

Impacto do microencapsulamento na estabilidade do corante natural obtido a partir dos subprodutos do morango e do mirtilo

Joana Gomes¹, Carmo Serrano² Conceição Oliveira³ & Margarida Moldão¹

¹LEAF / Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa

²Unidade Estratégica de Investigação e Serviços de Tecnologia e Segurança Alimentar (UEISTSA), Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P. Av. da República, Quinta do Marquês, 2784-505 Oeiras,

³Centro Química Estrutural, Instituto Superior Técnico, Universidade de Lisboa, 1049-001 Lisboa.

Resumo

Os pequenos frutos como o mirtilo e o morango muitas vezes não podem ser comercializáveis para fresco devido à sua elevada perecibilidade, podendo constituir matéria-prima para extração de corantes naturais para fins alimentares. Estes frutos têm na sua constituição antocianinas que são pigmentos responsáveis pela cor vermelha ou azul e que apresentam elevada atividade antioxidante. Contudo, a sua utilização como corantes tem sido limitada devido à baixa estabilidade durante o processamento e armazenamento dos alimentos em que são aplicados. Neste trabalho estudou-se o efeito da temperatura e da luz nas características dos extratos aquosos de morango e mirtilo. Para estudar o efeito da microencapsulação na estabilidade da cor, procedeu-se à secagem dos extratos por liofilização e *spray-drying* utilizando a inulina como agente encapsulante. A análise dos resultados permite observar que a temperatura é a variável com efeito mais significativo na degradação das antocianinas e da cor dos extratos de morango e mirtilo, sendo que temperaturas mais elevadas conduzem a maior degradação. A microencapsulação por *spray-drying* e por liofilização altera significativamente a cor original dos extratos permitindo, no entanto, manter a respetiva cor ao longo do tempo de exposição à luz, contrariamente ao que se verifica com os extratos. A microencapsulação afigura-se promissora para a utilização de corantes naturais em alimentos processados pelo calor e/ou expostos à luz.

Palavras-chave: antocianinas, cor, termo e foto-estabilidade, liofilização, *spray-drying*.

Abstract

The small fruits like strawberry and blueberry can't often be marketed as fresh products due its high perishability, and, therefore be used as raw material for extraction of natural colorants for food purposes. These fruits have in their constitution anthocyanins that are pigments responsible for the red or blue color and have high antioxidant activity. However, their use as colorants has been limited due to the low stability during the processing and storage of foods in which they are applied. The aim of the present work was to study the effect of temperature and light on the characteristics of aqueous extracts of strawberry and blueberry. To study the effect of the microencapsulation in the stability of the color, the extracts were drying by freeze-drying and spray-drying using inulin as wall material. The results showed that temperature is the variable with the most significant effect on degradation of anthocyanins and the color of strawberry and blueberry extracts, and higher temperatures lead to increased of degradation. Microencapsulation by spray-drying and

freeze-drying significantly changes the original color of extracts allowing, however, to maintain the respective color over time light exposure, contrary to what happens with the extracts. Microencapsulation looks promising for the use of natural colorants for food processed by heat and/or exposed to light.

Keywords: anthocyanins, colorant, temperature and Light stability, freeze-drying, spray-drying.

Introdução

A indústria agro-alimentar gera uma grande quantidade de subprodutos que são muitas vezes considerados desperdício (Galanakis, 2015). Segundo Gustavsson, *et al.* (2011), nas regiões desenvolvidas, como a Europa, a América do Norte e a Oceânia, as perdas no sector primário representam uma % considerável do total de subprodutos gerados ao longo da cadeia. Estas perdas ocorrem devido a danos mecânicos ocasionados durante as operações de colheita, condições climáticas adversas, doenças e pragas que afetam as culturas e fatores económicos (regulamentos e padrões estéticos e de qualidade exigidos pelo mercado) (Galanakis, 2015). Nesse sentido, a valorização de subprodutos alimentares apresenta-se, não só como uma necessidade, mas também como uma oportunidade para a obtenção de novos produtos de valor acrescentado (Pintado & Teixeira, 2015).

