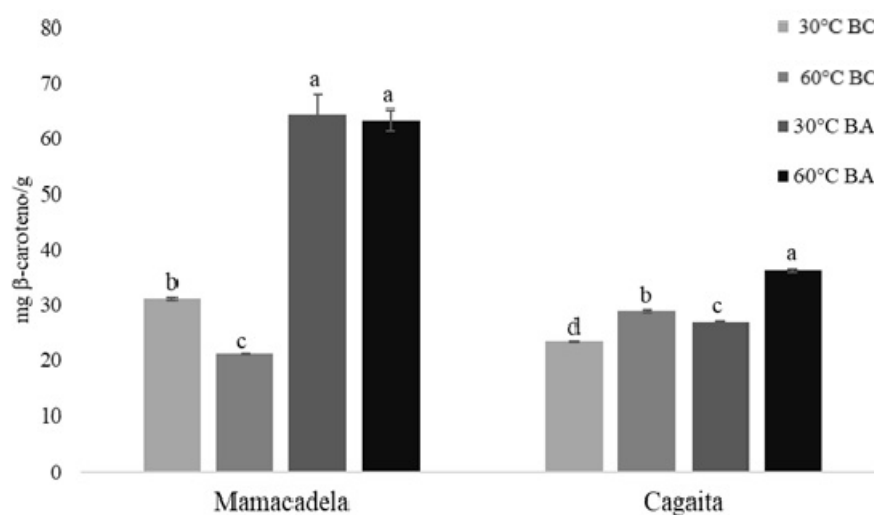


Figura 2. Teor de carotenoides totais para diferentes tratamentos de extração, utilizando etanol como solvente extrator, para dois frutos diferentes do Cerrado; solventes eutéticos não foram testados com este método. * As barras de erro representam os desvios-padrão das médias, e diferentes letras indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as amostras em relação aos tratamentos para ambas as frutas analisadas (cagaita e mamacadela).

2.3. Espectrometria de massa dos diferentes extratos

Os resultados da análise por espectrometria de massas para extratos de frutos de mamacadela são descritos na Tabela 3. O solvente eutético colina cloreto com ácido tartárico (CC:AT) destacou-se neste ensaio, dada a maior identificação de compostos bioativos, quando comparado com outros solventes. O fruto da cagaita é apresentado na Tabela 4; o mesmo solvente obteve os maiores teores de compostos relevantes presentes nos extratos.

Tabela 3. Compostos fenólicos identificados em extratos de mamacadela por MRM.

Composto Bioativo	[M-H]- (m/z)	F (m/z)	Mamacadela (u.a.)					
			CC:AT	CC:AC	Etanol			
					30 °C BC	60 °C BC	30 °C BA	60 °C BA
Ácido trans-cinâmico	147	103	243,47 ± 73,19	26,00 ± 5,56	8,97 ± 3,71	6,76 ± 1,31	6,30 ± 3,25	18,18 ± 17,72
Ácido <i>p</i> -cumárico	163	119	141,00 ± 33,51	4,00 ± 1,73	6,87 ± 5,08	6,41 ± 2,69	12,41 ± 1,28	8,52 ± 4,37
Ácido protocatecuico	153	109	ND	4,67 ± 2,08	4,14 ± 1,27	8,03 ± 5,60	7,98 ± 2,91	8,57 ± 5,41
ácido gálico	169	125	ND	16,33 ± 8,38	18,87 ± 12,35	26,89 ± 13,30	23,34 ± 11,05	34,24 ± 25,31
Ácido <i>p</i> -hidroxibenzoico	137	93	115,00 ± 10,26	ND	10,98 ± 3,25	25,81 ± 14,30	15,63 ± 3,66	36,98 ± 32,98
Ácido cafeico	179	135	157,00 ± 50,89	9,33 ± 2,08	4,98 ± 2,59	15,72 ± 2,66	5,34 ± 2,05	18,14 ± 7,25
Ácido vanílico	167	108	137,50 ± 41,72	ND	ND	ND	ND	ND
Ácido Siringico	197	182	189,50 ± 10,60	ND	ND	ND	ND	ND
Catequina	289	245	267,00 ± 76,89	4,00 ± 1,73	ND	ND	ND	14,97 ± 6,98
Ácido protocatecuico glucosídeo	315	153	234,00 ± 117,37	ND	ND	ND	ND	ND
Isoramnetina	315	300	307,50 ± 10,60	ND	ND	ND	ND	ND
Miricetina	317	151	234,00 ± 117,38	ND	ND	ND	ND	ND
Ácido clorogênico	353	135	244,00 ± 154,14	ND	3,79 ± 1,13	ND	ND	ND
Ácido 3-O e 5-O Cafeoilquinico	353,2	191	272,10 ± 114,69	27,00 ± 16,70	ND	ND	4,55 ± 1,34	ND
Ácido clorogênico	353,4	191	272,20 ± 114,83	15,00 ± 9,16	8,25 ± 3,99	ND	4,12 ± 1,92	ND
Ácido rosmarínico	359	161	260,00 ± 198,34	ND	ND	ND	ND	ND
Ácido salvianólico A	493	295	394,00 ± 210,23	ND	ND	4,08 ± 0,97	ND	3,68 ± 1,18
Ácido salvianólico H	537	339	438,00 ± 120,56	4,00 ± 1,00	ND	ND	ND	ND
Eriodictiol-rutinosídeo	595	287	441,00 ± 217,79	7,00 ± 5,29	ND	3,85 ± 1,46	ND	3,42 ± 0,58
Ácido salvianólico B	717	393	555,00 ± 229,10	7,67 ± 4,16	ND	ND	ND	ND
Ácido salvianólico E	717	537	627,00 ± 127,27	3,00 ± 0,00	ND	ND	ND	ND

Kaempferol	285	161	209,50 ± 68,59	ND	ND	3,67 ± 1,15	3,67 ± 0,57	ND
Luteolina	285	151	218,00 ± 94,75	ND	ND	ND	ND	4,96 ± 1,51
Quercetina	301	151	226,00 ± 106,06	9,00 ± 5,57	8,13 ± 5,37	10,15 ± 4,19	5,32 ± 1,62	6,76 ± 3,40
Hesperetina	301	286	293,50 ± 10,60	ND	ND	ND	ND	ND
Quercetina	301	299	300,00 ± 1,41	ND	ND	ND	ND	ND
Cianidina-3-O-arabinosideo	418	287	352,50 ± 92,63	60,33 ± 32,12	71,47 ± 4,54	23,77 ± 13,47	30,32 ± 18,90	31,41 ± 6,05
Cianidina-3-O-Glucosideo	448	287	367,50 ± 113,84	5,33 ± 2,51	ND	ND	ND	4,33 ± 1,15
Luteolina-7-O-Glucuronideo	461	285	373,00 ± 124,45	35,33 ± 11,54	4,44 ± 1,33	5,67 ± 1,85	6,54 ± 2,96	ND
Kaempferol-3-malonilhexosideo	533	285	409,00 ± 175,36	77,00 ± 32,23	ND	ND	8,50 ± 3,70	5,00 ± 1,85
Naringerina-O-Rutinosideo	579	271	425,00 ± 217,78	3,33 ± 0,58	ND	ND	ND	ND
Hesperetina-O-Rutinosideo	609	301	ND	3,00 ± 0,00	ND	ND	ND	ND
Catequina	289	245	ND	ND	ND	4,38 ± 0,69	ND	7,55 ± 6,90
Naringenina	217	151	ND	ND	ND	6,06 ± 5,30	ND	ND
Apigenina-O-Rutinosideo	577	269	ND	ND	ND	ND	6,46 ± 0,80	ND
Diosmetina-7-rutinosídeo	607	299	ND	ND	4,00 ± 0,89	ND	ND	ND
Cianidina-3,5,O-Dihexosideo	610	287	ND	ND	ND	4,53 ± 2,20	ND	4,72 ± 2,13
Cianidina-3,5,O-Dihexosideo	610	448	ND	ND	8,97 ± 3,71	6,76 ± 1,31	6,30 ± 3,25	18,18 ± 17,72

Valores médios ± desvio padrão da área de pico (DP); n = 3 (Triplicata). F - Fragmento; CC:AT - Cloreto de colina com ácido tartárico, proporção 1:1; CC:AC - Cloreto de colina com ácido cítrico, proporção 1:1, com adição de 20% de água; BC - Banho convencional; BA - Banho com agitação. ND - Não detectado; u.a. -Unidade arbitrária.

Tabela 4. Compostos fenólicos identificados em extratos de cagaita por MRM.

Compostio Bioativo	[M-H]- (m/z)	F (m/z)	Cagaita (u.a.)					
			CC:AT	CC:AC	Etanol			
					30 °C BC	60 °C BC	30 °C BA	60 °C BA
Ácido trans-cinâmico	147	103	107,00 ± 21,51	31,33 ± 20,13	10,10 ± 0,88	8,59 ± 4,24	8,64 ± 4,74	6,69 ± 2,66
Ácido <i>p</i> -cumarico	163	119	10,00 ± 7,81	7,67 ± 7,23	6,86 ± 4,16	5,07 ± 1,86	4,95 ± 1,69	4,84 ± 1,69
Ácido protocatecuico acid	153	109	4,33 ± 0,58	8,67 ± 3,78	4,60 ± 0,62	ND	4,16 ± 1,14	4,25 ± 1,57
ácido gálico	169	125	19,67 ± 9,01	7,00 ± 2,64	27,08 ± 8,87	34,70 ± 15,56	19,26 ± 9,81	15,43 ± 8,40
Ácido <i>p</i> -hidroxibenzoico	137	93	54,00 ± 30,31	25,67 ± 8,38	20,52 ± 2,25	17,96 ± 10,64	12,50 ± 4,22	21,79 ± 6,46
Ácido cafeico	179	135	6,33 ± 3,05	4,33 ± 1,52	10,13 ± 4,20	9,74 ± 5,43	5,82 ± 3,29	13,50 ± 5,38
ácido ferrúlico	193	134	5,00 ± 3,46	ND	ND	ND	5,33 ± 2,51	ND
Ácido siríngico	197	182	5,67 ± 3,78	5,33 ± 2,51	4,38 ± 2,37	ND	ND	ND
Catequina	289	245	5,33 ± 4,04	ND	4,43 ± 1,63	5,64 ± 1,47	8,10 ± 5,73	ND
Ácido protocatecuico glucosídeo	315	153	ND	8,67 ± 6,42	ND	ND	4,26 ± 1,44	ND
Isoramnetina	315	300	4,00 ± 1,73	ND	ND	ND	ND	ND
Miricetina	317	151	7,67 ± 3,51	6,33 ± 0,57	ND	4,27 ± 2,20	ND	4,00 ± 0,18
Ácido clorogênico	353	135	9,33 ± 5,03	6,67 ± 3,21	5,13 ± 3,16	ND	ND	4,85 ± 0,41
Ácido 3-O e 5-O Cafeoilquinico	353,2	191	ND	57,33 ± 39,92	4,30 ± 1,14	ND	9,14 ± 2,61	4,59 ± 1,66
Ácido clorogênico	353,4	191	ND	11,67 ± 10,69	3,82 ± 0,79	5,84 ± 2,45	ND	6,94 ± 3,74
Ácido rosmarínico	359	161	ND	ND	3,63 ± 0,52	ND	ND	ND
Ácido salvianólico A	493	295	ND	ND	3,25 ± 0,35	ND	ND	4,00 ± 0,80
Ácido salvianólico H	537	339	4,00 ± ,00	5,00 ± 2,00	ND	ND	ND	ND
Ácido salvianólico B	717	393	5,33 ± 4,04	14,33 ± 10,06	ND	ND	ND	ND
Ácido salvianólico E	717	537	3,67 ± 1,15	3,67 ± 1,15	6,35 ± 2,68	ND	ND	ND
Kaempferol	258	161	ND	ND	ND	3,67 ± 1,15	ND	ND
Luteolina	285	151	6,33 ± 5,77	8,67 ± 7,23	4,93 ± 2,45	7,35 ± 5,76	4,82 ± 1,56	7,71 ± 3,23

Luteolina	285	259	3,33 ± 0,58	3,33 ± 0,57	ND	ND	ND	ND
Quercetina	301	151	ND	ND	8,40 ± 5,01	15,34 ± 8,38	ND	12,01 ± 6,10
Quercetina	301	299	ND	ND	ND	4,03 ± 1,52	ND	ND
Cianidina-3-O-Arabinosídeo	418	287	71,67 ± 40,70	89,33 ± 7,63	48,21 ± 25,04	63,94 ± 17,81	101,09 ± 54,49	73,06 ± 16,56
Luteolina-7-O-glucuronídeo	461	285	3,33 ± 0,58	5,00 ± 2,00	6,49 ± 1,79	8,68 ± 4,83	7,86 ± 4,70	ND
Kaempferol-3-malonilhexosídeo	533	285	27,33 ± 9,81	ND	5,38 ± 3,99	4,07 ± 0,93	ND	ND
Naringerina-O-Rutinosídeo	579	271	16,33 ± 10,01	78,67 ± 10,21	ND	ND	ND	21,19 ± 12,90
Hesperetina-O-Rutinosídeo	609	301	ND	ND	ND	ND	ND	6,00 ± 2,64
Quercetina-3-O-Rutinosídeo (Rutina)	609	300	3,00 ± 0,00	ND	ND	ND	ND	ND
Luteolina- O - Diglucuronídeo	637	285	4,00 ± 1,73	ND	ND	ND	ND	ND
Catequina	289	245	5,33 ± 4,04	ND	8,97 ± 0,94	ND	8,60 ± 4,29	ND
Naringenina	217	151	4,67 ± 2,08	15,00 ± 6,08	4,11 ± 1,93	6,57 ± 3,73	ND	7,52 ± 5,44
Miricetina - O - Glucosídeo	479	317	12,33 ± 7,50	6,33 ± 4,04	7,61 ± 3,54	ND	ND	ND
Apigenina	577	269	5,33 ± 4,04	3,33 ± 0,57	ND	4,80 ± 0,67	3,30 ± 0,37	5,08 ± 1,23
Kaempferol	285	145	ND	ND	6,16 ± 3,14	ND	ND	ND
Diosmetina-7-rutinosídeo	607	299	ND	ND	4,00 ± 0,89	ND	ND	5,30 ± 3,10
Eriodictiol-rutinosídeo	499	287	ND	ND	ND	ND	3,96 ± 0,80	ND
Kaempferol - Hexosídeo	447	285	ND	ND	ND	ND	ND	4,86 ± 2,44
Cianidina-3,5, O-Dihexosídeo	610	287	ND	ND	ND	4,95 ± 2,92	ND	4,19 ± 1,42
Cianidina-3,5, O-Dihexosídeo	610	448	ND	ND	10,10 ± 0,88	8,59 ± 4,24	8,64 ± 4,74	6,69 ± 2,66

Valores médios ± desvio padrão da área de pico (DP); n = 3 (análise tripla). F - Fragmento; CC:AT - Cloreto de colina com ácido tartárico, proporção 1:1; CC:AC - Cloreto de colina com ácido cítrico, proporção 1:1, com adição de 20% de água; BC - Banho convencional; BA - Banho com agitação. ND - Não detectado; u.a.-Unidade arbitrária.

3. Discussão

3.1. Coloração e atividade da água de extratos

As definições do CIELAB descrevem o L^* representando a diferença de brilho, em que os valores positivos representam uma tendência para cores mais brilhantes e os valores negativos para cores mais escuras. Um valor positivo associado ao parâmetro a^* indica uma tendência para o vermelho, e um valor negativo aponta para o verde. Um valor positivo de b^* indica uma tendência para o amarelo, enquanto valores negativos de b^* indicam uma tendência para o azul [23]. As colorações dos extratos são mostradas na Tabela 1. É possível observar que, considerando todas as amostras, não há diferenças significativas ($p < 0,05$) para o parâmetro L^* , exceto nos extratos com uso de etanol e banho convencional. Independentemente da variação de temperatura, o mesmo comportamento foi observado ao comparar os diferentes frutos.

O tratamento com banho de agitação resultou em maiores valores de L^* , a^* e b^* para o fruto da mamacadeira, indicando uma mudança significativa para cores mais brilhantes (L^*), tons vermelhos ($+a^*$) e tons amarelos ($+b^*$). O parâmetro W_i aumentou notavelmente quando foram utilizados solventes eutéticos, para ambas as frutas, com o aumento da brancura alinhado com os valores de L^* , como também observado na Figura 1. Em relação ao Y_i , extratos à base de etanol (agitados a 30 ou 60 °C, ou extraídos convencionalmente a 60 °C) apresentaram maiores valores do índice de amarelecimento, demonstrando a eficácia deste método no aumento da coloração amarelada, que provavelmente está associada ao teor carotenoide dos frutos. Esse efeito foi particularmente pronunciado em extratos de cagaita, nos quais os valores de Y_i foram superiores aos da mamacadeira.

A atividade da água associada aos tratamentos com solventes eutéticos foi significativamente menor do que a associada aos tratamentos com etanol. Este efeito pode estar associado à alta viscosidade dos solventes eutéticos, que é um dos desafios e limitações do uso deste tipo de solvente, além dos efeitos da matriz e questões de compatibilidade relativas à instrumentação analítica [24]. No entanto, o teor de água misturado com o solvente eutético não deve ser demasiado elevado, uma vez que pode quebrar as ligações de hidrogênio nos constituintes dos NADESs [25].

3.2. Compostos bioativos dos extratos

Os compostos fenólicos foram significativamente mais bem extraídos pelos solventes eutéticos, demonstrando a eficácia do último como uma alternativa para a extração de compostos antioxidantes. Alasalvar [20] também utilizou solventes eutéticos para extrair compostos fenólicos de flores de Erva-caril (*Helichrysum italicum*), obtendo-se um alto teor de compostos fenólicos (101,5 mg de ácido gálico equivalente (GAE)/100 g) ao usar ácido láctico e frutose como solventes.

No presente estudo, os solventes eutéticos apresentaram teores ainda maiores, chegando a $144,21 \pm 6,37$ mg GAE/100 g e $141,91 \pm 21,15$ mg GAE/100 g em extratos de mamacadela com CC:AT e cloreto de colina com ácido cítrico (CC:AC), respectivamente, e $171,32 \pm 21,52$ mg GAE/100 g no extrato de cagaita com CC:AC. Outros estudos mostraram que o cloreto de colina-ácido cítrico supera os solventes convencionais na eficiência de extração de polifenóis quando usado no contexto da biomassa de microalgas, provando ser uma alternativa sustentável e ambientalmente amigável [19,26]. Soukaina et al. [27] também demonstrou que os ácidos fenólicos têm uma maior afinidade por solventes eutéticos e apresentam maior seletividade para flavonoides.

Os diferentes frutos foram avaliados usando vários métodos de quantificação, com o extrato de etanol mamacadela a 60 °C com agitação produzindo os melhores resultados em várias metodologias (ABTS^{•+} $190.88 \pm 20,83$ mg Trolox/100 g, FRAP $153.32 \pm 7,47$ mg Trolox/100 g, e flavonoides $135.18 \pm 3,98$ µg eq quercetina/100 g).

Os solventes eutéticos foram os únicos que permitiram a detecção pelo método DPPH[•] para mamacadela. Determinar as variações na quantificação da capacidade antioxidante e composta é crucial para fornecer um perfil abrangente dos compostos presentes nos extratos.

Os carotenoides totais (Figura 2) para os diferentes tratamentos de extração com etanol apresentaram diferença significativa em relação ao equipamento de extração utilizado, sendo que o banho agitado produziu resultados duas vezes maiores do que o banho convencional. As diferentes temperaturas de extração não apresentaram diferenças significativas nos resultados.

A mamacadela também demonstrou teores superiores de carotenoides em relação à cagaita, com valores totais de carotenoides muito mais elevados (Figura 2). Esses achados indicam que a mamacadela é uma fonte promissora de carotenoides, seja por extração para potencial uso como ingrediente em alimentos, ou em sua forma natural.

Portanto, o extrato de cagaita apresentou valores mais altos com extração de etanol, agitação e temperatura de 60 °C. Aumentar a temperatura melhorou a extração para algumas amostras, conseguindo maior solubilidade e coeficientes de difusão, otimizando assim o processo de extração [27-29].

No entanto, altas temperaturas em certas amostras de plantas podem danificar as paredes celulares e componentes subcelulares, levando à liberação de grandes quantidades de compostos ativos e aumentando a capacidade de capturar radicais livres. Como resultado, as temperaturas mais altas causam o amaciamento dos tecidos e a liberação de componentes antioxidantes ligados [29].

3.3. Espectrometria de massas de diferentes extratos

A espectrometria de massas analisa as estruturas químicas dos compostos bioativos, auxiliando na sua caracterização e classificação [30] e facilitando a identificação dos compostos fenólicos nos diferentes extratos obtidos. A Tabela 3 lista os compostos fenólicos identificados, incluindo ácido cafeico, ácido gálico, ácido sirínico, enterodiol, ácido p-cumárico, ácido p-hidroxibenzoico, ácido protocatecúico, ácido trans-cinâmico, ácido clorogênico, ácido rosmarinico, ácido salvianólico e ácido ferúlico.

Vários flavonoides e seus derivados também foram detectados, incluindo quercetina, miricetina, eriodictiol, hesperetina, kaempferol, luteolina, isorhamnetina, naringenina e apigenina. Além disso, algumas antocianinas, como a cianidina (cianidin-3-O-arabinosídeo, cianidina-3-O-glucosídeo e cianidina-3,5-O-di-hexosídeos), foram identificadas, conforme descrito neste estudo [31-39].

Vinte e nove compostos foram identificados utilizando o solvente CC:AT, incluindo quinze ácidos fenólicos e quatorze flavonoides, tornando-se o extrato com maior número de compostos identificados e o método associado à sua maior intensidade. Os extratos com CC:AC e etanol a 30 °C BC, 60 °C BC, 30 °C BA e 60 °C BA identificaram respectivamente 19, 13, 16, 15 e 17 fenóis. O extrato de mamacadeira continha quatro compostos que não foram identificados nos outros extratos (eriodictiol-O-rutinosídeo, hesperetina, cianidina-3-O-glucosídeo e ácido vanílico).

Os compostos de eriodictiol encontrados na fruta analisada representam um flavonoide que pertence a uma subclasse das flavonas que possuem ação terapêutica em neuroproteção, atividade cardioprotetora, atividade hepatoprotetora, antidiabéticos e

obesidade, e proteção da pele e que possuem efeitos altamente analgésicos, antioxidantes e anti-inflamatórios, além de ações antipiréticas e atividade antinociceptiva, antitumoral e muito mais [33].

A hesperetina é um composto flavonoide que apresenta vários efeitos farmacológicos, como propriedades anti-inflamatórias, antitumorais, antioxidantes, antienvhecimento e neuroprotetoras [37]; além disso, existem estudos sugerindo correlações favoráveis no tratamento do câncer de mama [40].

O outro composto identificado em extratos de mamacadela era cianidina-3-O-glicosídeo, que é uma antocianina que possui propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias; no trato gastrointestinal, pode produzir metabólitos fenólicos bioativos como o ácido protocatecuico, cloroglucinaldeído, ácido vanílico e ácido ferúlico, que aumentam a biodisponibilidade do glicosídeo cianidina-3-O e contribuem para a barreira mucosa e a microbiota [38].

O ácido vanílico é um ácido aromático que demonstra uma potente atividade terapêutica em relação ao anticancerígeno, inibindo o aparecimento e a progressão de vários tumores malignos e no tratamento da inflamação [35,41].

Os extratos de cagaita apresentaram maior número de compostos fenólicos, identificados na amostra de solvente eutético CC:AT (vinte e sete compostos, incluindo doze ácidos fenólicos, quatorze flavonoides e uma antocianina); este também foi o melhor solvente para mamacadela.

Os outros extratos apresentaram maior eficiência de extração de fenólicos quando comparados aos extratos de mamacadela; para o etanol, foram identificados 23 compostos para CC:AC, 25 na temperatura de 30 °C BC (banho convencional), 19 para 60 °C BC, 22 para 30 °C BA (banho com agitação) e 22 para 60 °C BA (Tabela 4). Os extratos de cagaita continham quatro compostos fenólicos que não foram identificados nos extratos de mamacadela: eriodictiol-O-hexosídeo, kaempferol-hexosídeo, luteolina e ácido ferúlico.

É importante destacar que um dos flavonoides naturais mais conhecidos e estudados é o kaempferol, identificado na cagaita; possui efeitos anticarcinogênicos e anti-inflamatórios e apresenta atividades antibacterianas, antifúngicas e antiprotzoárias [36,42-44].

O ácido ferúlico é um fitoquímico fenólico natural utilizado em aplicações antioxidantes, anti-inflamatórias, antimicrobianas, antialérgicas, hepatoprotetores, anticancerígenas e antitrombóticas [45-47].

Outro composto encontrado neste trabalho é a luteolina, que é um tipo de flavonoide que possui propriedades antioxidantes, antitumorais e anti-inflamatórias, bem como um potencial muito significativo para uso como uma molécula dietética quimiopreventiva, inibindo a metástase e a angiogênese das células tumorais. A literatura científica relevante recente tem relatado efeitos protetores cardíacos [33,48,49].

A triagem (que é utilizada para ambas as condições) neste estudo tem como objetivo de confirmar a presença de compostos fenólicos numa amostra, geralmente sem padrão de referência, mas com informação preliminar sobre a massa exata e o padrão isotópico da fórmula molecular ou dos adutos esperados; isto permite a detecção de compostos conhecidos e desconhecidos em várias matrizes de fonte alimentar [50].

Soukaina et al. [27] usaram solventes eutéticos, cloreto de colina-ácido láctico e cloreto de colina-glicerol (1:2), em seus estudos e observaram que os ácidos fenólicos tinham uma forte afinidade por esses solventes. Este achado é particularmente relevante para o nosso estudo, especialmente em relação aos extratos de mamacadela. Por outro lado, nossos resultados sugerem que os solventes eutéticos propostos apresentam maior seletividade para flavonoides, tais como derivados de apigenina, kaempferol e quercetina, bem como alguns derivados de cianidina. Neste estudo, o solvente eutético CC:AT demonstrou maior afinidade por compostos fenólicos, levando aos melhores resultados.

O método estudado, utilizando DES, além de demonstrar sustentabilidade, mostrou-se eficiente na extração de compostos bioativos a partir de fontes naturais, evidenciando assim a importância dessa pesquisa na área da química dos produtos naturais [51].

No entanto, uma das maiores dificuldades na utilização de solventes eutéticos é a dificuldade em separar os compostos extraídos; este é o maior desafio na utilização deste tipo de solvente [52]. Portanto, estudos como este são importantes para a disseminação do conhecimento nas indústrias alimentícia, cosmética e farmacêutica, uma vez que a demanda no uso de produtos naturais aumentou muito nos últimos anos, e vários estudos já demonstraram a eficácia dos pigmentos naturais como corantes [53].

4. Materiais e Métodos

4.1. Preparação de solventes eutéticos profundos

Três DESs foram selecionados para a extração de compostos bioativos das amostras: CC, AC e AT. Estes compostos foram utilizados nas combinações CC:AC e CC:AT, com base em testes preliminares. Estes DESs foram preparados conforme descrito acima [54-56]; o aceptor de ligação de hidrogênio (HBA), CC, foi misturado com o doador de ligação de hidrogênio (HBD), AC ou AT, numa relação molar de 1:1. Estes solventes foram preparados a 80 °C sob agitação em banho com agitação (Dubnoff bath, TE-053, Diadema, São Paulo, Brasil, 25 ± 5 rpm) até à formação de um líquido transparente e homogêneo (2 h).

Os DESs preparados foram misturados com água (20%) para reduzir a sua viscosidade e alterar a sua polaridade, de modo a aumentar a eficiência da extração melhorando a solubilidade dos solventes correspondentes [57], porque a alta viscosidade de um DES pode prejudicar o processo de extração e reduzir a eficiência do transporte de massa [58,59]. O solvente orgânico utilizado foi etanol (95,5%).

4.2. Materiais

Cerca de 1 kg de frutas foi coletado na área rural de Jussara-Goiás, Brasil (latitude: 15°51 31 S, longitude: 50°52 9 W), somente da safra de 2023, o que foi suficiente para todas as análises realizadas neste estudo. As amostras foram limpas, despolpadas manualmente e armazenadas em recipientes de polietileno, depois congeladas em um freezer de baixa temperatura (Metalfrio, NF40S, São Paulo, Brasil) a - 18 °C. As amostras foram mantidas em condições de congelamento e transportadas para o laboratório da Universidade Estadual de Maringá, Paraná, Brasil [60].

Todos os reagentes utilizados neste estudo foram de grau analítico.

4.3. Obtenção do Extrato

Primeiramente, os frutos (polpa e casca) de mamacadeira e cagaita foram desidratados a 45 °C em estufa com circulação de ar. Imediatamente depois disso, 1 g de amostra seca foi pesado e 10 mL de solvente foi adicionado; a extração ocorreu em 30 °C ou 60 °C temperatura, e por 30 ou 60 min em um banho (banho de Dubnoff, TE-053, Diadema, São Paulo, Brasil) com agitação (35 ± 5 rpm) ou sem agitação; estes parâmetros foram definidos em testes preliminares. Após os procedimentos acima, o extrato foi filtrado e armazenado em vidros âmbar para posterior análise.

4.4. Análise de cor e atividade da água

A cor das amostras foi avaliada utilizando-se um colorímetro (Konica Minolta, CR-400, Osaka, Japão), utilizando-se o sistema de três parâmetros CIELab. O equipamento foi previamente calibrado com uma placa branca padrão. Os valores de L* variam de 0 a 100, indicando a variação da cor de preto para branco; o eixo a* mostra a variação do vermelho (+a*) ao verde (- a*), enquanto b* mostra o amarelo (+b*) ao azul (- b*). A partir desses dados, o índice de brancura, Wi, (Equação (1)) e o índice de amarelecimento, Yi, Equação (2)) foram calculados usando as seguintes equações [61,62].

$$Wi = 100 - \sqrt{(100-L^*)^2 + (a^*)^2 + (b^*)^2} \quad (1)$$

$$Yi = (142.86 * b^* * (1/L^*)) \quad (2)$$

Além disso, a atividade da água (AW) foi determinada usando o medidor de atividade da água (Aqua-Lab, 4TE, Logan, Utah, EUA).

4.5. *Quantificação de compostos bioativos*

As amostras utilizadas para esta análise foram preparadas de acordo com as descrições na Seção 4.3.

4.5.1. Compostos Fenólicos Totais

A análise dos compostos fenólicos foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Singleton e Rossi [63], e são expressos em mg GAE/100 g.

4.5.2. Ensaio DPPH

A eliminação do radical DPPH* (2,2-Difenil-1-picril-hidrazil) foi analisada segundo a metodologia de Thaipong et al. [64], e determinada pelo método colorimétrico a 515 nm; as leituras foram realizadas utilizando um espectrofotômetro (Bel UV-Vis, modelo Uv-m51, Piracicaba, Brasil). Trolox foi utilizado como padrão para a curva de calibração; os resultados são expressos em mg Trolox/100 g [65], e a curva de calibração foi a seguinte: $y = 0,1101x + 3,8612$; $R^2 = 0,9979$.

