

**UNIVERSIDADE DE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA**

CAROLINE HONAISSER LESCANO

**MICROENCAPSULAÇÃO DO ÓLEO DA BOCAIUVA *Acrocomia aculeata*
(Jacq.) Lodd. POR COACERVAÇÃO COMPLEXA**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA AMBIENTAL

**DOURADOS/MS
MARÇO/2013**

CAROLINE HONAISSER LESCANO

**MICROENCAPSULAÇÃO DO ÓLEO DA BOCAIUVA *Acrocomia aculeata*
(Jacq.) Lodd. POR COACERVAÇÃO COMPLEXA**

**ORIENTADORA: ELIANA JANET SANJINEZ ARGANDOÑA
CO-ORIENTADOR: EDUARDO JOSÉ DE ARRUDA**

**Dissertação de mestrado submetida ao
programa de pós-graduação em Ciência e
Tecnologia Ambiental, como um dos
requisitos necessários para a obtenção do
título de mestre em Ciência e Tecnologia na
área de concentração Tecnologia Ambiental**

**DOURADOS/MS
MARÇO/2013**

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central - UFGD

665
L624m Lescano, Caroline Honaiser.
Microencapsulação do óleo da bocaiuva
Acrocomia aculeata (Jacq.) Lodd. por coacervação
complexa / Caroline Honaiser Lescano – Dourados–
MS : UFGD, 2013.
72 f.

Orientadora: Profa. Dra. Eliana Janet Sanjinez
Argandoña.

Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia
Ambiental) Universidade Federal da Grande
Dourados.

1. Óleo de bocaiuva. 2. Microencapsulação.
Título.



Termo de Aprovação

Após apresentação, arguição e apreciação pela banca examinadora, foi emitido o parecer APROVADO, para a dissertação intitulada: **"Microencapsulação do Óleo da Bocaiuva (*Acrocòmia aculeata* (Jacq.) Lodd.) por Coacervação Complexa"**, de autoria de Caroline Honaiser Lescano, apresentada ao Programa de Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental da Universidade Federal da Grande Dourados.

Profa. Dra. Eliana Janet Sanjinez Argandoña
(Orientadora - UFGD)
Presidente da Banca Examinadora

Profa. Dra. Izabel-Cristina Freitas Moraes
Membro Examinador (USP)

Profa. Dra. Sueli Marie Ohata
Membro Examinador (UFGD)

Dourados/MS, 15 de março de 2013.

“Tenha coragem de seguir o seu próprio coração e a sua intuição. Eles de alguma maneira já sabem o que você realmente quer se tornar. Todo o resto é secundário”.

Steve Jobs

*Dedico este trabalho
a minha família por
representarem tudo
na minha vida. E ao
Ivan pelo amor
incondicional que
sinto por ele*

AGRADECIMENTOS

Esta dissertação é fruto do trabalho e apoio de inúmeras pessoas, espero agradecer a todas.

Em primeiro lugar, agradeço a minha orientadora, a Prof^ª. Eliana Janet Sanjinez Argandoña, pelo constante empenho pessoal. Obrigada por sua disponibilidade incondicional, pela disciplina e respeito ao nosso trabalho, e pelo ser humano que você é. A você, meus incondicionais agradecimentos por contribuir na minha formação.

À Prof^ª. Cândida Aparecida Kassuya, que acompanhou a realização deste trabalho e que se ocupou de minha dissertação com muito interesse e vontade.

À Prof^ª. Ayd Mary Oshiro pelas estimulantes discussões que contribuíram largamente para o enriquecimento deste trabalho.

Aos professores presentes na banca: Prof^ª. Ayd Mary Oshiro, Prof^ª. Sueli Marie Ohata, Prof^ª. Izabel Cristina Freitas Moraes e Prof^º. André Gonelli. Vossas numerosas sugestões melhoraram, não só o trabalho em si, mas também a escrita desta dissertação.

Ao Prof^º. Carlos Raimundo Ferreira Grosso, por disponibilizar a infraestrutura e pelo seu empenho em ensinar a técnica para que o trabalho pudesse ser desenvolvido.

Ao Prof^º. Eduardo José de Arruda que me ofereceu a oportunidade de expandir meus horizontes e a aquisição de novos conhecimentos.

Aos maravilhosos momentos creditados aos meus colegas de trabalho no Laboratório de Tecnologia de Alimentos, em especial aos meus companheiros de laboratório que sempre discutiram e me ajudaram muito.

Agradeço a algumas pessoas muito especiais: Luan Ramos da Silva, Débora da Silva Baldivia e Fernando Freitas de Lima por sua amizade, alegria e irmandade que partilhamos. Meus sinceros agradecimentos.

Agradeço pela sinceridade de nossa amizade acima de qualquer outra coisa. Agradeço a todos os amigos e colegas do Laboratório de Tecnologia de Alimentos:

Priscilla, Andressa, Rogério, Renata, Karoline, Tuany, Viviane, Marcelo. Agradeço imensamente ao Lúcio pela disponibilidade na extração do óleo.

Agradeço a Dalmária, Telma, Amanda, Matheus pela ajuda na coleta dos frutos.

À minha família, pelo apoio, carinho e amor, especialmente à minha mãe, por suportar pacientemente uma filha distante da vida familiar. Mãe, é a você que ofereço o resultado deste trabalho e ao meu pai por tudo que me ensinou a ser.

Ao Ivan, meu namorado pelo amor, apoio, incentivo e paciência dado a mim. E por todos os dias vividos ao seu lado.

À Capes pela bolsa concedida.

À todos agradeço, profundamente.

MUITO OBRIGADA!

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABTS	2,2 AZINO BIS-3-ethylbenzo thiazoline 6 sulfonic acid diammoninum
ATT	Acidez Total Titulável
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
Cg	Carragenina
DEX	Dexametasona
DPPH	2,2-Diphenyl-1-picryl-hidrazil
EAG	Equivalente Ácido Gálico
EE	Eficiência da Encapsulação
EPM	Erro Padrão da Média
FCBA	Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais
FCS	Faculdade de Ciências da Saúde
FID	Flame Ionization Detector
ITAL	Instituto de Tecnologia de Alimentos
LATEC	Laboratório de Tecnologia de Alimentos
LQ	Limite de Quantificação
NaCl	Cloreto de Sódio
NaOH	Hidróxido de Sódio
P.A	Padrão Analítico
S.C	Subcutânea
SST	Sólidos Solúveis Totais
TROLOX	6-Hidroxi-2,5,7,8-tetrametilchroman-2-ácido carboxílico
UFGD	Universidade Federal da Grande Dourados
USP	Universidade São Paulo
V.O	Via Oral

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Delineamento fatorial completo com três variáveis (recheio, temperatura e velocidade de homogeneização) para a microencapsulação do óleo de bocaiuva em triplicata...32
- Tabela 2.** Características biométricas do fruto da *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd.38
- Tabela 3.** Componentes nutricionais, acidez, pH e atividade de água da polpa do fruto da *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd.....39
- Tabela 4.** Teores de minerais na polpa da bocaiuva *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd.....40
- Tabela 5.** Composição dos ácidos graxos do óleo da polpa de *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd.41
- Tabela 6.** Capacidade antioxidante, pelo método DPPH• e ABTS•, da polpa e óleo de bocaiuva.....44
- Tabela 7.** Rendimento e eficiência da microencapsulação e tamanho das microcápsulas do óleo de bocaiuva obtidas por coacervação complexa, em diferentes condições de processo.....46
- Tabela 8.** Carotenoides totais e atividade antioxidante pelo método ABTS das microcápsulas do óleo de bocaiuva obtidas por coacervação complexa, em diferentes condições de processo. Valores da média das triplicatas.54

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** A) Fruto inteiro, B) Mesocarpo (polpa), C) Endocarpo, D) Amêndoa e tegumento...18
- Figura 2.** Micrografias das microcápsulas de óleo de bocaiuva coacervadas com goma arábica e gelatina. Condições de coacervação: (A) recheio, 7,5 g, temperatura, 50°C e velocidade de homogeneização, 15000 rpm. (B) recheio 10 g, temperatura 40°C e velocidade de homogeneização, 18000 rpm.49
- Figura 3.** Influência da temperatura sobre o tamanho médio das microcápsulas. (A) Temperatura de 40°C, (B) Temperatura de 50°C, (C) Temperatura de 60°C.50
- Figura 4.** Gráfico de Pareto dos efeitos e interações das variáveis temperatura (°C), recheio (g) e velocidade de homogeneização (rpm) sobre os carotenoides na produção das microcápsulas, ao nível de 95% de confiança ($p=0,05$). Erro puro= 1457,042.....51
- Figura 5.** Gráfico de Pareto dos efeitos e interações das variáveis temperatura (°C), recheio (g) e velocidade de homogeneização (rpm) sobre os compostos fenólicos na produção das microcápsulas, ao nível de 95% de confiança ($p=0,05$). Erro puro= 0,0755049.52
- Figura 6.** Gráfico de Pareto dos efeitos e interações das variáveis temperatura (°C), recheio (g) e velocidade de homogeneização (rpm) sobre a atividade antioxidante pelo método ABTS*, ao nível de 95% de confiança ($p=0,05$). Erro puro= 0,16.53
- Figura 7.** Efeito do óleo de bocaiuva sobre amigração leucocitária (A) e extravasamento plasmático (B) induzido pela carragenina no modelo de pleurisia em ratos. Os ratos ($n=5$) foram tratados, uma hora antes da injeção de Cg, com óleo de bocaiuva