O morango e o mirtilo são frutos ricos em compostos antioxidantes, fibra dietética, vitaminas C, A e E, potássio e cálcio, podendo os seus subprodutos ser recuperados para diversos fins na indústria alimentar ou outras. Estes frutos apresentam na sua constituição antocianinas que são compostos hidrossolúveis responsáveis pela cor vermelha e azul (Cavalcanti *et al.*, 2011). Atualmente tem-se verificado um crescente interesse por estes pigmentos devido a uma tendência para o desenvolvimento de corantes alimentares a partir de fontes naturais como alternativa aos corantes sintéticos, e também devido à sua elevada atividade antioxidante (Mahdavi *et al.*, 2016). Apesar das antocianinas apresentarem uma potencial aplicação como corantes naturais a sua utilização tem sido limitada devido à sua baixa estabilidade durante o processamento e armazenamento à temperatura, luz, oxigénio, presença de iões metálicos e atividade enzimática (Castañeda-Ovando *et al.*, 2009). A microencapsulação afigura-se como um processo eficiente na estabilização de materiais facilmente degradáveis (Mahdavi *et al.*, 2016). A secagem por *spray-drying* é o método mais utilizado para a microencapsulação de antocianinas por ser simples, rápido e contínuo originando partículas de elevada estabilidade (Pegg & Shahidi, 2007). A secagem por liofilização também é um método eficiente que opera a baixas temperaturas sendo adequado para compostos sensíveis ao calor (Mahdavi *et al.*, 2016). Neste trabalho estudou-se (i) o efeito da temperatura e da luz na estabilidade da matéria corante de morango e mirtilo e (ii) o efeito da microencapsulação por *spray-drying* e por liofilização na estabilidade da cor.

Material e métodos

Os morangos (*Fragaria × ananassa* cv Fortuna) foram adquiridos num supermercado local. Os mirtilos (*Vaccinium myrtillus* L.) foram fornecidos pela empresa Fresh Factor, Portugal. As amostras foram congeladas até serem utilizadas. A extração sólido/líquido foi realizada em água destilada na proporção 1:5 à temperatura ambiente durante 25 minutos a 5000 rpm (Sigma & Laborzentrifugen, 2k15). A amostra foi filtrada (Whatman[®] 41) e o sobrenadante recolhido.

Para a microencapsulação a 400mL de extrato aquoso dos frutos foram adicionados 200mL de solução aquosa de inulina a 30%. A solução foi desidratada por *spray-drying* (LabPlant, modelo SD-05) (Beirão-da-Costa et al., 2013) e por liofilização (Telstar LyoQuest). A avaliação da cor dos extratos foi avaliada utilizando um colorímetro Minolta Chroma Meter CT-310 e dos microencapsulados foi avaliada com um colorímetro Minolta Chroma Meter CR-310.

A determinação do teor de antocianinas totais foi efetuada com o método de pH diferencial (adaptado de Wroslstad, 1976). Para a avaliação da termo-estabilidade os extratos foram submetidos a diferentes binómios tempo/temperatura (temperatura a variar de 50 a 100 °C durante intervalos de tempo de 18 a 120 minutos) de acordo com uma matriz fatorial composta. As amostras foram avaliadas quanto à cor e ao teor de antocianinas totais.

Para a avaliação da foto-estabilidade os extratos ou microcápsulas foram colocados em tubos de ensaio e mantidos a uma intensidade luminosa de 0,014 W.m⁻² a 25 °C em câmara climática (Fitoclima 750 E – Aralab). Foi avaliada a cor e o teor de antocianinas totais nos dias 5, 12, 22 e 29 de exposição à luz. A morfologia dos microencapsulados foi observada por SEM (Beirão-da-Costa et al., 2013).

Os resultados foram submetidos a análise de variância a um fator (Anova) através do teste de Tukey para um nível de significância de 95%. Os resultados da termo-estabilidade foram analisados pelo Método de Superfícies de Resposta (RSM). O tratamento estatístico dos resultados bem como o delineamento experimental dos estudos de otimização foi realizado com recurso ao Software informático StatisticaTM v8.0 (StatSoft, Inc., 2007).