4.5.3. Ensaio ABTS

A eliminação do $\text{ABTS}^{\bullet+}$ (2,2'-Azino-bis(ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico) foi conduzida usando a metodologia de Rufino et al. [66]. O radical catiônico $\text{ABTS}^{\bullet+}$ é formado pela reação de 5 mL de solução aquosa de $\text{ABTS}^{\bullet+}$. O cátion radical $\text{ABTS}^{\bullet+}$ foi misturado com 88 μL de persulfato de potássio (PP) (140 mol/L), permitindo que a reação ocorresse à temperatura ambiente, no escuro, por 16 h. Antes do teste, a solução $\text{ABTS}^{\bullet+}$ foi diluída em álcool etílico PA; a análise foi realizada em triplicata. Uma alíquota de 30 μL de extrato foi adicionada a cada tubo, juntamente com 3 mL de reagente $\text{ABTS}^{\bullet+}$, já diluído. As amostras foram incubadas por 6 min e protegidas da luz à temperatura ambiente; a leitura foi feita no comprimento de onda de 734 nm, utilizando-se um espectrofotômetro (Bel UV-Vis, modelo Uv-m51, Piracicaba, Brasil). A capacidade antioxidante do extrato foi determinada com base na curva padrão de Trolox (2 mol/L) e é expressa em mg de Trolox/100 g de amostra [65]. A curva de calibração foi a seguinte: $y = -0.0003x + 0.6889$; $R^2 = 0.9925$.

4.5.4. Poder Antioxidante de Redução do Ferro (FRAP)

O ensaio FRAP foi realizado de acordo com a metodologia de Benzie e Strain [67]. Foi avaliado utilizando reagentes TPTZ (2,4,6-tris(2-piridil)-s-triazina), um tampão de acetato 0,3 mol/L e cloreto férrico 20 mmol/L. A absorbância foi verificada em 595 nm, e as leituras foram realizadas usando um espectrofotômetro (Bel UV-Vis, modelo Uv-m51, Piracicaba, Brasil). Os resultados são expressos em mg de Trolox/100 g [65], e a curva de calibração foi a seguinte: $y = 0.0016x - 0.0368$; $R^2 = 0.9901$.

4.5.5. Flavonoides

Para os flavonoides totais, utilizou-se o método estabelecido por Alothman, Brat e Karim [68]. As amostras foram analisadas em um ensaio colorimétrico utilizando cloreto de alumínio (AlCl_3), nitrito de sódio (NaNO_2) e hidróxido de sódio (NaOH). A absorbância foi imediatamente verificada por meio de um espectrofotômetro (Bel UV-Vis, modelo Uv-m51, Piracicaba, Brasil) a 510 nm. A curva de calibração foi preparada usando uma solução padrão de quercetina, e os resultados são expressos em mg de equivalente de quercetina (EQuer)/100 g de produto [65]. A curva de calibração foi a seguinte: $y = 0.0014x + 0.0697$; $R^2 = 0.9904$.

4.5.6. Conteúdo de carotenoides totais

Para a quantificação do teor de carotenoides totais, seguiu-se a metodologia descrita por Rodriguez-Amaya e Kimura [69]. Os extratos obtidos com etanol (Seção 4.3) foram lidos a 450 nm utilizando-se um espectrofotômetro (Bel UV-Vis, modelo Uv-m51, Piracicaba, Brasil), e calculados de acordo com a Equação (3).

$$\text{Conteúdo de carotenoide total (mg/100 g)} = (\text{Abs} * V * 10,000) / (A_{1\text{cm}}^{1\%} * M * 100) \quad (3)$$

onde Abs = absorbância na qual a solução de extração foi lida, que para este trabalho foi o comprimento de onda de 450 nm para β -caroteno; V = volume final do extrato (mL); $A_{1\text{cm}}^{1\%}$ = coeficiente de extinção ou coeficiente de absorvência molar de um pigmento em determinado solvente específico (2620 para o β -caroteno); M = massa da amostra utilizada para análise.

4.6. Ionização por eletrospray com espectrometria de massa tripla quadrupolar (DI-ESI-MS)

Os espectros de massa foram adquiridos seguindo a metodologia descrita por Nardino et al. [70], usando um espectrômetro de massa Premier XE (Águas, Milford, MA, EUA) com ionização eletrospray (ESI) e analisador triploquadrupolo. Foi utilizada a análise de monitoramento múltiplo da reação (MRM) sob as duas condições diferentes (Tabela 5), conforme relatado em estudos anteriores [71-75]. Para a fase móvel foram utilizados metanol e hidróxido de amônio (0,1%). Inicialmente, o extrato foi diluído na fase móvel com uma concentração inicial de 1000 $\mu\text{g/mL}$; em seguida, a solução foi filtrada com um filtro PVDF hidrofílico de 0,45 μm . Para análise, a solução filtrada foi diluída e injetada no equipamento, com uma concentração final de 1,0 $\mu\text{g/mL}$. Os dados foram analisados com o software MassLynx versão 4.4. Os resultados são expressos em a.u.

Tabela 5. Condições de análise por espectrometria de massa (MS/MS) utilizando o método MRM.

Componente	Condição 1	Condição 2
Temperatura do gás de desolvacão/°C	200	250
Temperatura do gás de origem/°C	110	110
Modo de ionização	Negativo	Negativo
Tensão capilar/kV	2.0	2.5
Cone voltage/V	20.0	40.0
Energia de colisão/V	15.0	30.0
Pressão do gás de colisão/mmHg	3.5×10^{-3}	3.5×10^{-3}

MRM: monitoramento de reações múltiplas.

4.7. análise estatística dos dados

Os resultados foram obtidos em triplicata e submetidos à análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey para comparação das médias ($p < 0,05$). Os dados foram analisados utilizando o software Sisvar Versão: 5.6 [76,77].

5. Conclusões

Os frutos demonstraram resultados satisfatórios em termos de extração de compostos bioativos, com solventes eutéticos apresentando eficácia particular na extração de compostos fenólicos e etanol se mostrando mais eficaz para a extração de flavonoides. Em relação aos carotenoides totais, a mamacadela apresentou valores duas vezes maiores que a cagaita.

A eficácia do etanol na extração de pigmentos amarelos foi comprovada por meio da análise de cor, particularmente pelos parâmetros b^* e Y_i , para ambos os frutos. Além disso, o uso do solvente eutético CC:AT resultou na identificação por DI-ESI-MS de 29 e 27 compostos para mamacadela e cagaita, respectivamente, demonstrando uma maior afinidade relativa à quantificação e identificação de compostos fenólicos.

Este estudo fornece à indústria uma visão abrangente dos métodos de extração, auxiliando assim na seleção da técnica mais adequada com base nos compostos desejados e na aplicação pretendida do extrato, seja para uso como corante ou para a extração de alto valor de compostos bioativos.

Contribuições do autor: Conceituação, J.S. e G.M.; Metodologia, J.S.; Validação, J.S. e G.M.; Análise formal, J.S.; Investigação, J.S., C.G., E.A., É.O., e E.M.; Recursos, E.M., M.S., e G.M.; Curadoria de dados, J.S.; Elaboração de rascunho original, J.S.; Revisão-escrita e edição, J.S., S.S., e G.M.; Visualização, J.S., C.G., E.A., e É.O.; Supervisão, G.M., e M.S.; Administração do projeto, G.M. e M.S.; Aquisição de financiamento, G.M. e M.S. Todos os autores leram e concordaram com a versão publicada do manuscrito.

Financiamento: Esta pesquisa foi financiada pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) #88887.606273/2021-00.

Declaração de disponibilidade de dados: Os dados apresentados neste estudo estão disponíveis a pedido do autor correspondente. Os dados não estão disponíveis publicamente devido a [motivo, como: restrições de privacidade, política institucional ou pedido de patente.

Agradecimentos: Os autores agradecem à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal pelo apoio financeiro para a pesquisa. Também expressam sua gratidão à Universidade Estadual de Maringá e Universidade Federal do Paraná/Campus Jandaia pela disponibilidade de equipamentos e parceria em pesquisa.

Conflitos de interesse: Os autores não declaram conflitos de interesse.

Referências

1. Pompeu, J.; Assis, T.O.; Ometto, J.P. Landscape Changes in the Cerrado: Challenges of Land Clearing, Fragmentation and Land Tenure for Biological Conservation. *Sci. Total Environ.* **2024**, *906*, 167581. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2023.167581>.
2. de Oliveira Santana, J.C.; Simon, M.F. Plant Diversity Conservation in an Agricultural Frontier in the Brazilian Cerrado. *Biodivers. Conserv.* **2022**, *31*, 667–681. <https://doi.org/10.1007/S10531-022-02356-2>.
3. Arruda, H.S.; Araújo, M.V.L.; Marostica Junior, M.R. Underexploited Brazilian Cerrado Fruits as Sources of Phenolic Compounds for Diseases Management: A Review. *Food Chem Mol. Sci.* **2022**, *5*, 100148. <https://doi.org/10.1016/j.fochms.2022.100148>.
4. de Britto Policarpi, P.; Turcatto, L.; Demoliner, F.; Ferrari, R.A.; Bascuñan, V.L.A.F.; Ramos, J.C.; Jachmanián, I.; Vitali, L.; Micke, G.A.; Block, J.M. Nutritional

Potential, Chemical Profile and Antioxidant Activity of Chichá (*Sterculia Striata*) Nuts and Its by-Products. *Food Res. Int.* **2018**, *106*, 736–744. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2017.12.069>.

5. da Silva, E.K.A.; Rial, R.C. Fatty Acid Profile, Nutritional and Therapeutic Properties of Vegetable Oils from the Brazilian Cerrado. *J. Food Compos. Anal.* **2025**, *137*, 106819. <https://doi.org/10.1016/J.JFCA.2024.106819>.

6. Pompeu, J. Performance of an Automated Conservation Status Assessment for the Megadiverse Vascular Flora of Brazil. *J. Nat. Conserv.* **2022**, *70*, 126272. <https://doi.org/10.1016/J.JNC.2022.126272>.

7. Strassburg, B.B.N.; Brooks, T.; Feltran-Barbieri, R.; Iribarrem, A.; Crouzeilles, R.; Loyola, R.; Latawiec, A.E.; Oliveira Filho, F.J.B.; De Scaramuzza, C.A.M.; Scarano, F.R.; et al. Moment of Truth for the Cerrado Hotspot. *Nat. Ecol. Evol.* **2017**, *1*, 0099. <https://doi.org/10.1038/s41559-017-0099>.

8. Colli, G.R.; Vieira, C.R.; Dianese, J.C. Biodiversity and Conservation of the Cerrado: Recent Advances and Old Challenges. *Biodivers. Conserv.* **2020**, *29*, 1465–1475. <https://doi.org/10.1007/S10531-020-01967-X>.

9. De Marco, P.; Villén, S.; Mendes, P.; Nóbrega, C.; Cortes, L.; Castro, T.; Souza, R. Vulnerability of Cerrado Threatened Mammals: An Integrative Landscape and Climate Modeling Approach. *Biodivers. Conserv.* **2018**, *29*, 1637–1658. <https://doi.org/10.1007/S10531-018-1615-X>.

10. Trigueiro, W.R.; Nabout, J.C.; Tessarolo, G. Uncovering the Spatial Variability of Recent Deforestation Drivers in the Brazilian Cerrado. *J. Environ. Manag.* **2020**, *275*, 111243. <https://doi.org/10.1016/J.JENVMAN.2020.111243>.

11. Bortolotto, I.M.; Hiane, P.A.; Ishii, I.H.; de Souza, P.R.; Campos, R.P.; Gomes, R.J.B.; Farias, C.S.; Leme, F.M.; Arruda, R.C.O.; da Costa, L.B.L.C.; et al. A knowledge network to promote the use and valorization of wild food plants in the Pantanal and Cerrado, Brazil. *Reg. Environ. Change* **2017**, *17*, 1329–1341. <https://doi.org/10.1007/s10113-016-1088-y>.

12. dos Santos, P.P.A.; Ferrari, G.d.S.; Rosa, M.d.S.; Almeida, K.; Araújo, L.d.A.d.; Pereira, M.H.C.; Wanderley, M.E.F.; Neder Morato, P. Development and characterization of high protein functional ice cream with ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata* Miller) and inulin. *Braz. J. Food Technol.* **2022**, *25*, e2020129. <https://doi.org/10.1590/1981-6723.12920>.

13. Huo, D.; Liu, F.; Jiao, C.; Feng, H.; Yang, C.; Cai, Q.; Xie, L. Effects of Different Extraction Solvents on the Major Chemical Compounds and in Vitro Biological Activities of *Dendrobium Chrysotoxum* Lindl. *Stems. Ind. Crops Prod.* **2024**, *222*, 119678. <https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2024.119678>.
14. Zhang, W.; Sun, J.; Li, Q.; Liu, C.; Yue, R.; Zhang, Y.; Niu, F.; Zhu, H.; Ma, C.; Deng, S. Effects of Different Extraction Solvents on the Compositions, Primary Structures, and Anti-Inflammatory Activity of Pectin from Sweet Potato Processing by-Products. *Carbohydr. Polym.* **2025**, *347*, 122766. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2024.122766>.
15. Erdoğan, Ü.; Han Öztürk, T.; Önder, S.; Tonguç, M. Eco-Friendly Extraction of Six Different Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) Genotypes-Using Natural Deep Eutectic Solvents: Optimization and Modeling via Response Surface Methodology (RSM). *J. Mol. Liq.* **2024**, *407*, 125167. <https://doi.org/10.1016/J.MOLLIQ.2024.125167>.
16. Li, W.; Zhao, X.; Huang, T.; Ren, Y.; Gong, W.; Guo, Y.; Wang, J.; Tu, Q. Preparation of Sodium Hyaluronate/Dopamine/AgNPs Hydrogel Based on the Natural Eutectic Solvent as an Antibacterial Wound Dressing. *Int. J. Biol. Macromol.* **2021**, *191*, 60–70. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2021.09.056>.
17. Li, Z.; Cui, Y.; Li, C.; Shen, Y. Deep Desulfurization of Fuels Based on Deep Eutectic Theory. *Sep. Purif. Technol.* **2019**, *219*, 9–15. <https://doi.org/10.1016/J.SEPPUR.2019.03.003>.
18. Xu, T.; Sui, X.; Meng, Y.; Li, D.; Liu, C.; Ge, P.; Liu, J.; Yuan, C.; Liu, T. Application of Circulating and Pulsating Ultrasonic Extraction of Lignans from *Schisandra Chinensis* Baill Fruits Using Deep Eutectic Solvents. *Ind. Crops Prod.* **2024**, *214*, 118466. <https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2024.118466>.
19. Yusuf, J.Y.; Soleimani, H.; Chuan, L.K.; Soleimani, H.; Sulaimon, A.A.; Balogun, B.B.; Adam, A.A.; Balogun, A.I. Eco-Friendly Functionalization of MWCNTs with Deep Eutectic Solvents. *Inorg. Chem. Commun.* **2024**, *163*, 112282. <https://doi.org/10.1016/J.INOCHE.2024.112282>.
20. Alasalvar, H. Ultrasound Technology and Eco-Friendly Solvents for Extracting Antioxidant Phenolic Compounds from Immortelle (*Helichrysum Italicum*) Flowers: A Comparative Study on Conventional and Natural Deep Eutectic Solvents. *Microchem. J.* **2025**, *208*, 112390. <https://doi.org/10.1016/J.MICROC.2024.112390>.

21. Martinez-Correa, H.A.; Paula, J.T.; Kayano, A.C.A.V.; Queiroga, C.L.; Magalhães, P.M.; Costa, F.T.M.; Cabral, F.A. Composition and Antimalarial Activity of Extracts of *Curcuma longa* L. Obtained by a Combination of Extraction Processes Using Supercritical CO₂, Ethanol and Water as Solvents. *J. Supercrit. Fluids* **2017**, *119*, 122–129. <https://doi.org/10.1016/J.SUPFLU.2016.08.017>.
22. Pereira, T.C.; Souza, V.P.; Padilha, A.P.F.; Duarte, F.A.; Flores, E.M. Trends and Perspectives on the Ultrasound-Assisted Extraction of Bioactive Compounds Using Natural Deep Eutectic Solvents. *Curr. Opin. Chem. Eng.* **2025**, *47*, 101088. <https://doi.org/10.1016/J.COCHE.2024.101088>.
23. Ghazal, A.F.; Zhang, M.; Liu, Z. Spontaneous Color Change of 3D Printed Healthy Food Product over Time after Printing as a Novel Application for 4D Food Printing. *Food Bioproc. Technol.* **2019**, *12*, 1627–1645. <https://doi.org/10.1007/S11947-019-02327-6>.
24. Andruch, V.; Vojteková, V.; Kalyniukova, A.; Zengin, G.; Hagarová, I.; Yordanova, T. Application of Deep Eutectic Solvents for the Determination of Inorganic Analytes. *Adv. Sample Prep.* **2025**, *13*, 100158. <https://doi.org/10.1016/J.SAMPRE.2025.100158>.
25. Vilková, M.; Plotka-Wasyłka, J.; Andruch, V. The Role of Water in Deep Eutectic Solvent-Base Extraction. *J. Mol. Liq.* **2020**, *304*, 112747. <https://doi.org/10.1016/J.MOLLIQ.2020.112747>.
26. Fassi Fihri, R.; Ez-Zoubi, A.; Mbarkiou, L.; Amar, A.; Farah, A.; Bouchamma, E.O. Antibacterial and Antioxidant Activities of *Chlorella Vulgaris* and *Scenedesmus Incrassatulus* Using Natural Deep Eutectic Solvent under Microwave Assisted by Ultrasound. *Heliyon* **2024**, *10*, e35071. <https://doi.org/10.1016/J.HELİYON.2024.E35071>.
27. Soukaina, K.; Safa, Z.; Soukaina, H.; Hicham, C.; Bouchra, C. Choline Chloride-Based Deep Eutectic Solvents (NADES): Potential Use as Green Extraction Media for Polyphenols from *Mentha Pulegium*, Antioxidant Activity, and Antifungal Activity. *Microchem. J.* **2024**, *199*, 110174. <https://doi.org/10.1016/J.MICROC.2024.110174>.
28. Cacace, J.E.; Mazza, G. Mass Transfer Process during Extraction of Phenolic Compounds from Milled Berries. *J. Food Eng.* **2003**, *59*, 379–389. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(02\)00497-1](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(02)00497-1).

29. Masmoudi, M.; Besbes, S.; Ben Thabet, I.; Blecker, C.; Attia, H. Pectin Extraction from Lemon By-Product with Acidified Date Juice: Rheological Properties and Microstructure of Pure and Mixed Pectin Gels. *Food Sci. Technol. Int.* **2010**, *16*, 105–114. <https://doi.org/10.1177/1082013209353093>.
30. Spigno, G.; Tramelli, L.; De Faveri, D.M. Effects of Extraction Time, Temperature and Solvent on Concentration and Antioxidant Activity of Grape Marc Phenolics. *J. Food Eng.* **2007**, *81*, 200–208. <https://doi.org/10.1016/J.JFOODENG.2006.10.021>.
31. Núñez, N.; Saurina, J.; Núñez, O. Polyphenolic Profiling of Coffee Beverages by Liquid Chromatography-High-Resolution Mass Spectrometry for Classification and Characterization. *Microchem. J.* **2024**, *207*, 111770. <https://doi.org/10.1016/J.MICROC.2024.111770>.
32. Almatroodi, S.A.; Almatroudi, A.; Alharbi, H.O.A.; Khan, A.A.; Rahmani, A.H. Effects and Mechanisms of Luteolin, a Plant-Based Flavonoid, in the Prevention of Cancers via Modulation of Inflammation and Cell Signaling Molecules. *Molecules* **2024**, *29*, 1093. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES29051093>.
33. Blunder, M.; Orthaber, A.; Bauer, R.; Bucar, F.; Kunert, O. Efficient Identification of Flavones, Flavanones and Their Glycosides in Routine Analysis via off-Line Combination of Sensitive NMR and HPLC Experiments. *Food Chem.* **2017**, *218*, 600–609. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2016.09.077>.
34. Deng, Z.; Hassan, S.; Rafiq, M.; Li, H.; He, Y.; Cai, Y.; Kang, X.; Liu, Z.; Yan, T. Pharmacological Activity of Eriodictyol: The Major Natural Polyphenolic Flavanone. *Evid. Based Complement. Altern. Med.* **2020**, *2020*, 6681352. <https://doi.org/10.1155/2020/6681352>.
35. Khan, F.A.; Irshad, R.; Tanveer, N.; Yaqoob, S.; Razaullah; Ali, R.; Ali, N.; Saifullah, J.; Ali Hasan, K.; Naz, S.; et al. Unleashing the Potential of Vanillic Acid: A New Twist on Nature's Recipe to Fight Inflammation and Circumvent Azole-Resistant Fungal Infections. *Bioorg. Chem.* **2024**, *145*, 107254. <https://doi.org/10.1016/J.BIOORG.2024.107254>.
36. Periferakis, A.; Periferakis, K.; Badarau, I.A.; Petran, E.M.; Popa, D.C.; Caruntu, A.; Costache, R.S.; Scheau, C.; Caruntu, C.; Costache, D.O. Kaempferol: Antimicrobial Properties, Sources, Clinical, and Traditional Applications. *Int. J. Mol. Sci.* **2022**, *23*, 15054. <https://doi.org/10.3390/IJMS232315054>.

37. Song, B.; Hao, M.; Zhang, S.; Niu, W.; Li, Y.; Chen, Q.; Li, S.; Tong, C. Comprehensive Review of Hesperetin: Advancements in Pharmacokinetics, Pharmacological Effects, and Novel Formulations. *Fitoterapia* **2024**, *179*, 106206. <https://doi.org/10.1016/J.FITOTE.2024.106206>.
38. Tan, J.; Li, Y.; Hou, D.X.; Wu, S. The Effects and Mechanisms of Cyanidin-3-Glucoside and Its Phenolic Metabolites in Maintaining Intestinal Integrity. *Antioxidants* **2019**, *8*, 479. <https://doi.org/10.3390/ANTIOX8100479>.
39. Zhang, G.; Sun, J.; Yang, J.; Qi, X.; Ramakrishna, R.; Li, Q.; Guo, W.; Li, C.; Liu, L.; Du, P.; et al. Unlocking the Mystery of Tibetan Yak Butter and Its Byproducts: Processing, Physicochemical Characteristics, Functional Benefits, and Applications. *Trends Food Sci. Technol.* **2024**, *147*, 104484.
40. Yap, K.M.; Sekar, M.; Wu, Y.S.; Gan, S.H.; Rani, N.N.I.M.; Seow, L.J.; Subramaniam, V.; Fuloria, N.K.; Fuloria, S.; Lum, P.T. Hesperidin and Its Aglycone Hesperetin in Breast Cancer Therapy: A Review of Recent Developments and Future Prospects. *Saudi J. Biol. Sci.* **2021**, *28*, 6730–6747. <https://doi.org/10.1016/J.SJBS.2021.07.046>.
41. Hao, X.; Gao, Z.; Hu, M. Anti-Tumor Role and Molecular Mechanism of Vanillic Acid. *Discov. Oncol.* **2025**, *16*, 20. <https://doi.org/10.1007/S12672-025-01746-6>.
42. Cid-Ortega, S.; Monroy-Rivera, J.A. Extraction of Kaempferol and Its Glycosides Using Supercritical Fluids from Plant Sources: A Review. *Food Technol. Biotechnol.* **2018**, *56*, 480–493. <https://doi.org/10.17113/FTB.56.04.18.5870>.
43. Devi, K.P.; Malar, D.S.; Nabavi, S.F.; Sureda, A.; Xiao, J.; Nabavi, S.M.; Daglia, M. Kaempferol and Inflammation: From Chemistry to Medicine. *Pharmacol. Res.* **2015**, *99*, 1–10. <https://doi.org/10.1016/J.PHRS.2015.05.002>.
44. Kim, J.K.; Park, S.U. Recent Studies on Kaempferol and Its Biological and Pharmacological Activities. *EXCLI J.* **2020**, *19*, 627–634. <https://doi.org/10.17179/excli2020-2162>.
45. Kumar, N.; Pruthi, V. Potential Applications of Ferulic Acid from Natural Sources. *Biotechnol. Rep.* **2014**, *4*, 86–93. <https://doi.org/10.1016/J.BTRE.2014.09.002>.
46. Srinivasan, M.; Sudheer, A.R.; Menon, V.P. Ferulic Acid: Therapeutic Potential Through Its Antioxidant Property. *J. Clin. Biochem. Nutr.* **2007**, *40*, 92–100. <https://doi.org/10.3164/JCBN.40.92>.

47. Zheng, M.; Liu, Y.; Zhang, G.; Yang, Z.; Xu, W.; Chen, Q. The Antioxidant Properties, Metabolism, Application and Mechanism of Ferulic Acid in Medicine, Food, Cosmetics, Livestock and Poultry. *Antioxidants* **2024**, *13*, 853. <https://doi.org/10.3390/ANTIOX13070853>.
48. Li, D.; Luo, Y.; Shang, P. Luteolin: A Flavonoid That Has Multiple Cardio-Protective Effects and Its Molecular Mechanisms. *Front. Pharmacol.* **2017**, *8*, 692. <https://doi.org/10.3389/FPHAR.2017.00692>.
49. Singh Tuli, H.; Rath, P.; Chauhan, A.; Sak, K.; Aggarwal, D.; Choudhary, R.; Sharma, U.; Vashishth, K.; Sharma, S.; Kumar, M.; et al. Luteolin, a Potent Anticancer Compound: From Chemistry to Cellular Interactions and Synergetic Perspectives. *Cancers* **2022**, *14*, 5373. <https://doi.org/10.3390/CANCERS14215373>.
50. Hajeb, P.; Zhu, L.; Bossi, R.; Vorkamp, K. Sample Preparation Techniques for Suspect and Non-Target Screening of Emerging Contaminants. *Chemosphere* **2022**, *287*, 132306. <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2021.132306>.
51. Wang, L.; Chen, P.; Aikemu, A.; Zhang, H.; Tian, S. Study on Ultrasonic-Assisted Deep Eutectic Solvent Extraction Process and in Vitro Antioxidant of Anchusa Italica Retz. *Flowers. Ultrason. Sonochem.* **2024**, *111*, 107127. <https://doi.org/10.1016/J.ULTSONCH.2024.107127>.
52. Foroutani, Z.; Afshar Mogaddam, M.R.; Ghasempour, Z.; Ghareaghajlou, N. Application of Deep Eutectic Solvents in the Extraction of Anthocyanins: Stability, Bioavailability, and Antioxidant Property. *Trends Food Sci. Technol.* **2024**, *144*, 104324. <https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2023.104324>.
53. Liu, X.; Cao, L.; Jiang, C.; Wang, H.; Zhang, X.; Liu, Q.; Li, H.; Tang, Y.; Feng, Y. Fabrication of Multifunctional Hybrid Pigment for Color Cosmetics Based on Chitosan-Modified Palygorskite and Sappanwood Extract. *Int. J. Biol. Macromol.* **2024**, *279*, 135259. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2024.135259>.
54. Mansur, A.R.; Song, N.E.; Jang, H.W.; Lim, T.G.; Yoo, M.; Nam, T.G. Optimizing the Ultrasound-Assisted Deep Eutectic Solvent Extraction of Flavonoids in Common Buckwheat Sprouts. *Food Chem.* **2019**, *293*, 438–445. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2019.05.003>.
55. Tang, W.; Row, K.H. Design and Evaluation of Polarity Controlled and Recyclable Deep Eutectic Solvent Based Biphasic System for the Polarity Driven Extraction and Separation of Compounds. *J. Clean. Prod.* **2020**, *268*, 122306. <https://doi.org/10.1016/J.JCLEPRO.2020.122306>.

56. Wan Mahmood, W.M.A.; Lorwirachsutee, A.; Theodoropoulos, C.; Gonzalez-Miquel, M. Polyol-Based Deep Eutectic Solvents for Extraction of Natural Polyphenolic Antioxidants from *Chlorella Vulgaris*. *ACS Sustain. Chem. Eng.* **2019**, *7*, 5018–5026. <https://doi.org/10.1021/ACSSUSCHEMENG.8B05642>.
57. Chanioti, S.; Tzia, C. Extraction of Phenolic Compounds from Olive Pomace by Using Natural Deep Eutectic Solvents and Innovative Extraction Techniques. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* **2018**, *48*, 228–239. <https://doi.org/10.1016/J.IFSET.2018.07.001>.
58. Dai, Y.; van Spronsen, J.; Witkamp, G.J.; Verpoorte, R.; Choi, Y.H. Natural Deep Eutectic Solvents as New Potential Media for Green Technology. *Anal. Chim. Acta* **2013**, *766*, 61–68. <https://doi.org/10.1016/J.ACA.2012.12.019>.
59. Wei, Z.; Qi, X.; Li, T.; Luo, M.; Wang, W.; Zu, Y.; Fu, Y. Application of Natural Deep Eutectic Solvents for Extraction and Determination of Phenolics in *Cajanus Cajan* Leaves by Ultra Performance Liquid Chromatography. *Sep. Purif. Technol.* **2015**, *149*, 237–244. <https://doi.org/10.1016/J.SEPPUR.2015.05.015>.
60. Silva, J.F.; da Silva, L.A.; Madrona, G.S.; Rossoni, D.F.; da Silva Scapim, M.R. Otimização No Processo Sustentável de Extração de Antioxidantes Naturais de Fruto Do Cerrado: Estudo de Caso Da Cagaita (*Eugenia Dysenterica*). *Rev. Principia* **2024**, *61*, 988–1006. <https://doi.org/10.18265/1517-0306A2022ID7326>.
61. McGuire, R.G. Reporting of Objective Color Measurements. *HortScience* **1992**, *27*, 1254–1255. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.27.12.1254>.
62. Pathare, P.B.; Opara, U.L.; Al-Said, F.A.J. Colour Measurement and Analysis in Fresh and Processed Foods: A Review. *Food Bioprocess Technol.* **2012**, *6*, 36–60. <https://doi.org/10.1007/S11947-012-0867-9>.
63. Singleton, V.L.; Rossi, J.A. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *Am. J. Enol. Vitic.* **1965**, *16*, 144–158. <https://doi.org/10.5344/AJEV.1965.16.3.144>.
64. Thaipong, K.; Boonprakob, U.; Crosby, K.; Cisneros-Zevallos, L.; Hawkins Byrne, D. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC Assays for Estimating Antioxidant Activity from Guava Fruit Extracts. *J. Food Compos. Anal.* **2006**, *19*, 669–675. <https://doi.org/10.1016/J.JFCA.2006.01.003>.
65. Artilha-Mesquita, C.A.F.; Stafussa, A.P.; Santos, P.D.S.d.; Santos, O.d.O.; da Costa, S.C.; Madrona, G.S. Extraction of Bioactive Compounds from the Fruits of

Jambolan (*Syzygium cumini* (L.)) Using Alternative Solvents. *Plants* **2024**, *13*, 2065. <https://doi.org/10.3390/plants13152065>.

66. Rufino, M.S.M.; Fernandes, F.A.N.; Alves, R.E.; de Brito, E.S. Free Radical-Scavenging Behaviour of Some North-East Brazilian Fruits in a DPPH System. *Food Chem.* **2009**, *114*, 693–695. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2008.09.098>.

67. Benzie, I.F.F.; Strain, J.J. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. *Anal. Biochem.* **1996**, *239*, 70–76. <https://doi.org/10.1006/ABIO.1996.0292>.