(nas doses de 100, 300 e 700 mg/kg, v.o.), dexametasona (1 mg/kg, s.c.) ou veículo. O exsudato foi coletado após 4 horas, após a injeção de carragenina. Os leucócitos totais que migraram, bem como, o extravasamento plasmático induzido pela Cg foram analisados. As diferenças entre os grupos foram analisadas por análise de variância (ANOVA de uma via) seguida pelo teste de Student-Newman-Keuls. Valores de $p < 0.05$ foram considerados significativos. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$56

Figura 8. Efeito do óleo de bocaiuva sobre o edema de pata de pata após 1 hora (A), 2 horas (B) e 4 horas (C) da injeção intraplantar de carragenina. Os animais foram tratados com o óleo, na dose de 300 mg/kg via oral (v.o) ou veículo, ou ainda dexametasona (DEX) uma hora antes de injeção intraplantar de carragenina (300 µg/pata). Cada coluna representa a média ± EPM. As diferenças entre os grupos foram analisadas por análise de variância (ANOVA de uma via) seguida pelo teste de Student-Newman-Keuls. Valores de $P < 0.05$ foram considerados significativos. * $P < 0.05$ e *** $P < 0.001$57

Figura 9. Efeito do microencapsulado obtido do óleo de bocaiuva sobre o edema de pata após 1 hora (A), 2 horas (B) e 4 horas (C) da injeção intraplantar de carragenina. Os animais foram tratados com o óleo microencapsulado, na dose de 300 mg/kg via oral (v.o) ou veículo uma hora antes de injeção intraplantar de carragenina (300 µg/pata). Cada coluna representa a média ± EPM. As diferenças entre os grupos foram analisadas por análise de variância (ANOVA de uma via) seguida pelo teste de Student-Newman-Keuls. Valores de $P < 0.05$ foram considerados significativos. ** $P < 0.01$.58

Figura 10. Variação do tempo de excreção urinária em ratos tratados com diferentes doses (100, 300 e 700 mg/kg) de óleo de bocaiuva e furosemida (10 mg/kg) como droga de referência. O volume urinário foi medido em 1, 2, 4, 6, e 8 horas após o tratamento. Valores acumulados são apresentados como média ± EPM por 5 ratos em cada grupo. Os asteriscos indicam o nível de significância em comparação com o grupo controle (one-way ANOVA seguido por Newman-Keulstest) * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$60

Figura 11. Variação do tempo de excreção urinária em ratos tratados com diferentes microcápsulas Ensaio 7, Ensaio 9, Ensaio 8 (300 mg/kg) de óleo de bocaiuva. O volume urinário foi medido em 1, 2, 4, 6, e 8 horas após o tratamento. Valores acumulados são apresentados como média \pm EPM por 5 ratos em cada grupo. Os asteriscos indicam o nível de significância em comparação com o grupo controle (one-way ANOVA seguido por Newman-Keulstest) * $P < 0,05$61

RESUMO

A microencapsulação é uma tecnologia usada com potencial para proteção do composto ativo e modulação de sua liberação. Atualmente, estudos na área de microcapsulação e liberação controlada estão bastante avançados e uma variedade de técnicas está disponível entre as quais se destaca a coacervação complexa. Essa técnica envolve a associação reversível de dois polímeros e apresenta algumas vantagens frente a outras técnicas como a possibilidade de se trabalhar com biopolímeros, a ausência de solvente orgânico e condições brandas de temperatura no processamento. Assim, neste trabalho foram estudadas as condições que podem interferir na formação das microcápsulas por coacervação complexa do óleo da bocaiuva e a atividade biológica do óleo da bocaiuva *in natura* e microencapsulado. Os resultados obtidos confirmaram a predominância de ácidos graxos monoinsaturados, em especial do ácido oléico no óleo da polpa da bocaiuva, além da presença de compostos bioativos como os carotenoides e compostos fenólicos que apresentaram atividade antioxidante. A aplicação da técnica de coacervação complexa para microencapsular o óleo da bocaiuva foi eficiente produzindo entre 64 a 99% de microcápsulas e 59 a 97% de óleo encapsulado. No delineamento fatorial completo, a temperatura foi o parâmetro que influenciou significativamente ($p < 0,05$) na morfologia das microcápsulas. A coacervação complexa auxiliou na preservação dos carotenoides e na atividade antioxidante, sendo observada interação da temperatura e recheio na sua preservação. Na avaliação farmacobiológica foram verificadas ação anti-inflamatória e diurética do óleo da polpa da bocaiuva. O óleo microencapsulado apresentou atividade anti-edematogênica, bem como diurética. A microencapsulação por coacervação complexa demonstrou potencial na biodisponibilidade e preservação das propriedades funcionais do óleo da bocaiuva.

Palavras-chave: Microencapsulação; *Acrocomia aculeata*, coacervação complexa.

ABSTRACT

Microencapsulation is a technology with the potential to protect the active compound and modulation of their release. Currently, studies on microencapsulation and controlled release are well advanced and a variety of techniques are available among which stands out the complex coacervation. This technique involves the reversible association of both polymers and has some advantages compared to other techniques such as the possibility of working with biopolymers, the absence of organic solvent under mild conditions of temperature and processing. Thus, this paper studied the conditions that can interfere with the formation of microcapsules by complex coacervation of bocaiuva oil and biological activity of the oil and microencapsulated bocaiuva *in nature*. The results confirmed the predominance of monounsaturated fatty acids, especially oleic acid in pulp oil of bocaiuva, besides the presence of bioactive compounds such as carotenoids and phenolic compounds that showed antioxidant activity. The implementation of complex coacervation technique to microencapsulate the oil was efficient bocaiuva producing between 64 to 99% of the microcapsules and 59 to 97% encapsulated oil. In full factorial design temperature was the parameter that significantly influenced ($p < 0.05$) in the morphology of the microcapsules. The complex coacervation helped in the preservation of carotenoids and antioxidant activity, and observed the interaction of temperature and filling in its preservation. In assessing pharmacobiological were observed anti-inflammatory and diuretic oil from the pulp of bocaiuva. The oil showed activity microencapsulated anti-edema and diuretic. Microencapsulation by complex coacervation comprises a potential bioavailability and preservation of functional properties of the oil bocaiuva.

Keywords: Microencapsulation; *Acrocomia aculeata*, complex coacervation.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVOS.....	16
2.1 OBJETIVO GERAL	16
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	16
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	18
3.1 BOCAIUVA (<i>ACROCOMIA ACULEATA</i>).....	18
3.2 MICROENCAPSULAÇÃO.....	19
3.3 MICROENCAPSULAÇÃO POR COACERVAÇÃO COMPLEXA	20
3.4 COMPOSTOS BIOATIVOS E SUA AÇÃO NA SAÚDE.....	22
3.5 ANTIOXIDANTES	23
3.6 POLIFENÓIS.....	23
3.7 CAROTENOIDES.....	24
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	27
4.1 MATÉRIA-PRIMA	27
4.2 CARACTERIZAÇÃO DO FRUTO	27
4.3 EXTRAÇÃO DO ÓLEO E CARACTERIZAÇÃO	28
4.4 COMPOSTOS BIOATIVOS.....	29
4.5 PROCESSO DE MICROENCAPSULAÇÃO POR COACERVAÇÃO COMPLEXA.....	31
4.6 ANÁLISE BIOLÓGICA	34
4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA	36
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
5.1 CARACTERÍSTICAS FÍSICAS E NUTRICIONAIS DO FRUTO	38
5.2 COMPOSIÇÃO DOS ÁCIDOS GRAXOS.....	41
5.3 AVALIAÇÃO DOS COMPOSTOS BIOATIVOS.....	43
5.4 MICROENCAPSULAÇÃO.....	45
5.5 AVALIAÇÃO FARMACOLÓGICA	55
6 CONCLUSÃO	63
7 REFERÊNCIAS	64

Capítulo I

Introdução Geral

1 INTRODUÇÃO GERAL

Um dos biomas mais importante da biodiversidade brasileira é o Cerrado, onde se encontram várias espécies de árvores frutíferas nativas e imensa riqueza biológica devido aos seus nuances de clima e solos variados (KLINK; MACHADO, 2005). Nos últimos anos mais da metade do cerrado tem sido alterado pelo desmatamento. A progressiva mecanização da lavoura e a pecuária têm contribuído para a devastação acelerada da vegetação nativa (RATTER *et al.*, 1997).

A exploração dos recursos naturais deste bioma cresce a cada ano, assim pesquisadores vêm buscando estudar cada vez mais a inserção de espécies de plantas nativas para o desenvolvimento de novos produtos, buscando com isso, uma maior valorização de plantas com ação terapêutica e frutos com importantes propriedades nutricionais (SILVA *et al.*, 2009). Entre as espécies frutíferas a bocaiuva *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd., apresenta potencialidades tanto de uso farmacêutico quanto alimentício e químico.

