

Obtenção de um encapsulado usando fruta nativa amazônica para aumentar a bioacessibilidade e bioatividade após digestão simulada *in vitro*

Palavras-Chave: ARECACEAE, ANTOCIANINAS, ENCAPSULAÇÃO

Autoras:

Livia Petroli Ferreira, IQ – UNICAMP

MSc. Stephanie Dias Soares (coorientadora), FEA – UNCAMP

Prof^(a). Dr^(a). Gláucia Maria Pastore (orientadora), FEA – UNICAMP

INTRODUÇÃO:

A família botânica Arecaceae compreende uma variedade de palmeiras com vasta importância econômica e nutricional, sendo utilizadas como fonte de alimento e subsistência, além de promover saúde devido à presença de compostos bioativos [1]. Possui como seu principal representante o açaí (*Euterpe oleracea*), entretanto, outras frutas também apresentam potencial funcional significativo. Um exemplo é a bacaba (*Oenocarpus bacaba*) que, apesar de ainda ser pouco explorada, apresenta atributos nutricionais e atividade biológica notáveis, por exemplo pela inibição da proliferação de células MCF-7 *in vitro* [2]. Sua funcionalidade é devido à diversidade em compostos funcionais, a exemplo dos compostos fenólicos [3]. Outra espécie pertencente a essa família botânica é *Oenocarpus minor*, conhecida popularmente como bacabinha, esta que ainda não foi explorada quanto a sua composição e funcionalidade.

Compostos fenólicos são moléculas presentes em dietas, classificados em relação aos componentes de sua estrutura em ácidos fenólicos, flavonoides, estilbenos e lignanas. São reconhecidos pela sua capacidade antioxidante e por possuir um importante papel na prevenção de doenças relacionadas ao estresse oxidativo, porém a atuação destes compostos depende diretamente da quantidade consumida, biodisponibilidade e bioacessibilidade destes compostos [4]. Esses são sensíveis a instabilidades químicas e físicas, como temperatura, pH, luz, oxigênio e presença de fitoquímicos e outros componentes alimentares de forma que as diversas condições as quais esses compostos são submetidos durante a digestão podem causar alterações de suas características e até mesmo degradação [5].

Nesse sentido, a microencapsulação é uma alternativa para a preservação das características físico-químicas e biológicas de compostos, por exemplo tornando-os menos susceptíveis à degradação [6]. A técnica une a utilização de parâmetros como escolha do material de parede e método de secagem com intuito de proteger de forma eficaz o composto de interesse. Dessa forma, a liofilização tem ganhado destaque devido ser uma técnica barata, prática e eficiente para compostos sensíveis a calor, sendo uma forma viável para manter a encapsulação e obter um produto final na forma de pó [7].

Diante do exposto, este projeto teve como objetivo avaliar os efeitos da encapsulação e digestão simulada *in vitro* no perfil fenólico, conteúdo de fenólicos e antocianinas e potencial antioxidante de pós de *Oenocarpus minor* encapsulado com dois materiais de parede diferentes.

METODOLOGIA:

COLETA DO MATERIAL E PREPARO DA AMOSTRA

Os frutos de bacabinha (*Oenocarpus minor*; OM) foram adquiridos em uma comunidade ribeirinha no Norte do Brasil. Um exemplar (número de acesso 4234) foi identificado e depositado no “Herbário Professora Normélia Vasconcelos” da Universidade Federal do Pará (UFPA). Atendendo ao disposto na Lei nº 13.123/2015, o acesso ao patrimônio genético foi registrado no SisGen (número de registro: AC396A9). Após a colheita, os frutos foram higienizados em água potável e despulpados manualmente para separar a porção comestível (casca e polpa) da não comestível (semente). A polpa foi liofilizada e moída até obter um pó fino e armazenada a -20 °C. Para obtenção do extrato, a polpa liofilizada foi extraída com uma mistura de acetona-etanol-água e 1% de ácido fórmico. Em seguida, as amostras foram ultrassonificadas por 10 min em banho de gelo e depois centrifugadas a 4000 g por 10 min a 5 °C. Após isso, os sobrenadantes foram coletados e os resíduos re-extraídos mais duas vezes nas mesmas condições.

Por fim, os sobrenadantes obtidos foram combinados e evaporados sob vácuo a 40 °C para remoção de solventes orgânicos.