68. Alothman, M.; Bhat, R.; Karim, A.A. Antioxidant Capacity and Phenolic Content of Selected Tropical Fruits from Malaysia, Extracted with Different Solvents. *Food Chem.* **2009**, *115*, 785–788. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2008.12.005>.

69. Rodriguez-Amaya, D.B.; Kimura, M. *HarvestPlus Handbook for Carotenoid Analysis*; International Food Policy Research Institute (IFPRI): Washington, DC, USA; International Center for Tropical Agriculture (CIAT): Cali, Colombia, 2004.

70. Nardino, D.A.; Aranha, A.C.R.; Tonin, L.T.D.; Defendi, R.O.; Ishikawa, S.; Bressiani, P.A.; Santana, A.B.S.; Dusman, E.; Yonekawa, M.K.A.; Jaques, J.A.S.; et al. Optimization of the Extraction Process of Bioactive Compounds from Zingiber Officinale Roscoe, Evaluation of Acetylcholinesterase Enzyme Inhibition and Cytotoxic Activity of the Free and Encapsulated Extract. *J. Braz. Chem. Soc.* **2024**, *35*, e-20230186. <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20230186>.

71. Akamine, L.A.; Vargas Medina, D.A.; Lanças, F.M. Magnetic Solid-Phase Extraction of Gingerols in Ginger Containing Products. *Talanta* **2021**, *222*, 121683. <https://doi.org/10.1016/J.TALANTA.2020.121683>.

72. Ghareeb, M.A.; Sobeh, M.; Rezq, S.; El-Shazly, A.M.; Mahmoud, M.F.; Wink, M. HPLC-ESI-MS/MS Profiling of Polyphenolics of a Leaf Extract from Alpinia Zerumbet (Zingiberaceae) and Its Anti-Inflammatory, Anti-Nociceptive, and Antipyretic Activities In Vivo. *Molecules* **2018**, *23*, 3238. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES23123238>.

73. Pavlović, A.V.; Dabić, D.Č.; Momirović, N.M.; Dojčinović, B.P.; Milojković-Opsenica, D.M.; Tešić, Ž.L.; Natić, M.M. Chemical Composition of Two Different Extracts of Berries Harvested in Serbia. *J. Agric. Food Chem.* **2013**, *61*, 4188–4194. <https://doi.org/10.1021/JF400607F>.

74. Sinosaki, N.B.M.; Tonin, A.P.P.; Ribeiro, M.A.S.; Poliseli, C.B.; Roberto, S.B.; da Silveira, R.; Visentainer, J.V.; Santos, O.O.; Meurer, E.C. Structural Study of

Phenolic Acids by Triple Quadrupole Mass Spectrometry with Electrospray Ionization in Negative Mode and H/D Isotopic Exchange. *J. Braz. Chem. Soc.* **2020**, *31*, 402–408. <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20190197>.

75. Tao, Y.I.; Li, W.; Liang, W.; Van Breemen, R.B. Identification and Quantification of Gingerols and Related Compounds in Ginger Dietary Supplements Using High-Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *J. Agric. Food Chem.* **2009**, *57*, 10014–10021. <https://doi.org/10.1021/JF9020224>.

76. Ferreira, D.F. Sisvar: A Guide for Its Bootstrap Procedures in Multiple Comparisons. *Ciênc Agrotecnol.* **2014**, *38*, 109–112. <https://doi.org/10.1590/S1413-70542014000200001>.

77. Ferreira, D.F. SISVAR: A computer analysis system to fixed effects split plot type designs. *Braz. J. Biomet.* **2019**, *37*, 529–535. <https://doi.org/10.28951/RBB.V37I4.450>.

ARTIGO 2

Efeitos da Digestão *in vitro* na Bioatividade e Bioacessibilidade de Microcápsulas de Mamacadela (*Brosimum gaudchaudii*)

Jaqueline Ferreira Silva^{a}, Carmen Torres Guedes^b, Eloize da Silva Alves^a, Oscar de Oliveira Santos Júnior^a, Rosane Marina Peralta^a, Suelen Siqueira dos Santos^c, Mônica Regina da Silva Scapim^b, Grasielle Scaramal Madrona^{a,b}*

^a *Pós-Graduação em Ciências de Alimentos, Universidade Estadual de Maringá, 87020-900, Maringá-PR, Brasil*

^b *Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Maringá, 87020-900, Maringá-PR, Brasil*

^c *Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná, 86900-000, Jandaia do Sul - PR, Brasil*

***Autor Correspondente:** Jaqueline Ferreira Silva. Endereço de e-mail: jaquelinesferreirasilva@gmail.com.

ORCID <https://orcid.org/0000-0001-5271-3182>

Resumo

A Mamacadela (*Brosimum gaudchaudii*) é uma planta nativa do Cerrado brasileiro, cujos frutos foram pouco estudados. Este trabalho teve como objetivo extrair seus compostos bioativos utilizando etanol, um solvente seguro e sustentável, e buscou manter a estabilidade por meio de encapsulamento usando um polímero natural seguido de secagem por spray drying e liofilização e posteriormente realizou-se a identificação por espectrometria de massa por ionização electrospray (ESI-MS). O extrato, obtido com etanol, solvente seguro e sustentável, foi rico em carotenoides. As microcápsulas secas por spray drying apresentaram maior eficiência de encapsulamento, enquanto a liofilização produziu cápsulas com cor amarela mais intensa e maior atividade antioxidante. Dezesete compostos foram identificados em ambas as microcápsulas, sendo que as cápsulas liofilizadas apresentaram 71,83% do total de carotenoides, e as cápsulas por spray drying apresentaram melhor preservação dos compostos fenólicos e antioxidantes. As cápsulas mostraram potencial para uso em alimentos, não só por serem ricas em compostos bioativos, mas também como corante. Além disso, o fruto possui compostos que podem agregar valor comercial, oferecendo uma nova fonte de renda e contribuindo para a preservação do bioma.

Palavras-chave: Liofilização; Spray drying; Carotenoides; Extração sustentável; ESI-MS.

Introdução

O Cerrado é considerado uma das savanas tropicais mais ameaçadas e abriga a maior diversidade de flora do mundo, abrangendo três países da América do Sul: Bolívia, Brasil e Paraguai [1]. Segundo Beal et al. [2], o desmatamento no Cerrado colocou várias espécies em risco de extinção, incluindo a mamacadela. Mamacadela (*Brosimum gaudichaudii*) é uma espécie frutífera do Cerrado conhecida por sua alta concentração de furanocumarinas, com vários estudos na literatura sobre a aplicação de extratos de sua casca, raízes e folhas no tratamento do vitiligo, e como um estabilizador oxidativo em alimentos, e para a atividade antimicrobiana [3-6].

A utilização de técnicas de preservação para compostos bioativos visa aumentar o número de compostos absorvidos pelo organismo devido à sua preservação. A encapsulação é uma dessas técnicas, envolvendo um atraso no processo de degradação de compostos bioativos quando expostos a várias condições (por exemplo, luz, calor, oxigênio) e até mesmo no trato gastrointestinal, pois são presos dentro dos materiais de parede, impedindo assim a ação das enzimas e da acidez do processo de digestão [7-9]. Sabe-se que estes compostos são absorvidos na mucosa gástrica e no intestino delgado [10], dessa forma, uma maior concentração eleva a quantidade disponível para absorção, incrementando, consequentemente, a bioacessibilidade [11].

Vários métodos de microencapsulação foram aplicados a compostos bioativos e ingredientes alimentares, incluindo secagem por spray drying, arrefecimento polimerização, coacervação, revestimento em leito fluidizado, liofilização e emulsificação. A seleção do método de encapsulamento mais adequado para uma finalidade específica deve basear-se em vários fatores, incluindo as propriedades do material de interesse, as características das partículas desejadas (tamanho, estabilidade, solubilidade, liberação controlada), a aplicação prevista do material encapsulado, a viabilidade e o custo do processo [12]. Liofilização e secagem por spray drying são os métodos mais utilizados para a obtenção de microcápsulas na indústria alimentar. A liofilização é adequada para secar compostos termossensíveis devido ao seu processo de baixa temperatura, enquanto a secagem por spray drying é vantajosa pela sua eficiência no tempo, flexibilidade e produção de gotas menores [13].

Maltodextrina é o material de parede mais utilizado em encapsulamento devido à sua acessibilidade, biocompatibilidade, biodegradabilidade, não-toxicidade e capacidade de formar sólidos amorfos. Também aumenta a solubilidade aquosa do material encapsulado e apresenta baixa viscosidade em altas concentrações [13,14]. A

microencapsulação, enquanto técnica, proporciona estabilidade dos compostos, oferecendo vantagens significativas para a sua aplicação industrial [15].

Até o momento, pesquisas limitadas têm sido realizadas sobre a caracterização, extração, identificação, processamento e quantificação de compostos bioativos do fruto da mamacadela, uma planta que permanece relativamente inexplorada. Neste contexto, esta pesquisa pioneira pretende elucidar estas questões, sendo nomeadamente a primeira na literatura a relatar a microencapsulação deste fruto. Portanto, este estudo teve como objetivo avaliar a eficiência da encapsulação de mamacadela utilizando spray drying e liofilizador, determinar a bioacessibilidade do composto bioativos antes e após a digestão *in vitro*, e identificar os compostos encapsulados usando a espectrometria de massa por ionização electrospray (ESI-MS).

Materiais e métodos

Amostras

Aproximadamente 5.000 g de frutas foram coletadas na área rural de Jussara - Goiás - Brasil (Latitude: 15° 51' 31" S, Longitude: 50° 52' 9" W) durante a safra 2023. O fruto, comumente conhecido como mamacadela (*Brosimum gaudichaudii*), pertence à família das Moráceas e é nativo do Cerrado brasileiro. Caracteriza-se por folhas simples, alternadas com formas oblongo-elípticas a oblongo-lanceoladas e vedação proeminente, medindo entre 5 e 15 cm. A espécie é amplamente distribuída pelos estados de Goiás, São Paulo, Minas Gerais, e Bahia, e seus frutos e látex têm usos tradicionais na alimentação e na medicina popular. A informação botânica foi confirmada por comparação com descrições morfológicas publicadas e dados ecológicos disponíveis na literatura [16]. Após a coleta, as amostras foram limpas e a polpa foi separada do caroço. Foram armazenadas em embalagens de polietileno e congeladas em um freezer (Metalfrio) a -18 °C. As amostras foram mantidas congeladas e transportadas para o laboratório da Universidade Estadual de Maringá, Paraná, Brasil [17].

Obtenção do extrato e microencapsulação

Primeiro, o fruto da mamacadela (polpa e casca) foi desidratado a 45 °C em um forno com circulação de ar. Posteriormente, 1 g da amostra seca foi pesado e 10 mL de etanol ($\geq 99,5\%$ de pureza) foram adicionados. A extração ocorreu usando o banho de Dubnoff (modelo TE-053) a 35 ± 5 rpm e 30 °C por 60 min (Artigo 1), com esses parâmetros definidos em testes preliminares. Após os procedimentos acima, o extrato foi

filtrado e armazenado em vidro âmbar para posterior análise.

Para obter as cápsulas, o extrato etanólico foi primeiro evaporado por rotação usando um Rotaevaporador (Buchi R-200). Posteriormente, o extrato seco e a maltodextrina (Maltogill 10. Cargill Agrícola S.A., na proporção de 1:3 p/p) foram suspensos em solução etanólica (10% v/v). Durante o processo de microencapsulação, formam-se grânulos insolúveis. Portanto, 1 g de Tween 80 foi adicionado para homogeneizar a mistura [18]. A solução foi então agitada usando um agitador (Etica Equip. Cient.- 430) a 200 rpm, 35 °C por 20 min [19].

A partir da mistura acima, metade do lote foi seco em um mini aparelho de secagem por spray drying (B-191. Buchi, 4 Bar, 500 mL/h), com temperaturas de entrada e saída de 130 e 87 °C, respectivamente [20]. As cápsulas obtidas foram armazenadas em frascos de âmbar e mantidas em um freezer a -18 °C para análise posterior. A outra metade da solução foi transferida para um liofilizador (modelo Alpha 1-4 - LD) durante 48 h a uma temperatura de -50 °C. Após este período, o material foi moído usando um almofariz e passado através de uma peneira de 600 µm. As microcápsulas obtidas foram armazenadas em frascos âmbar e mantidas em um freezer a -18 °C para posterior análise.

Para melhor compreensão, as amostras foram rotuladas da seguinte forma: EA - Extrato Etanólico, CSD - Cápsulas obtidas por secagem por spray drying, CL - Cápsulas obtidas por liofilização.

Análise de açúcar em polpa integral e extrato etanólico de mamacadela

Os açúcares foram determinados por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) segundo Dacome et al. [21] com modificações. 2 g de polpa fresca foram pesados e transferidos para um becker de 250 mL junto com 100 mL de água deionizada. A mistura foi fervida por 5 min sob agitação constante; e após a ebulição, a solução foi filtrada a vácuo. O mesmo procedimento foi repetido mais duas vezes com o resíduo restante, utilizando-se 100 mL e 50 mL de água, respectivamente. O extrato aquoso obtido foi transferido para um balão volumétrico de 250 mL, e o volume foi ajustado para 250 mL com água deionizada.

Para a determinação do teor de açúcar, uma alíquota de 5 mL do extrato aquoso foi transferida para um balão volumétrico de 125 mL e seca em um evaporador rotativo. O extrato seco foi ressuspensionado em 1,5 mL de água deionizada e 8,5 mL de acetonitrila, filtrado e sonificado por 5 min. Posteriormente, o extrato foi analisado por HPLC.

A determinação do teor de açúcar no extrato etanólico também foi realizada,

preparado na proporção de 1:10 (mamacadela: etanol), onde uma alíquota de 2,0 mL do extrato foi transferida para um balão volumétrico de 125 mL e seca em evaporador rotativo. O extrato seco foi resuspenso em 1,5 mL de água deionizada e 8,5 mL de acetonitrila, filtrado e sonificado por 5 min, em seguida, foi analisado por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), usando um cromatógrafo (modelo Gilson 307) com um detector de índice de refração (RI) uma coluna de 5 µm NH₂ medindo 125 × 4,6 mm, a uma taxa de fluxo de 0,5 mL/min usando uma solução de acetonitrila (1:4 v/v) e um tempo de execução de 30 min.

Avaliação da capacidade antioxidante

A análise dos compostos fenólicos totais (CFT) foi realizada seguindo a metodologia descrita por Singleton e Rossi [22], expressa em mg GAE/g (equivalente de ácido gálico). A reação de degradação do DPPH (2,2-Difenil-1-picril-hidrazila) foi analisada segundo a metodologia de Thaipong et al. [23]. Para a análise ABTS (2,2'-azinobis (ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico), a metodologia de Rufino et al. [24] foi empregada e o ensaio FRAP (Poder Antioxidantes de Redução do Ferro) foi realizado seguindo a metodologia de Benzie and Strain [25]. Os resultados antioxidantes foram expressos em mg de Trolox/g da amostra. Os flavonoides totais foram determinados usando o método estabelecido por Alothman et al. [26] e expressos em mg de equivalente de quercetina (EQuer)/mL da amostra.

A quantificação do teor de carotenoides totais (TCT) presentes nas amostras, seguiu-se a metodologia descrita por Rodriguez-Amaya e Kimura [27], conforme detalhado na Equação 1.

$$\text{Teor de Carotenoides Totais } \left(\frac{\text{mg}}{\text{g}} \right) = \left(\frac{A \times V \times 10^4}{A_{1\text{cm}}^{1\%} \times M \times 100} \right) \quad \text{Equação 1.}$$

Onde, A = absorvância na qual a solução de extração foi medida, que para este estudo estava em um comprimento de onda de 450 nm para o β-caroteno; V = volume final do extrato (mL); $A_{1\text{cm}}^{1\%}$ = coeficiente de absorvância molar de um pigmento em um solvente específico (2620 para β-caroteno); M = massa da amostra para análise.

Quantificação do teor de β-caroteno

O teor de betacaroteno foi quantificado de acordo com o método recomendado por Higby [28]. Quatro gramas da amostra foram pesados e adicionados a 30 mL de álcool

isopropílico (P.A.) ((CH₃)₂CHOH, CAS 67-63-0), mais 10 mL de hexano (P.A.) A mistura foi então agitada por 1 min usando um agitador mecânico (tipo turrax) com uma velocidade de rotação aproximada de 7.000 rpm. O conteúdo foi transferido para um funil de separação de 125 mL envolto em folha de alumínio, e o volume foi completado com água destilada, permitindo que ele descansasse por 30 min.

Após esse período, o material foi lavado abrindo a torneira do funil e eliminando a parte aquosa do conteúdo. O funil foi então reabastecido com água destilada e deixado descansar por mais 30 min. Após 30 minutos de repouso, o conteúdo foi filtrado em um frasco volumétrico de 50 mL envolto em papel alumínio. Para o balão, 5 mL de acetona (P.A.) (CH₃COCH₃, CAS 67-64-1) foi adicionado e completado até o volume final com hexano P.A. A amostra foi composta de 5 mL de acetona P.A e 45 mL de hexano P.A., e a leitura foi feita em um espectrofotômetro a um comprimento de onda de 450 nm. O teor de betacaroteno foi expresso em mg/100 g (Equação 2).

$$\text{Conteúdo de } \beta\text{-caroteno (mg/100g)} = \frac{A_{450} \times 100}{250 \times L \times W} \quad \text{Equação 2}$$

Esta equação é baseada na Lei de Lambert-Beer, onde: A₄₅₀ = absorvência medida a 450 nm, L = largura da cubeta em cm, W = razão entre a massa da amostra (g) e o volume final de diluição (mL).

Eficiência de encapsulamento para β-caroteno

A eficiência de encapsulamento (EE) foi determinada conforme descrito por Sansone et al. [29] e Da Rosa et al. [30], de acordo com a Equação 3. A eficiência de encapsulamento foi calculada para a concentração de β-caroteno.

$$EE (\%) = \frac{\text{Microcápsulas-Extrato Inicial}}{\text{Microcápsulas}} \times 100 \quad \text{Equação 3}$$

Caracterização da atividade de água e colorimetria

Para a determinação da atividade de água (aw), foi utilizado o aparelho Aqua-lab modelo 4TE. A avaliação da cor das amostras foi realizada utilizando um sistema de leitura de três parâmetros com um Medidor de Croma Konica Minolta CR-400. A escala de cores CIELab foi empregada para medir os parâmetros L*, a* e b*. Na escala de cores CIELab, o parâmetro L* varia de 0 a 100, indicando uma variação de cor do preto para o branco, o eixo a* mostra a variação do vermelho (+a*) ao verde (-a*), enquanto b*

mostra do amarelo (+b*) ao azul (-b*). O Índice de Brancura, Wi (Eq. 4) e o Índice de Amarelecimento, Yi (Eq. 5) foram calculados usando as seguintes equações [31,32].

$$Wi = 100 - \sqrt{(100 - L^*)^2 + (a^*)^2 + (b^*)^2} \quad \text{Equação 4}$$

$$Yi = \frac{142.6 \times b^*}{L^*} \quad \text{Equação 5}$$

Digestão in vitro gastrointestinal

O extrato alcoólico, as microcápsulas liofilizadas, as microcápsulas spray drying e a fruta fresca foram submetidas à digestão *in vitro* segundo o método descrito por Corrêa et al. [33] com ligeiras modificações. Para a fase de digestão oral, 30 mL de fluido saliva simulado foram adicionados a 10 g/mL de amostras. As misturas foram agitadas durante 10 minutos a 37 °C. Para a fase de digestão gástrica, 30 mL de fluido gástrico simulado (foi preparado usando 0,03 mol/L NaCl para diluir 3,2 g/L pepsina) foi adicionado à mistura e o pH ajustado para 1,2. A mistura foi então agitada a 37 °C durante 2 horas. Para a fase de digestão intestinal (foi preparada com 1,42 g/L de pancreatina e 8,57 g/L de sais biliares preparados com 0,1 mol/L de NaCO₃), foram adicionados 30 mL de fluido intestinal simulado, juntamente com 5 mL de cloreto de potássio 1mol/L e 5 mL de cloreto de sódio 1 mol/L, ajustando o pH para 6,0. A mistura foi agitada a 37 °C durante 1 hora [34]. As amostras foram coletadas em diferentes estágios de digestão para análise posterior e após a conclusão do procedimento, as amostras foram congeladas a -18 °C e depois liofilizadas em um secador por congelamento (modelo Alpha 1-4 - LD) por 48 h a -50 °C.

Bioacessibilidade

Para a quantificação da bioacessibilidade, após digestão *in vitro*, 0,2 g de digesta intestinal foi adicionado a 4,8 mL de etanol P.A. (99,5%) e centrifugado por 15 min a 4.000 rpm. A absorbância de carotenoides foi medida em comprimentos de onda de 472 nm e 508 nm, das quais as frações isocromáticas vermelhas e amarelas e o teor total de carotenoides foram calculados com base nas Equações 6, 7 e 8, respectivamente [35].

$$C^R = \frac{(Abs_{508} \times 2144.0) - (Abs_{472} \times 403.3)}{270.9} \quad \text{Equação 6}$$

$$C^Y = \frac{(Abs_{472} \times 1724.3) - (Abs_{508} \times 2450.1)}{270.9} \quad \text{Equação 7}$$

$$C^T = C^R + C^Y \quad \text{Equação 8}$$

Onde CR representa o conteúdo da fração isocromática vermelha, principalmente associada a carotenoides que absorvem mais fortemente em torno de 508 nm, como β -caroteno; CY representa a fração isocromática amarela, relacionada a carotenoides que absorvem perto de 472 nm, incluindo compostos como a luteína; CT representa o conteúdo total de carotenoides; e A_{472} e A_{508} correspondem aos valores de absorbância em 472 nm e 508 nm, respectivamente. Essas frações fornecem uma estimativa espectrofotométrica das contribuições relativas de diferentes tipos de carotenoides com base em seus máximos de absorbância característicos [36].

Além disso, as amostras foram filtradas através de um filtro de seringa ($d = 0,45 \mu\text{m}$) para simular a biodisponibilidade da passagem através da camada mucosa. Embora o uso de um filtro de $0,45 \mu\text{m}$ tenha sido escolhido por razões práticas, é importante notar que os tamanhos típicos dos poros da camada de muco no trato gastrointestinal variam de aproximadamente 100 nm a 400 nm, como discutido em vários estudos [37,38]. Estes estudos relatam que nanopartículas menores, tipicamente em torno de 100 nanômetro, podem facilmente penetrar a camada do muco, quando as partículas maiores, como aquelas em torno de 200 nanômetros, encontrarem barreiras significativas [37]. Assim, o tamanho do poro de $0,45 \mu\text{m}$ representa um limiar maior, e seu uso foi pretendido para imitar as propriedades físicas gerais da camada de muco, embora simulações mais precisas possam exigir filtros com tamanhos de poros menores mais próximos ao intervalo relatado. A Equação 9 foi usada para calcular a bioacessibilidade [39].

$$(\%) \text{ Bioacessibilidade} = 100 \times \frac{C_{\text{Após Filtração}}^T}{C_{\text{Antes da Filtração}}^T} \quad \text{Equação 9}$$

onde $C_{\text{após filtração}}^T$ representa a concentração de carotenoides totais após o uso do filtro da seringa e $C_{\text{Antes da Filtração}}^T$ é a concentração de carotenoides totais antes do uso do filtro da seringa.

Para os compostos bioativos, após digestão *in vitro*, extração de todos os compostos, 1 g de digesta intestinal foi adicionado a 3 mL de metanol P.A. (99,5%) e centrifugado por 15 min a 4.000 rpm. A porcentagem de bioacessibilidade foi calculada usando a Equação 10 [40], com modificações.

$$(\%) \text{ Bioacessibilidade} = \frac{\text{Compostos Bioativos Após Digestão}}{\text{Bioactive compounds Antes da digestão}} \times 100 \quad \text{Equação 10}$$

Bioacessibilidade (%) representa a porcentagem de conteúdo de carotenoide que é biodisponível após digestão e filtração, em comparação com o conteúdo total de carotenoides antes da filtração.

O potencial bioativo das amostras de compostos bioacessíveis foi determinado usando o ensaio de capacidade antioxidante e expresso conforme descrito na seção Avaliação da capacidade antioxidante.

Identificação de compostos bioativos por espectrometria de massa de ionização electrospray (ESI-MS).

Compostos bioativos foram identificados usando espectrometria de massa de ionização electrospray (ESI-MS) (XevoAcquity® system, Waters, Milford, USA) operado no modo íon positivo, de acordo com Santos et al. [41]. Cada amostra (10 mg) foi dissolvida em 10 mL de água Milli-Q e 1 mL de ácido fórmico (0,1% p/v). A mistura foi infundida no espectrômetro de massa a uma taxa de fluxo de 10 µL/min. As condições de operação incluíram uma tensão capilar de 3 kV, temperatura da fonte de 250 °C, taxa de fluxo de gás do cone de 30 L/h, taxa de fluxo de gás de desolação de 500 L/h e uma temperatura de desolação de 300 °C. Os espectros foram adquiridos no modo de varredura completa em uma faixa m/z de 500-800. Os dados foram processados usando o software MassLynx (versão 4.1), e a identificação de compostos foi realizada por meio da correspondência de dados espectrais com entradas no banco de dados PubChem.

Morfologia da cápsula (microscopia eletrônica de varredura - MEV)

As amostras foram preparadas colocando-as em fita de carbono e depois revestidas com uma fina camada de ouro (≈ 50 nm) usando um pulverizador (SCD 050. Bal-Tec, Obermattstrasse, Suíça). Após o processo de metalização, as amostras foram examinadas usando um Microscópio Eletrônico de Varredura, modelo Quanta 50 (Fisher Scientific FEI, República Checa), com uma ampliação de $500 \times$ a $2.000 \times$ e uma tensão de aceleração de 20 kV.

Análise estatística

Os resultados foram obtidos em triplicata e submetidos à análise de variância

(ANOVA), seguido do teste de Tukey para comparação da média a um nível de significância de 5% ($p < 0,05$). A variabilidade observada entre as repetições foi consistente em todos os tratamentos, indicando homogeneidade adequada para aplicação da ANOVA sem necessidade de transformação dos dados. A análise estatística foi realizada usando o software Statistica 7.0 (StatSoft Inc., Tulsa, EUA).

Resultados e discussões

Eficiência e caracterização do encapsulamento (açúcares, a_w e cor)

Os principais açúcares presentes na fruta foram frutose e glicose, com valores de 8,3 g/100 g de amostras e 7,9 g/100 g de amostras, respectivamente. Em contrapartida, o extrato apresentou valores menores, 0,57 g/100 mL para as amostras de frutose e 0,59 g/100 mL para as amostras de glicose. A quantificação de açúcares é importante para determinar a quantidade de maltodextrina a ser adicionada ao extrato para obter as cápsulas. Os alimentos que contêm grandes quantidades de açúcares, como a glicose e a frutose, são geralmente muito higroscópicos. Estes açúcares são responsáveis por fortes interações com as moléculas de água, especialmente quando estão no estado amorfo. A secagem de extratos de frutas leva a uma alta concentração de compostos de baixo peso molecular, como açúcares, o que aumenta sua higroscopicidade e torna o produto instável. Isso é evidenciado pela alta atividade da água (Tabela 1) observada no extrato ($a_w = 0,96$), indicando sua forte tendência de absorver umidade do ambiente. Em contraste, as cápsulas secas por spray drying e liofilizadas apresentaram valores de atividade da água significativamente menores ($a_w = 0,45$ e $0,46$, respectivamente), demonstrando melhor estabilidade e comportamento higroscópico reduzido. Os agentes encapsulantes têm vantagens sobre os fenômenos higroscópicos. Se a higroscopicidade do material é alta, ocorre agregação de partículas, dificultando a reconstituição e formação de pó. Portanto, a adição de maltodextrina promove a formação de camadas capazes de proteger o material durante o processo de secagem [42,43].

Para determinar a eficiência do processo de encapsulamento, considerou-se o teor de β -caroteno. O extrato continha 28,00 μg de β -caroteno/100 mL, enquanto as cápsulas secas por spray (CSD) apresentaram 24,00 μg /100 mL e as cápsulas liofilizadas (CL) apresentaram 14,00 μg /100 mL. A eficiência de encapsulamento para CSD foi de 85,71%, e para CL, foi de 50,00%, mostrando que a secagem por spray drying era 1,7 vezes mais eficiente do que a liofilização para mamacadela. Ambos os processos foram eficientes, e alguns autores mencionam que a eficiência do encapsulamento pode estar

relacionada ao uso da maltodextrina como agente de encapsulamento [44]. As características estruturais das cápsulas liofilizadas, particularmente sua alta porosidade e rugosidade da superfície, podem influenciar significativamente a eficiência de encapsulamento e o comportamento de liberação de compostos bioativos. De acordo com Ezhilarasi et al. [45], o processo de liofilização cria estruturas porosas como resultado da sublimação do gelo, que evita o colapso da matriz, mas deixa o material do núcleo mais exposto a fatores ambientais, potencialmente diminuindo a eficiência de encapsulamento. Em contraste, Tonon et al. [46] relataram que tal porosidade pode ser vantajosa para proteger compostos termolábeis, uma vez que reduz a difusão de oxigênio dentro da matriz.

Além disso, Pattnaik et al. [47] enfatizaram que a estrutura porosa e frágil das cápsulas liofilizadas aumenta a preservação da arquitetura interna, o que favorece a retenção de atividade antioxidante durante o armazenamento e digestão. Martinović et al. [48] também sugeriram que superfícies irregulares e alta porosidade contribuem para um perfil de liberação mais lento, pois aumentam a superfície de interação e diminuem as taxas de difusão. No presente estudo, embora a eficiência de encapsulamento das cápsulas liofilizadas (50%) fosse menor que a das cápsulas por spray drying (85,71%), sua morfologia porosa provavelmente contribuiu para melhor preservação dos compostos antioxidantes e maior bioacessibilidade dos carotenoides, como relatado por Kuck e Noreña [49], que demonstraram que estruturas porosas liofilizadas tendem a melhorar o desempenho funcional devido à melhor retenção e estabilidade do composto.

A maltodextrina atua como um agente de secagem, formando uma parede protetora em torno do núcleo, protegendo os bioativos da luz, temperatura e pH [44,50]. Além disso, durante a liofilização, a sublimação do gelo cria partículas porosas com compostos expostos [45], enquanto na secagem por spray drying, a evaporação rápida da água forma uma crosta na superfície das gotículas, aumentando a proteção e retenção [51].

As cápsulas obtidas por secagem por spray drying apresentaram uma eficiência de encapsulamento acima de 85%, o que pode ser considerado satisfatório para a maioria dos produtos alimentares. Charoensiri et al. [52] classificou a quantidade de β -caroteno em amostras de frutas frescas em três níveis: alto (32,2 $\mu\text{g}/100\text{g}$), médio (13,8-32,2 $\mu\text{g}/100\text{g}$) e baixo (13,8 $\mu\text{g}/100\text{g}$), onde ambas as amostras abordadas neste estudo se enquadram na categoria média.