Resultados e discussão

Avaliação da termo-estabilidade

No Quadro 1 apresentam-se os modelos que expressam o teor de antocianinas totais (AnT), a saturação (C*), a tonalidade (h°) e a luminosidade (L) em função das variáveis independentes com efeitos significativos (p<0,05), temperatura e tempo de tratamento. Os modelos obtidos apresentam ajustes adequados, uma vez que as diferenças entre os coeficientes de regressão (r²) e do r² ajustado são inferiores a 0,1. A temperatura revelou ser a variável com efeito mais marcante na estabilidade da cor, exercendo efeitos linear e quadrático para a maioria das variáveis dependentes estudadas, tendo o tempo apresentado um efeito menos expressivo. Na Fig 1 verifica-se que, para ambos os extratos, a concentração de antocianinas diminui à medida que a temperatura e o tempo de tratamento aumentam, sendo que temperaturas e tempos mais elevados conduzem a maior degradação. Wang *et al.* (2010) também verificaram que o aumento da temperatura leva a um aumento da degradação de antocianinas. Relativamente à cor observa-se uma diminuição do parâmetro C* (fig. 2) com o aumento da temperatura e do tempo, nos dois extratos, resultando numa cor menos intensa. Quanto ao parâmetro h° (fig. 3) este é mais influenciado pela temperatura e pelo tempo de tratamento no caso do mirtilo do que no morango, ocorrendo uma diminuição à medida que estas as duas variáveis independentes aumentam. Quanto à luminosidade do morango o modelo não ajustou. No mirtilo verifica-se um aumento do parâmetro L com o aumento da temperatura e do tempo (fig. 4), o que evidencia uma perda de cor.

Avaliação da Foto-estabilidade

Como se pode observar na fig. 5 a presença de luz conduz a uma degradação significativa do teor de antocianinas. No extrato do mirtilo verifica-se um decréscimo significativo (p<0,05) do teor de antocianinas nos primeiros 3 dias de exposição à luz,

(de 3,39 para 0,41 mg.g⁻¹), tendo-se mantido constante até ao dia 29. No extrato do morango, observa-se uma variação mais gradual do teor de antocianinas ao longo do tempo, tendo-se registado uma diminuição significativa ($p < 0,05$) até ao dia 22 (de 5,01 para 2,05 mg.g⁻¹). Estes resultados estão de acordo com Wang *et al.* (2010) que também verificou que o efeito da luz implica uma diminuição significativa do teor de antocianinas. Relativamente à cor dos extratos verifica-se que esta é igualmente influenciada pela presença de luz. Ao longo do tempo de exposição, observa-se um aumento do parâmetro L (fig.6) e uma diminuição do parâmetro C* (fig.7), para ambos os extratos, resultando numa descoloração e numa cor menos intensa. O parâmetro h° (fig.8) é pouco afetado pela presença de luz, tendo-se observado uma pequena variação ao longo do tempo. Quanto à microencapsulação, este processo causa alterações na cor original dos extratos provocando um aumento do parâmetro L e uma diminuição dos parâmetros C* e h°. No entanto, os microencapsulados de morango liofilizado evidenciam uma boa estabilidade à luz mantendo-se os parâmetros da cor praticamente constantes ao longo do tempo de exposição, conservando a sua cor original. Jiménez-Aguilar, *et al.* (2011), também verificou uma boa estabilidade da cor à luz em microencapsulados de mirtilo por *spray-drying*.

Morfologia das microcápsulas

Os processos de microencapsulação por liofilização e *spray-drying* originaram microcápsulas com morfologias distintas. As microcápsulas obtidas por liofilização (fig. 8) apresentam uma forma esférica e uma superfície rugosa de aspeto esponjoso, observando-se ainda a formação de aglomerados. As microcápsulas obtidas por *spray-drying* (fig. 9), apresentam uma forma esférica, oca, com uma superfície lisa, de parede continua e sem fissuras. Observa-se, igualmente, que algumas das microcápsulas formadas exibem uma parede enrugada e com concavidades. Não se observa a aglomeração de partículas. Beirão-da-Costa, *et al.* (2013) observaram morfologias semelhantes em microcápsulas de inulina com óleo de orégão obtidas por *spray-drying*.

Conclusões

A cor e o teor de antocianinas totais dos extratos aquosos de morango e mirtilo são significativamente degradados na presença de luz e quando sujeitos a elevadas temperaturas. A microencapsulação altera significativamente a cor original dos extratos. No entanto, os microencapsulados mantiveram a cor ao longo do tempo de exposição à luz, contrariamente ao que se verifica nos extratos aquosos. A microencapsulação afigura-se promissora para a utilização de corantes naturais em alimentos processados pelo calor e/ou expostos à luz.