Estudos da composição nutricional mostram que a bocaiuva é rica em lipídeos, carboidratos e fibras (BORA; ROCHA, 2004; RAMOS *et al.*, 2008). Além disso, contribui como boa fonte de carotenoides, destacando-se o β -caroteno (RAMOS *et al.*, 2008).

Os carotenoides são antioxidantes naturais que auxiliam na redução do risco de desenvolvimento de doenças degenerativas como o câncer, cardiovasculares e degeneração macular (QUASIN *et al.*, 2003; RODRIGUEZ-AMAYA, 2010). O desenvolvimento dessas patologias está intimamente relacionado com a inflamação crônica onde ocorre a produção de metabólitos acompanhados pela formação excessiva de oxigênio reativo que danificam potencialmente o DNA, membranas celulares e lipoproteínas (SCHOTTENFELD; BEEBE-DIMMER, 2006).

Estudos clínicos sugerem que a inflamação crônica funciona como uma força motriz para o desenvolvimento do câncer (COUSSENTS; WERB, 2002; SCHOTTENFELD; BEEBE-DIMMER, 2006). Estudos científicos mostram que doses diárias de β -caroteno e do tocoferol diminuem o risco de câncer de pulmão em fumantes. Considerando que os lipídeos estimulam a absorção dos carotenoides pelo organismo, os frutos da bocaiuva podem proporcionar elevada biodisponibilidade destes

compostos, devido ao seu elevado teor de lipídeos e de carotenoides. Entretanto uma das grandes dificuldades tecnológicas em relação aos óleos e aos componentes bioativos é a sua preservação, pois grande parte desses componentes reage com o calor e o oxigênio (RODRIGUEZ-AMAYA, 2010).

Entre as várias técnicas empregadas para prolongar a estabilidade dos óleos e outros componentes bioativos, destaca-se a microencapsulação (SUAVE *et al.*, 2006).

A microencapsulação baseia-se na preparação de uma emulsão entre o composto a ser encapsulado e o agente de encapsulação, seguido de secagem. As microcápsulas, compostas por polímeros como material de parede e material ativo, chamado de núcleo, são geralmente empregadas para melhorar a eficiência do material através da liberação gradativa do composto encapsulado ou criar novas aplicações como a encapsulação de enzimas obtidas a partir de microorganismos (SANTOS *et al.*, 2001).

Várias técnicas têm sido empregadas na elaboração de microcápsulas, tais como: coacervação complexa (JUN-XIA *et al.*, 2011), *spray drying* (TONON *et al.*, 2011), geleificação iônica (PASQUALIM *et al.*, 2010), entre outras. A técnica da coacervação consiste em emulsificar uma solução orgânica do biopolímero (fase interna) em uma solução aquosa contendo agente emulsificante (fase externa), levando à formação de microcápsulas, que são separadas por filtração ou centrifugação, posteriormente lavadas e desidratadas (SANTOS *et al.*, 2001).

O método da coacervação tem sido empregado devido à simplicidade dos procedimentos envolvidos na obtenção das microcápsulas, as quais protegem o material encapsulado de condições adversas, tais como, pH, luz, temperatura, enzimas, entre outros. Essa técnica ainda possibilita a liberação controlada dos compostos encapsulados (KRALOVEC *et al.*, 2011; NORI *et al.*, 2011).

Considerando que muitos dos compostos bioativos presentes no fruto da bocaiuva são suscetíveis a degradação e, conseqüentemente, à perda de propriedades de interesse e atividade biológica, a técnica de microencapsulação pode favorecer a preservação desses compostos e facilitar sua aplicação em produtos alimentícios, farmacológicos, cosméticos e outros.

Capítulo II

Objetivos

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Foi microencapsular o óleo da bocaiuva por coacervação complexa e verificar sua ação anti-inflamatória e diurética.

2.2 Objetivos Específicos

Dentre os objetivos específicos destacam-se:

- A obtenção de óleo da polpa da bocaiuva por prensagem mecânica a frio.
- Determinação da composição de ácidos graxos do óleo da polpa da bocaiuva.
- Produção de microcápsulas poliméricas contendo óleo de bocaiuva pelo método de coacervação complexa.
- Avaliação das condições de processo da coacervação complexa do óleo de bocaiuva visando maior rendimento e eficiência da encapsulação.
- Determinação das características morfológicas das microcápsulas.
- Avaliação a ação farmacobiológica do óleo da polpa da bocaiuva *in natura* e do microencapsulado através de ensaios experimentais *in vivo*.

Capítulo III

Revisão Bibliográfica

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Bocaiuva (*Acrocomia aculeata*)

Acrocomia aculeata (Jacq.) Lodd. é uma palmeira pertencente à família Arecaceae (LORENZI, 2006), popularmente conhecida como bocaiuva, macaúba, cocobabão, bacaúva, mocajuba, macaíba e é encontrada nas regiões tropicais, sendo abundante no cerrado brasileiro (HIANE *et al.*, 2006). Sua frutificação ocorre entre os meses de setembro a janeiro dependendo de condições climáticas, local de plantio e maturação (DESSIMONI-PINTO *et al.*, 2010).

O fruto (Figura 1A) é constituído do epicarpo, mesocarpo, endocarpo e endosperma, o epicarpo quando maduro apresenta coloração amarelada, e o mesocarpo ou polpa alaranjada (Figura 1B). O endocarpo (Figura 1C), duro e denso protege a amêndoa (Figura 1D), que é revestida por um tegumento fino e marrom, constituindo a porção comestível junto com a polpa (CHUBA, SANJINEZ-ARGANDOÑA, 2011).



Figura 1. A) Fruto inteiro, B) Mesocarpo (polpa), C) Endocarpo, D) Amêndoa e tegumento.

A polpa representa 44% do fruto e a amêndoa cerca de 4% (RAMOS *et al.*, 2008), ambas são consumidas *in natura* ou na forma de sorvetes, doces, bolos e biscoitos (BORA, ROCHA, 2004). A bocaiuva é considerada rica em β -caroteno e

ácidos graxos (HIANE *et al.*, 2006; RAMOS *et al.*, 2008). Os lipídeos estimulam a absorção dos carotenoides pelo organismo, proporcionando a biodisponibilidade destes compostos (RODRIGUEZ-AMAYA, 2010).

3.2 Microencapsulação

A microencapsulação é o processo de revestimento com finas coberturas poliméricas aplicáveis em sólidos, gotículas de líquidos ou material gasoso, formando pequenas partículas denominadas microcápsulas ou micropartículas que podem liberar seu conteúdo de forma controlada, sob condições específicas (SANTOS *et al.*, 2001).

Segundo Arshady (1993), as microcápsulas são consideradas embalagens extremamente pequenas, compostas por material de parede e material ativo (núcleo). Enquanto as embalagens convencionais, normalmente, são empregadas para facilitar o transporte, armazenagem, manipulação e apresentação do produto, as microcápsulas são geralmente empregadas para melhorar o desempenho do material ou criar novas aplicações. Assim, trata-se de uma tecnologia inovadora que tem sido empregada com êxito nas indústrias de cosméticos, farmacêutica e alimentícia.

Na área de alimentos, a microencapsulação tem solucionado limitações no emprego de ingredientes alimentícios, visto que pode suprimir ou atenuar sabores indesejáveis, reduzir a volatilidade e a reatividade de algumas substâncias e aumentar a estabilidade das mesmas em condições adversas do ambiente, como na presença de luz, oxigênio e pH extremos (UBBINK; KRÜGER, 2006).

Nos últimos anos, há uma tendência mundial que aponta para a necessidade de que os alimentos não sejam somente vistos como uma fonte de nutrientes com apelo sensorial, mas, também como fonte de bem-estar e de saúde para os indivíduos. Esta mudança de perspectiva requer mudanças de paradigma no desenvolvimento de novos produtos, observando-se a necessidade da biodisponibilidade de compostos bioativos presentes nos alimentos (FAVARO-TRINDADE; GROSSO, 2002). Esta abordagem se torna cada vez mais relevante conforme se estabelecem as relações entre genética, alimentação e saúde (SANGUANSRI; AUGUSTIN, 2006), a microencapsulação é um meio efetivo de alcançar tais objetivos. Por este motivo, são imprescindíveis os estudos

sobre as relações entre as estruturas nano e supramoleculares, bem como, da funcionalidade nos níveis físico, nutricional e fisiológico (JUN-XIA *et al.*, 2011).

Existem várias técnicas que podem ser utilizadas para microencapsular substâncias. A seleção do método dependerá da aplicação que será dada à microcápsula, do tamanho desejado, do mecanismo de liberação e das propriedades físicas e químicas, tanto do material ativo, quanto do agente encapsulante (JACKSON; LEE, 1991).

A escolha do agente encapsulante depende de uma série de fatores, entre eles a interação com o material a ser encapsulado, o processo utilizado para a formação da microcápsula e o mecanismo de liberação ideal. Os materiais mais utilizados como agentes encapsulantes são as gomas: arábica, ágar, alginato e carragena; os carboidratos: amido, amidos modificados, dextrinas e sacarose; as celuloses: carboximetilcelulose, acetilcelulose, nitrocelulose; os lipídeos: parafina, mono e diacilgliceróis, óleos e gorduras; os materiais inorgânicos: sulfato de cálcio e silicatos e as proteínas do glúten, caseína, gelatina e albumina (JACKSON; LEE, 1991).