A atividade de água (Tabela 1) do fruto fresco e seu extrato não apresentou diferença significativa ($p < 0,05$), com ambos apresentando valores elevados (a_w 0,96),

característicos de materiais instáveis e altamente higroscópicos. Em contrapartida, as cápsulas sprays e liofilizadas apresentaram redução significativa na atividade da água, com valores de 0,45 e 0,46, respectivamente, representando uma diminuição de aproximadamente 52%. O método de secagem não influenciou significativamente ($p < 0,05$) a atividade de água das cápsulas finais, indicando que ambas as técnicas foram igualmente eficientes na redução da disponibilidade hídrica.

Analisando os parâmetros colorimétricos (Tabela 1) nas amostras de frutas, extrato alcoólico e cápsulas por secagem por spray drying e liofilização, observou-se que as cápsulas obtidas pela secagem por spray drying apresentaram maior valor de brilho L^* , mostrando uma diferença significativa no processo de obtenção das cápsulas. Normalmente, os parâmetros de cor L^* e a^* estão correlacionados, portanto uma diminuição no componente de cor L^* e um aumento no componente de cor a^* estão correlacionados [53].

Tabela 1 Parâmetros de atividade de água (a_w) e colorimetria.

Análises	Amostras			
	Fruta <i>in natura</i>	EA	CSD	CL
a^*	18,85 ^a ±1,05	-6,27 ^c ±0,49	-6,27 ^c ±0,02	3,01 ^b ±0,65
b^*	30,21 ^c ±5,64	47,47 ^b ±4,84	20,02 ^d ±0,84	64,99 ^a ±1,27
L^*	36,88 ^d ±2,39	52,25 ^c ±1,94	94,12 ^a ±0,48	78,56 ^b ±0,78
Yi	129,37 ^a ±8,52	129,37 ^a ±8,52	30,33 ^b ±1,36	118,57 ^a ±1,04
Wi	32,26 ^b ±2,16	32,26 ^b ±2,16	78,21 ^a ±0,85	31,17 ^b ±0,88
A_w	0,97 ^a ±0,00	0,96 ^a ±0,00	0,45 ^b ±0,00	0,46 ^b ±0,00

Valores médios ± desvio padrão (DP); n=3 (análise em triplicata); diferentes letras minúsculas sobrescritas na mesma linha são significativamente diferentes ($p \leq 0,05$) pelo teste de Tukey. EA - Extrato alcoólico, CSD - Cápsulas obtidas por secagem por spray drying, CL - Cápsulas obtidas por liofilização. Índice de brancura (Wi) e índice de amarelecimento (Yi).

Os valores de a^* e b^* permitem apreciar os tons de cor predominantes nas diferentes amostras. Os valores positivos para o parâmetro b^* referem-se ao amarelo e mostram este comportamento para ambas as amostras, com a amostra de cápsula liofilizada (CL) apresentando o maior valor b^* , indicando uma coloração mais amarelada. Para o componente de cor b^* (amarelecimento), houve diferença significativa

($p < 0,05$) entre os processos de produção das cápsulas. Por outro lado, o parâmetro a^* apresentou valores variando de -3,01 a 18,85, associados com cores avermelhadas [54]. Amostras com valores maiores de a^* e b^* apresentaram uma coloração amarelada.

O índice de amarelecimento (Y_i) e o índice de brancura (W_i) são ingredientes-chave na compreensão da quantidade de perda de cor à qual a amostra é exposta devido ao calor, temperatura, fluxo de ar, entre outros fatores. Os índices W_i e Y_i correlacionam-se com as preferências dos consumidores pelas cores branca e amarela, respectivamente [31]. O índice W_i revela os resultados esperados em relação ao uso de maltodextrina, especialmente quando se utiliza a secagem por spray drying. O índice de Y_i demonstra a relação com o nível mais alto encontrado para o extrato, fruto e cápsulas por liofilização, mostrando assim maior preservação do pigmento, uma característica interessante dependendo do objetivo da aplicação [55]. Portanto, sugere-se que para aplicação como corante, o uso de cápsulas secas por liofilização seja interessante devido à sua maior estabilidade e retenção de cor. Embora a atividade do polifenol oxidase (PPO), que pode contribuir para o escurecimento enzimático, não foi avaliada neste estudo, as amostras foram prontamente congeladas após a coleta para minimizar a degradação enzimática. Outros estudos poderiam explorar o papel do PPO nas mudanças iniciais de cor da polpa dos frutos antes da encapsulação.

O encapsulamento é amplamente utilizado para melhorar a estabilidade, solubilidade e biodisponibilidade dos carotenoides, uma vez que, uma vez encapsulados, os compostos são protegidos por uma matriz que atua como uma barreira física, ajudando a reduzir a exposição direta aos agentes ambientais e desacelerar as reações de degradação, preservando assim a cor e a funcionalidade dos carotenoides ao longo do tempo [56]. O aumento do parâmetro b^* corresponde à superfície amarela, que consequentemente reduz o valor de L^* [57]. Os parâmetros b^* e Y_i correspondem a uma cor mais amarela e redução do clareamento [58]. O aumento de L^* pode estar relacionado com a cor branca [44] e a natureza brilhante da maltodextrina. Assim, os resultados estão de acordo com Hasanah et al. [59], que observaram que a adição de maltodextrina resultou em cápsulas mais leves de extrato de *Caesalpinia Sappan L.* Além disso, os relatos indicam que no caso do extrato de sumac (*Rhus coriaria*) seco por spray drying, os valores L^* foram inferiores aos obtidos pela liofilização, possivelmente devido a reações de escurecimentos enzimático que foram causadas pela alta temperatura do ar de entrada no processo. Uma vez que a maltodextrina é de cor branca ($L^* = 98,18 \pm 0,15$, $a^* = 0,185 \pm 0,05$ e $b^* = 2,91 \pm 0,15$), a quantidade crescente de maltodextrina aumenta

o valor L^* das cápsulas. Os valores de L^* das cápsulas de extrato de *Caesalpinia Sappan* L. seco por spray drying foram considerados inferiores as cápsulas liofilizadas. Para as cápsulas por spray drying, devido à alta temperatura do ar de entrada, os pós de extrato de sumac podem ser expostos a algumas reações de escurecimento e perda de cor [60]. O maior valor de L^* foi em CSD ($94,12 \pm 0,48$), seguido de CL ($78,56 \pm 0,78$). Embora tenha havido diferença significativa entre os tratamentos, observou-se um aumento acentuado no valor de L^* , atribuído ao uso da maltodextrina, o que favoreceu a tonalidade branca.

Morfologia estrutural das cápsulas

A morfologia dos produtos encapsulados é importante porque está relacionada à capacidade protetora oferecida pelos diferentes polímeros. Pode-se observar que a cápsula obtida por secagem por spray drying apresentou conformação esférica, sem aglomeração, formas irregulares e com poucas fissuras, característica do processo (Fig. 1).

A presença de rugosidade em micropartículas é geralmente atribuída ao encolhimento das partículas devido à perda drástica de umidade seguida pelo resfriamento, e a forma esférica está relacionada ao princípio da geração de gotículas por spray drying e à conversão dessas gotículas em partículas por evaporação do solvente [46,61]. Além disso, uma superfície contínua sem interrupções ou rachaduras também pode ser observada, permitindo que as microcápsulas tenham baixa permeabilidade e forneçam boa proteção do material do núcleo [62].

O uso da microscopia eletrônica de varredura (MEV) neste estudo teve como objetivo caracterizar qualitativamente a morfologia superficial das microcápsulas obtidas por liofilização e spray drying. Embora os parâmetros quantitativos tais como a distribuição de tamanho da partícula e a porosidade não foram determinados devido às limitações do equipamento, os estudos anteriores relataram que a liofilização produz tipicamente as estruturas altamente porosas e frágeis. Isto é atribuído à sublimação do gelo durante o processo de secagem, que evita o colapso e encolhimento da matriz, preservando assim o volume de partículas e a arquitetura interna [47]. Tais características estruturais têm sido associadas com melhor proteção de compostos termolábeis, como a maior porosidade reduz a difusão de oxigênio, enquanto superfícies irregulares podem contribuir para perfis de liberação mais lentos, influenciar a digestibilidade e a bioacessibilidade de bioativos encapsulados [48]. No presente estudo, cápsulas

lioofilizadas, apesar de apresentarem menor eficiência de encapsulamento, apresentaram maior retenção de antioxidantes e bioacessibilidade de carotenoides, sugerem que as suas características morfológicas podem ter contribuído positivamente para o desempenho funcional do sistema.

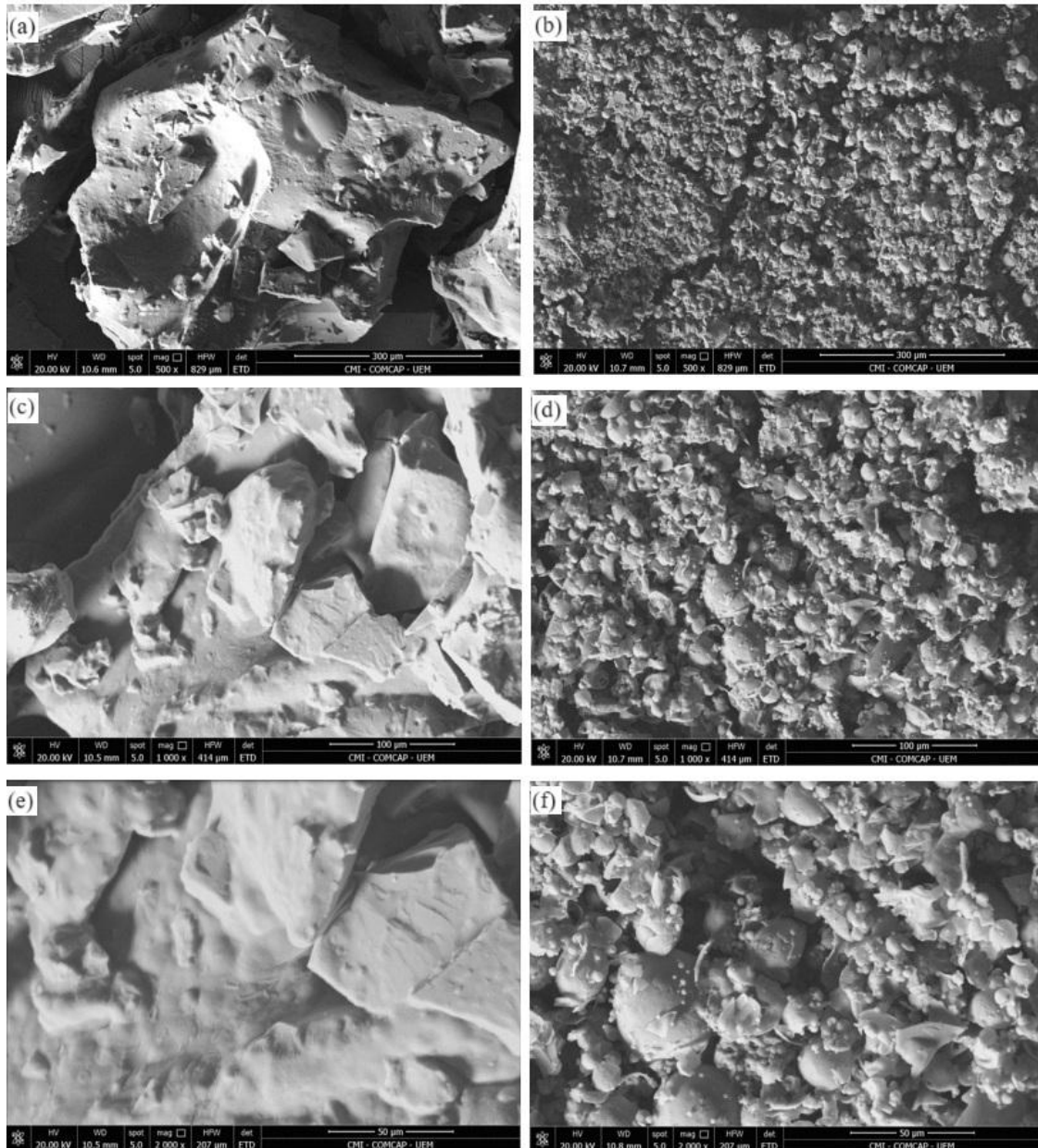


Fig. 1 Microscopia eletrônica de varredura de cápsulas de mamacadela por liofilização e secagem por spray drying, (a; b) 500×, (c;d) 1000× e (e;f) 2000× ampliação, respectivamente.

As cápsulas liofilizadas exibiram estruturas irregulares, porosas e frágeis, semelhantes a vidro quebrado de vários tamanhos, um resultado característico da secagem por congelamento. Embora este estudo tenha realizado uma análise qualitativa

da morfologia de cápsulas por MEV, as amostras liofilizadas foram visivelmente mais porosas e irregulares, em conformidade com a literatura. A elevada porosidade resulta tipicamente da sublimação do gelo durante a liofilização, impedindo o colapso das partículas e preservando a estrutura [42,49]. Essas características estruturais podem reduzir a difusão de oxigênio, protegendo os antioxidantes e aumentando a bioacessibilidade [46,63]. Enquanto dados quantitativos como tamanho de partícula ou porosidade não foram avaliados, a morfologia observada parece estar correlacionada com a elevada retenção de antioxidantes e bioacessibilidade de carotenoides observadas em cápsulas liofilizadas. O trabalho futuro incluirá análise de imagens e quantificação da distribuição de tamanho para melhorar a correlação entre estrutura e função [42,49].

Quantificação de compostos bioativos

A mamacadela apresentou valores interessantes quanto à quantificação da capacidade antioxidante: $349,74 \pm 31,35$; $80,27 \pm 8,52$; e $235,14 \pm 14,40$ mg Trolox/g para as análises nos métodos de ABTS, DPPH e FRAP, respectivamente. Quanto ao teor de compostos fenólicos, a concentração encontrada foi de $51,07 \pm 1,21$ mg GAE/g, e $56,29 \pm 3,02$ mg EQuer/g para flavonoides.

As cápsulas liofilizadas destacaram-se pela preservação de compostos durante o processo de secagem, com um alto teor de flavonoides (dez vezes maior) e uma capacidade antioxidante cinco vezes maior em comparação com as cápsulas spray drying. No geral, as cápsulas liofilizadas apresentaram resultados significativos em termos de concentração e preservação de compostos bioativos em comparação com as cápsulas por spray drying (Tabela 2). O uso da liofilização tem sido a tecnologia mais recomendada para a microencapsulação, especialmente para preservar compostos termossensíveis [63]. De acordo com Saqueti et al. [64], o uso da microencapsulação preservou melhor os antioxidantes na acerola em comparação com outras tecnologias empregadas, especialmente com o tratamento de secagem por liofilização, tornando-a uma opção atraente para o setor alimentício.

A retenção de antioxidante superior em cápsulas liofilizadas pode ser atribuída à degradação térmica reduzida e ao estresse oxidativo durante o processamento, já que o vácuo e a baixa temperatura de liofilização inibem a exposição a condições prejudiciais [49,63]. Além disso, a matriz porosa pode apresentar difusão de oxigênio limitada devido à limitada conectividade do canal e baixa atividade da água [46], contribuindo assim para a preservação de compostos sensíveis.

Tabela 2 Capacidade antioxidante das amostras avaliadas por TCT (mg/g), flavonoides (mg EQuer/g), CFT (mg GAE/g) e ABTS, DPPH, FRAP (ambos mg Trolox/g) da amostra seca.

Análises	CSD	CL
TCT	6,63 ^b ± 0,02	27,86 ^a ± 0,13
Flavonoides	0,54 ^b ± 0,19	19,86 ^a ± 2,76
CFT	13,01 ^b ± 3,70	57,87 ^a ± 3,82
ABTS	5031,30 ^b ± 560,57	6402,32 ^a ± 427,33
DPPH	1918,01 ^b ± 276,35	11279,00 ^a ± 1151,12
FRAP	3768,48 ^b ± 228,70	4384,93 ^a ± 199,30

Valores médios ± desvio padrão (DP); n=3 (Triplicata); letras minúsculas acima da mesma linha são significativamente diferentes ($p \leq 0,05$) pelo teste de Tukey. TCT – Teor de carotenoides totais, CFT - compostos fenólicos totais.

Quantificação de compostos bioativos durante a digestão in vitro

O teor de carotenoides totais (TCT) para frutas e cápsulas secas por secagem por spray drying (CSD) apresentou variações durante a digestão gástrica *in vitro* (Fig. 2). Esses resultados sugerem que os carotenoides em mamacadela estão ligados aos grânulos de amido e requerem a ação de enzimas digestivas para serem liberados [65,66]. Como a fase oral contribui fortemente para a hidrólise do amido alimentar, os ésteres de xantofila são liberados dos amilocromoplastos. O conteúdo total de compostos fenólicos (CFT) do produto digestivo aumentou ao longo do processo para a CSD, provavelmente devido à liberação de substâncias antioxidantes pelas enzimas digestivas. A presença de pepsina e um pH ácido (condições que facilitam a degradação e perda) permitem a liberação da maioria dos compostos bioativos, que permanecem após a digestão intestinal, tornando-os potencialmente disponíveis para absorção intestinal [9].

Para a digestão intestinal, observa-se que a capacidade antioxidante do ABTS aumentou significativamente tanto para as cápsulas liofilizadas quanto para as secas por spray, provavelmente devido à ação da pancreatina, dos sais biliares e do pH neutro, o que potencializou a liberação no ambiente digestivo. Os resultados apresentados neste estudo estão em linha com alguns estudos recentes sobre casca de cacau, mirtilo, grãos de café torrado e biscoitos funcionais enriquecidos com compostos bioativos [67–70].

A diminuição dos compostos bioativos após digestão intestinal *in vitro* já era

esperada, conforme relatado em estudos anteriores. Devido à instabilidade dos compostos fenólicos para as enzimas digestivas e mudanças de pH levando à sua degradação ou biotransformação em metabolitos durante cada fase do processo de digestão, estudos têm relatado resultados semelhantes em polpa de cereja, sementes de cupuaçu, amora, e cascas de uva [67,71-41]. Em outro estudo, esse fato é explicado como consequência da baixa solubilidade dos compostos bioativos no ambiente digestivo ou sua metabolização em compostos resultantes de interações com outros constituintes do ambiente digestivo

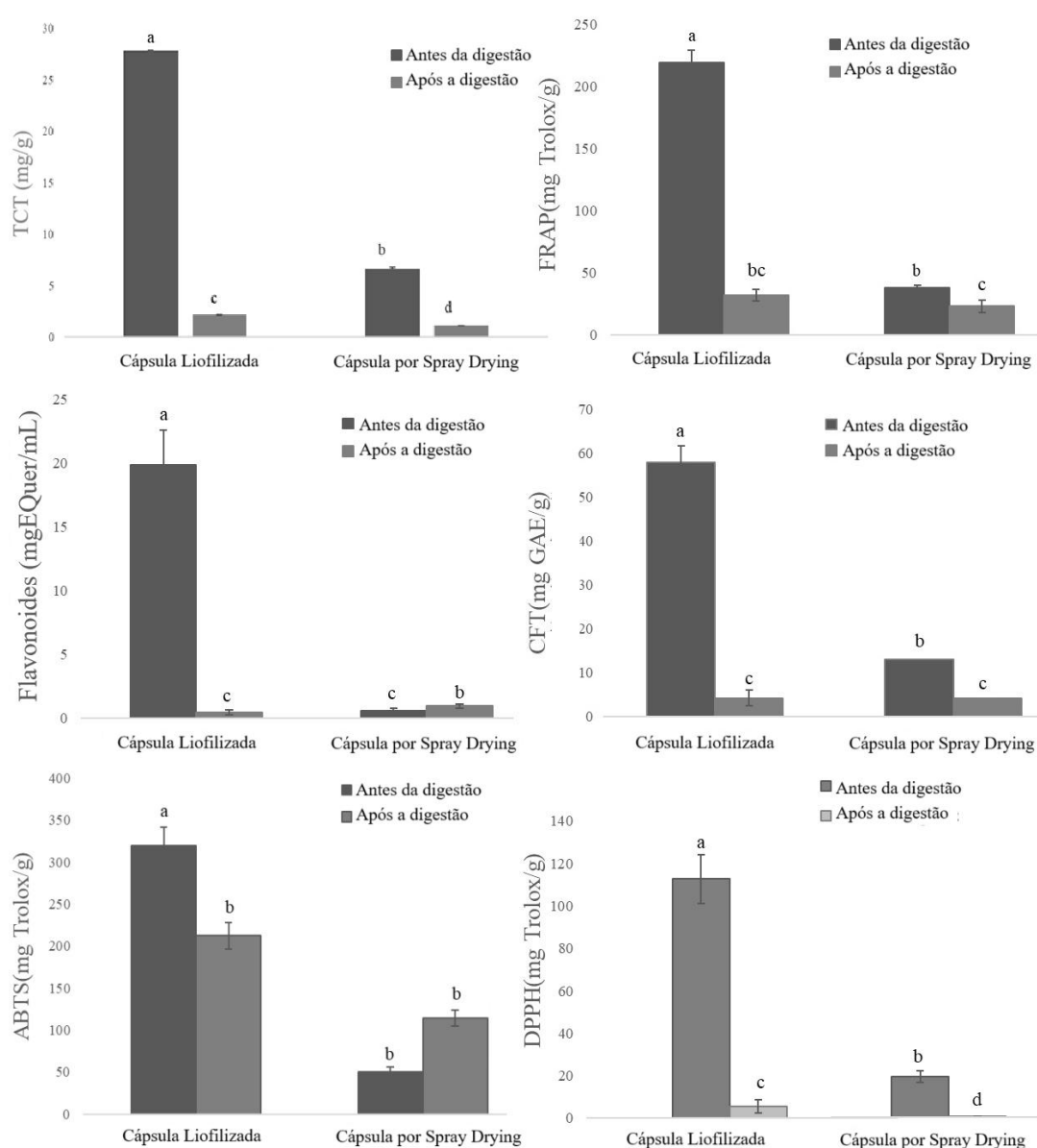


Fig. 2 Compostos bioativos antes e após o processo de digestão *in vitro*. TCT – Teor de carotenoides totais, CFT - compostos fenólicos totais.

A bioacessibilidade corresponde à concentração de compostos fenólicos liberados do extrato após a digestão gastrointestinal, tornando-se potencialmente disponíveis para absorção intestinal [9]. A bioacessibilidade dos carotenoides também foi relatada para uma bebida funcional (suco de manga, mamão e açaí), tangerina [75], nêspera, laranja e brócolis [76], relacionada com a presença de compostos que atuam como uma barreira física que limitam a liberação de carotenoides durante o processo de digestão [77]. As cápsulas liofilizadas apresentaram bioacessibilidade de 71,83%, valor que não foi significativamente diferente da fruta e superior às cápsulas por spray drying.

Embora o presente estudo demonstre alta bioacessibilidade de carotenoides e fenólicos a partir de cápsulas liofilizadas e spray drying, isso não garante a biodisponibilidade sistêmica. A verdadeira biodisponibilidade requer absorção através de células epiteliais intestinais, metabolismo e circulação sistêmica. Estudos futuros devem incorporar modelos de absorção intestinal, como a linhagem celular Caco-2, que é amplamente utilizada para simular a permeabilidade intestinal humana e avaliar a eficiência do transporte de compostos bioativos [78]. Estes modelos permitem a avaliação não somente da difusão passiva, mas igualmente do transporte e do metabolismo ativos, assim fornecendo uma compreensão mais completa do destino dos compostos após a ingestão [78–80].

Valores de bioacessibilidade superiores a 100% observados para algumas amostras podem refletir a quebra enzimática de compostos fenólicos conjugados ou poliméricos em metabólitos menores e mais absorvíveis durante a digestão [69,81,82]. Esta transformação enzimática aumenta a solubilidade e reatividade antioxidante. Além disso, o processo de encapsulação-especialmente por spray drying pode ter melhorado a exposição dos bioativos às enzimas digestivas, facilitando a liberação controlada na fase intestinal. A presença de maltodextrina como agente encapsulante também provavelmente contribuiu para uma maior solubilidade e reidratação, bem como para a formação de uma matriz amorfa que promove a liberação do composto durante a digestão [83]. Este comportamento também foi observado para outros subprodutos de frutas após digestão *in vitro*, como casca de uva e polpa de cereja, relatando taxas de bioacessibilidade de até 50% [70,71], e biodisponibilidades entre 44% e 65% foram observadas para quase todos os compostos bioativos de bagaço de amoreira [41]. A implementação de técnicas como o encapsulamento é uma forma de melhorar a bioacessibilidade dos compostos fenólicos [84,85].

Além disso, vale ressaltar que os compostos fenólicos não liberados durante as

digestões gástricas e intestinais podem ser retidos na fração indigesta e posteriormente biotransformados no cólon, liberando agliconas e metabólitos microbianos com interessantes propriedades bioativas [69]. Resultados semelhantes foram relatados por Rodrigues et al. [86], onde aproximadamente 75-98% do β -caroteno contido em manga, espinafre, cenoura e tomate permaneceu após digestão *in vitro*.

Embora as cápsulas secas por spray drying tenham apresentado maior bioacessibilidade de compostos fenólicos e capacidade antioxidante (Fig. 2), isso não garante uma absorção intestinal eficaz. Para estabelecer a verdadeira biodisponibilidade, é necessário avaliar o transporte através da barreira intestinal usando modelos como as monocamadas de células Caco-2, que imitam o epitélio do intestino delgado humano. Estes modelos permitem o estudo da permeabilidade do composto e da captação celular [78,79]. Estudos futuros incorporarão tais modelos para validar o potencial de absorção das frações bioacessíveis identificadas neste estudo.

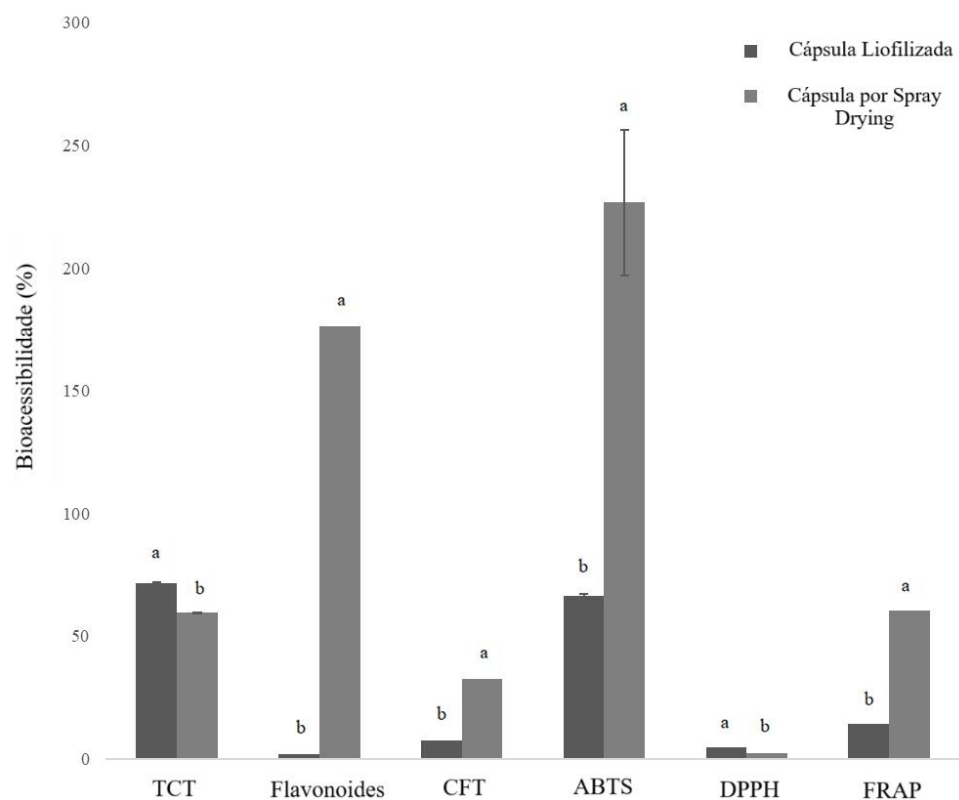


Fig. 3 Bioacessibilidade de compostos bioativos. TCT – Teor de carotenoides totais, CFT - compostos fenólicos totais.

Maltodextrina serve tanto como uma matriz protetora e um agente solubilizante na encapsulação de compostos bioativos. Aumenta significativamente a dispersibilidade de

substâncias hidrofóbicas, como carotenoides e melhora a solubilidade aquosa dos compostos fenólicos. A natureza amorfa da maltodextrina facilita ainda mais sua degradação em condições gastrointestinais, o que auxilia na liberação controlada de compostos encapsulados. Esta dupla funcionalidade da maltodextrina foi bem documentada em estudos recentes, apoiando o seu papel na otimização da estabilidade e bioacessibilidade de ingredientes bioativos sensíveis [87].

Embora as taxas de degradação enzimática dos carotenoides durante a digestão não tenham sido diretamente avaliadas neste estudo, está bem estabelecido que enzimas digestivas como lipase, amilase e protease podem afetar a estabilidade e bioacessibilidade dos carotenoides [88,89]. O processo digestivo provavelmente influencia a integridade estrutural dos carotenoides, alterando assim sua biodisponibilidade, como discutido no contexto da bioacessibilidade na Fig. 3. A bioacessibilidade dos carotenoides no presente estudo foi determinada pela quantificação dos carotenoides disponíveis após o processo de digestão *in vitro*, que envolve ações enzimáticas que simulam as que ocorrem no trato gastrointestinal humano. Isso fornece uma indicação indireta do impacto da degradação enzimática na biodisponibilidade de carotenoides.

A microencapsulação de carotenoides serve como mecanismo protetor que pode minimizar a degradação enzimática durante a digestão, aumentando a bioacessibilidade desses compostos. A ação das enzimas digestivas pode levar à quebra de estruturas carotenoides, potencialmente afetando suas propriedades corante e atividade antioxidante. Portanto, avaliar o papel da degradação enzimática na bioacessibilidade poderia fornecer mais informações sobre a otimização dos métodos de encapsulamento. Vários estudos têm destacado a degradação enzimática dos carotenoides durante a digestão gastrointestinal, sugerindo que a estabilidade dos carotenoides é influenciada tanto pela atividade enzimática quanto pela matriz em que são encapsulados [88,89]. Esses achados ressaltam a importância de considerar a degradação enzimática ao avaliar a biodisponibilidade dos carotenoides.

Embora a bioacessibilidade se refira à fração de compostos bioativos liberados da matriz alimentar durante a digestão, não confirma sua absorção real pelas células epiteliais intestinais. Para avaliar plenamente o potencial de absorção destes compostos, estudos de biodisponibilidade são essenciais, particularmente aqueles que utilizam modelos *in vitro* como as monocamadas de células Caco-2, que avaliam o transporte e metabolismo. No presente estudo, focamos em simular a liberação gastrointestinal de

compostos fenólicos e carotenoides usando um modelo estático de digestão *in vitro*. Embora essa abordagem nos tenha permitido observar diferenças na bioacessibilidade entre microcápsulas secas por spray drying e liofilizadas, a absorção intestinal e o metabolismo dos compostos não foram avaliados. Vários estudos demonstraram a utilidade dos modelos de células Caco-2 na simulação do transporte através da barreira intestinal, permitindo a quantificação da absorção de compostos e do transporte transepitelial, especialmente de fenólicos e carotenoides [90]. Esta limitação é reconhecida, e mais estudos que incorporam modelos da pilha de Caco-2 são necessários para avançar nossa compreensão da biodisponibilidade dos compostos bioativos encapsulados.