Referências

- Beirão-da-Costa, S., Duarte, C., Bourbon, A. I., Pinheiro, A. C., Januário M. I. N., Vicente, A. A., Beirão-da-Costa, M. & Delgadillo, I. 2013. Inulin potential for encapsulation and controlled delivery of Oregano essential oil. *Food Hydrocolloids*. 33:199-206.
- Castañeda-Ovando, A., Pacheco-Hernández, M., Páez-Hernández, M., Rodríguez, J. A. & Galán-Vidal, C. A. 2009. Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chemistry*. 113:859-871.
- Cavalcanti, N. R., Santos, T. D. & Meireles, A. A. M. 2011. Non-thermal stabilization mechanisms of anthocyanins in model and food systems—An overview. *Food Research International*. 44:499–509.

- Galanakis, C. M. 2015. Food Waste Recovery: Processing Technologies and Industrial Techniques. Academic Press, New York.
- Gustavsson, J., Cederberg, C., Sonesson, U., van Otterdijk, R. & Meybeck, A. 2011. Global food losses and Food waste. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). 1-23.
- Jiménez-Aguilar, D. M., Ortega-Regules, A. E., Lozada-Ramírez, J. D., Pérez-Pérez, M. C. I., Vernon-Carter, E. J. & Welte-Chanes, J. 2011. Color and chemical stability of spray-dried blueberry extract using mesquite gum as wall material. *Journal of Food Composition and Analysis*. 24:889-894.
- Mahdavi, S. A., Jafari, S. M., Assadpoor E & Dehnad, D. 2016. Microencapsulation optimization of natural anthocyanins with maltodextrin, gum Arabic and gelatina. *International Journal of Biological Macromolecules*. 85:379-385.
- Pegg, R. B. & Shahidi, F. 2007. Encapsulation, Stabilization, and Controlled Release of Food Ingredients and Bioactives. p. 509-568. In: Rahman, M. S, *Handbook of Food Preservation*. CRC Press, New York.
- Pintado, M. E. & Teixeira, J. A. 2015. Valorização de subprodutos da indústria alimentar: obtenção de ingredientes de valor acrescentado. *Boletim da Sociedade Portuguesa de Biotecnologia*. 2:10-12.
- Wang, B. C., He, R. & Li, Z. M. 2010. The Stability and Antioxidant Activity of Anthocyanins from Blueberry. *Food Technology and Biotechnology*. 48:42-49.
- Wroslstad, E. R. 1976. Color and Pigment Analyses in Fruit Products. Oregon State University Agricultural Experiment Station bulletin. 624:1-17.

Quadros e figuras

Quadro 1 - Equações dos modelos ajustados aos valores experimentais para o teor de antocianinas totais (AnT) e parâmetros da cor (L, C*, h°) de morango (Mo) e mirtilo (Mi) em função da temperatura e tempo.

		Equação polinomial do modelo	r ²	r ² _{ajust}
Mo	AnT	$27,30 - 8,28T - 3,81T^2 - 4,35t - 3,59Tt$	0,93	0,89
	C*	$58,89 - 9,19T - 3,03T^2 - 4,14t + 1,67t^2 - 4,30Tt$	0,97	0,95
	h°	$57,62 - 1,87T - 2,03t$	0,81	0,70
Mi	AnT	$37,41 - 21,54T - 7,14T^2 - 9,72t + 5,83t^2 - 7,44Tt$	0,99	0,99
	C*	$65,96 - 9,85T - 6,69T^2 - 4,60t - 5,57Tt$	0,93	0,87
	h°	$41,64 - 5,51T - 1,32T^2 - 2,52t + 1,63t^2$	0,97	0,96
	L	$35,46 + 8,22T + 4,39T^2 + 1,45t + 2,22Tt$	0,97	0,95

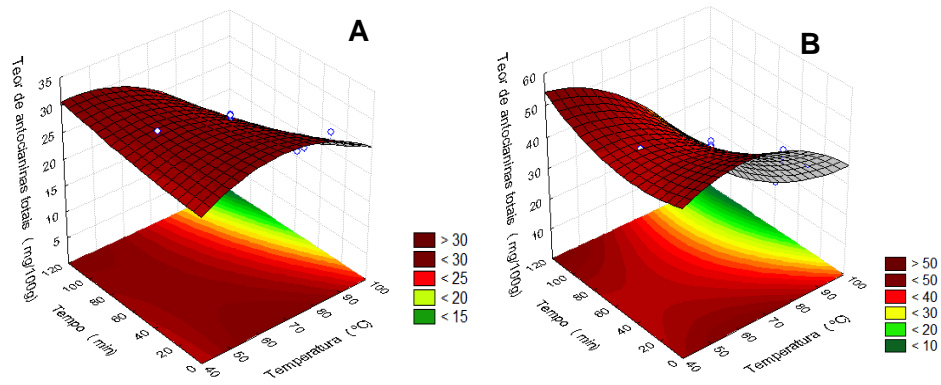


Figura 1 - Superfície de resposta para o teor de antocianinas totais em função da temperatura e tempo de tratamento: (A) morango e (B) mirtilo.