De acordo com Bakan (1973), a liberação dos materiais ativos microencapsulados é influenciada pela variação de temperatura e de pH, solubilidade do meio, biodegradação, difusão, ruptura mecânica, permeabilidade seletiva e gradiente de concentração existente em relação ao meio de liberação.

Entre as técnicas empregadas na elaboração de microcápsulas, estão a coacervação complexa (JUN-XIA *et al.*, 2011), atomização ou *spray drying* (TONON *et al.*, 2011), a geleificação iônica (PASQUALIM *et al.*, 2010), entre outras.

3.3 Microencapsulação por coacervação complexa

A microencapsulação por coacervação complexa é reconhecida como uma técnica promissora na obtenção de micropartículas com um núcleo lipídico. Esse processo pode ser utilizado para alcançar algumas funções desejadas, tais como a preservação de princípios ativos, mascarar sabores, proteger o material encapsulado e facilitar a liberação controlada dos ingredientes. Microencapsular óleos com alto rendimento é de grande interesse para a indústria farmacêutica e de alimentos. O núcleo lipídico permite grandes quantidades de substâncias lipofílicas a serem encapsulados, e

a membrana que recobre o recheio protege o material da oxidação indesejável e controla a taxa de difusão do material através da membrana. Este sistema de partículas é um veículo útil para fármacos lipofílicos e nutracêuticos, bem como para a encapsulação de aromas (NAKAGAWA; NAGAO, 2012).

A coacervação complexa é um fenômeno de separação de fases que ocorre entre líquido-líquido onde existe a mistura de soluções com cargas opostas. Proteínas e polissacarídeos são comumente usados como material de parede para o aprisionamento de materiais ativos, na fase de polímero concentrado. Em particular, a gelatina é amplamente utilizada em combinação com outros polímeros, tais como a goma de acácia, carboximetilcelulose, quitosana e pectina. Estudos recentes têm fornecido suporte para o elevado potencial da coacervação complexa para o estudo de nano funcionais (KRALOVEC *et al.*, 2011; NAKAGAWA; NAGAO, 2012; NORI *et al.*, 2011). O desafio é aumentar os estudos sobre os parâmetros que influenciam na coacervação complexa, assim como desenvolver protocolos padronizados para a melhoria da qualidade de produtos encapsulados (NORI *et al.*, 2011).

O método de coacervação complexa é constituído basicamente por três etapas: a emulsificação, para fazer uma emulsão de óleo em água, uma etapa de coacervação que consiste no revestimento da superfície da gota de óleo através do ajuste do pH da solução e, uma etapa para a fixação da membrana (polímero) através da geleificação do coacervado ou por reticulação química. A técnica é um processo simples, livre de solventes, sendo altamente vantajoso para a fabricação de microcápsulas na indústria (JUN-XIA *et al.*, 2011).

O processo de coacervação complexa é muito influenciado pelo balanço de carga iônica (controlada pelo ajuste do pH) dos polímeros e as condições térmicas durante o processamento. Diante disso, o desenvolvimento de novas abordagens para o controle do pH e da temperatura nos sistemas de coacervação complexa torna-se necessária (KRALOVEC *et al.*, 2011; NORI *et al.*, 2011).

Este método tem sido aplicado com êxito na microencapsulação de substâncias com características lipídicas como, por exemplo, na obtenção de microcápsulas de óleo de peixe, onde foi possível obter microcápsulas com alta eficiência de encapsulação do óleo, eficiência de carga e baixo teor de umidade, além da capacidade de proteger o óleo da oxidação (LIU *et al.*, 2012). Na produção de microcápsulas do óleo essencial de laranja a coacervação complexa possibilitou a preservação do limoneno (JUN-XIA *et*

al., 2011). Outra aplicação da coacervação complexa é na encapsulação de fármacos lipofílicos onde a mesma permitiu a proteção física e melhora da biodisponibilidade oral do material ativo (DONG; BODMEIER, 2006).

3.4 Compostos bioativos e sua ação na saúde

Com a mudança de hábito alimentar da população, o desenvolvimento de doenças como a obesidade, dislipidemias, diabetes, aterosclerose, câncer e doenças neurológicas tem aumentado (KIM *et al.*, 2006). Vários pesquisadores reportam que o envelhecimento está associado a disfunções mitocondriais, a liberação de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio e, subsequentemente, à indução de reações de peróxidos que resultam em danos celulares. Estes eventos patológicos estão envolvidos no processo das doenças degenerativas (ANDARWULAN *et al.*, 2012; FERRARI, 2007; SHAHIDI, 2004; VILELLA *et al.*, 2009).

Atualmente, têm-se despertado na comunidade científica o interesse de buscar novas fontes de tratamentos e/ou moléculas bioativas advindas de produtos naturais. Nessa expectativa, pesquisadores procuram estudar e identificar a ação dos componentes bioativos dos alimentos no organismo. Estudos comprovam que a diversidade de substâncias nutricionais, biologicamente ativas, presentes em alimentos de origem vegetal como ácidos graxos, fibras, compostos fenólicos e vitaminas, são componentes essenciais para prevenir auxiliar no tratamento de várias doenças (ANDARWULAN *et al.*, 2012; QUIRINO *et al.*, 2009; SHAHIDI, 2004; VILELLA *et al.*, 2009).

Os frutos do Cerrado como pequi (*Caryocar brasiliense*), guavira (*Campomanesia* sp.) e lobeira (*Solanum lycocarpum*) possuem atividades terapêuticas comprovadas (MARKMAN *et al.*, 2004; OLIVEIRA *et al.*, 2010; QUIRINO *et al.*, 2009; SARAIVA *et al.*, 2011). Tendo em vista essa área promissora de pesquisa e os recursos naturais ainda pouco explorados no Cerrado Sul-Mato-Grossense, a proposta está pautada em condições inovadoras, sobretudo ligadas aos produtos naturais e dos conhecimentos preconizados pela medicina popular através do uso de plantas e frutos com utilidades terapêuticas.

3.5 Antioxidantes

Antioxidantes são substâncias capazes de neutralizar os radicais livres e prevenir os danos causados por eles. Estas substâncias auxiliam na redução de danos adversos, agindo na desintegração dos oxidantes antes que estes reajam com os alvos biológicos, evitando assim as reações em cadeia ou a ativação do oxigênio a produtos altamente reativos (AZZI; DAVIES, 2004).

Além da função de proteção ao sistema endógeno, a ingestão de compostos bioativos pela dieta é um fator protetor adicional para se manter o equilíbrio do estado redox da célula. Este sistema de proteção antioxidante, endógeno e exógeno, interage entre si e atua sinergicamente para neutralizar os radicais livres (KALIORA *et al.*, 2006).

Atualmente os antioxidantes têm recebido importância por serem potenciais profiláticos e agentes terapêuticos em muitas doenças. A descoberta da relação entre os radicais livres com o câncer, diabetes, doenças cardiovasculares e envelhecimento, fez com que ocorresse uma mudança médica sobre os cuidados com a saúde (WU *et al.*, 2004).

Entre os antioxidantes, alguns são obtidos pela dieta. Estes podem ser classificados em várias classes, sendo que os polifenóis são os maiores constituintes deste grupo. Além dos polifenóis também estão inclusos, as vitaminas, carotenoides, compostos organosulfurados e minerais (LIU, 2004).

Várias classes de substâncias bioativas encontradas naturalmente nos alimentos atuam como antioxidantes no meio biológico, sendo compostos hidrofílicos (compostos fenólicos, vitamina C) e lipofílicos (carotenoides, vitamina E) (TEOW *et al.*, 2007).

Ao lado da ação biológica dos compostos naturais como vitaminas C e E, β -caroteno e outras substâncias químicas de frutas e verduras que funcionam também como antioxidantes estão ganhando importância e com isso cresce cada vez mais o estudo destas como agentes contra a degradação oxidativa (HASSIMOTTO *et al.*, 2005).

3.6 Polifenóis

Várias moléculas que possuem estrutura de polifenol (com grupos hidroxilas nos anéis aromáticos) vêm sendo identificadas (BACCHIOCCA *et al.*, 2006). Estes compostos são metabólitos secundários de plantas e podem ser classificados em diferentes grupos devido ao número de anéis fenólicos que eles contêm e dos elementos estruturais que ligam os anéis uns aos outros. Estes compostos são classificados em ácidos fenólicos, flavonóides, estil benzenos e ligninas (MANACH *et al.*, 2004).

Os flavonóides podem ocorrer como agliconas, glicosídeos ou como parte de outras estruturas que contenham flavonóides, como as flavolignananas, porém frequentemente ocorrem como glicosídeos. Eles podem ser subdivididos em 13 classes, com mais de 5000 compostos (BEHLING *et al.*, 2004).

Atualmente, os polifenóis tem despertado a atenção na área científica, à razão deste interesse esta na sua propriedade antioxidante. Estudos epidemiológicos sugerem a importância dos polifenóis, correlacionando o consumo de frutas e verduras na redução a incidência de doenças degenerativas, o papel na ingestão (VELIOGLU *et al.*, 1998).