As cápsulas liofilizadas destacaram-se principalmente na preservação do conteúdo total de carotenoides, resultando em maior bioacessibilidade para este composto. A fruta apresentou uma bioacessibilidade de 74,82%, um valor interessante para o seu uso comercial, demonstrando valor acrescentado e uma nova fonte de renda para a população local através da aplicação e desenvolvimento de produtos alimentares.

Caracterização de compostos bioativos por ESI-MS

Foram identificados dezessete compostos bioativos distintos, incluindo polifenóis (como artopetelina B, (+)-chalconoracina, dulcisxantona F, moracina S, artocarpina, artotonina B, 3'-O-metil-luteolina, aracidina 4 e ficusnotina D), terpenoides ((2'S,3'R)-3'-β-D-glicopiranosídeo, (1'-hidroxi-1'-metiletil) psoraleno, 5-metoxi-3-(3-metil-2,3-diidroxibutil) psoraleno diacetato, convallatoxina, maragenina e acetato de moruslanosteril) e ácido orgânico (ácido málico) (Figs. 4 e 5). Compostos semelhantes em *Brosimum gaudichaudii* também foram relatados por Mickely et al. [91], sendo reconhecidos por suas propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias, o que reforça a relevância de sua liberação durante o processo digestivo.

A identificação dos compostos bioativos foi realizada por infusão direta com impressão digital em ESI-MS, conforme descrito por Ferreira et al. [92], refletindo as concentrações relativas por meio da intensidade iônica. Observou-se que o processo digestivo *in vitro* favoreceu a liberação desses compostos, possivelmente devido à ruptura da matriz encapsulante e à ação das enzimas digestivas. Esses resultados estão de acordo com estudos anteriores [88, 89, 93], que destacam o papel da digestão na melhoria da biodisponibilidade de compostos bioativos.

É importante notar que para ambas as amostras na digestão *in vitro*, o processo

proporcionou maior intensidade, provavelmente devido à liberação de compostos pela quebra causada pelas enzimas digestivas. As cápsulas secadas por spray drying apresentaram maior liberação de compostos bioativos em comparação com as liofilizadas. Essa liberação controlada pode ser atribuída às características estruturais formadas durante a secagem por spray drying, que tipicamente gera partículas com uma morfologia superficial porosa e amorfa. Tais características estruturais facilitam a penetração de água mais rápida e a difusão do composto durante a digestão *in vitro*, levando ao aumento da disponibilidade de compostos encapsulados [94-97], resultando na formação de matrizes mais compactas e rígidas que podem restringir o acesso enzimático e reduzir a solubilização do composto. Curiosamente, o ácido málico apresentou maior abundância relativa nas cápsulas liofilizadas (Tabelas Suplementares S1 e S2), possivelmente devido ao seu menor peso molecular e às interações diferenciais com a matriz encapsulante. Estes resultados sugerem que o método de secagem influencia significativamente no perfil de liberação dos compostos bioativos e consequentemente, na sua potencial bioacessibilidade [98].

Entre os compostos detectados pós-digestão, 2'S,3'R-3'-Hydroxy-marmesin 4'-O- β -D-glucopiranosideo, um derivado da cumarina, foi identificado com a maior intensidade relativa em ambas as cápsulas spray e liofilizadas, sugerindo uma preservação estrutural significativa durante a digestão gastrointestinal *in vitro*. As cumarinas são conhecidas por sua moderada estabilidade química e bioatividade, particularmente quando glicosiladas, o que pode aumentar sua resistência à hidrólise e degradação enzimática no trato digestivo [66,99,100].

Chalcomoracina, o segundo composto mais abundante detectado, é um estilbeno prenilado de ocorrência natural que tem recebido crescente atenção devido às suas propriedades antitumorais, antioxidantes e anti-inflamatórias, conforme demonstrado em estudos pré-clínicos recentes [101,102]. A bioacessibilidade das cápsulas (Fig. 3) foi maior quando utilizada para análises de DPPH e ABTS, bem como para o teor total de fenólicos e flavonoides. Isso sugere que este método proporcionou melhor proteção para esses compostos durante o processo de digestão. Apesar do maior teor de compostos (Fig. 2) antes do processo digestivo, a maior degradação resultou em menor bioacessibilidade para as cápsulas liofilizadas.

Compreender o destino pós-digestivo desses compostos é fundamental, pois a transformação metabólica pode alterar sua estrutura, atividade ou absorção. Incorporar tais avaliações em pesquisas futuras proporcionaria uma compreensão mais abrangente

de sua funcionalidade e relevância terapêutica. Os compostos bioativos são geralmente modificados devido às condições sob as quais são submetidos no processo digestivo, principalmente devido a mudanças no pH e ações enzimáticas [41].

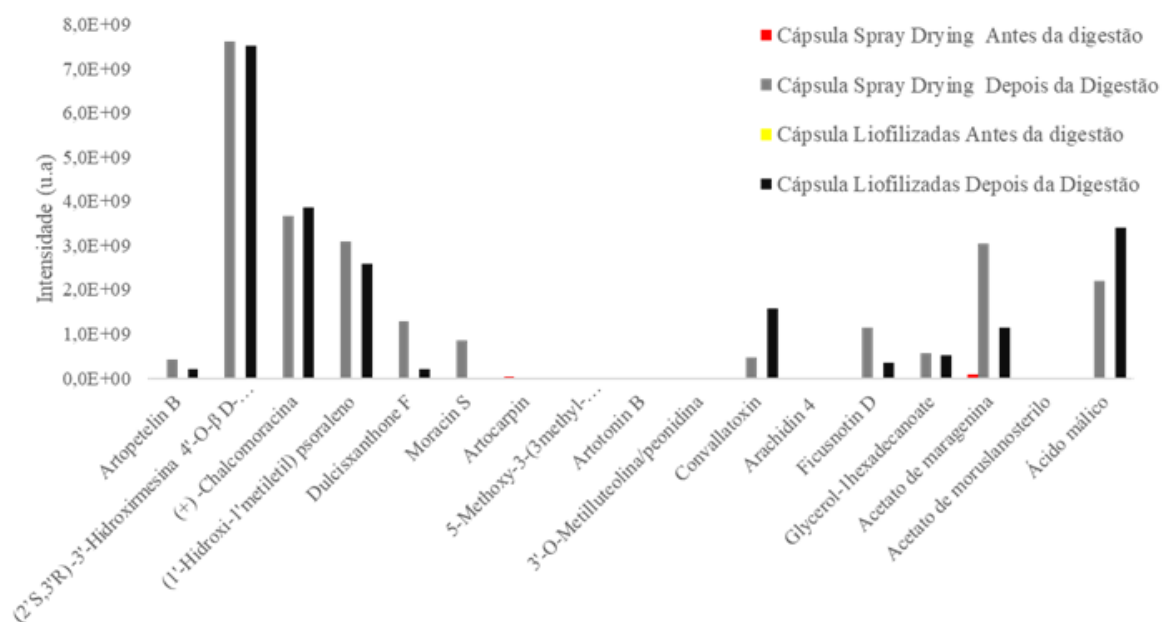


Fig. 4 ESI-MS caracterização de cápsulas liofilizadas e spray drying antes e após o processo de digestão *in vitro*

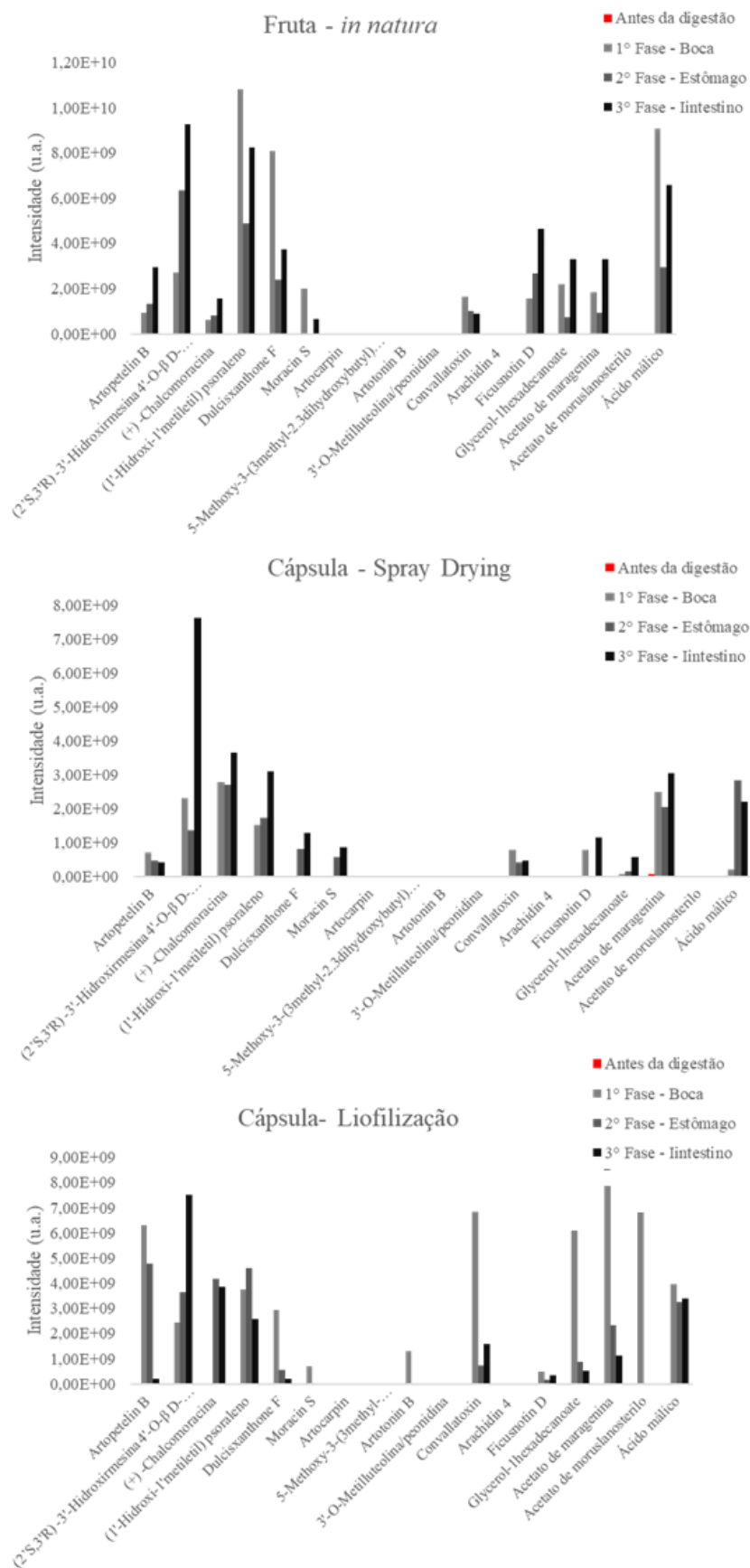


Fig. 5 Caracterização de diferentes fases para análise *in vitro* da digestão utilizando ESI-MS

Conclusão

Conclui-se que a mamacadela, apesar de pouco conhecida, pode ser uma boa fonte de carotenoides e antioxidantes na dieta diária das pessoas. Em relação à digestão, observou-se alta recuperação de carotenoides (74,82% e 71,83% para frutas e cápsulas liofilizadas, respectivamente), mostrando excelente bioacessibilidade para cápsulas liofilizadas. O processo de liofilização foi eficiente na produção de cápsulas com cor amarela mais intensa e maior capacidade antioxidante. Portanto, esses achados destacam a adequação das microcápsulas de mamacadela liofilizadas para aplicação na indústria alimentícia, especialmente no desenvolvimento de alimentos com alegações de propriedades funcionais e nutracêuticos que requerem coloração natural e enriquecimento com antioxidantes. Além disso, a morfologia esférica e a integridade estrutural das microcápsulas favorecem sua estabilidade e incorporação em várias matrizes alimentares.

Em vista destes resultados promissores, a investigação futura deve concentrar-se na caracterização quantitativa de polifenóis e na estabilidade a longo prazo das microcápsulas. Além disso, sugere-se o desenvolvimento de novo produto (ou embalagem) utilizando mamacadela como matéria-prima e avaliar suas características funcionais. Dessa forma, os avanços podem contribuir para o aprimoramento da biodiversidade do Cerrado, oferecendo soluções alimentares sustentáveis e benéficas à saúde.

Declaração de contribuição do autor- CrediT

Jaqueline Ferreira Silva: Conceituação. Investigação. Visualização. Metodologia. Análise formal. Curadoria de dados. Escrita - rascunho original; Escrita - revisão e edição. **Carmen Torres Guedes:** Investigação. Visualização. **Eloize da Silva Alves:** Investigação. Visualização. **Oscar de Oliveira Santos Júnior:** Investigação. Recursos. **Rosane Marina Peralta:** Investigação. Recursos. **Suelen Siqueira dos Santos:** Escrita - revisão e edição. **Mônica Regina da Silva Scapim:** Supervisão. Recursos. **Grasiele Scaramal Madrona:** Conceituação. Supervisão. Escrita - revisão, aquisição de financiamento. Recursos.

Financiamento

Esta pesquisa foi financiada pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) #88887.606273/2021-00.

Declaração de conflito de interesses

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

Agradecimentos

Os autores desejam agradecer à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) ##88887.822179/2023-00. Também gostaria de expressar sua gratidão à Universidade Estadual de Maringá (Complexo de Centrais de Apoio à Pesquisa, ou COMCAP) pela disponibilidade de equipamentos e parceria na pesquisa.

Referências

1. S. J. E. Velazco, F. Villalobos, F. Galvão, P. De Marco Júnior, *Biol Conserv* **284**, 110194 (2023). <https://doi.org/10.1016/J.BIOCON.2023.110194>
2. B. M. Beal, S. L. R. Meza, G. B. Pascoal, *Obs Econ Latinoam* **22**, 1 (2024). <https://doi.org/10.55905/oelv22n2-103>
3. W. de S. C. Quintão, T. Alencar-Silva, M. de F. Borin, K. R. Rezende, L. C. Albernaz, M. Cunha-Filho, T. Gratieri, J. L. de Carvalho, L. C. L. Sá-Barreto, G. M. Gelfuso, *J Mol Liq* **294**, 111685 (2019). <https://doi.org/10.1016/J.MOLLIQ.2019.111685>
4. R. D. Machado, M. C. de Moraes, E. C. da Conceição, B. G. Vaz, A. R. Chaves, K. R. Rezende, *J Pharm Biomed Anal* **191**, 113593 (2020). <https://doi.org/10.1016/J.JPBA.2020.113593>
5. N. S. de Oliveira Ferreira, M. Rosset, G. Lima, P. M. Stuelp Campelo, R. E. F. de Macedo, *LWT* **108**, 145 (2019). <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2019.03.041>
6. G. A. da Costa, A. Z. Mercadante, *J Food Compos Anal* **68**, 53 (2018). <https://doi.org/10.1016/J.JFCA.2017.02.012>
7. A. C. Feihrmann, N. M. da Silva, A. R. de Marins, M. Antônio Matiucci, K. C. Nunes, C. V. Nakamura, M. L. R. de Souza, O. de Oliveira, R. G. Gomes, *Food Chem Adv* **4**, 100621 (2024). <https://doi.org/10.1016/J.FOCHA.2024.100621>
8. S. Jafari, S. M. Jafari, M. Ebrahimi, I. Kijpatanasilp, K. Assatarakul, *Food Hydrocoll* **134**, 108068 (2023). <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2022.108068>
9. D. Pinto, A. López-Yerena, R. Lamuela-Raventós, A. Vallverdú-Queralt, C. Delerue-Matos, F. Rodrigues, *Food Chem* **435**, 137581 (2024). <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2023.137581>
10. T. K. McGhie, M. C. Walton, *Mol Nutr Food Res* **51**, 702 (2007). <https://doi.org/10.1002/MNFR.200700092>
11. C. Fredes, M. J. Osorio, J. Parada, P. Robert, *LWT* **91**, 549 (2018). <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2018.01.090>
12. R. Tolve, F. Galgano, M. C. Caruso, F. L. Tchienbou-Magaia, N. Condelli, F. Favati, Z. Zhang, *Int J Food Sci Nutr* **67**, 888 (2016). <https://doi.org/10.1080/09637486.2016.1205552>
13. A. G. Tarone, C. B. B. Cazarin, M. R. Marostica Junior, *Food Res Int* **133**, 109092 (2020). <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2020.109092>
14. E. do Nascimento Filho, N. N. Barroca Silva, A. Converti, C. R. Ferreira

Grosso, A. M. Pinheiro Santos, D. Silva Ribeiro, M. I. S. Maciel, Food Chem Adv **1**, 100046 (2022). <https://doi.org/10.1016/J.FOCHA.2022.100046>

15. P. D. de F. Santos, F. T. V. Rubio, M. P. da Silva, L. S. Pinho, C. S. Favaro-Trindade, Food Res Int **147**, 110571 (2021). <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2021.110571>

16. P. E. R. Carvalho, *Espécies Arbóreas Brasileiras*, 1st ed., v. 5 (Embrapa, Brasília, DF, 2014).

17. J. F. Silva, L. A. Da Silva, E. S. Alves, C. T. Guedes, P. M. De Souza, S. S. Dos Santos, J. V Visentainer, G. S. Madrona, D. F. Rossoni, M. R. S. Scapim, J. Braz. Chem. Soc **36**, 20250046 (2025). <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20250046>

18. A. E. Edris, D. Kalemba, J. Adamiec, M. Piątkowski, Food Chem **204**, 326 (2016). <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.02.143>

19. Y. R. R. S. Rezende, J. P. Nogueira, N. Narain, Food Chem **254**, 281 (2018). <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.02.026>

20. M. R. T. Zorzenon, M. Formigoni, S. B. da Silva, F. Hodas, S. Piovan, S. R. Ciotta, C. A. Jansen, A. S. Dacome, E. J. Pilau, C. E. Mareze-Costa, P. G. Milani, S. C. Costa, J Food Sci **85**, 3590 (2020). <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15437>

21. A. S. Dacome, C. C. Da Silva, C. E. M. Da Costa, J. D. Fontana, J. Adelman, S. C. Da Costa, Process Biochem **40**, 3587 (2005). <https://doi.org/10.1016/J.PROCBIO.2005.03.035>

22. V. L. Singleton, J. A. Rossi, Am J Enol Vitic **16**, 144 (1965). <https://doi.org/10.5344/AJEV.1965.16.3.144>

23. K. Thaipong, U. Boonprakob, K. Crosby, L. Cisneros-Zevallos, D. Hawkins Byrne, J Food Compos Anal **19**, 669 (2006). <https://doi.org/10.1016/J.JFCA.2006.01.003>

24. M. S. M. Rufino, F. A. N. Fernandes, R. E. Alves, E. S. de Brito, Food Chem **114**, 693 (2009). <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2008.09.098>

25. I. F. F. Benzie and J. J. Strain, Anal Biochem **239**, 70 (1996). <https://doi.org/10.1006/ABIO.1996.0292>

26. M. Alothman, R. Bhat, A. A. Karim, Food Chem **115**, 785 (2009). <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2008.12.005>

27. D. B. Rodriguez-Amaya, M. Kimura, *Handbook for Carotenoid Analysis* (HarvestPlus, Washington, 2004).

28. W. K. Higby, J Food Sci **27**, 42 (1962). <https://doi.org/10.1111/J.1365->

2621.1962.TB00055.X

29. F. Sansone, P. Picerno, T. Mencherini, F. Villecco, A. M. D'Ursi, R. P. Aquino, M. R. Lauro, J Food Eng **103**, 188 (2011).
<https://doi.org/10.1016/J.JFOODENG.2010.10.015>
30. C. G. da Rosa, C. D. Borges, R. C. Zambiasi, J. K. Rutz, S. R. da Luz, F. D. Krumreich, E. V. Benvenuti, M. R. Nunes, LWT **58**, 527 (2014).
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.03.042>
31. P. B. Pathare, U. L. Opara, F. A. J. Al-Said, Food Bioproc Tech **6**, 36 (2013).
<https://doi.org/10.1007/S11947-012-0867-9>
32. R. G. McGuire, HortScience **27**, 1254 (1992).
<https://doi.org/10.21273/HORTSCI.27.12.1254>
33. R. C. G. Corrêa, C. W. I. Haminiuk, L. Barros, M. I. Dias, R. C. Calhelha, C. G. Kato, V. G. Correa, R. M. Peralta, I. C. F. R. Ferreira, J Funct Foods **36**, 410 (2017).
<https://doi.org/10.1016/J.JFF.2017.07.030>
34. D. G. Bortolini, L. Barros, G. M. Maciel, R. M. Peralta, V. G. Corrêa, T. C. Finimundy, C. W. Isidoro Haminiuk, ACS Food Sci Technol **5**, 577 (2025).
<https://doi.org/10.1021/ACSFOODSCITECH.4C00707>
35. D. Hornero-Méndez, M. I. Minguez-Mosquera, J Agric Food Chem **49**, 3584 (2001). <https://doi.org/10.1021/JF010400L>
36. G. BRITTON, ChemInform **26** (1995).
<https://doi.org/10.1002/CHIN.199532313>
37. S. K. Lai, Y. Y. Wang, D. Wirtz, J. Hanes, Adv Drug Deliv Rev **61**, 86 (2009).
<https://doi.org/10.1016/j.addr.2008.09.012>
38. L. M. Ensign, C. Schneider, J. S. Suk, R. Cone, J. Hanes, Adv Mater **24**, 3887 (2012). <https://doi.org/10.1002/ADMA.201201800>
39. B. Zheng, S. Peng, X. Zhang, D. J. McClements, J Agric Food Chem **66**, 10816 (2018). <https://doi.org/10.1021/ACS.JAFC.8B03174>
40. F. M. Rodrigues Silva, L. M. Ribeiro da Silva, A. S. Gomes Duarte, C. E. da Silva Monteiro, A. R. Campos, D. K. Rodrigues Holanda, A. C. Silva de Lima, L. Bruno de Sousa Sabino, R. Wilane de Figueiredo, Food Biosci **42**, 101190 (2021).
<https://doi.org/10.1016/J.FBIO.2021.101190>
41. S. S. dos Santos, C. M. Paraíso, E. B. Romanini, V. G. Correa, R. M. Peralta, S. C. da Costa, O. de O. Santos Junior, J. V. Visentainer, M. H. M. Reis, G. S. Madrona, Innov Food Sci Emerg Technol **81**, 103111 (2022).

<https://doi.org/10.1016/J.IFSET.2022.103111>

42. A. Rezvankhah, Z. Emam-Djomeh, G. Askari, *Dry Technol* **38**, 235 (2020).
<https://doi.org/10.1080/07373937.2019.1653906>

43. E. Karrar, A. A. Mahdi, S. Sheth, I. A. Mohamed Ahmed, M. F. Manzoor, W. Wei, X. Wang, *Int J Biol Macromol* **171**, 208 (2021).
<https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2020.12.045>

44. E. S. Alves, C. S. R. Ferreira, P. R. Souza, A. R. S. Bruni, M. C. Castro, B. H. F. Saqueti, O. O. Santos, G. S. Madrona, J. V. Visentainer, *Int J Biol Macromol* **238**, 124100 (2023). <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2023.124100>

45. P. N. Ezhilarasi, P. Karthik, N. Chhanwal, C. Anandharamakrishnan, *Food Bioprocess Tech* 2012 6:3 **6**, 628 (2012). <https://doi.org/10.1007/S11947-012-0944-0>

46. R. V. Tonon, C. Brabet, D. Pallet, P. Brat, M. D. Hubinger, *Int J Food Sci Technol* **44**, 1950 (2009). <https://doi.org/10.1111/J.1365-2621.2009.02012.X>

47. M. Pattnaik, P. Pandey, G. J. O. Martin, H. N. Mishra, M. Ashokkumar, *Foods* **10**, 1 (2021). <https://doi.org/10.3390/FOODS10020279>

48. J. Martinović, R. Ambrus, M. Planinić, G. Šelo, A. M. Klarić, G. Perković, A. Bucić-Kojić, *Gels* **10**, 353 (2024). <https://doi.org/10.3390/GELS10060353/S1>

49. L. S. Kuck, C. P. Z. Noreña, *Food Chem* **194**, 569 (2016).
<https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2015.08.066>

50. E. A. Kosasih, M. I. Dzaky, A. Zikri, A. Rachmanudiputra, F. Abizar, M. B. Fauzi, Y. S. Suharyadi, *Case Stud Therm Eng* **45**, 102931 (2023).
<https://doi.org/10.1016/J.CSITE.2023.102931>

51. F. Esmaili, M. Hashemiravan, M. R. Eshaghi, H. Gandomi, *J Food Meas Charact* **16**, 2908 (2022). <https://doi.org/10.1007/S11694-022-01385-3>

52. R. Charoensiri, R. Kongkachuichai, S. Suknicom, P. Sungpuag, *Food Chem* **113**, 202 (2009). <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2008.07.074>

53. S. K. Giri, S. Mangaraj, *Food Eng Rev* **4**, 149 (2012).
<https://doi.org/10.1007/S12393-012-9053-0>

54. J. Courraud, J. Berger, J. P. Cristol, S. Avallone, *Food Chem* **136**, 871 (2013).
<https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2012.08.076>

55. B. Duan, H. J. So, J. A. Shin, Y. Qin, J. Yang, K. T. Lee, *Eur Food Res Technol* **247**, 1307 (2021). <https://doi.org/10.1007/S00217-021-03710-4>

56. M. A. González-Peña, A. E. Ortega-Regules, C. Anaya de Parrodi, J. D. Lozada-Ramírez, *Plants* **12**, 313 (2023). . <https://doi.org/10.3390/PLANTS12020313>

57. Y. Lyu, J. Bi, Q. Chen, X. Li, C. Lyu, H. Hou, *Food Bioproc Tech* **13**, 1929 (2020). <https://doi.org/10.1007/S11947-020-02532-8>
58. H. J. Kim, C. L. Lee, K. S. Yoon, J. W. Rhim, *Food Control* **138**, 109027 (2022). <https://doi.org/10.1016/J.FOODCONT.2022.109027>
59. H. Hasanah, D. Syukri, I. Ismed, *Andalas Int J Agric Nat Sci* **3**, 1 (2022). <https://doi.org/10.25077/AIJANS.V3.I02.1-19.2022>
60. G. Caliskan, S. N. Dirim, *Powder Technol* **287**, 308 (2016). <https://doi.org/10.1016/J.POWTEC.2015.10.019>
61. A. Stunda-Zujeva, Z. Irbe, L. Berzina-Cimdina, *Ceram Int* **43**, 11543 (2017). <https://doi.org/10.1016/J.CERAMINT.2017.05.023>
62. A. K. Pathan, J. Bond, R. E. Gaskin, *Mater Today* **12**, 32 (2010). [https://doi.org/10.1016/S1369-7021\(10\)70143-7](https://doi.org/10.1016/S1369-7021(10)70143-7)
63. S. Benavides, P. Cortés, J. Parada, W. Franco, *Food Chem* **204**, 77 (2016). <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2016.02.104>
64. B. H. F. Saqueti, E. S. Alves, M. C. Castro, P. D. S. dos Santos, N. B. M. Sinosaki, C. E. R. Senes, J. V. Visentainer, O. O. Santos, *J Braz Chem Soc* **32**, 2009 (2021). <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20210096>
65. A. Gómez-Maqueo, E. Bandino, J. I. Hormaza, M. P. Cano, *Food Chem* **316**, 126369 (2020). <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2020.126369>
66. X. Wang, W. Liu, C. Zhang, S. Ji, C. Li, S. Fan, Y. Zhang, *J Funct Foods* **109**, 105819 (2023). <https://doi.org/10.1016/J.JFF.2023.105819>
67. J. K. S. Andrade, R. G. C. Barros, U. C. Pereira, N. C. Gualberto, C. S. de Oliveira, S. Shanmugam, N. Narain, *Food Chem* **373**, 131494 (2022). <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2021.131494>
68. O. Muñoz-Fariña, V. López-Casanova, O. García-Figueroa, A. Roman-Benn, K. Ah-Hen, J. M. Bastias-Montes, R. Quevedo-León, M. C. Ravanal-Espinosa, *Food Chemis Adv* **2**, 100171 (2023). <https://doi.org/10.1016/J.FOCHA.2022.100171>
69. D. Pinto, A. M. Silva, S. Dall'Acqua, S. Sut, A. Vallverdú-Queralt, C. Delerue-Matos, F. Rodrigues, *Antioxidants* **12**, 1414 (2023). <https://doi.org/10.3390/ANTIOX12071414>
70. H. Wu, Z. Liu, P. Lu, C. Barrow, F. R. Dunshea, H. A. R. Suleria, *Food Chem* **386**, 132794 (2022). <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2022.132794>
71. P. Kashyap, C. S. Riar, N. Jindal, *LWT* **153**, 112570 (2022). <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2021.112570>

72. Y. Ruíz-García, C. Beres, D. W. H. Chávez, D. C. de S. Pereira, M. C. P. A. Santiago, R. de O. Godoy, F. dos S. Gomes, R. Antoniassi, R. V. Tonon, L. M. C. Cabral, *LWT* **157**, 113083 (2022). <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2022.113083>
73. F. Tu, C. Xie, H. Li, S. Lei, J. Li, X. Huang, F. Yang, *Food Chem* **363**, 130277 (2021). <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2021.130277>
74. Y. Hu, Q. Lin, H. Zhao, X. Li, S. Sang, D. J. McClements, J. Long, Z. Jin, J. Wang, C. Qiu, *Food Hydrocoll* **135**, 108165 (2023). <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2022.108165>
75. F. C. Petry, A. Z. Mercadante, *Food Funct* **8**, 3951 (2017). <https://doi.org/10.1039/C7FO01075C>
76. F. Granado-Lorencio, B. Olmedilla-Alonso, C. Herrero-Barbudo, I. Blanco-Navarro, B. Pérez-Sacristán, S. Blázquez-García, *Food Chem* **102**, 641 (2007). <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2006.05.043>
77. M. P. Cano, A. Gómez-Maqueo, R. Fernández-López, J. Weltri-Chanes, T. García-Cayuela, *Food Res Int* **123**, 538 (2019). <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2019.05.017>
78. J. M. Carbonell-Capella, M. Buniowska, M. J. Esteve, A. Frígola, *Food Chem* **184**, 122 (2015). <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2015.03.095>
79. M. L. Failla, C. Chitchumronchokchai, M. G. Ferruzzi, S. R. Goltz, W. W. Campbell, *Food Funct* **5**, 1101 (2014). <https://doi.org/10.1039/C3FO60599J>
80. C. Molteni, C. La Motta, F. Valoppi, *Antioxidants* **11**, 1931 (2022). <https://doi.org/10.3390/ANTIOX11101931>
81. D. Tagliazucchi, E. Verzelloni, D. Bertolini, A. Conte, *Food Chem* **120**, 599 (2010). <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2009.10.030>
82. L. Cheng, N. Huang, S. Jiang, K. Li, Z. Zhuang, Q. Wang, S. Lu, *Sci Hortic* **288**, 110368 (2021). <https://doi.org/10.1016/J.SCIENTA.2021.110368>
83. L. M. de M. C. Ferreira, R. R. Pereira, F. B. de Carvalho-Guimarães, M. S. do N. Remígio, W. L. R. Barbosa, R. M. Ribeiro-Costa, J. O. C. Silva-Júnior, *Polymers* **14**, 2905 (2022). <https://doi.org/10.3390/POLYM14142905>
84. H. Andishmand, S. Azadmard-damirchi, H. Hamishekar, M. A. Torbati, M. S. Kharazmi, G. P. Savage, C. Tan, S. M. Jafari, *Adv Colloid Interface Sci* **311**, 102833 (2023). <https://doi.org/10.1016/J.CIS.2022.102833>
85. N. C. da Silva, O. B. G. Assis, A. G. de O. Sartori, S. M. de Alencar, and M. Martelli-Tosi, *Food Res Int* **161**, 111855 (2022).