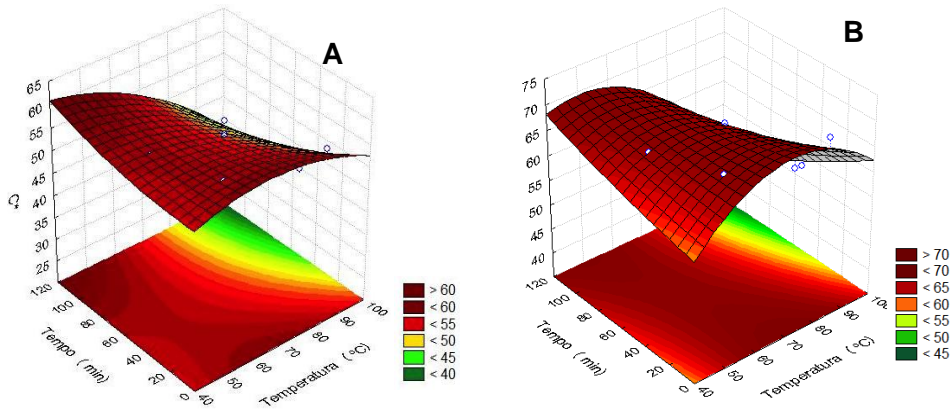


Figura 2 - Superfície de resposta para o parâmetro C* em função da temperatura e tempo de tratamento: (A) morango e (B) mirtilo

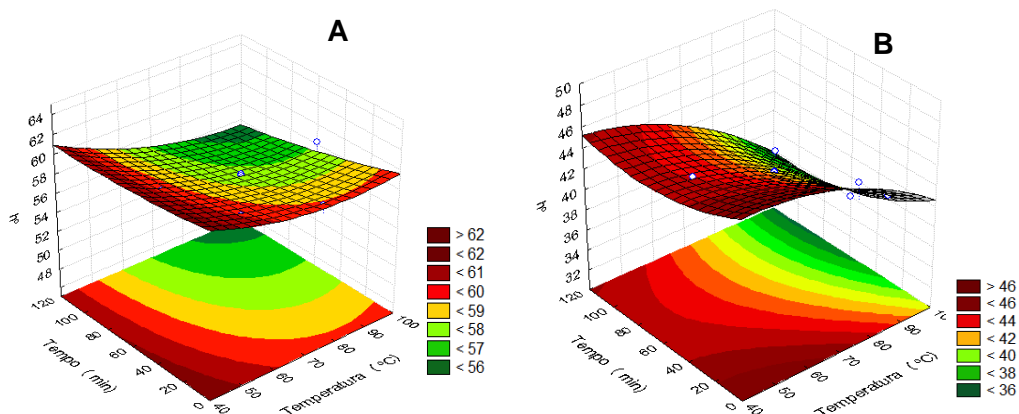


Figura 3 - Superfície de resposta para o parâmetro h° em função da temperatura e tempo de tratamento: (A) morango e (B) mirtilo

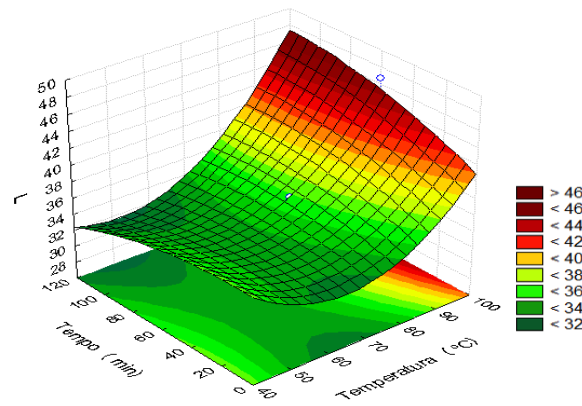


Figura 4 - Superfície de resposta para o parâmetro L em função da temperatura e tempo de tratamento para o extrato de mirtilo