PREPARAÇÃO DOS PÓS, ANÁLISE COLORIMÉTRICA E MICROSCOPIA

Os encapsulados de bacabinha foram obtidos através da mistura de extrato: material de parede (maltodextrina ou goma arábica) na proporção de 5:1 (v: m). Essa mistura foi homogeneizada em Ultraturrax por 5 min a 6000 rpm seguido por liofilização do material, conforme proposto por Ballesteros et al. [8].

A análise de cor foi realizada por leitura direta em um colorímetro UltraScan PRO com iluminante D65, por leituras diretas do sistema de coordenadas retangulares: L^* (luminosidade), a^* (intensidade do vermelho e do verde) e b^* (intensidade do amarelo e do azul), utilizando a escala de cores CIELab, com iluminante D65 e ângulo de visão de 10°. Em relação às estruturas físicas, os pós foram analisados por microscopia eletrônica de varredura utilizando um microscópio eletrônico (TESCAN, modelo Mira3, Brno, República Tcheca) com um canhão de elétrons FEG (canhão de emissão de campo). As amostras foram metalizadas com Au por 2,5 min para a deposição de um filme sobre a amostra, com espessura de 10 a 15 nm. As imagens foram geradas pela detecção de elétrons secundários, utilizando uma aceleração de voltagem entre 5 e 10 kV e distâncias de trabalho entre 10 e 15 mm.

ANÁLISE DE COMPOSTOS BIOATIVOS E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE

As análises foram realizadas para comparar o teor de compostos e a capacidade antioxidante (CAOX) antes e após a digestão gastrointestinal simulada *in vitro*, tanto no extrato bruto (EB) como nos encapsulados. Para isso, os pós encapsulados foram primeiramente reconstituídos em água acidificada, sendo considerados as amostras encapsuladas antes da digestão: MD (extrato bruto encapsulado com maltodextrina) e GA (extrato bruto encapsulado com goma arábica). A digestão gastrointestinal simulada (condições consecutivas das fases oral, gástrica e intestinal) seguiu o protocolo INFOGEST 2.0, de acordo com Brodkorb et al. [9], obtendo a fase digerida ao final das etapas: MD-FI (MD digerido) e GA-FI (GA digerido).

Posteriormente, todas as amostras (digeridas e não digeridas) foram injetadas por eletrospray e injeção direta em um IT-Fusion Lumos Tribid (Thermo Scientific, San Jose, CA), e os espectros foram adquiridos na faixa de massa de 189-1500 m/z no modo positivo. As moléculas selecionadas tiveram sua identidade confirmada por análise MS/MS usando hélio como gás de colisão em energias de colisão de 30 a 50 eV. O Mass Frontier Software (v. 6.0, Thermo Scientific, San Jose, CA) foi usado para caracterizar os fragmentos propostos.

O teor de compostos fenólicos totais (CFT) foi obtido pela reação com Folin-Ciocalteu e carbonato de sódio [10], as antocianinas totais (ANT) foram obtidas pelo método do pH diferencial [11]. Em relação à CAOX, os ensaios de eliminação de radical ABTS e ORAC foram realizados conforme proposto por Leite et al. [12].

Todos os resultados foram submetidos a uma análise de variância (ANOVA) unidirecional e as diferenças entre as médias foram localizadas usando o teste HSD de Tukey, considerando a triplicata de cada amostra.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

CARACTERIZAÇÃO DOS ENCAPSULADOS

É possível identificar visualmente uma coloração rosa nas amostras (**Figura 1**), o que pode evidenciar a presença de antocianinas em sua composição [13]. Entretanto existem diferenças nos tons entre as amostras encapsuladas de acordo com o material de parede. As características visuais são confirmadas pelos resultados obtidos no teste de cor, já que comparando as amostras, o pó encapsulado com maltodextrina apresentou valores maiores para todos os parâmetros (a^* , b^* e L^*) se caracterizando por tons mais vermelhos, amarelos e brilhantes, enquanto as amostras encapsuladas com goma arábica apresentam valores mais baixos para estes parâmetros, o que indica tons avermelhados menos intensos, e uma maior tendência para o azul, sendo também mais escuros (Figura 1, lado direito).

A microscopia eletrônica de varredura mostrou como tendência para ambos encapsulados a presença de formas e tamanhos não padronizados (**Figura 2**), com bordas irregulares e pontiagudas. Além disso, algumas estruturas mostraram cavidades e porosidades, características possivelmente relacionadas ao processo de liofilização ao qual as misturas foram submetidas [14]. Algumas diferenças na morfologia em relação ao material de parede utilizado na encapsulação também foram evidenciadas, de forma que as amostras de goma arábica mostram partículas menores e mais reticuladas, enquanto as de maltodextrina se mostram mais suaves e menos reticuladas.