Os compostos fenólicos estão presentes na maioria das frutas e verduras e possuem importante função na proteção do organismo contra efeitos prejudiciais dos radicais livres e outras espécies reativas de oxigênio, protegendo desde o código genético (DNA) aos lipídeos e, desta forma, podendo inibir as etapas iniciais de processos carcinogênicos e inflamatórios (SCHLESIER *et al.*, 2002).

Os compostos polifenólicos atuam por mecanismos variados dependendo da sua concentração e do tipo de composto presente no alimento, podendo existir sinergismo ou antagonismo entre os diferentes compostos (HASSIMOTTO *et al.*, 2005).

3.7 Carotenoides

Os carotenoides é uma família de compostos de pigmentos sintetizada por plantas e microorganismos. Frutas e vegetais constituem as principais fontes de carotenoides na dieta humana, sendo responsáveis pelas cores amarelas, laranja e

vermelho. Os carotenoides auxiliam na prevenção de doenças incluindo cardiovascular, câncer e outras doenças crônicas (DEMBINSKA-KIEC, 2005).

Nos últimos anos as propriedades antioxidantes dos carotenoides tem sido grande foco de pesquisas. Mais de 600 carotenoides foram identificados até agora na natureza. No entanto, apenas cerca de 40 estão presentes na dieta humana. Em torno de 90% dos carotenoides na dieta e no corpo humano são representados pelos β -caroteno, α -caroteno, licopeno, luteína e criptoxantina (RAO; RAO, 2007).

Estudos epidemiológicos sugerem uma relação positiva entre maior ingestão alimentar e concentrações teciduais de carotenoides a redução do risco de doenças crônicas. As propriedades antioxidantes dos carotenoides tem sido sugerida, como sendo o principal mecanismo pelo qual eles proporcionam os efeitos benéficos. Estudos recentes estão mostrando também que os carotenoides podem exercer os seus efeitos através de outros mecanismos, tais como a regulação do crescimento celular de genes, modulando resposta de expressão imune e como moduladores da Fase I e II, e enzimas metabolizadoras de fármacos. Vários experimentos *in vitro* e *in vivo* tem demonstrado as propriedades antioxidantes dos carotenoides tais como β -caroteno e licopeno (ASTROG, 1997; BERTRAM, 1999; PAIVA; RUSSELL, 1999).

Quando fibroblastos dérmicos humanos (FEK4) foram expostos à exposição à luz ultravioleta, o β -caroteno foi capaz de suprimir a regulação sobre a expressão do gene heme oxigenase-1 de uma forma dependente da dose. É interessante observar que β -caroteno também tem sido relatado por atuar como um pró-oxidante (ELLIOTT, 2005).

Capítulo IV

Material e Métodos

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Matéria-prima

Os frutos maduros de *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. foram coletados na Fundação MS no município de Maracaju – Mato Grosso do Sul, latitude 21°36'52" e longitude 55°10'06", 384m de altitude, no período de dezembro de 2011 a janeiro de 2012 e transportados para o Laboratório de Tecnologia de Alimentos (LATEC) da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), em Dourados - MS. Os frutos foram selecionados procurando-se obter um lote uniforme quanto ao tamanho e a cor da polpa (amarelo-laranja), lavados e higienizados com solução de dicloroisocianurato de sódio dihidratado 0,66% (teor de cloro ativo 3%). Em seguida os frutos foram descascados, despolpados e retiradas as amêndoas. A polpa foi armazenada a -5°C até seu uso.

4.2 Caracterização do fruto

Foram determinados, em 100 frutos, os diâmetros longitudinal e transversal com auxílio do paquímetro digital (Mitutoyo). A massa do fruto inteiro, da casca (epicarpo), da polpa (mesocarpo), do endocarpo e da amêndoa, foram pesados em balança analítica eletrônica (Shimadzu-AUY220).

Na polpa foram realizadas as análises de pH, determinado em potenciômetro digital, sólidos solúveis totais (SST) por refratometria, acidez total titulável (ATT) determinada por titulação com solução de NaOH 0,1N, umidade por gravimetria em estufa a 105°C até peso constante, teor de lipídeos determinado pelo método de Soxhlet, resíduo mineral fixo por gravimetria em mufla a 550°C e, carboidratos de acordo com os métodos descritos pelo Instituto Adolfo Lutz (2008). A fibra bruta foi quantificada por hidrólise ácida e alcalina e o teor de proteínas a partir da quantificação do nitrogênio total, determinado pelo método microKjeldahl (AOAC, 1984).

Os teores de minerais foram avaliados nas amostras trituradas e homogeneizadas, preparadas de acordo com metodologia descrita por Salinas e Garcia (1985), com digestão orgânica. Na digestão orgânica, as amostras foram tratadas com uma mistura de ácido clorídrico e peróxido de hidrogênio, ambos concentrados, em alta temperatura, e os macro e microelementos presentes foram solubilizados, submetidos a diferentes tratamentos e diluídos para posterior avaliação quantitativa. A quantificação dos elementos foi realizada por espectrofotometria, utilizando-se de curva padrão para cada mineral. Para determinação da concentração de cálcio, ferro, magnésio, manganês, zinco e cobre, empregou-se espectrofotômetro de absorção atômica (Varian-AA240FS) e gás acetileno. Utilizou-se fotômetro de chama para determinação de potássio.

4.3 Extração do óleo e caracterização

A extração do óleo a partir da polpa foi feita por prensagem a frio em prensa tipo “*expeller*” modelo MPE-40P (Ecirtec). A polpa foi previamente desidratada a 40°C em secadora de bandeja (NG Científica) com fluxo de ar de 0,5 m/s durante 72 horas. Depois de extraídos, os óleos foram centrifugados a 15000 rpm por 15 minutos.

A caracterização dos ácidos graxos presentes no óleo foi realizada no Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL). A transmetilação foi realizada de acordo com o método de Hartman e Lago (1973), usando solução de cloreto de amônia e ácido sulfúrico em metanol como agente esterificante. As amostras tratadas foram analisadas em cromatógrafo a gás, equipado com amostrador automático; injetor *split*, razão 75:1; coluna capilar CP-SIL 88 (100m x 0,25 mm i.d., 0,20 mm de filme); detector por ionização em chama (FID). As condições cromatográficas foram: temperatura inicial 120°C/2minutos, aquecimento de 120°C a 220°C numa escala de 2,2 °C/minutos e de 220 a 235°C; gás de arraste, hidrogênio (vazão de 1 mL/minuto); gás “make-up”, nitrogênio a 30 mL/minuto; temperatura do injetor, 270°C; temperatura do detector, 310°C; volume de injeção 1 mL. A identificação dos ácidos graxos foi realizada através da comparação do tempo de retenção dos ácidos graxos da amostra e padrões e co-cromatografia. A quantificação foi realizada por normalização de área e os resultados foram expressos em g/100g de amostra.

4.4 Compostos bioativos

4.4.1 Polifenóis totais

Para a determinação de polifenóis totais, utilizou-se o método de Folin-Ciocalteu (GEORGE *et al.*, 2005) com algumas modificações. Foram preparados extratos a partir da mistura de 10 g do material (polpa ou óleo), para as microcápsulas foi utilizada a massa de 5 g, com 50 mL de solvente (acetona 70%) e incubados por 30 minutos sob agitação a 100 rpm a 25 °C. Em seguida, foram centrifugados a 15000 rpm por 15 minutos para separação das fases. O sobrenadante foi retirado e considerado amostra para a análise. Os extratos, assim obtidos foram diluídos com água destilada para obter absorvâncias entre 0,200 – 0,800. Em tubos de ensaio, foram colocados 0,5 mL do extrato diluído + 2,5 mL de solução aquosa do reativo de Folin-Ciocalteu (10%) + 2,0 mL de solução aquosa de carbonato de sódio (7,5%), os quais foram incubados em banho-maria a 50°C por 15 minutos, logo resfriados com banho de gelo e realizadas as leituras de absorvância em espectrofotômetro (Varian - Cary 50) a 760 nm. Antes das análises, o equipamento foi calibrado com água destilada. A quantidade total de fenóis de cada extrato foi quantificada por meio de curva padrão preparada com ácido gálico usado como padrão nas seguintes concentrações: 25, 35, 45, 55 e 65 mg/μL. As leituras foram realizadas em triplicata. Os valores das absorvâncias em função da concentração foram plotados em um gráfico e a partir da equação da reta obtida da linearização dos dados, foram obtidos os valores das constantes **a** e **b** e substituídos na Equação 1 para o cálculo do teor de polifenóis totais.

$$TPT = \frac{(Abs - b) / a}{m_{amostra}} \quad \text{Equação (1)}$$

Onde *Abs* é a absorvância média da amostra, $m_{amostra}$ é a massa da amostra considerando a diluição utilizada (g) e *a* e *b* são as constantes obtidas da linearização

dos dados da curva padrão. Os resultados foram expressos como equivalente de ácido gálico em mg/100g de amostra em base úmida.