<https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2022.111855>

86. D. B. Rodrigues, C. Chitchumroonchokchai, L. R. B. Mariutti, A. Z. Mercadante, M. L. Failla, J Agric Food Chem **65**, 11220 (2017). <https://doi.org/10.1021/ACS.JAFC.7B04854>

87. Z. Xiao, J. Xia, Q. Zhao, Y. Niu, D. Zhao, Carbohydr Polym **298**, 120113 (2022). <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2022.120113>

88. R. M. Faulks, S. Southon, Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis **1740**, 95 (2005). <https://doi.org/10.1016/J.BBADIS.2004.11.012>

89. A. Cencic, W. Chingwaru, Nutrients **2**, 611 (2010). <https://doi.org/10.3390/NU2060611>

90. C. S. Liu, R. P. Glahn, R. H. Liu, J Agric Food Chem **52**, 4330 (2004). <https://doi.org/10.1021/JF040028K>

91. L. Mickely W. Engelbrecht, R. Vicente Ribeiro, N. Cristiane Yoshida, V. dos Santos Gonçalves, E. Pavan, D. Tabajara de Oliveira Martins, É. Luiz dos Santos, Chem Biodivers **18**, e2001068 (2021). <https://doi.org/10.1002/CBDV.202001068>

92. C. S. Ripke Ferreira, B. H. Figueiredo Saqueti, P. D. Silva dos Santos, J. Martins da Silva, M. A. Matiucci, A. C. Feihrmann, J. M. Graton Mikcha, O. O. Santos, LWT **154**, 112867 (2022). <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2021.112867>

93. A. Pérez-gálvez, I. Viera, M. Roca, Antioxidants **9**, 1 (2020). <https://doi.org/10.3390/ANTIOX9060505>

94. D. A. Nardino, A. C. R. Aranha, L. T. D. Tonin, R. O. Defendi, S. Ishikawa, P. A. Bressiani, A. B. S. Santana, E. Dusman, M. K. A. Yonekawa, J. A. S. Jaques, E. A. Santos, A. P. P. Tonin, E. C. Meurer, C. C. Sipoli, R. M. Suzuki, J Braz Chem Soc **35**, (2024). <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20230186>

95. L. Daniel Daza, A. Fujita, D. Granato, C. Silvia Fávaro-Trindade, M. Inés Genovese, Food Biosci **18**, 15 (2017). <https://doi.org/10.1016/J.FBIO.2017.03.003>

96. J. Gomez-Estaca, T. A. Comunian, P. Montero, C. S. Favaro-Trindade, Food Bioproc Tech **11**, 1596 (2018). <https://doi.org/10.1007/S11947-018-2116-3>

97. C. Chranioti, A. Nikoloudaki, C. Tzia, Carbohydr Polym **127**, 252 (2015). <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2015.03.049>

98. A. Gharsallaoui, G. Roudaut, O. Chambin, A. Voilley, R. Saurel, Food Res Int **40**, 1107 (2007). <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2007.07.004>

99. Y. Zou, Y. Teng, J. Li, Y. Yan, Green Chem Eng **5**, 150 (2024). <https://doi.org/10.1016/J.GCE.2023.04.003>

100. A. Citarella, S. Vittorio, C. Dank, L. Ielo, *Front Chem* **12**, 1362992 (2024).
<https://doi.org/10.3389/FCHEM.2024.1362992>
101. L. Wang, Z. Luo, M. Yang, Z. Liang, M. Qi, Y. Dong, Y. Xu, X. Lin, L. Li, *Postharvest Biol Technol* **186**, 111835 (2022).
<https://doi.org/10.1016/J.POSTHARVBIO.2022.111835>
102. W. Zhang, J. Sun, Q. Li, C. Liu, R. Yue, Y. Zhang, F. Niu, H. Zhu, C. Ma, S. Deng, *Carbohydr Polym* **347**, 122766 (2025).
<https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2024.122766>

Material suplementar

Tabela A. 1. Caracterização de compostos bioativos e bioacessibilidade durante o processo de digestão *in vitro*.

Amostras	TCT (mg 100/g)	Flavonoides (mg EQuer/mL)	TPC (mg GAE/g)	ABTS (mg Trolox/g)	DPPH (mg Trolox/g)	FRAP (mg Trolox/g)
1° Fase – Boca						
Fruta	37,13 ^b ± 0,06	401,12 ^a ± 51,53	264,00 ^a ± 30,07	2433,86 ^a ± 185,26	288,64 ^a ± 1,69	1044,12 ^a ± 95,96
CSD	16,87 ^c ± 0,00	1,05 ^b ± 0,48	8,82 ^b ± 0,20	44,91 ^c ± 0,82	11,52 ^c ± 2,28	24,04 ^b ± 1,20
CL	47,02 ^a ± 0,13	0,42 ^b ± 0,23	18,46 ^b ± 3,36	123,86 ^b ± 16,04	34,37 ^b ± 1,02	60,36 ^b ± 0,73
2° Fase - Estômago						
Fruta	79,46 ^a ± 0,11	414,30 ^a ± 19,72	162,22 ^a ± 29,27	731,19 ^a ± 191,96	282,82 ^a ± 2,55	651,43 ^a ± 130,59
CSD	28,59 ^c ± 0,06	1,34 ^b ± 0,49	10,23 ^b ± 0,89	21,34 ^c ± 1,42	16,87 ^c ± 2,48	32,45 ^b ± 6,30
CL	34,58 ^b ± 0,00	0,43 ^b ± 0,39	21,17 ^b ± 1,63	52,36 ^b ± 3,04	37,44 ^b ± 4,14	67,93 ^b ± 4,25
3° Fase – Intestino						
Fruta	1,43 ^a ± 0,00	340,86 ^a ± 4,82	158,00 ^a ± 11,27	250,49 ^a ± 56,15	284,68 ^a ± 2,95	650,04 ^a ± 153,06
CSD	0,04 ^c ± 0,00	0,95 ^b ± 0,16	4,24 ^b ± 1,38	114,05 ^b ± 9,48	0,43 ^b ± 0,25	22,77 ^b ± 4,95
CL	0,12 ^b ± 0,02	0,42 ^b ± 0,20	4,27 ^b ± 1,77	212,36 ^a ± 15,70	5,48 ^b ± 3,04	31,81 ^b ± 4,40
Bioacessibilidade (%)						
Fruta	74,82 ^a ± 0,27	218,09 ^a ± 3,09	309,34 ^a ± 22,06	71,62 ^b ± 16,05	372,47 ^a ± 3,86	276,44 ^a ± 65,09
CSD	59,70 ^b ± 2,93	176,43 ^a ± 29,76	32,59 ^b ± 10,60	226,68 ^a ± 18,85	2,26 ^b ± 1,32	60,43 ^b ± 13,14
CL	71,83 ^a ± 1,13	2,14 ^b ± 1,01	7,38 ^c ± 3,06	66,34 ^b ± 4,90	4,86 ^b ± 2,70	14,50 ^c ± 2,00

Valores médios ± desvio padrão (DP); n=3 (Triplicata); letras minúsculas subscritas diferentemente na mesma coluna são significativamente diferentes ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey. CSD - cápsulas com secagem por spray drying, CL - cápsulas com liofilização, TCT - teor total de carotenoides, TPC - compostos fenólicos totais.

Tabela A.2 . Identificação por ESI-MS de compostos de Fruta *in natura*, cápsulas liofilizadas e cápsulas spray drying seca antes e após o processo digestivo *in vitro*.

Compostos	<i>m/z</i>	CSD		CL		Fruta - <i>in natura</i>	
		Antes da digestão	Depois da digestão	Antes da digestão	Depois da digestão	Antes da digestão	Depois da digestão
Artopetelin B	447[M+H] ⁺	ND	4,1E+08	ND	2,2E+08	8,61E+05	2,93E+09
(2'S,3'R) -3'-Hidroxirmesina							
4'-O-β D-glucopiranosídeo	425[M+H] ⁺	5,2E+06	7,6E+09	4,1E+06	7,5E+09	1,96E+05	9,28E+09
(+) -Chalcomoracina	649[M+H] ⁺	ND	3,7E+09	4,9E+06	3,9E+09	4,19E+05	1,55E+09
(1'-Hidroxi-1'metiletil)							
psoraleno	245[M+H] ⁺	2,6E+06	3,1E+09	2,4E+06	2,6E+09	2,49E+06	8,25E+09
Dulcisxanthone F	409[M+H] ⁺	8,3E+06	1,3E+09	ND	2,0E+08	1,62E+05	3,74E+09
Moracin S	310[M+H] ⁺	8,9E+06	8,5E+08	ND	ND	6,06E+05	6,50E+08
Artocarpin	437[M+H] ⁺	2,5E+07	ND	1,3E+07	ND	5,05E+05	ND
5-Methoxy-3-(3methyl-2.3dihydroxybutyl)		ND	ND	ND	ND		ND
psoralendiacetate	403[M+H] ⁺					2,12E+05	
Artotonin B	373[M+H] ⁺	ND	ND	ND	ND	1,26E+06	ND
3'-O-Metilluteolina/peonidina	301[M+H] ⁺	1,2E+07	ND	8,3E+06	ND	3,01E+06	ND
Convallatoxin	551[M+H] ⁺	ND	4,6E+08	ND	1,6E+09	6,42E+05	9,05E+08
Arachidin 4	315[M+H] ⁺	ND	ND	2,2E+06	ND	8,72E+05	ND
Ficusnotin D	329[M+H] ⁺	2,5E+06	1,1E+09	ND	3,5E+08	4,83E+05	4,65E+09

Glycerol-1hexadecanoate	353[M+Na]+	1,3E+07	5,6E+08	9,0E+06	5,1E+08	5,78E+05	3,29E+09
Acetato de maragenina	469[M+H]+	7,4E+07	3,0E+09	ND	1,1E+09	ND	3,29E+09
Acetato de moruslanosterilo	491[M+Na]+	5,2E+06	ND	7,2E+06	ND	4,98E+05	ND
Ácido málico	115[M-H]-	1,3E+07	2,2E+09	2,4E+07	3,4E+09	7,61E+05	6,57E+09
ND- Não Detectado							

ARTIGO 3

Filmes Ativos Biodegradáveis Incorporando Microcápsulas de Mamacadela (*Brosimum gaudichaudii*) com Atividade Antioxidante e Antibacteriana

Jaqueline Ferreira Silva^{a}, Carmen Torres Guedes^b, Eloize da Silva Alves^a, Bruno Henrique Figueiredo Saqueti^a, Cintia Stefhany Ripke Ferreira^a, Ana Paula Monteiro de Mendonça^a, Marcos William Crisóstomo Silva^c, Francielle Sato^c, Benicio Alves de Abreu Filho^a, Oscar de Oliveira Santos Júnior^a, Silvio Claudio da Costa^a, Suelen Siqueira dos Santos^e, Mônica Regina da Silva Scapim^b, Grasielle Scaramal Madrona^{a,b}*

^a Pós-graduação em Ciências de Alimentos, Universidade Estadual de Maringá, Maringá 87020-000 Paraná, Brasil

^b Departamento de Química, Universidade Estadual de Maringá, Maringá 87020-900 Paraná, Brasil

^c Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Maringá, Maringá 87020-000 Paraná, Brasil

^d Pós-Graduação em Física, Universidade Estadual de Maringá, Maringá 87020-000 Paraná, Brasil

^e Departamento de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná/Campus avançado Jandaia do Sul, 86900-000, Jandaia do Sul, Brasil

***Autor correspondente:** Jaqueline Ferreira Silva. Endereço de e-mail: jaquelinesferreirasilva@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5271-3182>.

Resumo

Este estudo desenvolveu microcápsulas secas por liofilização (ML) e por *spray drying* (MSD) para uso em filmes de embalagem ativos com concentrações de 2,5%, 5,0% e 10,0%. As microcápsulas de ML apresentaram melhor desempenho antioxidante, com uma eficiência de encapsulamento de betacaroteno de 80,94 %, 1,21 vezes maior que a MSD devido à melhor solubilidade da maltodextrina. A MSD apresentou excelente atividade antibacteriana contra *E. Coli* com concentração inibitória mínima 500 µg/mL, enquanto que para ML foi 1000 µg/mL. Os filmes com ML foram mais uniformes, com maior resistência mecânica, barreiras de água e UV e interações funcionais do grupo. ML também aumentou a capacidade antioxidante, promovendo a liberação eficiente de compostos bioativos. No entanto, os filmes MSD 10 % ofereceram a melhor proteção UV (12,26 % de redução) e maiores teores de carotenoides e compostos fenólicos. No geral, a incorporação de 10,0 % microcápsulas é recomendada para criar filmes ativos com grandes propriedades funcionais e efeitos protetores ampliados.

Palavras-chave: Embalagem ativa; Barreira UV; Cerrado; Extrato.

1. Introdução

As florestas tropicais são reconhecidas devido à sua elevada biodiversidade e armazenamento de carbono, sendo extremamente importantes para o bom funcionamento dos ecossistemas (Sze et al., 2021). Um dos exemplos de florestas tropicais é o Cerrado brasileiro, que é o segundo maior bioma do Brasil e um hotspot para o mundo (5%), abrigando várias plantas com propriedades nutricionais (Parente et al., 2021). No entanto, os avanços na pecuária e na agricultura têm intensificado o desmatamento. Assim, a pesquisa sobre a exploração sustentável e as aplicações industriais dos frutos nativos é essencial para preservar a biodiversidade e promover o desenvolvimento econômico das comunidades locais (E. K. A. da Silva & Rial, 2025).

Os frutos deste bioma possuem um grande potencial tecnológico relacionado à preservação da saúde (K. M. de Oliveira et al., 2024), são também fontes de compostos bioativos (Alves Moraes et al., 2024; Arruda et al., 2022; Borges et al., 2022; Dantas et al., 2023; Malta et al., 2012; Schiassi et al., 2018; J. F. Silva, Guedes, da Silva Alves, et al., 2025), carotenoides com atividade da provitamina A (Geöcze et al., 2021; J. F. Silva, Guedes, da Silva Alves, et al., 2025), além de também serem utilizados para obtenção de óleos essenciais (Alves et al., 2013; Geöcze et al., 2021; Pimentel et al., 2024), utilizado para aplicação como probiótico (Trindade et al., 2022) e como aditivo (Moura et al., 2025).

Mamacadela (*Brosimum gaudichaudii*) é uma planta presente no Cerrado brasileiro, amplamente utilizada na medicina popular para a preparação de formulações fitoterápicas tópicas e orais, em particular para o tratamento do vitiligo formado sob exposição UV (De Moraes et al., 2018; Ribeiro et al., 2017). Sua composição fitoquímica é rica em compostos como cumarinas predominantemente encontradas em famílias de plantas, incluindo Apiaceae, Fabaceae, Moraceae, Rutaceae e Thymelaeaceae, todas as quais são características do bioma Cerrado. As preparações tradicionais incluem chá feito a partir da casca da raiz, usado em banhos medicinais, e suco extraído de raízes esmagadas, comumente incorporado em pomadas e loções (Alecrim et al., 2016; Varanda et al., 2002). Silva, da Silva et al. (2025) descreveram que a polpa do fruto apresenta altos níveis de ácido linolênico (ômega 3), uma proporção favorável de ômega 6 e ômega 3 e um baixo índice de trombogenicidade. No entanto, são necessários mais estudos para caracterizar completamente o fruto e avaliar seu potencial para aplicações terapêuticas e nutricionais.

Esses compostos possuem vários benefícios, como propriedades antioxidantes e

antimicrobianas, sensibilidade a mudanças no pH e atuam como bioindicadores de deterioração dos alimentos (Sereti et al., 2025). Para potencializar a ação ativa dos compostos presentes, o encapsulamento tem sido um processo de melhoria da estabilidade dos carotenoides, potencializando sua ação ativa (Rozo et al., 2024; Souza et al., 2024; Wrona et al., 2023). No entanto, os carotenoides são propensos à oxidação, pois podem ser facilmente degradados pela presença de luz ou calor. Uma solução para esse problema é o encapsulamento, que é eficaz na proteção dos carotenoides no seu uso pela indústria alimentícia durante todo armazenamento (Sereti et al., 2025)

Além disso, o crescente interesse dos consumidores por produtos naturais e sustentáveis impulsionou o desenvolvimento de embalagens biodegradáveis baseadas em polímeros naturais como alginato e gelatina, com plastificantes como glicerol e extratos vegetais. Esta abordagem procura reduzir o impacto ambiental através da adição de compostos naturais de origem vegetal, tornando-se mais interativo e funcional para além da proteção alimentar convencional (Acquavia et al., 2023; Khalil et al., 2023; Khan et al., 2025; Mao et al., 2025; N et al., 2024; Santos et al., 2022).

O uso de carotenoides em filmes tem sido cada vez mais estudado para obter filmes biodegradáveis, inteligentes e ativos devido às suas propriedades benéficas (de Oliveira Filho et al., 2024; Gómez-Estaca et al., 2015; Mussagy et al., 2024). Quando incorporados em filmes, os carotenoides podem monitorar a oxidação dos alimentos, oferecendo funcionalidades inteligentes e atraindo a atenção da engenharia alimentar por sua capacidade de prolongar a vida útil e monitorar o frescor do produto (de Oliveira Filho et al., 2024; Mussagy et al., 2024).

Neste contexto, o presente estudo teve como objetivo desenvolver e caracterizar um filme ativo biodegradável, incorporando diferentes microcápsulas de extrato de mamacadela (*Brosimum gaudichaudii*) obtidas por secagem em spray e liofilização, visando potencializar a ação bioativa dos compostos presentes na fruta, com promissora aplicação do filme na preservação de alimentos.

2. Materiais e métodos

2.1. Materiais

Foram coletados cerca de 2 Kg de frutas na área rural de Jussara - Goiás - Brasil (Latitude: 15° 51' 31" Sul, Longitude: 50° 52' 9" Oeste) referentes à safra de 2023, o que foi suficiente para todo este estudo. As amostras foram higienizadas, despulpadas, armazenadas

em embalagens de polietileno e congeladas em freezer (Metalfrio, NF40S, São Paulo, Brasil) a -18 °C. As amostras foram mantidas congeladas e transportadas para o laboratório da Universidade Estadual de Maringá - Maringá, Paraná, Brasil (J. F. Silva, Guedes, da Silva Alves, et al., 2025).

2.2. Obtenção do extrato e microencapsulação

Inicialmente, o fruto da mamacadeira (polpa e casca) foi desidratado a 45 °C em um forno com circulação de ar durante 24 h. Posteriormente, 1 g da amostra triturada foi pesado e 10 mL de etanol (99,5 %) foram adicionados. A extração foi realizada sob parâmetros definidos em testes preliminares, usando 30 °C por 60 min em um banho de Dubnoff (TE-053, Diadema, São Paulo, Brasil) a 35 ± 5 rpm. O extrato foi então filtrado a vácuo usando papel de filtro e armazenado em vidro âmbar para posteriores análises (J. F. Silva, Guedes, da Silva Alves, et al., 2025).

Para obtenção das microcápsulas, o extrato etanólico foi submetido a um evaporador rotativo (Buchi, R-200, Flawil, Suíça). O extrato seco e a maltodextrina (Maltogill 10, Cargill Agrícola S.A. na proporção de 1:3 p/p) foram ressuspensos em solução etanólica (10% v/v). Durante o procedimento de microencapsulação, os grânulos foram formados. Portanto, 1 g de Tween 80 foi adicionado para homogeneizar a mistura (Edris et al., 2016). A solução foi então agitada em agitador (Nova Ética Produtos e Equipamentos Científicos Ltda., SHK.430, Vargem Grande Paulista, Brasil) a 200 rpm, 35 °C, por 20 min (Rezende et al., 2018).

Da mistura acima, metade do lote foi seco em mini spray (Buchi, B-191, Flawil, Suíça, 4 Bar, 500 ml/h), com temperaturas de entrada e saída de 130 e 87 °C, respectivamente (Zorzenon et al., 2020). A outra metade da solução foi seca em um liofilizador.

-(Alpha 1-4 - LD, Harz, Alemanha) por 48 h a -50 °C. Após este período, o material foi moído usando uma argamassa e peneirado a 600 µm. Todas as microcápsulas secas obtidas foram armazenadas em frascos âmbar e mantidas em um freezer a -18 °C até análises posteriores (J. F. Silva, Guedes, da Silva Alves, et al., 2025).

2.3. Caracterização das microcápsulas

2.3.1. Quantificação do teor de β -caroteno

O teor de β -caroteno foi quantificado segundo Higby (1962), 4 g de amostra, 30 mL de álcool isopropílico e 10 mL de hexano foram misturados usando um agitador mecânico

(Marconi, Turrax MA102, Piracicaba, Brasil) a 7.000 rpm por 1 min. Posteriormente, a solução foi transferida para um funil de separação de 125 mL envolto em folha de alumínio para evitar a degradação pela luz. O funil foi preenchido com água destilada e repousado por 30 min para separação de fases. Após este período, a fase aquosa foi cuidadosamente descartada abrindo o funil. Este último passo foi repetido três vezes para garantir a remoção completa dos componentes solúveis em água. A fase orgânica foi filtrada em um balão volumétrico de 50 mL, também protegido da luz com papel alumínio. 5 mL de acetona foram adicionados, e o volume foi completado com hexano. A absorbância da solução foi medida a 450 nm usando um espectrofotômetro (Thermo Fisher Scientific, Genesys 10-S, Vantaa, Finlândia). Uma solução em branco foi preparada usando 5 mL de acetona e 45 mL de hexano. O teor de β -caroteno foi calculado de acordo com a Eq. 1 e expresso em mg/100 g.

$$\text{Teor de } \beta - \text{caroteno (mg/100g)} = \frac{A_{450} \times 100}{250 \times L \times W} \quad (\text{Eq. 1})$$

Esta equação é baseada na lei de Lambert Beer, onde: A_{450} = absorvência medida a 450 nm, L = largura da cubeta em cm, W = quociente da massa da amostra (g) e volume final de diluição (mL).

A eficiência de encapsulamento (EE) foi determinada em relação à concentração de β -caroteno, seguindo por Cabral et al. (2018), e então calculada de acordo com a Eq. 2.

$$EE (\%) = \frac{\beta\text{-caroteno}_{\text{Cápsula}} - \beta\text{-caroteno}_{\text{Extrato Inicial}}}{\beta\text{-caroteno}_{\text{Cápsula}}} \times 100 \quad (\text{Eq. 2})$$

2.3.2. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As amostras foram previamente fixadas em fita de carbono sobre o topo e cobertas com uma fina camada de ouro (≈ 50 nm) usando um metalizer (SCD 050, Bal-Tec, Obermattstrasse, Suíça). A avaliação morfológica foi realizada usando um microscópio eletrônico de varredura modelo Quanta 50 (Fisher Scientific FEI, República Checa), operando com tensão de aceleração de 20 kV e ampliação 1000 x para cápsula e 200x para filmes.

2.3.3. Atividade antimicrobiana

A atividade antimicrobiana foi testada contra *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* usando a Concentração Inibitória Mínima (CIM). Foi pesado 2 mg de amostra (fruta

in natura, extrato, cápsula por spray drying e cápsula liofilizada) e diluídas em 1 mL de dimetilsulfóxido (DMSO) ou Tween 80 1% e solubilizadas em ultrassom durante 15 minutos (concentrações de 1000, 500, 250, 125 e 0 µL/mL). As bactérias foram ativadas em caldo de cultura e revestidas para obtenção de culturas puras. Para o CIM, microplacas de 96 poços foram preparadas e inoculadas com bactérias. Após a incubação, o CIM foi determinado visualmente e confirmado com resazurina. O CIM foi determinado em ágar para verificar a ausência de colônias (Wikler et al., 2015). Esta análise foi utilizada para definir a concentração a ser usada para microcápsulas em filmes.

2.4. Embalagem biodegradável ativa

2.4.1. Método de Casting

Após testes preliminares foram obtidas as embalagens sem adição de extrato (C) denominada controle, e os demais com adição de 2,5; 5,0 e 10,0% de microcápsulas (liofilizadas e *spray dring*) em relação à massa dos polímeros utilizados (Tabela 1), que foram denominados ML 2,5, ML 5,0, ML 10,0, MSD 2,5, MSD 5,0, e MSD 10,0 (as concentrações foram definidas a partir da concentração das cápsulas que obtiveram ação antimicrobiana). Todos os ingredientes foram dispersos em solução, seguido de aquecimento em placa de aquecimento com agitação (TE-0854, Tecnal Equipamentos Científicos, São Paulo, Brasil) constante a 35 °C por 10 min. Após solubilização dos polímeros, os extratos foram adicionados. A técnica de fundição foi empregada por despejo do volume de 200 mL da solução filmogênica formada na placa acrílica (20 × 20 cm) e seca em um forno com circulação de ar (TE-394/1, Tecnal Equipamentos Científicos, São Paulo, Brasil) a uma temperatura de 35 °C (J. F. Silva, Guedes, Alves, et al., 2025).

Tabela 1. Formulação para o desenvolvimento de filmes ativos.

Formulação	Controle (C)	Microcápsula liofilizada (ML)			Microcápsula por spray dring (MSD)		
		2,5%	5,0%	10,0%	2,5%	5,0%	10,0%
Água destilada (mL)	200	200	200	200	200	200	200
Alginato de sódio (g)	4	4	4	4	4	4	4
Gelatina (g)	6	6	6	6	6	6	6
Glicerol (g)	4	4	4	4	4	4	4
Tween 80 (gotas)	2	2	2	2	2	2	2

Microcápsula (mg)	0	250	500	1000	250	500	1000
-------------------	---	-----	-----	------	-----	-----	------

2.4.2 Permeabilidade ao vapor de água (PVA)

A permeabilidade ao vapor de água foi determinada usando o método gravimétrico de acordo com a Sociedade Americana para Testes e Materiais (ASTM, 1995). As amostras de filme foram pré-condicionadas em dessecadores contendo uma solução saturada de nitrato de magnésio ($53 \pm 2\%$ Umidade Relativa - UR) a 25 ± 2 °C durante 72 h. Posteriormente, cada amostra foi fixada numa cápsula de alumínio (60 mm de diâmetro interno) usando cera de silicone, garantindo que a migração da umidade ocorresse exclusivamente através da superfície do filme. Microcápsulas contendo cloreto de cálcio anidro foram colocadas em dessecadores com uma solução saturada de nitrato de magnésio (53% UR) a 25 ± 2 °C para manter o gradiente de umidade relativa. As cápsulas foram pesadas periodicamente até se observar uma taxa de ganho de massa constante. A inclinação do ganho de peso ao longo do tempo foi obtida por regressão linear ($R^2 > 0,99$), e a taxa de transmissão de vapor de água (WVTR) foi calculada dividindo-se a inclinação (g/s) pela área de superfície exposta (m^2). A PVA ($g\ mm/m^2\ h\ kPa$) foi calculada usando Eq. 3. Todos os testes foram realizados em triplicata (De Takahashi et al., 2017).

$$PVA = \frac{WVTR}{S(RH^1 - RH^2) \times D} \quad (\text{Eq. 3})$$

onde S é a pressão de vapor de saturação da água (Pa) na temperatura dada (25 °C), RH^1 é o UR dentro do dessecante, RH^2 é o UR dentro da célula de permeação e D é a espessura do filme (m).

2.4.3 Propriedades mecânicas

Para avaliar as propriedades mecânicas dos filmes, as amostras foram previamente armazenadas a 53% de umidade relativa por sete dias. As propriedades mecânicas foram determinadas usando um analisador de textura TAXT2i Stable Micro System (Surrey, Inglaterra) de acordo com ASTM D - 882 - 91 (1996). As amostras foram cortadas (80 mm de comprimento e 6 mm de largura) e fixadas nas garras pneumáticas do equipamento a uma distância de 30 mm. As propriedades investigadas foram resistência à tração máxima (MPa), alongamento na fratura (%) e módulo de elasticidade (MPa) sob uma velocidade definida em 500 mm/min. Dez medições foram coletadas para cada amostra (De Takahashi et al., 2017).

2.4.4. Espessura

A determinação da espessura seguiu o método citado por Sarantópoulos et al. (2002) para filmes flexíveis. As amostras foram cortadas com dimensões de 100 × 100 mm, mantendo uma distância de 25 mm da borda. A espessura dos filmes foi medida manualmente com um micrômetro digital (Mitutoyo, 293-349-30, Japão). Foram avaliados dez pontos aleatórios da área de cada amostra, e o resultado correspondeu à média aritmética destas dez medições (De Takahashi et al., 2017).

2.4.5. Opacidade e barreira UV

A opacidade aparente dos filmes foi obtida de acordo com Shojae-Aliabadi et al. (2014) e Shankar et al. (2015), respectivamente. Os filmes foram cortados (12,5 × 12,5 × 45,0 mm), colocados em uma cubeta de quartzo e analisados em um espectrofotômetro a 550 nm (opacidade). Uma cubeta de quartzo sem amostra foi usada como referência. A opacidade foi determinada por Eq (4).

$$\text{Opacidade} = \text{Abs550}/X \quad (\text{Eq. 4})$$

onde Abs550 se refere à absorvência a 550 nm e X é a espessura do filme em µm.

As propriedades de barreira UV do filme foram avaliadas conforme descrito por do Nascimento et al. (2024). Os filmes foram inseridos em uma cubeta de quartzo e analisados em triplicata entre 200 nm e 800 nm usando um espectrofotômetro (Thermo Fisher Scientific, Genesys 10-S, Vantaa, Finlândia).

2.4.6. Espectroscopia infravermelha de transformação de Fourier (FTIR)

Os espectros FTIR dos filmes e microcápsulas obtidos por secagem por spray drying (MSD) e liofilização (ML) foram registrados em um espectrômetro infravermelho Fourier Transform modelo 70v (Bruker Optik GmbH, Ettlinger, DEU) no modo de reflexão total atenuada. Os espectros registrados são o resultado de uma média de 128 varreduras, com resolução espectral de 4 cm⁻¹, na faixa espectral de 4000 a 400 cm⁻¹.

2.4.7. Compostos bioativos

A análise dos compostos fenólicos foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Singleton e Rossi (1965) mg EAG/g amostra. Para a análise d ABTS (2,2'-azinobis

(ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico) foi utilizada a metodologia de Rufino et al. (2009). O ensaio de Poder Antioxidante de Redução do Ferro (FRAP) seguiu um teste de Benzie e Strain (1996). Os resultados dos antioxidantes foram expressos em mg de Trolox/ g amostra seca.

Para a quantificação dos carotenoides totais, foi utilizada a metodologia descrita por Rodriguez-Amaya e Kimura (2004), Eq. 5.

$$\text{Carotenoides totais (mg } \beta \text{ - caroteno/g)} = \left(\frac{A \times V \times 10^4}{A_{1\text{cm}}^{1\%} \times M} \right) \quad (\text{Eq. 5})$$

Onde, A = absorvância na qual a solução de extração foi lida, que para este trabalho foi o comprimento de onda de 450 nm para β -caroteno; V = volume final do extrato (mL); $A_{1\text{cm}}^{1\%}$ = coeficiente de absorvância molar de um pigmento em um determinado solvente específico (2620 para β -caroteno); M = massa da amostra para análise.