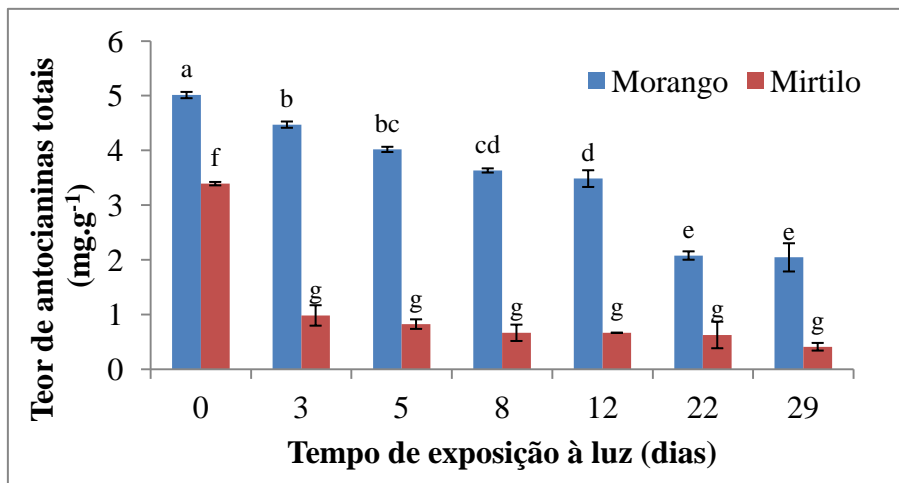


Figura 5 - Variação do teor de antocianinas totais ao longo do tempo de exposição à luz. Valores médios \pm desvio-padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).

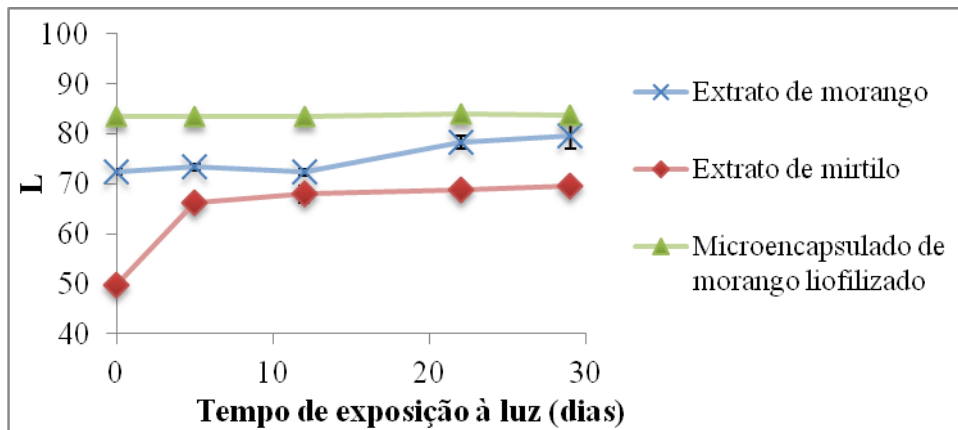


Figura 6 - Variação do parâmetro L dos extratos de morango e mirtilo ao longo do tempo de exposição à luz. Valores médios \pm desvio-padrão.

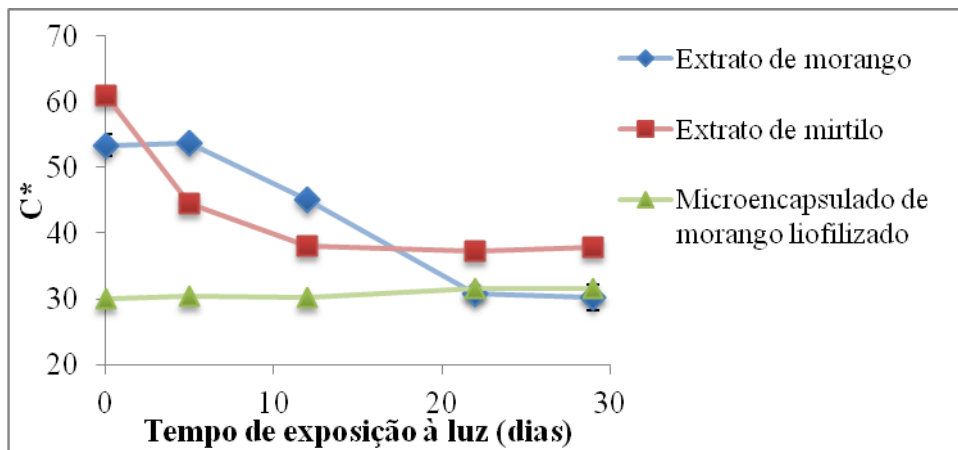


Figura 7 - Variação do parâmetro C* dos extratos de morango e mirtilo ao longo do tempo de exposição à luz. Valores médios \pm desvio-padrão.