Figura 1- Pós obtidos do encapsulamento de bacabinha com maltodextrina e goma arábica

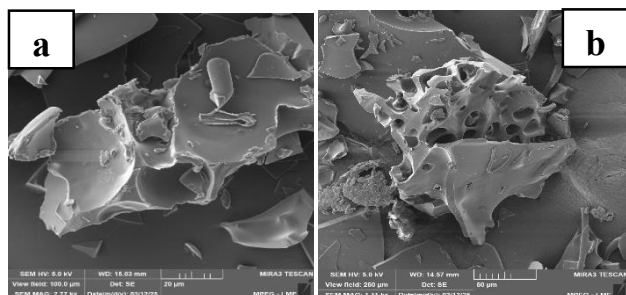


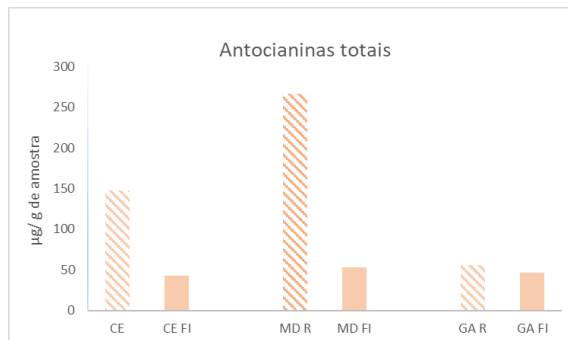
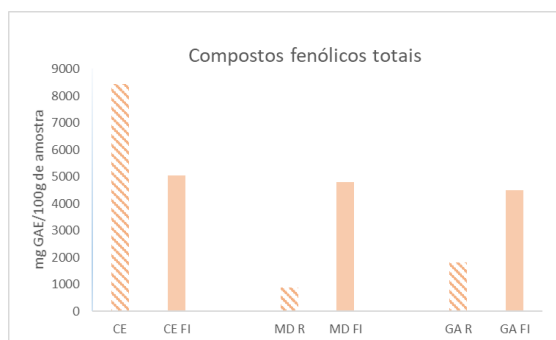
Figura 2- Microscopia dos pós encapsulados com maltodextrina (a) e goma arábica (b).

EFEITOS DO ENCAPSULAMENTO E DIGESTÃO NO PERFIL FENÓLICO, TEOR DE COMPOSTOS BIOATIVOS E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE

O perfil fenólico por espectrometria de massas resultou em 8 compostos identificados ao total, considerando todas as amostras (encapsuladas ou não). O extrato de OM na sua forma bruta (não digerida), apresentou maior intensidade relativa de ácido clorogênico (m/z 355) e quercetina na sua forma glicosilada (quercetina-3-galactosídeo; m/z 465), reduzindo consideravelmente após a digestão. Por outro lado, houve o aumento da intensidade relativa de compostos após a digestão do extrato bruto (EB), principalmente de quercetina (m/z 303) e quercetina-3-O-arabinofuranosídeo (m/z 435). Já a encapsulação com maltodextrina (MD), além de ter tido aumento da intensidade relativa desses compostos, também demonstrou a mesma tendência de aumento para epigallocatequina-3-galato (m/z 459). É importante ressaltar que esse último composto não teve intensidade suficiente para identificação no EB. Em relação à utilização de goma arábica (GA), apenas epigallocatequina-3-galato teve aumento significativo na fase intestinal (FI), apresentando redução na intensidade relativa de todos os outros compostos. Essas diferenças podem ser um indicativo das alterações em compostos fenólicos que as amostras apresentam após a encapsulação, assim como demonstra as mudanças e até mesmo degradação de compostos fenólicos diferentes condições que são submetidos durante o processo de digestão. Estas variações que podem alterar características das amostras como bioacessibilidade e capacidade antioxidante [5, 6].