2.5. Análise estatística

Os resultados foram obtidos em triplicata e submetidos à análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey para comparação de médias ($p < 0,05$), utilizando o software Sisvar (Versão: 5.6, Brasil) (Ferreira, 2019).

3. Resultados e discussões

3.1. Caracterização das microcápsulas

Os resultados obtidos para o teor de β -caroteno foram $1010,00 \pm 10,00$ mg/ g para extrato, $3070,00 \pm 20,00$ mg/ g microcápsula obtida por secagem por spray drying (MSD), e $5300,00 \pm 10,00$ mg/ g, microcápsula obtida por liofilização (ML), respectivamente. A eficiência de encapsulação (EE) foi calculada considerando o teor de β -caroteno nas microcápsulas, demonstrando um EE de 67,10% para MSD e 80,94% para ML, ou seja, a liofilização foi 13,84% mais eficiente para o encapsulamento de carotenoides no extrato de mamacadela. Geralmente, a encapsulação é utilizada para aumentar a estabilidade, biodisponibilidade e potencial de um extrato (Rezagholizade-shirvan et al., 2024), portanto, ambos os processos mantêm uma concentração do composto bioativo.

Os resultados antimicrobianos foram avaliados e podem ser observados na Tabela 2. As amostras foram eficientes em inibir o crescimento de *E. coli* na concentração de 1000 $\mu\text{g/mL}$ e 500 $\mu\text{g/mL}$ para spray de frutas e microcápsulas para *E. coli* (DMSO 1 %). No entanto, não apresentaram concentração bactericida mínima (CBM) contra as cepas dos

microrganismos testados.

A concentração inibitória mínima é definida como a menor concentração de uma formulação que inibe visivelmente o crescimento de microrganismos *in vitro*. Os valores resumidos indicam a concentração de amostra que inibiu o crescimento dos microrganismos nos testes de diluição (Amaral et al., 2014).

Os valores obtidos neste trabalho foram significativamente superiores ao encontrados por Amaral et al. (2014) para o micro-organismo *E. Coli* para extratos supercrítico de CO₂ de para 11250 µg/ml e 25000 µg/ml para extratos de etanol (20 %) e *Staphylococcus aureus* 11250 µg/ml para extratos supercrítico de CO₂ de *C. brasiliense* e 100000 µg/ml extratos de etanol (20%), para frutos do pequi (*C. brasiliense*).

Óleo essencial de *E. dysenterica* é descrito na literatura com concentração inibitória mínima *S. aureus* 42.1±1.92 µg/mL e *E. coli* > 10.000 µg/mL, onde o óleo essencial não foi capaz de inibir totalmente o crescimento de *E. coli*, diferente do observado neste trabalho onde ambas as amostras se mostraram eficiente para este micro-organismo (D. C. S. de Oliveira et al., 2018). Galheigo et al. (2016) descreve que as bactérias gram-negativas têm uma parede celular composta de mucopolissacarídeos que impede o contato dos constituintes do óleo essencial hidrofóbico com a membrana celular bacteriana, o que resulta em uma menor atividade dos óleos essenciais contra esse tipo de microrganismos, apresentando maior atividade contra bactérias gram-positivas, fato este não observado pelas amostras deste trabalho.

Nonato et al. (2018) obteve em seu estudo para polpa do fruto de *M. flexuosa* menor atividade para *E. Coli* ≥1.024 µg/mL e *S. aureus* ≥1.024 µg/mL. Hemeg et al. (2020) encontraram resultados inferiores de concentração inibitória mínima para extratos etanólicos para amostras descritas com propriedades antioxidantes, antibacterianas, antivirais e anti-inflamatórias para Goiaba (*Pisidium guajava* L.) 1250 e 625 µg/mL, sálvia (*Salvia officinalis* L.) 5000,00 e 2500 µg/mL, *Rhamnus* (*Ziziphusspina Christi*) 625 µg/mL e sem atividade, amoreira (*Moursalba* L) não apresentou atividade para ambos os micro-organismos e as folhas da oliveira (*Olea europaea* L.) 625,00 µg/mL, e sem atividade, *S. aureus* e *E. coli*, respectivamente.

Tabela 2. Concentração inibitória mínima (CIM).

Espécies	MIC (µg/mL)			
	Mamacadela Fruta	Extrato de Mamacadela	Microcápsula por spray	Microcápsula por liofilização
<i>E. coli</i> (DMSO 1%)	500 ± 0,00	1000 ± 0,00	500 ± 0,00	1000 ± 0,00
<i>E. coli</i> (Tween 1%)	1000 ± 0,00	1000 ± 0,00	1000 ± 0,00	1000 ± 0,00
<i>S. aureus</i> (DMSO 1%)	>1000	>1000	>1000	>1000
<i>S. aureus</i> (Tween 5%)	>1000	>1000	>1000	>1000

As propriedades antimicrobianas das plantas estão relacionadas à sua capacidade de fornecer vários metabólitos secundários de estruturas relativamente complexas que possuem atividades antimicrobianas, como os compostos bioativos presentes no fruto da mamacadela (J. F. Silva, Guedes, da Silva Alves, et al., 2025). Este estudo mostra que os as amostras foram mais eficazes contra bactérias Gram-negativas.

3.2. Caracterização de embalagens biodegradáveis ativas

A Tabela 3 apresenta os resultados da caracterização do filme em relação às propriedades mecânicas, permeabilidade ao vapor de água, opacidade e barreira UV. A espessura e o alongamento na ruptura não apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) entre as amostras, indicando que a adição de microcápsulas (liofilizadas e spray drying) não afetou essas características. O aumento da concentração de microcápsulas não tornou os filmes mais rígidos, como observado pelo módulo Young. A resistência à tração na ruptura (RT), que indica a resistência do filme, apresentou aumento significativo com a adição de microcápsulas em spray. No entanto, os filmes com microcápsulas liofilizadas não diferiram quando comparados ao controle ($p < 0,05$).

A adição de microcápsulas liofilizadas diminuiu significativamente o PVA dos filmes, quando comparados ao filme controle e ao filme com a adição de microcápsulas em spray. PVA é uma propriedade muito importante para filmes biodegradáveis, pois influencia diretamente sua capacidade de proteger e preservar alimentos. O filme contendo microcápsulas liofilizadas obteve valores baixos de PVA o que contribui para reduzir ou mesmo evitar a troca de umidade entre os alimentos e o ambiente (Li et al., 2014). Os filmes com microcápsulas por spray e controle apresentaram resultados interessantes e de acordo com a literatura, por exemplo os valores encontrados por de Farias et al. (2020) de PVA que

variaram de 0,51 a $0,27 \pm 0,04$ mm/m² h kPa para filmes à base de alginato e norbixina como antioxidantes.

A opacidade está associada à baixa transparência dos filmes (do Nascimento et al., 2024). Os filmes não apresentaram diferenças significativas entre eles. Os baixos valores encontrados para ambas as amostras enfatizam a transparência, que pode estar relacionada à fase amorfa dos polissacarídeos envolvidos na mistura, uma característica positiva para embalagens de alimentos (da Silva Bruni et al., 2023; Zavareze et al., 2014; Zhang et al., 2017).

Tabela 3. Caracterização do controle (C) e embalagem de microcápsulas liofilizadas (ML) e spray drying (MSD) em diferentes concentrações (2,5; 5,0 e 10,0%).

Formulação	Espessura	TS	AR	ME	PVA	Opacidade
C	0,17 ^a ±0,06	2,48 ^{cd} ±0,73	2,48 ^a ±0,73	0,013 ^{ab} ±0,005	5,54 ^a ±0,63	1,14x10 ⁻³ ^{ab} ±2,29x10 ⁻⁴
ML 2,5 %	0,16 ^a ±0,07	2,31 ^d ±0,32	2,31 ^a ±0,32	0,010 ^b ±0,002	2,55 ^{bc} ±0,15	9,73x10 ⁻⁴ ^b ±2,61x10 ⁻⁴
ML 5,0 %	0,16 ^a ±0,05	2,27 ^d ±0,74	2,27 ^a ±0,74	0,011 ^b ±0,004	2,25 ^c ±0,15	9,45x10 ⁻⁴ ^b ±4,31x10 ⁻⁵
ML 10,0 %	0,20 ^a ±0,07	2,74 ^{bcd} ±0,39	2,74 ^a ±0,39	0,016 ^a ±0,005	2,24 ^c ±0,18	1,48x10 ⁻³ ^a ±8,97x10 ⁻⁵
MSD 2,5 %	0,17 ^a ±0,05	3,57 ^a ±0,73	3,57 ^a ±0,73	0,015 ^{ab} ±0,003	4,74 ^a ±0,88	1,20x10 ⁻³ ^{ab} ±3,42x10 ⁻⁵
MSD 5,0 %	0,20 ^a ±0,07	3,10 ^{ab} ±0,57	3,10 ^a ±0,57	0,015 ^{ab} ±0,002	4,17 ^{ab} ±0,12	1,36x10 ⁻³ ^{ab} ±1,14x10 ⁻⁴
MSD 10,0 %	0,16 ^a ±0,08	2,94 ^{abc} ±0,60	2,94 ^a ±0,60	0,014 ^{ab} ±0,003	5,69 ^a ±0,12	1,24x10 ⁻³ ^{ab} ±1,03x10 ⁻⁴

Valores médios ± desvio padrão; n=3 (triplicata); diferentes letras minúsculas sobrescritas, na mesma coluna são significativamente diferentes (p < 0,05).

Permeabilidade ao vapor de água (PVA - x10⁻⁴ gmm/m² h kPa); Espessura (mm); Resistência à tração máxima (TS - Mpa); Alongamento na ruptura (AR - %), e módulo elástico (ME - Mpa).

Os espectros de transmissão da luz UV do filme contendo microcápsulas liofilizadas e por spray drying são mostrados na Figura 1. A exposição à luz UV acelera a degradação e reduz o prazo de validade dos produtos embalados (do Nascimento et al., 2024). Assim, os menores valores de transmissão da luz UV refletem uma barreira contra a radiação UV-C (100-280 nm), UV-B (280-315 nm) e UV-A (315-400 nm) (Quilez-Molina et al., 2020).

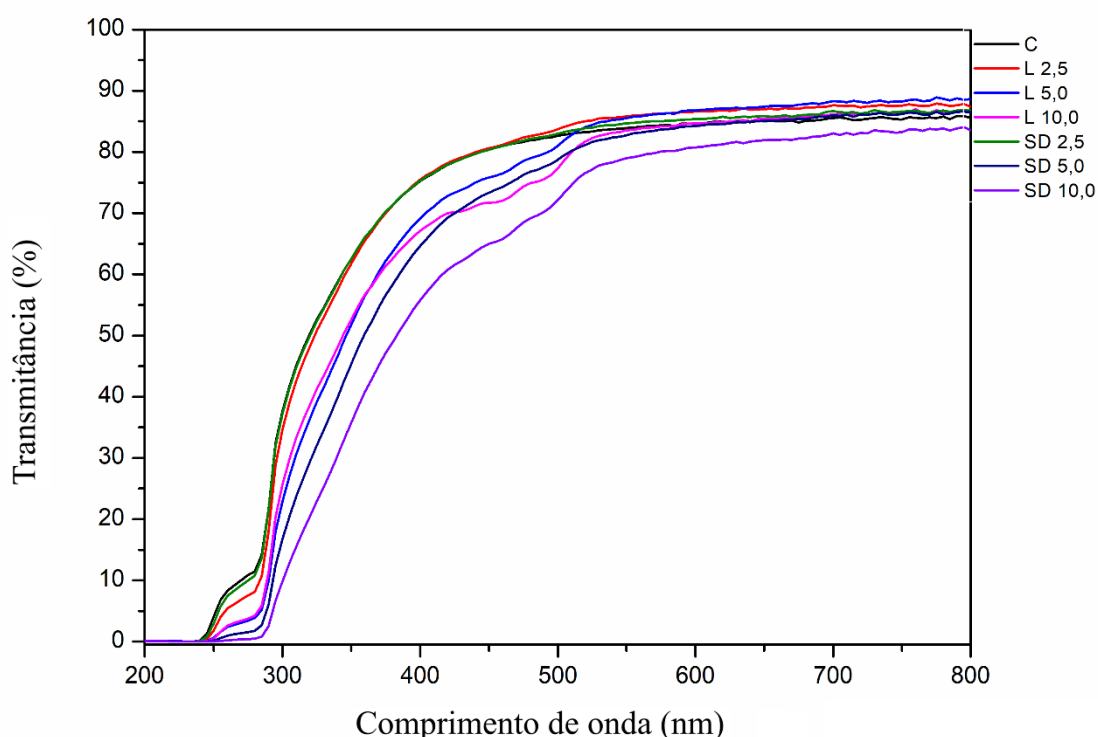


Figura 1. Barreira UV para embalagem com adição de microcápsulas de extrato de mamacadeira por diferentes tipos de secagem (liofilização e spray drying).

A adição de 5,0 e 10,0% microcápsulas (liofilizadas ou obtidas por secagem por spray drying) reduziu a transmissão de luz (T280) de 12% (C) para aproximadamente 4,60% (ML 5,0 e ML 10,0), 2,57% (MSD 5,0) e 0,74% (MSD 10,0), respectivamente. O efeito foi mais evidente com as microcápsulas obtidas por secagem por spray drying. Portanto, os filmes atuaram como uma barreira protetora, reduzindo a transmissão de luz devido à presença de compostos fenólicos e carotenoides, que podem retardar a oxidação causada pela exposição à luz UV (de Moraes Crizel et al., 2018). Deve-se notar que os compostos fenólicos aromáticos atuam como barreiras eficientes contra UV e luz visível, com maior proteção em altas concentrações (Yang et al., 2023). O aumento da concentração das microcápsulas

intensificou a absorção de UV devido à maior dispersão e reflexão da luz pelas micropartículas. Estudos indicam que a adição de carotenoides em filmes de poli (ácido láctico) foi capaz de conferir cor, barreira à luz e aumentar a estabilidade de alimentos perecíveis (Stoll et al., 2018).

3.3. Interações estruturais de filmes ativos

A morfologia dos produtos encapsulados é importante porque está relacionada à capacidade de proteção e estrutura oferecida pelos diferentes métodos de secagem. Observa-se que a DME apresentou forma esférica, com aglomeração, formas irregulares e sem fissuras, característica deste processo típico de secagem utilizando esse tipo de equipamento (Figura 2). Algumas microcápsulas apresentaram rugosidade, provavelmente devido ao encolhimento das partículas causado pela rápida perda de umidade seguida de resfriamento. A forma esférica está relacionada à formação de gotas por spray drying e evaporação do solvente. Além disso, a superfície contínua sem interrupções ou rachaduras indica baixa permeabilidade e boa proteção do material de núcleo (Hay et al., 2025; Pathan et al., 2010; Stunda-Zujeva et al., 2017; Tonon et al., 2009).

Em contraste, o ML apresentou estruturas irregulares, alta porosidade e fragilidade, semelhantes a vidro quebrado de tamanhos diversificados, característica da liofilização. Devido à formação de espuma no processo de liofilização e agitação do material antes deste processo, foi criado microporos, este fenômeno melhora as propriedades de formação de filme em torno dos compostos ativos presentes na solução (Bleiel et al., 2017; Hay et al., 2025; Kuck & Noreña, 2016; Rezvankhah et al., 2020).

A microestrutura dos filmes analisados pelo SEM (Figura 2) mostrou que, com exceção do MSD 2,5% e MSD 5,0%, todas as formulações apresentaram superfície lisa, densa e contínua, indicando boa dispersão de alginato e gelatina no plastificante glicerol. As microcápsulas liofilizadas apresentaram homogeneidade uniforme nas duas concentrações testadas, enquanto as microcápsulas por spray drying apresentaram solubilidade proporcional ao aumento da concentração. Esse comportamento pode estar relacionado às diferentes estruturas geradas pelo método de secagem (Figura 2 a e b). A maltodextrina proporciona uma maior solubilidade da solução filmogênica (Mehrali et al., 2025), o que pode explicar a melhor aparência do filme MSD 10,0 % em comparação com formulações com menores concentrações de microcápsulas.

A incorporação de compostos bioativos pode intensificar a formação de rugas na

superfície dos filmes, possivelmente devido à interação de grupos hidroxilo (-OH) desses compostos com os polímeros da matriz, como o alginato. Este efeito interfere com o arranjo ordenado das cadeias de polímero, influenciando o processo de reticulação dos filmes (Boonsiriwit et al., 2021; da Silva Filipini et al., 2020; Koshy et al., 2022; Santos et al., 2022).

Além disso, o aumento da concentração do extrato rico em compostos bioativos reduziu as fissuras, confirmando que as cadeias laterais do biopolímero se aproximaram do processo de reticulação. A interação intermolecular entre polissacarídeos e polifenóis modifica a rede polimérica, aumentando a adesão interfacial e reduzindo a elasticidade do filme (Boonsiriwit et al., 2021; Cheng et al., 2022; Chi et al., 2020; Koshy et al., 2022).

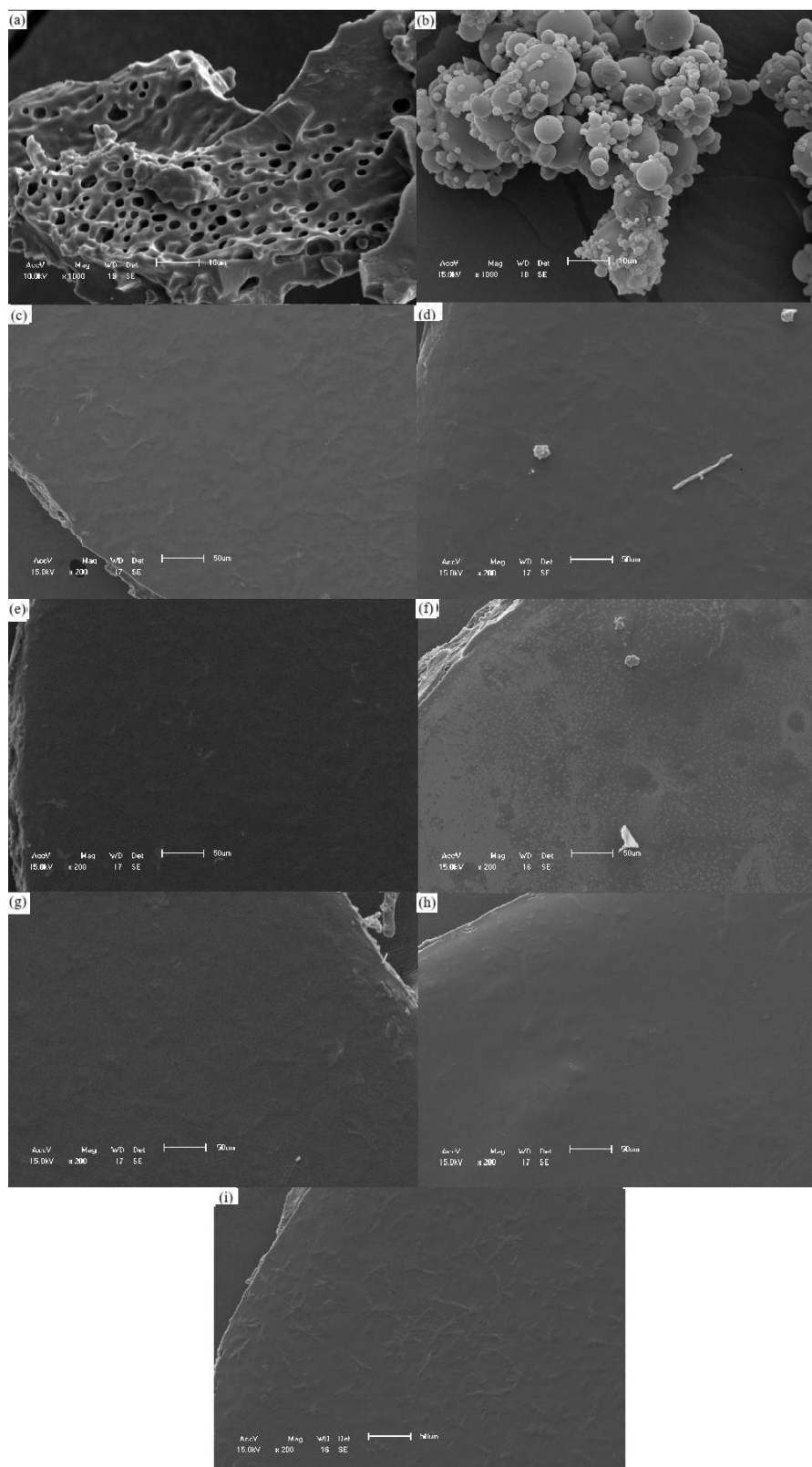


Figura 2. Microscopia eletrônica de varredura (1000 ×) microcápsulas por liofilização (a) e secagem por spray drying (b). Microscopia eletrônica de varredura (200 ×) de filmes com adição de microcápsulas mamacadela por liofilização (c-2,5%; e-5,0%; g-10,0%), spray drying (d-2,5%; f-5,0%; h-10,0%) e controle (i).

Quando a separação de fase ocorreu antes da gelificação da gelatina, a emulsão era móvel e as gotas de maltodextrina agregadas. Como resultado, as gotículas de maltodextrina foram maiores do que aquelas obtidas quando a gelificação da gelatina ocorreu mais rapidamente do que a separação de fases. Em teoria, a taxa de separação de fase do gel da emulsão foi positivamente correlacionada com a concentração de maltodextrina, uma vez que a maior concentração de maltodextrina levou a uma maior incompatibilidade entre gelatina e maltodextrina. Assim, foi sugerido que a concentração aumentada de maltodextrina teve um impacto mais profundo na separação de fases do que na gelificação (Bian et al., 2023).

Figura 3 apresenta os espectros FTIR-ATR de filme controle e filmes contendo diferentes concentrações de microcápsulas ML (Figura 3a) e MSD (Figura 3b). As características dos grupos funcionais atribuídos foram discutidas com base em dados publicados sobre precursores como gelatina, alginato de sódio, glicerol e maltodextrina (Azucena Castro-Yobal et al., 2021; Derkach et al., 2020; Gharehbeglou et al., 2024).

Todos os espectros mostraram uma banda larga na faixa de $3600\text{--}3100\text{ cm}^{-1}$. Esta banda larga pode ser atribuída às vibrações de alongamento -NH e -OH. Além disso, bandas características destacadas nos filmes em 1640 cm^{-1} , 1545 cm^{-1} e 1240 cm^{-1} são atribuídas às amidas I, II e III da gelatina, respectivamente (Derkach et al., 2020). A banda a 1407 cm^{-1} é devido às vibrações de alongamento simétrico dos grupos carbonilo COO- em anéis piranósidos na matriz de alginato de sódio e a banda a 1030 cm^{-1} está associada às vibrações de alongamento do CO-C em unidades gulurônicas do alginato de sódio (Azucena Castro-Yobal et al., 2021).

As microcápsulas MSD e ML apresentaram espectros semelhantes, com bandas a 1150 cm^{-1} e 1079 cm^{-1} atribuídas às vibrações de alongamento dos grupos -CO, enquanto a banda a 1020 cm^{-1} está relacionada à deformação angular das ligações C-H e -CH² da maltodextrina (Gharehbeglou et al., 2024).

Não foram observadas alterações significativas em toda a totalidade da Figura 3a. Não houve alterações no número de ondas e na intensidade, implicando que não houve ligação química ou interação do ML com os filmes, e os espectros obtidos são apenas uma soma dos espectros. No entanto, na Figura 3b, as microcápsulas MSD realizaram um comportamento peculiar especificamente para a amostra de 2,5%, o que possibilitou observar diferenças espectrais. Foi observada uma diminuição na intensidade da banda larga da amida A na região de 3300 cm^{-1} , e a banda carbonil em 1407 cm^{-1} mudou para 1415 cm^{-1} . Para o MSD

5,0 % e MSD 10,0 %, não foram observadas mudanças significativas na faixa mencionada.

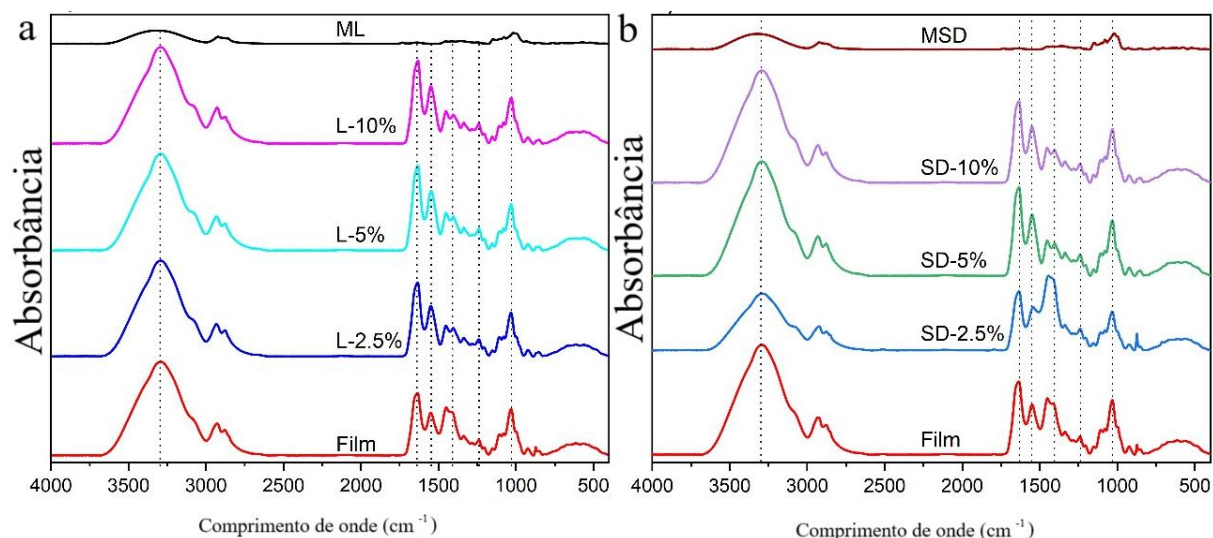


Figura 3. Espectros FTIR. a) Filme controle, microcápsula liofilizada (ML), e filmes contendo ML a 2,5%, 5,0% e 10%. b) Filme de controle, microcápsulas secas por spray drying (MSD), e filmes contendo MSD em 2,5%, 5,0% e 10%.

3.4. Quantificação de compostos bioativos presentes nos filmes

A Tabela 4 mostra a quantificação de compostos bioativos nas diferentes formulações de filmes desenvolvidas neste estudo. A formulação MSD 10,0% se destacou por apresentar os maiores teores de carotenoides totais e compostos fenólicos totais (TPC), permanecendo comparável à formulação ML 10,0% nos testes de capacidade antioxidante (FRAP e ABTS). O alto teor de carotenoides observado nos filmes está em concordância com os resultados obtidos para as microcápsulas discutidas na Seção 3.1. A maior concentração de extrato bioativo incorporado nos filmes está diretamente relacionada ao aumento dos compostos bioativos disponíveis, sendo essa liberação favorecida pelo uso de polímeros como maltodextrina no processo de encapsulamento. A maltodextrina é amplamente utilizada na proteção e liberação controlada de compostos como ácidos fenólicos (Abdin et al., 2021), além de contribuir para a maior solubilidade dos filmes, especialmente em matrizes poliméricas mistas (Ma et al., 2021). Esse comportamento sugere que formulações com maior conteúdo de microcápsulas, esse resultado pode estar relacionado a uma maior concentração de cápsulas utilizadas.

Tabela 4. Quantificação de compostos bioativos em filmes adicionados a microcápsulas liofilizadas (ML) e microcápsulas secas por spray drying (MSD) em diferentes concentrações (2,5; 5,0 e 10,0%).

Formulação	Carotenoides totais	TPC	FRAP	ABTS
ML2,5 %	0,20 ^e ± 0,01	ND	118,25 ^{cd} ± 24,23	992,53 ^{cd} ± 11,21
ML5,0 %	0,30 ^d ± 0,00	ND	149,67 ^{bc} ± 3,99	1168,52 ^c ± 64,64
ML10,0 %	0,39 ^b ± 0,00	18,33 ^b ± 6,53	166,00 ^{ab} ± 14,42	1971,25 ^a ± 135,97
MSD2,5 %	0,21 ^e ± 0,01	ND	91,86 ^d ± 5,44	843,48 ^d ± 36,67
MSD5,0 %	0,36 ^c ± 0,01	9,75 ^b ± 4,40	171,97 ^{ab} ± 21,01	1416,34 ^b ± 105,15
MSD10,0 %	0,53 ^a ± 0,01	30,30 ^a ± 1,09	196,16 ^a ± 16,03	1836,56 ^a ± 46,03

Carotenoides totais (mg β-caroteno/g), TPC - compostos fenólicos totais (mg EAG/g), FRAP e ABTS (mg Trolox/g). valores médios ± desvio padrão; n=3 (triplicata); diferentes letras minúsculas sobrescritas na mesma coluna são significativamente diferentes (p < 0,05). O filme controle não apresentou detecção de compostos bioativos pelas metodologias utilizadas. ND - Não detectável.

Embora o fruto da mamacadeira tenha apresentado alta capacidade antioxidante, conforme indicado pelos valores de ABTS (349,74 ± 31,35 mg Trolox/g) e FRAP (235,14 ± 14,40 mg Trolox/g), seu teor total de fenólicos (TPC) foi relativamente baixo (51,07 ± 1,21 mg GAE/g). Isto pode ter contribuído para a ausência de TPC detectável nos filmes ML2,5 %, ML5,0 % e MSD2,5 %. No entanto, o aumento da concentração de microcápsulas levou a uma maior capacidade antioxidante nos filmes ML 10,0 %, MSD 5,0 % e MSD 10,0 %, como demonstrado pelos resultados do TPC, ABTS e FRAP.

4. Conclusão

Diferentes secagens resultaram em microcápsulas de aspectos distintos, sendo que a secagem por spray formou microcápsulas uniformes enquanto a liofilização formou microcápsulas irregulares e porosas. Maior concentração de carotenoides (5300,00 ± 10,00 µg β-caroteno/100 g) e eficiência de encapsulação (80,94%) foram observadas, associadas à eficiente encapsulação e quantificação dos compostos em ML. Foram observadas interações físicas com a maltodextrina na formação de microcápsulas, realizando assim manutenção dos compostos bioativos. Consequentemente, a maior inibição de *E. coli* foi associada com ML, devido à atividade antioxidante contra bactérias.

Assim, filmes à base de gelatina e alginato apresentaram potencial para propriedades antimicrobianas, antioxidantes e barreira (PVA e UV), realizadas pela incorporação de

microcápsulas de mamacadela. Interações entre materiais foram contínuas pela adição de microcápsulas em filmes, unificando a estrutura do filme como maior concentração de microcápsulas observadas no MEV, aumentando características importantes para um filme uniforme. Além disso, altas concentrações de microcápsulas (ML 10,0 % e MSD 10,0 %) favoreceram filmes mais rígidos, com maior resistência e capacidade antioxidante, destacando o filme MSD 10,0% com maior conteúdo de carotenoides corroborado devido à exposição de compostos a serem mais facilmente solubilizados na solução filmogênica, favorecido pela parede formada por maltodextrina.