4.4.2 Carotenoides totais

Para a determinação de carotenoides totais da polpa, do óleo e das microcápsulas foram utilizados 1,5 g a 5 g de amostra em almofariz, maceradas com 50 mL de acetona resfriada. Filtrou-se amostra com funil de Buchner, repetindo as operações de maceração e filtração até o desaparecimento completo da cor. Os carotenoides totais extraídos foram transferidos para um funil de separação com 40 mL de éter de petróleo. O extrato contendo os carotenoides foi adicionado ao funil, lavando com água destilada, para retirar a acetona, por meio da separação em duas fases, uma superior de éter de petróleo com os carotenoides, e uma inferior de água mais acetona. Descartou a camada inferior e continuou a lavagem até terminar de passar toda a solução de carotenoides. Quando todo o pigmento ficou contido no éter lavou-se a solução mais 4 vezes com água destilada, para que toda a acetona fosse retirada. Recolheu a solução de carotenoides em balão de 50 mL recoberto com papel alumínio para a preservação dos carotenoides. Os extratos foram avaliados através de espectrometria utilizando a absorvância de 450 nm (β -caroteno).

Para calcular a concentração de carotenoides totais (Ct) utilizou-se a Equação 2.

$$Ct \left(\frac{\mu g}{g} \right) = \frac{Abs \times V \times 10^4}{E_{1cm}^{1\%} \times m_{amostra}} \quad \text{Equação (2)}$$

Onde, *Abs* é a absorvância no pico máximo de absorção, *V* é o volume final da amostra (mL), *m_{amostra}* é a massa da amostra (g), $E_{1cm}^{1\%}$ é o coeficiente de extinção (β -caroteno = 2592 em éter de petróleo (RODRIGUEZ-AMAYA, *et al.* 2010)).

4.4.3 Determinação da atividade antioxidante pelos métodos de DPPH• e ABTS•

Para avaliar a capacidade antioxidante da polpa foi obtido o extrato a partir da mistura de 5 g do material com 40 mL de solução de metanol 50 %, homogeneizado e deixado em repouso por 60 minutos a 25°C, em seguida centrifugado a 15000 rpm por 15 minutos. O sobrenadante foi transferido para um balão (100 mL), adicionando-se 40 mL de acetona (70%). Para obtenção do extrato do óleo e microcápsulas foi utilizado acetona P.A, pois a mesma apresentou melhor miscibilidade para o óleo da bocaiuva quando comparado com o metanol. Após homogeneização, incubou-se por 60 minutos a 25°C e, novamente, foi centrifugado a 15000 rpm por 15 minutos. Os sobrenadantes das duas extrações foram misturados e completado o volume com água destilada.

Para a determinação da atividade antioxidante pelo método de DPPH• foi preparada a curva padrão com a solução de DPPH• em diferentes concentrações (0, 10, 20, 30, 40, 50 e 60 µM). Logo, o extrato da amostra foi diluído com água destilada, obtendo-se diferentes concentrações. Para a leitura no espectrofotômetro (515 nm) foram misturados 0,1 mL do extrato diluído com 3,9 mL de solução metanólica de DPPH•. Foi realizado o mesmo procedimento para a leitura da solução controle (acetona/água/metanol). As análises foram realizadas em triplicata. Os resultados foram expressos em g amostra (polpa, óleo)/g DPPH•.

Para determinar a capacidade de eliminar os radicais livres de ABTS•, utilizou-se o método descrito por Rufino *et al.* (2010). Foi preparado o oxidante (persulfato de potássio 2,45 mM) com o ABTS• e incubou-se no escuro por 12 a 16 horas, a solução foi então diluída até uma absorbância de $0,7 \pm 0,01$ em 734 nm para formar o reagente de teste. As misturas reacionais contendo 30 µL de amostra e 3 mL de reagente foram incubadas 30°C durante 6 minutos e as leituras de absorbância realizadas a 734 nm. Foi preparada uma curva padrão utilizando o Trolox como padrão em diferentes concentrações (100, 500, 1000, 1500 e 2000 µM). A percentagem de inibição foi calculada em relação à curva padrão de Trolox. Os resultados foram expressos em µg Trolox/g de amostra. O espectrofotômetro foi previamente calibrado com etanol P.A. As análises foram realizadas em triplicata.

4.5 Processo de microencapsulação por coacervação complexa

Após ensaios preliminares e através de outros trabalhos descritos na literatura, as microcápsulas foram produzidas de acordo com método descrito por Alvim e Grosso (2010) empregando o delineamento fatorial completo (Tabela 1). As microcápsulas foram produzidas utilizando como materiais de parede soluções de gelatina e goma arábica na concentração de 2,5 %. Para a formação do recheio, foi usado o óleo de bocaiuva, nas concentrações de 5 g, 7,5 g e 10 g, onde a solução de gelatina a 40, 60 e 50°C foi misturada ao óleo de bocaiuva (recheio) e homogeneizada em Ultraturrax durante 1 minuto (a 12000, 15000 e 18000 rpm de velocidade). A emulsão foi adicionada à solução de goma arábica a 40, 60 e 50°C, em seguida, foi adicionada 400 mL de água deionizada à mesma temperatura (40, 60 e 50°C) mantendo-se todo o processo sob agitação. O pH foi ajustado até atingir pH 4.0, utilizando-se soluções de HCl 2,5 e 0,1 N. Após o ajuste de pH foi feito o resfriamento das soluções contendo as microcápsulas, utilizando banho de gelo para o resfriamento gradual do sistema, mantido sob agitação magnética lenta e constante, até que a temperatura atingisse aproximadamente 10°C. Após as microcápsulas decantarem o sistema foi mantido em geladeira. Todos os ensaios foram realizados em triplicata totalizando 27 ensaios.

Tabela 1. Delineamento fatorial completo com três variáveis (recheio, temperatura e velocidade de homogeneização) para a microencapsulação do óleo de bocaiuva em triplicata.

Variáveis (Repetição 1)				Variáveis (Repetição 2)				Variáveis (Repetição 3)			
Ensaio	Recheio (g)	Temp. (°C)	Vel. (rpm)	Ensaio	Recheio (g)	Temp. (°C)	Vel. (rpm)	Ensaio	Recheio (g)	Temp. (°C)	Vel. (rpm)
1	5	40	12000	10	5	40	12000	19	5	40	12000
2	10	40	12000	11	10	40	12000	20	10	40	12000
3	5	60	12000	12	5	60	12000	21	5	60	12000
4	10	60	12000	13	10	60	12000	22	10	60	12000
5	5	40	18000	14	5	40	18000	23	5	40	18000
6	10	40	18000	15	10	40	18000	24	10	40	18000
7	5	60	18000	16	5	60	18000	25	5	60	18000
8	10	60	18000	17	10	60	18000	26	10	60	18000
9	7,5	50	15000	18	7,5	50	15000	27	7,5	50	15000

4.5.1 Rendimento

O rendimento do processo de microencapsulação foi calculado através do peso das fases obtidas, após o repouso mínimo de 12 horas em geladeira a 4 °C. Após a coacervação, as cápsulas produzidas e precipitadas, e após o repouso, centrifugadas em velocidade (15000 rpm/ 5 minutos) para acelerar o processo de compactação, separadas e pesadas. O conteúdo de umidade das micropartículas foi determinado gravimetricamente (AOAC, 1984). O rendimento do processo de microencapsulação foi calculado como porcentagem de material seco precipitado em relação à massa seca inicial (massa dos polímeros em base seca + o recheio oleoso utilizado).

4.5.2 Eficiência da encapsulação

A eficiência da encapsulação (EE) do óleo da bocaiuva foi determinada através da quantificação do óleo presente nas microcápsulas em relação à quantidade original utilizada para a produção das partículas e expressas percentualmente. Foi calculada como a quantidade de óleo recuperada por grama de cápsula em relação à massa do óleo inicialmente inserido (Equação 3). A quantidade de recheio encapsulada pelas micropartículas coacervadas produzidas, segundo o delineamento fatorial completo, foi determinada pelo teor de lipídeos totais, de acordo com o método Bligh e Dyer com algumas adaptações.

$$EE (\%) = \frac{\text{óleo (g) / partícula em base seca (g)}}{\text{óleo (g) / sólido total inicial (g)}} \times 100 \quad \text{Equação (3)}$$

4.5.3 Tamanho e distribuição das microcápsulas

A determinação do tamanho e a distribuição das microcápsulas úmidas foram realizadas seguindo a técnica da análise de imagem por microscopia ótica, no Laboratório de Insetos e Vetores da FCBA/UFGD. Foram analisadas 150 microcápsulas de cada ensaio, em microscópio óptico (Nikon Eclipse – 200), equipado com software Image Pro Plus 4.0 para obtenção das imagens. As lâminas contendo as microcápsulas foram cuidadosamente preparadas e os campos de contagem foram aleatoriamente distribuídos de modo a varrer toda a lâmina, a observação e captação das imagens foram realizadas em objetiva de 10x. Partículas visivelmente aglomeradas foram excluídas da quantificação.