Em relação ao conteúdo compostos bioativos, o processo de digestão promoveu a redução de CFT no EB em 40%, reduzindo quase 90% após encapsulação com MD (890,93 mg GAE/100 g de amostra) e 78% utilizando GA (1.817,71 mg GAE/100 g de amostra). Comparando os encapsulados e a digestão, nota-se que os dois materiais de parede foram eficazes em proteger os CFT do processo digestivo, apresentando quase 5 vezes mais CFT no MD e GA digeridos. Este comportamento pode ser explicado pela interação entre o compostos fenólicos com o material da parede quando submetidos à liofilização [15]. Os resultados do teste ANT mostraram que o maior teor é relatado para o extrato encapsulado com MD e, quanto às frações bioacessíveis, o pó MD digerido também apresentou valor maior. Esse comportamento pode ser explicado pela tendência da MD em formar fortes ligações intermoleculares com antocianinas, resultando em uma melhor estabilidade [17].

Para os resultados do teste de ABTS e ORAC, o EB apresentou maior CAOX do que as amostras encapsuladas. No entanto, na fração bioacessível a CAOX perante os ensaios de ABTS e ORAC foi maior nas amostras encapsuladas pelos dois materiais. Esses resultados demonstram que a encapsulação em primeiro momento não foi eficaz em proteger os compostos responsáveis pela CAOX, mas quando esses pós foram digeridos, a CAOX aumentou. Os resultados obtidos nesses ensaios podem estar relacionados com o comportamento apresentado na espectrometria de massas e pelo teste de CFT, já que esses são os principais compostos antioxidantes destas amostras.



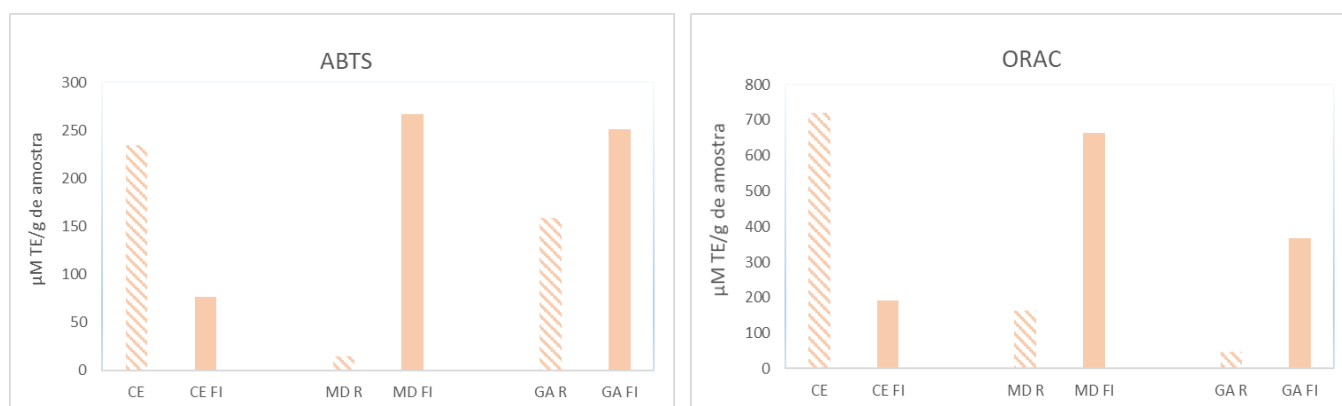


Figura 3- Teor de fenólicos totais, antocianinas totais e capacidade antioxidante pelos ensaios de ABTS e ORAC.

CONCLUSÕES:

Em suma, os pós encapsulados apresentaram características físico-químicas favoráveis à utilização como ingredientes alimentícios, o que também foi confirmado pelo poder corante. Não obstante, as amostras apresentaram compostos bioativos e potencial antioxidante mesmo após a digestão e o encapsulamento. Sendo assim, destaca-se a importância de investigar a estabilidade físico-química desses pós através de análises de tempo de prateleira, por exemplo, e o potencial biofuncional frente à ensaios *in vitro* e *in vivo*. Além disso, é necessário a exploração de materiais de parede alternativos e técnicas de secagem diferentes que viabilizem um melhor desempenho funcional dos pós após o processo de digestão. Dessa forma, esses avanços podem ampliar o potencial tecnológico e a aplicação comercial de ingredientes funcionais à base de extrato de *Oenocarpus minor*.