Declaração de contribuição por CrediT

Jaqueline Ferreira Silva: Conceituação. Investigação. Visualização. Metodologia. Análise formal. Curadoria de dados. Funções/Escrita - rascunho original; Escrita - revisão e edição. **Carmen Torres Guedes:** Investigação. Visualização. **Eloize da Silva Alves:** Investigação. Visualização. Escrita - revisão e edição. **Bruno Henrique Figueiredo Saqueti:** Investigação. Visualização. **Cintia Stefhany Ripke Ferreira:** Investigação. Visualização. **Ana Paula Monteiro de Mendonça:** Investigação. Visualização. **Marcos William Crisóstomo Silva:** Investigação. Visualização. **Francielle Sato:** Recursos. **Benicio Alves de Abreu Filho:** Recursos. **Oscar de Oliveira Santos Júnior:** Recursos. **Silvio Claudio da Costa:** Recursos. **Suelen Siqueira dos Santos:** Escrita - revisão e edição. **Mônica Regina da Silva Scapim:** Supervisão. Recursos. **Grasiele Scaramal Madrona:** Conceituação. Supervisão. Redação - revisão, aquisição de financiamento. Recursos.

Declaração de interesse concorrente

Os autores declaram que não há conflito de interesses.

Agradecimentos

Os autores desejam agradecer à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) ##88887.822179/2023-00. Também desejam expressar sua gratidão à Universidade Estadual de Maringá (Complexo de Centrais de Apoio à Pesquisa, ou COMCAP) pela disponibilidade de equipamentos e parceria na pesquisa.

Referências

- Abdin, M., Salama, M. A., Gawad, R. M. A., Fathi, M. A., & Alnadari, F. (2021). Two-Steps of Gelation System Enhanced the Stability of *Syzygium cumini* Anthocyanins by Encapsulation with Sodium Alginate, Maltodextrin, Chitosan and Gum Arabic. *Journal of Polymers and the Environment*, 29(11), 3679–3692. <https://doi.org/10.1007/S10924-021-02140-3>/METRICS
- Acquavia, M. A., Benítez, J. J., Bianco, G., Crescenzi, M. A., Hierrezuelo, J., Grifé-Ruiz, M., Romero, D., Guzmán-Puyol, S., & Heredia-Guerrero, J. A. (2023). Incorporation of bioactive compounds from avocado by-products to ethyl cellulose-reinforced paper for food packaging applications. *Food Chemistry*, 429, 136906. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2023.136906>
- Alecrim, M. F., Lobón, G. S., Machado, R. D. A., de Oliveira, E. R., Morais, R. L., Rezende, K. R., Gontijo, B. V., dos Santos, W. T. P., & Gil, E. de S. (2016). Electrochemical Behavior of Crude Extract of *Brosimum gaudichaudii* and Its Major Bioactives, Psoralen and Bergapten. *International Journal of Electrochemical Science*, 11(11), 9519–9528. <https://doi.org/10.20964/2016.11.31>
- Alves Morais, R., Lopes Teixeira, G., Aparecida de Souza Martins, G., Regina Salvador Ferreira, S., & Mara Block, J. (2024). Comprehensive evaluation of the chemical profile and antioxidant potential of buritirana (*Mauritiella armata*) an underexplored fruit from Brazilian Cerrado. *Food Research International*, 179, 113945. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2024.113945>
- Alves, S. F., Borges, L. L., de Paula, J. A. M., Vieira, R. F., Ferri, P. H., do Couto, R. O., de Paula, J. R., & Bara, M. T. F. (2013). Chemical variability of the essential oils from fruits of *Pterodon emarginatus* in the Brazilian Cerrado. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 23(2), 224–229. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2013005000016>
- Amaral, L. F. B., Moriel, P., Foglio, M. A., & Mazzola, P. G. (2014). Caryocar brasiliense supercritical CO₂ extract possesses antimicrobial and antioxidant properties useful for personal care products. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 14, 73. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-14-73>
- Arruda, H. S., Araújo, M. V. L., & Marostica Junior, M. R. (2022). Underexploited Brazilian Cerrado fruits as sources of phenolic compounds for diseases management: A review. *Food Chemistry: Molecular Sciences*, 5. <https://doi.org/10.1016/j.fochms.2022.100148>
- ASTM - AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. (1995). *E96 Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Materials*. Philadelphia: ASTM. <https://www.astm.org/standards/e96>
- ASTM - AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. (1996). *D882 Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting*. Philadelphia: ASTM. <https://www.astm.org/d0882-18.html>
- Azucena Castro-Yobal, M., Contreras-Oliva, A., Saucedo-Rivalcoba, V., Rivera-Armenta, J. L., Hernández-Ramírez, G., Salinas-Ruiz, J., & Herrera-Corredor, A. (2021). Evaluation of physicochemical properties of film-based alginate for food packing applications. *E-Polymers*, 21(1), 82–95. <https://doi.org/10.1515/EPOLY-2021-0011/MACHINEREADABLECITATION/RIS>
- Benzie, I. F. F., & Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70–76. <https://doi.org/10.1006/ABIO.1996.0292>
- Bian, X., Luo, S., Liu, C., & Hu, X. (2023). Effect of formation of the maltodextrin/gelatin emulsion on gel properties of gelatin. *Food Bioscience*, 56, 103254. <https://doi.org/10.1016/J.FBIO.2023.103254>
- Bleiel, S. B., Kent, R. M., & Brodkorb, A. (2017). Encapsulation Efficiency and Capacity of Bioactive Delivery Systems. *Food Engineering Series*, 171–197. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6595-3_6
- Boonsiriwit, A., Lee, M., Kim, M., Inthamat, P., Siripatrawan, U., & Lee, Y. S. (2021). Hydroxypropyl methylcellulose/microcrystalline cellulose biocomposite film incorporated with butterfly pea anthocyanin as a sustainable pH-responsive indicator for intelligent food-packaging applications. *Food Bioscience*, 44, 101392. <https://doi.org/10.1016/J.FBIO.2021.101392>
- Borges, P. R. S., Edelenbos, M., Larsen, E., Hernandez, T., Nunes, E. E., de Barros Vilas Boas, E. V.,

- & Pires, C. R. F. (2022). The bioactive constituents and antioxidant activities of ten selected Brazilian Cerrado fruits. *Food Chemistry: X*, 14, 100268. <https://doi.org/10.1016/J.FOCHX.2022.100268>
- Cabral, B. R. P., de Oliveira, P. M., Gelfuso, G. M., Quintão, T. de S. C., Chaker, J. A., Karnikowski, M. G. de O., & Gris, E. F. (2018). Improving stability of antioxidant compounds from *Plinia cauliflora* (jabuticaba) fruit peel extract by encapsulation in chitosan microparticles. *Journal of Food Engineering*, 238, 195–201. <https://doi.org/10.1016/J.JFOODENG.2018.06.004>
- Cheng, M., Yan, X., Cui, Y., Han, M., Wang, X., Wang, J., & Zhang, R. (2022). An eco-friendly film of pH-responsive indicators for smart packaging. *Journal of Food Engineering*, 321, 110943. <https://doi.org/10.1016/J.JFOODENG.2022.110943>
- Chi, W., Cao, L., Sun, G., Meng, F., Zhang, C., Li, J., & Wang, L. (2020). Developing a highly pH-sensitive κ -carrageenan-based intelligent film incorporating grape skin powder via a cleaner process. *Journal of Cleaner Production*, 244, 118862. <https://doi.org/10.1016/J.JCLEPRO.2019.118862>
- da Silva Bruni, A. R., de Souza Alves Friedrichsen, J., de Jesus, G. A. M., da Silva Alves, E., da Costa, J. C. M., Souza, P. R., de Oliveira Santos Junior, O., & Bonafe, E. G. (2023). Characterization and application of active films based on commercial polysaccharides incorporating ZnONPs. *International Journal of Biological Macromolecules*, 224, 1322–1336. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2022.10.219>
- da Silva, E. K. A., & Rial, R. C. (2025). Fatty acid profile, nutritional and therapeutic properties of vegetable oils from the Brazilian Cerrado. *Journal of Food Composition and Analysis*, 137, 106819. <https://doi.org/10.1016/J.JFCA.2024.106819>
- da Silva Filipini, G., Romani, V. P., & Guimarães Martins, V. (2020). Biodegradable and active-intelligent films based on methylcellulose and jambolão (*Syzygium cumini*) skins extract for food packaging. *Food Hydrocolloids*, 109, 106139. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2020.106139>
- Dantas, M. B. V. C., Júnior, O. R. P., Campos, L. T. de P., & Campos, É. G. (2023). Compounds of tucum-do-cerrado (*Bactris setosa*) fruit with antioxidant activity. *Natural Product Research*, 37(5), 793–797. <https://doi.org/10.1080/14786419.2022.2085698>
- de Farias, Y. B., Coutinho, A. K., Assis, R. Q., & Rios, A. de O. (2020). Biodegradable sodium alginate films incorporated with norbixin salts. *Journal of Food Process Engineering*, 43(2), e13345. <https://doi.org/10.1111/JFPE.13345>
- de Moraes Crizel, T., de Oliveira Rios, A., Alves, V. D., Bandarra, N., Moldão-Martins, M., & Hickmann Flôres, S. (2018). Biodegradable Films Based on Gelatin and Papaya Peel Microparticles with Antioxidant Properties. *Food and Bioprocess Technology*, 11(3), 536–550. <https://doi.org/10.1007/S11947-017-2030-0/METRICS>
- De Moraes, M. C., De Almeida, P. H. G., Ferreira, N. L. O., Arruda, R. L., Borges, L. L., De Freitas, O., & Da Conceição, E. C. (2018). Validation of a photostability indicating method for quantification of furanocoumarins from *Brosimum gaudichaudii* soft extract. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 28(1), 118–123. <https://doi.org/10.1016/J.BJP.2017.12.002>
- de Oliveira, D. C. S., Kaneko, T. M., Young, M. C. M., Murakami, C., Cordeiro, I., & Moreno, P. R. H. (2018). Chemical Composition, Antimicrobial and Antioxidant Activities of *Eugenia Dysenterica* DC Essential Oil. *Emerging Science Journal*, 2(6), 410–416. <https://doi.org/10.28991/ESJ-2018-01160>
- de Oliveira Filho, J. G., Bertolo, M. R. V., Fernandes, S. S., Lemes, A. C., da Cruz Silva, G., Junior, S. B., de Azeredo, H. M. C., Mattoso, L. H. C., & Egea, M. B. (2024). Intelligent and active biodegradable biopolymeric films containing carotenoids. *Food Chemistry*, 434, 137454. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2023.137454>
- de Oliveira, K. M., Abboud, K. Y., Radulski, D. R., Faria, B. C., Galindo, C. M., Pereira, G. S., Stipp, M. C., Corso, C. R., de Assis, C. B., de Lima Martins, J. N., do Amaral, L. A., Comar, J. F., Cordeiro, L. M. C., & Acco, A. (2024). Polysaccharides extracted from tucum-do-cerrado fruits (*Bactris setosa* Mart) have antineoplastic effects in mice while preserving hepatic gluconeogenesis. *International Journal of Biological Macromolecules*, 278, 134590. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2024.134590>

- De Takahashi, G. C. S., Barbosa, H. D., De Bergamasco, R. C., Madrona, G. S., Tonon, L. A. C., Yamashita, F., & Scapim, M. R. D. S. (2017). Development and active biodegradable film evaluation incorporated with oregano essential oil and nanoclay. *Chemical Engineering Transactions*, 57, 403–408. <https://doi.org/10.3303/CET1757068>
- Derkach, S. R., Voron'ko, N. G., Sokolan, N. I., Kolotova, D. S., & Kuchina, Y. A. (2020). Interactions between gelatin and sodium alginate: UV and FTIR studies. *Journal of Dispersion Science and Technology*, 41(5), 690–698. <https://doi.org/10.1080/01932691.2019.1611437>
- do Nascimento, W. J., da Costa, J. C. M., Alves, E. S., de Oliveira, M. C., Monteiro, J. P., Souza, P. R., Martins, A. F., & Bonafe, E. G. (2024). Zinc oxide nanoparticle-reinforced pectin/starch functionalized films: A sustainable solution for biodegradable packaging. *International Journal of Biological Macromolecules*, 257, 128461. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2023.128461>
- Edris, A. E., Kalemba, D., Adamiec, J., & Piątkowski, M. (2016). Microencapsulation of *Nigella sativa* oleoresin by spray drying for food and nutraceutical applications. *Food Chemistry*, 204, 326–333. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.02.143>
- Ferreira, D. F. (2019). SISVAR: A COMPUTER ANALYSIS SYSTEM TO FIXED EFFECTS SPLIT PLOT TYPE DESIGNS. *Brazilian Journal of Biometrics*, 37(4), 529–535. <https://doi.org/10.28951/RBB.V37I4.450>
- Galheigo, M. R. U., Prado, L. C. D. S., Mundin, A. M. M., Gomes, D. O., Chang, R., Lima, A. M. C., Canabrava, H. A. N., & Bispo-Da-Silva, L. B. (2016). Antidiarrhoeic effect of *Eugenia dysenterica* DC (Myrtaceae) leaf essential oil. *Natural Product Research*, 30(10), 1182–1185. <https://doi.org/10.1080/14786419.2015.1043633>;WGROU:STRING:PUBLICATION
- Geöcze, K. C., Barbosa, L. C. A., Lima, C. F., Ferruzzi, M. G., Fidêncio, P. H., Sant'ana, H. M. P., & Silvério, F. O. (2021). Caryocar brasiliense Camb. fruits from the Brazilian Cerrado as a rich source of carotenoids with pro-vitamin A activity. *Journal of Food Composition and Analysis*, 101, 103943. <https://doi.org/10.1016/J.JFCA.2021.103943>
- Gharehbeglou, P., Homayouni-Rad, A., Jafari, S. M., Sarabandi, K., & Akbarbaglu, Z. (2024). Stabilization of *Chlorella* Bioactive Hydrolysates Within Biopolymeric Carriers: Techno-functional, Structural, and Biological Properties. *Journal of Polymers and the Environment*, 32(2), 763–779. <https://doi.org/10.1007/S10924-023-02939-2>;METRICS
- Gómez-Estaca, J., Calvo, M. M., Sánchez-Faure, A., Montero, P., & Gómez-Guillén, M. C. (2015). Development, properties, and stability of antioxidant shrimp muscle protein films incorporating carotenoid-containing extracts from food by-products. *LWT - Food Science and Technology*, 64(1), 189–196. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2015.05.052>
- Hay, T. O., Nastasi, J. R., Prakash, S., & Fitzgerald, M. A. (2025). Comparison of Gidyea gum, gum Arabic, and maltodextrin in the microencapsulation and colour stabilisation of anthocyanin-rich powders using freeze-drying and spray-drying techniques. *Food Hydrocolloids*, 163, 111023. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2024.111023>
- Hemeg, H. A., Moussa, I. M., Ibrahim, S., Dawoud, T. M., Alhaji, J. H., Mubarak, A. S., Kabli, S. A., Alsubki, R. A., Tawfik, A. M., & Marouf, S. A. (2020). Antimicrobial effect of different herbal plant extracts against different microbial population. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27(12), 3221. <https://doi.org/10.1016/J.SJBS.2020.08.015>
- Higby, W. K. (1962). A Simplified Method for Determination of Some Aspects of the Carotenoid Distribution in Natural and Carotene-Fortified Orange Juice. *Journal of Food Science*, 27(1), 42–49. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2621.1962.TB00055.X>
- Khalil, R. K. S., Sharaby, M. R., & Abdelrahim, D. S. (2023). Novel active edible food packaging films based entirely on citrus peel wastes. *Food Hydrocolloids*, 134, 107961. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2022.107961>
- Khan, J., Alam, S., Nazir, A., Tian, D., Abbas, M. Q., & Du, Z. (2025). Preparation and characterization of chitosan and polyvinyl alcohol active film incorporated with *Syzygium guineense* plant extract as active packaging materials. *International Journal of Biological Macromolecules*, 299, 140155. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2025.140155>
- Koshy, R. R., Reghunadhan, A., Mary, S. K., Pillai, P. S., Joseph, S., & Pothan, L. A. (2022). pH indicator films fabricated from soy protein isolate modified with chitin nanowhisker and *Clitoria ternatea* flower extract. *Current Research in Food Science*, 5, 743–751.

- <https://doi.org/10.1016/J.CRFS.2022.03.015>
- Kuck, L. S., & Noreña, C. P. Z. (2016). Microencapsulation of grape (*Vitis labrusca* var. Bordo) skin phenolic extract using gum Arabic, polydextrose, and partially hydrolyzed guar gum as encapsulating agents. *Food Chemistry*, 194, 569–576. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2015.08.066>
- Li, J. H., Miao, J., Wu, J. L., Chen, S. F., & Zhang, Q. Q. (2014). Preparation and characterization of active gelatin-based films incorporated with natural antioxidants. *Food Hydrocolloids*, 37, 166–173. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2013.10.015>
- Ma, S., Zheng, Y., Zhou, R., & Ma, M. (2021). Characterization of Chitosan Films Incorporated with Different Substances of Konjac Glucomannan, Cassava Starch, Maltodextrin and Gelatin, and Application in Mongolian Cheese Packaging. *Coatings 2021, Vol. 11, Page 84, 11(1)*, 84. <https://doi.org/10.3390/COATINGS11010084>
- Malta, L. G., Ghiraldini, F. G., Reis, R., Oliveira, M. do V., Silva, L. B., & Pastore, G. M. (2012). In vivo analysis of antigenotoxic and antimutagenic properties of two Brazilian Cerrado fruits and the identification of phenolic phytochemicals. *Food Research International*, 49(1), 604–611. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2012.07.055>
- Mao, L., Dong, Z., Dong, F., Dai, X., & Cao, Z. (2025). Development of sustainable and active food packaging films based on alginate enriched with plant polyphenol carbon dots and layered clay. *International Journal of Biological Macromolecules*, 296, 139738. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2025.139738>
- Mehrali, P., Peighambaroust, S. H., Akbarmehr, A., & Sarabandi, K. (2025). Insights into selection and application of carbohydrate-based carriers for microencapsulation: Stability and functional properties of maltodextrin, gum Arabic, and β -cyclodextrin in encapsulating tea flower pollen peptides. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*, 9, 100700. <https://doi.org/10.1016/J.CARPTA.2025.100700>
- Moura, J. R. de F., Ítavo, L. C. V., Ítavo, C. C. B. F., Gomes, M. de N. B., Dias, A. M., Teixeira, P. D., Macedo, M. L. R., Jacobowski, A. C., Guimarães, R. de C. A., Gurgel, A. L. C., Inácio, A. G., Silva, M. G. P. da, Nonato, L. M., & Timoteo, S. I. (2025). Assessing the potential of Buriti and Bocauiuva fruit oils as nutritional additives for cattle in the feedlot. *Animal Feed Science and Technology*, 320, 116195. <https://doi.org/10.1016/J.ANIFEEDSCI.2024.116195>
- Mussagy, C. U., Oliveira, G., Ahmad, M., Mustafa, A., Herculano, R. D., & Farias, F. O. (2024). Halochromic properties of carotenoid-based films for smart food packaging. *Food Packaging and Shelf Life*, 44, 101325. <https://doi.org/10.1016/J.FPSL.2024.101325>
- N, S. K., Dar, A. H., Srivastava, S., Dash, K. K., & Pandey, V. K. (2024). Carotenoids based smart packaging: A comprehensive review. *Measurement: Food*, 15, 100190. <https://doi.org/10.1016/J.MEAFOO.2024.100190>
- Parente, L., Nogueira, S., Baumann, L., Almeida, C., Maurano, L., Affonso, A. G., & Ferreira, L. (2021). Quality assessment of the PRODES Cerrado deforestation data. *Remote Sensing Applications: Society and Environment*, 21, 100444. <https://doi.org/10.1016/J.RSASE.2020.100444>
- Pathan, A. K., Bond, J., & Gaskin, R. E. (2010). Sample preparation for SEM of plant surfaces. *Materials Today*, 12(SUPPL.), 32–43. [https://doi.org/10.1016/S1369-7021\(10\)70143-7](https://doi.org/10.1016/S1369-7021(10)70143-7)
- Pimentel, F. C., Alves, C. C. F., Forim, M. R., Matos, A. P., Cunha, G. O. S., & Cazal, C. de M. (2024). Chemical composition and antifungal activity of the essential oil from the *Hymenaea stigonocarpa* Mart. Ex Hayne (jatobá-do-cerrado) fruit peel. *Natural Product Research*, 38(11), 1945–1949. <https://doi.org/10.1080/14786419.2023.2225123>
- Quilez-Molina, A. I., Marini, L., Athanassiou, A., & Bayer, I. S. (2020). UV-Blocking, Transparent, and Antioxidant Polycyanoacrylate Films. *Polymers 2020, Vol. 12, Page 2011, 12(9)*, 2011. <https://doi.org/10.3390/POLYM12092011>
- Rezagholidade-shirvan, A., Soltani, M., Shokri, S., Radfar, R., Arab, M., & Shamloo, E. (2024). Bioactive compound encapsulation: Characteristics, applications in food systems, and implications for human health. *Food Chemistry: X*, 24, 101953. <https://doi.org/10.1016/J.FOCHX.2024.101953>
- Rezende, Y. R. R. S., Nogueira, J. P., & Narain, N. (2018). Microencapsulation of extracts of

- bioactive compounds obtained from acerola (*Malpighia emarginata* DC) pulp and residue by spray and freeze drying: Chemical, morphological and chemometric characterization. *Food Chemistry*, 254, 281–291. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.02.026>
- Rezvankhah, A., Emam-Djomeh, Z., & Askari, G. (2020). Encapsulation and delivery of bioactive compounds using spray and freeze-drying techniques: A review. *Drying Technology*, 38(1–2), 235–258. <https://doi.org/10.1080/07373937.2019.1653906>
- Ribeiro, R. V., Bieski, I. G. C., Balogun, S. O., & Martins, D. T. de O. (2017). Ethnobotanical study of medicinal plants used by Ribeirinhos in the North Araguaia microregion, Mato Grosso, Brazil. *Journal of Ethnopharmacology*, 205, 69–102. <https://doi.org/10.1016/J.JEP.2017.04.023>
- Rodriguez-Amaya, D. B., & Kimura, M. (2004). *HarvestPlus Handbook for Carotenoid Analysis*.
- Rozo, D. F., Alvarado, J. F., Chaparro, L. M., Medina, J. A., & Salcedo, F. (2024). Modeling oxidation kinetics of linseed oil in oxygen scavenger nanocapsules to be potentially used in active food packaging. *Food Packaging and Shelf Life*, 42, 101256. <https://doi.org/10.1016/J.FPSL.2024.101256>
- Rufino, M. S. M., Fernandes, F. A. N., Alves, R. E., & de Brito, E. S. (2009). Free radical-scavenging behaviour of some north-east Brazilian fruits in a DPPH system. *Food Chemistry*, 114(2), 693–695. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2008.09.098>
- Santos, L. G., Alves-Silva, G. F., & Martins, V. G. (2022). Active-intelligent and biodegradable sodium alginate films loaded with *Clitoria ternatea* anthocyanin-rich extract to preserve and monitor food freshness. *International Journal of Biological Macromolecules*, 220, 866–877. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2022.08.120>
- Sarantópoulos, C. I. G. L., Oliveira, L. M. de., Padula, Marisa., Coltro, Leda., Alves, R. M. Vercelino., & Garcia, E. E. C. (2002). *Embalagens plásticas flexíveis : principais polímeros e avaliação de propriedades*. CETEA/ITAL. <https://www.worldcat.org/title/51229077>
- Schiassi, M. C. E. V., Souza, V. R. de, Lago, A. M. T., Campos, L. G., & Queiroz, F. (2018). Fruits from the Brazilian Cerrado region: Physico-chemical characterization, bioactive compounds, antioxidant activities, and sensory evaluation. *Food Chemistry*, 245, 305–311. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2017.10.104>
- Sereti, F., Alexandri, M., Papapostolou, H., Papadaki, A., & Kopsahelis, N. (2025). Recent progress in carotenoid encapsulation: Effects on storage stability, bioaccessibility and bioavailability for advanced innovative food applications. *Food Research International*, 203, 115861. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2025.115861>
- Shankar, S., Teng, X., Li, G., & Rhim, J. W. (2015). Preparation, characterization, and antimicrobial activity of gelatin/ZnO nanocomposite films. *Food Hydrocolloids*, 45, 264–271. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2014.12.001>
- Shojaee-Aliabadi, S., Hosseini, H., Mohammadifar, M. A., Mohammadi, A., Ghasemlou, M., Hosseini, S. M., & Khaksar, R. (2014). Characterization of κ-carrageenan films incorporated plant essential oils with improved antimicrobial activity. *Carbohydrate Polymers*, 101(1), 582–591. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2013.09.070>
- Silva, J. F., Da Silva, L. A., Alves, E. S., Guedes, C. T., De Souza, P. M., Dos Santos, S. S., Visentainer, J. V., Madrona, G. S., Rossoni, D. F., & Scapim, M. R. S. (2025). Nutritional and Industrial Potential of Fatty Acids from Cagaita (*Eugenia dysenterica* DC) and Mamacadela (*Brosimum gaudichaudii* Trécul) in the Brazilian Cerrado. *J. Braz. Chem. Soc*, 36, 20250046–20250047. <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20250046>
- Silva, J. F., Guedes, C. T., Alves, E. da S., Santos, S. S. dos, Madrona, G. S., Rossoni, D. F., & Scapim, M. R. da S. (2025). Biocolorants extracted from native Cerrado fruits applied in biodegradable packaging: A sustainable and natural alternative. *Ciência e Agrotecnologia*, 49, e006825. <https://doi.org/10.1590/1413-7054202549006825>
- Silva, J. F., Guedes, C. T., da Silva Alves, E., de Oliveira Santos Júnior, O., Peralta, R. M., dos Santos, S. S., da Silva Scapim, M. R., & Madrona, G. S. (2025). Effects of in vitro digestion on the bioactivity and bioaccessibility of mamacadela (*Brosimum gaudichaudii*) microcapsules. *Journal of Food Measurement and Characterization* 2025, 1–16. <https://doi.org/10.1007/S11694-025-03451-Y>
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-

- Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144–158. <https://doi.org/10.5344/AJEV.1965.16.3.144>
- Souza, L. R. de, Santos, I. A., Machado, G. G. L., Pereira, E. P., Boas, E. V. de B. V., Botrel, D. A., de Carvalho, E. E. N., & Damiani, C. (2024). Microencapsulation of carotenoids from tucumã (*Astrocaryum aculeatum*) peel by spray drying: Physicochemical properties, antioxidant activity and application in yogurt. *Food and Humanity*, 3, 100454. <https://doi.org/10.1016/J.FOOHUM.2024.100454>
- Stoll, L., Rech, R., Flôres, S. H., Nachtigall, S. M. B., & de Oliveira Rios, A. (2018). Carotenoids extracts as natural colorants in poly(lactic acid) films. *Journal of Applied Polymer Science*, 135(33), 46585. <https://doi.org/10.1002/APP.46585>
- Stunda-Zujeva, A., Irbe, Z., & Berzina-Cimdina, L. (2017). Controlling the morphology of ceramic and composite powders obtained via spray drying – A review. *Ceramics International*, 43(15), 11543–11551. <https://doi.org/10.1016/J.CERAMINT.2017.05.023>
- Sze, J. S., Carrasco, L. R., Childs, D., & Edwards, D. P. (2021). Reduced deforestation and degradation in Indigenous Lands pan-tropically. *Nature Sustainability* 2021 5:2, 5(2), 123–130. <https://doi.org/10.1038/s41893-021-00815-2>
- Tonon, R. V., Brabet, C., Pallet, D., Brat, P., & Hubinger, M. D. (2009). Physicochemical and morphological characterisation of açai (*Euterpe oleraceae* Mart.) powder produced with different carrier agents. *International Journal of Food Science & Technology*, 44(10), 1950–1958. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2621.2009.02012.X>
- Trindade, D. P. de A., Barbosa, J. P., Martins, E. M. F., & Tette, P. A. S. (2022). Isolation and identification of lactic acid bacteria in fruit processing residues from the Brazilian Cerrado and its probiotic potential. *Food Bioscience*, 48, 101739. <https://doi.org/10.1016/J.FBIO.2022.101739>
- Varanda, E. A., Pozetti, G. L., Lourenço, M. V., Vilegas, W., & Raddi, M. S. G. (2002). Genotoxicity of *Brosimum gaudichaudii* measured by the Salmonella/microsome assay and chromosomal aberrations in CHO cells. *Journal of Ethnopharmacology*, 81(2), 257–264. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(02\)00089-2](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(02)00089-2)
- Wikler, M., Cockerill, F. R., Bush, K., Dudley, M. N., Eliopoulos, G. M., Hardy, D., Hecht, D. W., Ferraro, M. J., Swenson, J. M., Patel, J. B., Powell, M., Turnidge, J., Weinstein, M. P., & Zimmer, B. L. (2015). Mo7 -A10 Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Test for Bacteria That Growth Aerobically. *Clinical and Laboratory Standards Institute*, 35.
- Wrona, M., Manso, S., Silva, F., Cardoso, L., Salafranca, J., Nerín, C., Alfonso, M. J., & Caballero, M. Á. (2023). New active packaging based on encapsulated carvacrol, with emphasis on its odour masking strategies. *Food Packaging and Shelf Life*, 40, 101177. <https://doi.org/10.1016/J.FPSL.2023.101177>
- Yang, D., Fan, B., Sun, G., He, Y. C., & Ma, C. (2023). Ultraviolet blocking ability, antioxidant and antibacterial properties of newly prepared polyvinyl alcohol-nanocellulose-silver nanoparticles-ChunJian peel extract composite film. *International Journal of Biological Macromolecules*, 252, 126427. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2023.126427>
- Zavareze, E. da R., Halal, S. L. M. El, Marques e Silva, R., Dias, A. R. G., & Prentice-Hernández, C. (2014). Mechanical, Barrier and Morphological Properties of Biodegradable Films Based on Muscle and Waste Proteins from the Whitemouth Croaker (*Micropogonias furnieri*). *Journal of Food Processing and Preservation*, 38(4), 1973–1981. <https://doi.org/10.1111/JFPP.12173>
- Zhang, B., Xie, F., Shamshina, J. L., Rogers, R. D., McNally, T., Wang, D. K., Halley, P. J., Truss, R. W., Zhao, S., & Chen, L. (2017). Facile Preparation of Starch-Based Electroconductive Films with Ionic Liquid. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*, 5(6), 5457–5467. https://doi.org/10.1021/ACSSUSCHEMENG.7B00788/SUPPL_FILE/SC7B00788_SI_001.PDF
- Zorzenon, M. R. T., Formigoni, M., da Silva, S. B., Hodas, F., Piovan, S., Ciotta, S. R., Jansen, C. A., Dacome, A. S., Pilau, E. J., Mareze-Costa, C. E., Milani, P. G., & Costa, S. C. (2020). Spray drying encapsulation of stevia extract with maltodextrin and evaluation of the physicochemical and functional properties of produced powders. *Journal of Food Science*, 85(10), 3590–3600. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15437>