4.6 Análise biológica

Foram utilizados ratos da linhagem *Wistar* machos (200-300 g), mantidos no Biotério Setorial da Faculdade de Ciências da Saúde (FCS) da UFGD em temperatura controlada ($22 \pm 2^\circ\text{C}$), ciclo claro/escuro de 12 horas e com livre acesso a água e ração. Os animais foram retirados do biotério e mantidos no laboratório para adaptação por um período de pelo menos 1 h antes do início dos experimentos, sendo utilizados somente uma vez em cada teste. Os experimentos foram conduzidos de acordo com as orientações para os cuidados com animais de laboratório e considerações éticas com os protocolos experimentais aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais CEUA/UFGD (Nº do Processo 005/2010 e 016/2012). Para avaliação biológica do óleo de bocaiuva microencapsulado, foram escolhidos as formulações dos ensaios 7 (EE=97%), 8 (EE=94%) e 9 (EE=93%), pois os mesmos apresentaram maior eficiência de encapsulação.

4.6.1 Pleurisia

Grupos distintos de ratos foram tratados por via oral (1 hora antes da pleurisia) nas doses de 100, 300 ou 700 mg/kg com óleo *in natura* e o veículo (solução

fisiológica+tween). No grupo controle positivo, foi administrado dexametasona na dose de 1 mg/kg por via subcutânea (60 minutos antes da pleurisia).

A pleurisia foi induzida por injeção de 0,25 mL de uma suspensão de carragenina (200 µg) na cavidade intrapleural, de acordo com a técnica descrita por Kassuya *et al.* (2009). Um grupo denominado naive foi tratado apenas com a solução salina e não recebeu carragenina (Cg) intrapleural. A Cg foi diluída em solução salina tamponada com fosfato (pH 7,4) e injetada após uma hora dos tratamentos com óleo e dexametasona. Quatro horas após a indução de pleurisia, os animais foram eutanasiados utilizando cetamina e xilasina e após anestesia com decapitação com guilhotina, o exsudato inflamatório foi coletado. O volume de exsudato foi medido, onde uma alíquota de 50 µL foi diluída em solução de Turk (1:20v/v) e usada para determinar o número total de leucócitos em câmara de Neubauer. Além disso, foi realizado no exsudato a dosagem de proteínas totais pelo métodos de Bradford (Bradford, 1976).

4.6.2 Edema de Pata

Grupos distintos de ratos da linhagem *Wistar* foram tratados por via oral com o óleo *in natura* e com o óleo microencapsulado Ensaio 7 (EE=97%), Ensaio 8 (EE=94%) e Ensaio 9 (EE=93%) 1 hora antes do edema na dose de 300 mg/kg e com veículo e dexametasona (Dex, 1 mg/kg). Após uma hora, os animais receberam, na pata direita, uma injeção intraplantar (i.pl) com 100 µL de salina estéril (veículo) contendo carragenina (Cg - 300 µg). A pata esquerda recebeu o mesmo volume do veículo. Depois de 30, 60, 120 e 240 minutos após a injeção de Cg, ambas as patas foram medidas com auxílio de um micromêtro digital (Digimess) e pela a diferença entre as duas patas mensurou-se o edema.

4.6.3 Estudo para a avaliação da atividade diurética

A avaliação da atividade diurética foi realizada de acordo com a metodologia de Kau *et al.*, (1984). Utilizaram-se cinco grupos diferentes de animais (n=5/por grupo), sendo mantidos em gaiolas metabólicas por um período de adaptação de 6 horas, e seguidas 12 horas de jejum. No início dos experimentos os animais receberam uma sobrecarga de solução salina (NaCl 0,9%) à 5% da massa de cada animal. Após 45 minutos da administração da sobrecarga, os diferentes grupos foram tratados com os respectivos tratamentos; grupo controle recebeu solução salina; grupo extrato recebeu óleo nas doses de 100, 300 e 700 mg/kg, para as microcápsulas Ensaio 7 (EE=97%), Ensaio 8 (EE=94%) e Ensaio 9 (EE=93%) foi utilizada dose de 300 mg/kg e grupo controle positivo recebeu furosemida na dose de 10 mg/kg. Após a realização de todas as administrações o volume da excreção urinária foi avaliado durante 8 horas, em diferentes tempos (1, 2, 4, 6 e 8 horas).

4.7 Análise estatística

Os resultados do rendimento do óleo de bocaiuva, da caracterização das microcápsulas, da avaliação dos compostos bioativos e a análise biológica foram submetidos à análise de variância (ANOVA), e para comparação entre as médias foi utilizado o teste de Tukey ($p < 0,05$). Nas análises farmacológicas as diferenças entre os grupos foram analisadas por análise de variância (ANOVA de uma via) seguida pelo teste de Student-Newman-Keuls, ao nível de 5% (*), 1% (**) e 0,1 % (***)

Capítulo V

Resultados e Discussão

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Características físicas e nutricionais do fruto

A Tabela 2 apresenta as características biométricas dos frutos. Os diâmetros transversal e longitudinal caracterizam formato arredondado. A polpa da bocaiuva apresentou 49% da massa do fruto inteiro ($22,07 \pm 3,69\text{g}$), o que indica a possibilidade para o aproveitamento tecnológico e sua utilização na agroindústria. As outras partes do fruto inteiro representam 19,12% casca, 24,28% endocarpo e 6,25% amêndoa. Esses valores são semelhantes aos obtidos por outros autores (CHUBA; SANJINEZ-ARGANDOÑA, 2011, HIANE *et al.*, 2006) para a mesma espécie.

Tabela 2. Características biométricas do fruto da *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd.

Característica biométrica	*Média \pm DP	Valores de referência	
		Hiane <i>et al.</i> , (2006)	Chuba; Argandoña, (2011)
Diâmetro transversal (mm)	$34,17 \pm 2,32$	-	$33,39 \pm 1,26$
Diâmetro longitudinal (mm)	$34,68 \pm 2,62$	-	$34,68 \pm 1,55$
Fruto inteiro (g)	$22,07 \pm 3,69$	$21,83 \pm 2,48$	$21,83 \pm 1,49$
Casca (g)	$4,22 \pm 1,00$	$4,68 \pm 1,07$	$4,54 \pm 0,48$
Polpa (g)	$11,00 \pm 2,19$	$9,61 \pm 1,17$	$8,98 \pm 1,07$
Semente (g)	$5,36 \pm 0,97$	$6,72 \pm 1,23$	$8,31 \pm 0,61$
Amêndoa (g)	$1,38 \pm 0,44$	$0,83 \pm 0,23$	$1,35 \pm 0,09$

* Valor médio de 100 frutos e desvio padrão (DP)

A composição nutricional, acidez, pH e atividade de água da polpa são mostradas na Tabela 3. Os componentes majoritários foram os lipídeos ($23,62 \pm 1,10$ %) e as fibras ($13,89 \pm 1,00$ %). De modo geral, os frutos de palmeiras como licuri (*Syagrus coronata* (Martius) Beccari), guariroba (*Syagrus oleracea*) e pindó (*Syagrus*

romanzoffiana) apresentam alto teor de lipídeos (COIMBRA; JORGE, 2011; CREPALDI *et al.*, 2001). O conteúdo de proteínas, embora menos expressivo, foi superior ao encontrado por Hiane *et al.* (2006) e Silva *et al.* (2008), para a mesma espécie.

Através da caracterização nutricional da polpa da bocaiuva pode-se observar a quantidade de lipídeos totais 23,62 %, que foi fator importante na microencapsulação, visto que a técnica de coacervação complexa é indicada para substâncias lipídica e a escolha da técnica de microencapsulação depende no material ativo a ser encapsulado (SHINDE; MANGAL, 2011).

Tabela 3. Componentes nutricionais, acidez, pH e atividade de água da polpa do fruto da *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd.

Componentes	Média ± DP	Valores de referência	
		Hiane <i>et al.</i> (2006)	Silva <i>et al.</i> (2008)
Umidade (%)	48,76 ± 1,92	52,99 ± 2,88	34,32 ± 0,13
Resíduo mineral fixo (%)	1,50 ± 0,23	1,51 ± 0,06	1,78 ± 0,02
Lipídeos (%)	23,62 ± 1,10	8,14 ± 1,45	14,93 ± 0,21
Proteínas (%)	5,31 ± 0,77	1,50 ± 0,04	2,76 ± 0,21
Açúcares (%)	6,92 ± 1,26	9,54 ± 2,48	35,06 ± 0,40
Fibras (%)	13,89 ± 1,00	13,73 ± 4,07	11,14 ± 0,33
Ácido Ascórbico (mg/100g)	15,41 ± 0,34	-	-
Acidez titulável (%)	0,27 ± 0,03	-	-
pH	6,00 ± 0,00	-	-
Atividade de Água	0,988 ± 0,00	-	-

DP = desvio padrão

Os frutos são caracterizados como levemente ácidos por apresentar pH 6,0 e baixa acidez (0,27%), sendo esses resultados semelhantes aos encontrados por Chuba e Argandoña (2011). O conhecimento desses parâmetros é importante para promover a microencapsulação do óleo extraído da polpa, visto que as características do sistema como o pH, intervém na produção das microcápsulas (SINGH *et al.*, 2010).

O teor de ácido ascórbico (15,41 mg/100g) foi superior ao licuri (*Syagrus coronata* (Martius) Beccari), que apresentou traços de vitamina C (CREPALDI *et al.*, 2001) e, superior ao buriti (0,7 mg/100g) e bacuri (0,5 mg/100g) quantificados por Barreto *et al.* (2009).