BIBLIOGRAFIA

- Soares SD, Lima A de S, Miranda CTC da S, et al (2024) Trends in the valorization of native Amazon palm trees as sources of bioactive lipids for use as functional ingredients. Trends Food Sci Technol 154:.. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2024.104777>
- Abadio Finco FDB, Kloss L, Graeve L (2016) Bacaba (*Oenocarpus bacaba*) phenolic extract induces apoptosis in the MCF-7 breast cancer cell line via the mitochondria-dependent pathway. NFS J 5:5–15. <https://doi.org/10.1016/j.nfs.2016.11.001>
- de Assis BBT, Cabral L, Silva FA, et al (2025) Fermentation of Amazonian fruit pulp (bacaba) with distinct probiotics: Impacts on chemical composition, bioaccessibility, and effects on human intestinal microbiota. Food Res Int 209:116326. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2025.116326>
- Manach C, Scalbert A, Morand C, et al (2004) Polyphenols: food sources and bioavailability. Am J Clin Nutr 79:343. <https://doi.org/10.1093/ajcn/79.2.343>
- Eran Nagar E, Okun Z, Shpigelman A (2020) Digestive fate of polyphenols: updated view of the influence of chemical structure and the presence of cell wall material. Curr Opin Food Sci 31:38–46. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2019.10.009>
- Paes FER, Sabino LB de S, da Silva LMR, et al (2024) Anthocyanins extracted from Jamelon fruits (*Syzygium cumini* L.): Effect of microencapsulation on the properties and bioaccessibility. South African J Bot 166:423–431. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2024.01.051>
- Mandaji CM, Pena R da S, Chisté RC (2022) Encapsulation of bioactive compounds extracted from plants of genus *Hibiscus*: A review of selected techniques and applications. Food Res Int 151:.. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110820>
- Ballesteros LF, Ramirez MJ, Orrego CE, et al (2017) Encapsulation of antioxidant phenolic compounds extracted from spent coffee grounds by freeze-drying and spray-drying using different coating materials. Food Chem 237:623–631. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.05.142>
- Brodkorb A, Egger L, Alminger M, et al (2019) INFOGEST static in vitro simulation of gastrointestinal

food digestion. *Nat Protoc* 14:991–1014. <https://doi.org/10.1038/s41596-018-0119-1>

10. Roesler R, Malta LG, Carrasco LC, et al (2007) Atividade antioxidante de frutas do cerrado. *Cienc e Tecnol Aliment* 27:53–60. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612007000100010>
11. Giusti M, Wrolstad R (2001) Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. *Curr Protoc Food Anal Chem* 302:1–13. <https://doi.org/10.1002/0471142913.faf0102s00>
12. Leite A V., Malta LG, Riccio MF, et al (2011) Antioxidant potential of rat plasma by administration of freeze-dried jaboticaba peel (*Myrciaria jaboticaba* Vell Berg). *J Agric Food Chem* 59:2277–2283. <https://doi.org/10.1021/jf103181x>
13. Rodríguez-Mena A, Ochoa-Martínez LA, González-Herrera SM, et al (2023) Coloring potential of anthocyanins from purple sweet potato paste: Ultrasound-assisted extraction, enzymatic activity, color and its application in ice pops. *Food Chem Adv* 3:. <https://doi.org/10.1016/j.focha.2023.100358>
14. Stabrauskiene J, Pudziulyte L, Bernatoniene J (2024) Optimizing Encapsulation: Comparative Analysis of Spray-Drying and Freeze-Drying for Sustainable Recovery of Bioactive Compounds from *Citrus x paradisi* L. Peels. *Pharmaceuticals* 17:596. <https://doi.org/10.3390/ph17050596>
15. Alam M, Sid S, Giri S, et al (2025) Encapsulated kinnow peel powder using freeze drying: Effect of maltodextrin and gum arabic concentrations on physiochemical, functional and thermal properties. *Food Humanit* 4:100546. <https://doi.org/10.1016/j.foohum.2025.100546>
16. Silva-Espinoza MA, García-Martínez E, Martínez-Navarrete N (2021) Protective capacity of gum Arabic, maltodextrin, different starches, and fibers on the bioactive compounds and antioxidant activity of an orange puree (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) against freeze-drying and in vitro digestion. *Food Chem* 357:129724. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129724>
17. Rigolon TCB, Silva RRA, de Oliveira TV, et al (2024) Exploring anthocyanins-polysaccharide synergies in microcapsule wall materials via spray drying: Interaction characterization and evaluation of particle stability. *Meas Food* 13:100126. <https://doi.org/10.1016/j.meaf00.2023.100126>
18. Castañeda-Ovando A, Pacheco-Hernández M de L, Páez-Hernández ME, et al (2009) Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chem* 113:859–871. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.09.001>