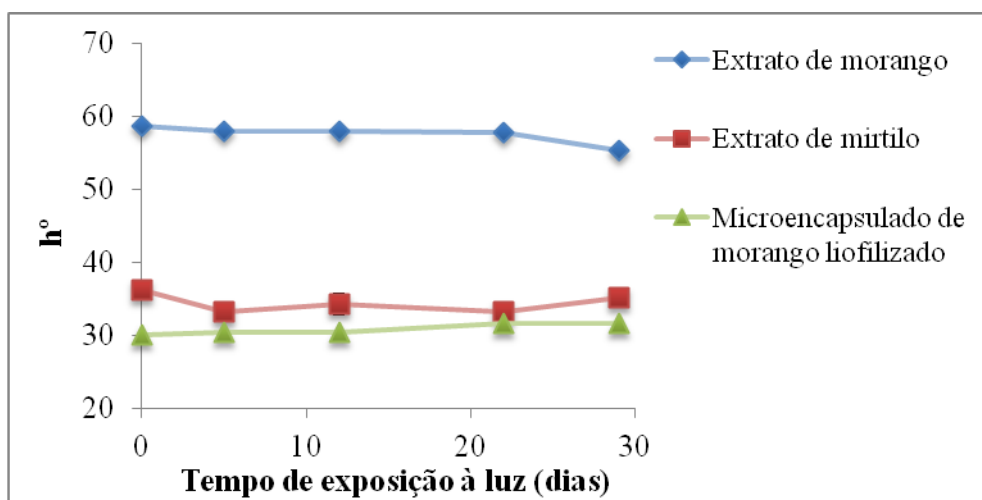


Figura 8 - Variação do parâmetro h° dos extratos de morango e mirtilo ao longo do tempo de exposição à luz. Valores médios \pm desvio-padrão.

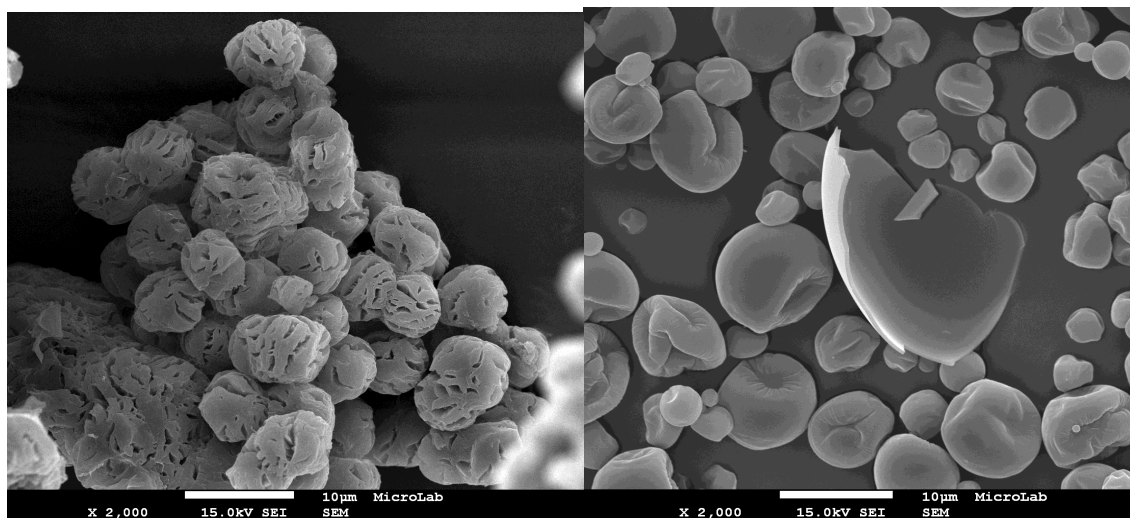


Figura 9 - Imagens obtidas por SEM das microcápsulas formadas por liofilização (A) e por *spray-drying* (B) (ampliação X2000).