As variações encontradas em frutos da mesma espécie podem ser atribuídas ao tipo de solo, condições climáticas, período de coleta e outros fatores edafoclimáticos (KIM *et al.*, 2003).

Na Tabela 4 estão apresentados os resultados da composição de minerais encontrados na polpa de bocaiuva.

Tabela 4. Teores de minerais na polpa da bocaiuva *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd.

Minerais	Média ± Desvio padrão
Macronutriente	
Cálcio (mg/g)	1,13 ± 0,03
Magnésio (mg/g)	1,23 ± 0,02
Potássio (mg/g)	3,32 ± 0,00
Micronutriente	
Cobre (µg/g)	1,37 ± 0,01
Manganês (µg/g)	3,21 ± 0,02
Ferro (µg/g)	41,34 ± 0,06
Zinco (µg/g)	<LQ*

Dados apresentados com média ± desvio-padrão de três replicatas. <LQ* Limite de Quantificação = 3,33 µg/g (Zn)

Dentre os elementos macronutrientes analisados, o que apresentou maior concentração foi o potássio, seguido do magnésio e do cálcio (Tabela 4). Comparando os teores de minerais da polpa com os obtidos por Ramos *et al.* (2008), observou-se que o teor do cálcio foi superior (0,62 mg/g).

Embora a concentração de minerais seja menor que a ingestão diária recomendada para adultos (ANVISA, 1998), a polpa da bocaiuva pode ser considerada fonte de minerais, pois apresentou teores significativos de alguns micronutrientes como

o cobre, ferro e manganês, estes participam de importantes vias de transporte de proteínas, corroborando com a importância da ingestão desses micronutrientes. Por outro lado a deficiência de minerais tem sido apontada como causas favoráveis para diversas doenças crônicas (BA *et al.*, 2009).

Os principais eletrólitos celulares no corpo humano são sódio, potássio, magnésio, fosfato e em menor quantidade o cálcio que são facilmente fornecidos pela ingestão de frutas bem como a ingestão de leite e seus derivados (CLERICI; CARVALHO-SILVA, 2011). Neste contexto, este estudo fornece informações que aumentam as perspectivas de consumo da bocaiuva, e possibilitam a prevenção de desnutrição e doenças degenerativas.

5.2 Composição dos ácidos graxos

Os ácidos graxos encontrados no óleo da polpa da bocaiuva são apresentados na Tabela 5. Para efeito de comparação, foram caracterizados os ácidos graxos do óleo obtido por prensagem (a frio) e com solvente hexano. O óleo da polpa da bocaiuva foi constituído de ácidos graxos saturados (25,01%) e de ácidos graxos insaturados (74,99%), dos quais 68,51% foram monoinsaturados e 6,48% poliinsaturados.

Os ácidos graxos insaturados desempenham importantes funções como, por exemplo, na manutenção do sistema imunológico em processos inflamatórios (MENENDÉZ *et al.*, 2006; WEATHERILL *et al.*, 2005) e ação antimicrobiana (DEBMANDAL; MANDAL, 2011). Os valores encontrados no óleo de bocaiuva sugerem ação efetiva nessas patologias.

Tabela 5. Composição dos ácidos graxos do óleo da polpa de *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd.

Ácidos Graxos (%)	Óleo extraído da polpa do fruto Por prensagem
Ácido caprótico (C 6:0)	0,13
Ácido caprílico (C 8:0)	0,14

Ácido cáprico (C 10:0)	0,10
Ácido láurico (C 12:0)	0,59
Ácido mirístico (C 14:0)	0,39
Ácido pentadecanóico (C 15:0)	0,03
Ácido palmítico (C 16:0)	20,11
Ácido palmitoléico (C 16:1)	2,56
Ácido margárico (C 17:0)	0,08
Ácido heptadecenóico (C 17:1)	0,11
Ácido esteárico (C 18:0)	3,09
Ácido oleico (C 18:1)	65,68
Ácido linoleico (C 18:2)	5,46
Ácido alfa-linolênico (C 18:3)	1,02
Ácido araquídico (C 20:0)	0,21
Ácido gadoléico (C 20:1)	0,16
Ácido behênico (C 22:0)	0,06
Ácido lignocérico (C 24:0)	0,08
<hr/>	
Ácidos graxos saturados (%)	25,01
Ácidos graxos monoinsaturados (%)	68,51
Ácidos graxos poliinsaturados (%)	6,48
<hr/>	

Na Tabela 5 observa-se que predominam ácido oléico, ácido palmítico e ácido palmitoléico. Os ácidos graxos poliinsaturados predominantes na polpa foram o ácido linoleico (5,46%) e o ácido linolênico (1,02%). Santos *et al.* (1996) em óleo de *Cocos nucifera* (Arecaceae), obtiveram valores de 7,18% para o ácido linoleico e de 1,59% para o ácido linolênico, os quais são próximos aos encontrados neste estudo. Ao óleo de *Cocos nucifera* tem sido atribuído propriedades medicinais como antibacteriana, antifúngica, antiviral, antiparasitária, antioxidante, hipoglicêmica, imunoestimulante e hepatoprotetora, correlacionadas aos ácidos graxos (DEBMANDAL; MANDAL, 2011).

O ácido graxo linoleico representa a família ômega 6 (ω -6) e é essencial na dieta, sua falta no organismo resulta em sintomas clínicos adversos, como erupção cutânea escamosa e crescimento reduzido. É precursor do ácido araquidônico, componente da membrana de lipídeos estruturais (THE NATIONAL ACADEMIES PRESS, 2005). O ácido linolênico, da família ômega 3 (ω -3), é precursor do ácido eicosapentenoico e do ácido docosahexenoico. A falta do ácido linolênico na dieta pode resultar em anormalidades neurológicas e crescimento deficiente. Os ácidos linoleico e linolênico, entre outras funções, são importantes na formação de prostaglandinas, tromboxanos, prostaciclina e leucotrienos, que desempenham papel importante na

mediação de reações imunológicas alérgicas e inflamatórias (BORA; MOREIRA, 2003; THE NATIONAL ACADEMIES PRESS, 2005), diante disso, as quantidades encontradas na polpa da bocaiuva reforçam a importância na saúde humana.

5.3 Avaliação dos compostos bioativos

O conteúdo de polifenóis totais dos extratos obtidos pelo método de Folin-Ciocalteu apresentam valores para a polpa de 690 mg de ácido gálico/100g de polpa, e o óleo de 3,90 mg de ácido gálico/100g de óleo da bocaiuva. Rufino *et al.* (2010) encontraram valores de polifenóis totais de 755 mg EAG/100 g de polpa de juçara, 454 mg EAG/100g de polpa de açaí e 338 mg EAG/100g de polpa de carnaúba, todos pertencentes à mesma família. Diante disso, a polpa de bocaiuva apresenta elevado conteúdo de polifenóis em relação aos frutos de *Arecaceae*.

Com base nos resultados, vale salientar que os compostos fenólicos desempenham papel importante na promoção da saúde e na prevenção de doenças relacionadas com a diferenciação celular, desativação da pro-carcinogênese, manutenção do DNA, reparação de N-nitrosaminas e no metabolismo do estrogênio. Seu efeito antioxidante está relacionado com a sua capacidade sequestrar radicais livres (SHAHIDI, 2004).

No que se refere aos carotenoides totais a polpa apresentou 229,01 µg/g em massa seca da polpa desidratada e o óleo 364,43 µg/g de óleo extraído da polpa desidratada. O conteúdo de carotenoides na polpa foi menor devido ao teor de umidade, à presença de fibras e outros constituintes. No geral, as frutas das *palmáceas* são fontes de carotenoides (COIMBRA; JORGE, 2011; CREPALDI *et al.*, 2001; HIANE *et al.*, 2003).

Visto que os carotenoides são tidos como potentes agentes na redução do risco de câncer, inflamação e no tratamento da aterosclerose (RODRIGUES-AMAYA *et al.*, 2008; XU *et al.*, 2012). Essas atividades fisiológicas têm sido atribuídas às suas propriedades antioxidantes, especificamente, à capacidade de sequestrar o oxigênio singlete e interagir com os radicais livres (RODRIGUES-AMAYA *et al.*, 2008). No Brasil, conforme portaria nº 33, de 13 de janeiro de 1998 da ANVISA, o Ministério da

Saúde recomenda a ingestão diária de 4,8 mg de β -caroteno (BRASIL, 1998). Evidências científicas têm mostrado que os nutrientes essenciais e os compostos bioativos parecem complementar-se, auxiliando na redução do risco de doenças degenerativas (FINLEY, 2005).

5.3.1 Capacidade antioxidante

O sequestro de radicais livres é um dos mecanismos reconhecidos pelo qual ocorre a ação dos antioxidantes. O método de sequestro do radical livre DPPH• ou ABTS• pode ser utilizado para avaliar a atividade antioxidante de compostos específicos ou de um extrato em curto período de tempo (PRADO, 2009). Diante disso ambos os métodos foram empregados para avaliar a capacidade antioxidante da polpa e óleo da bocaiuva.

O potencial dos diferentes extratos (polpa e óleo) da bocaiuva em sequestrar radicais livres foi expresso como concentração final do extrato necessária para inibir a oxidação de 50% do radical DPPH•. Para o radical ABTS• os valores são expressos como a capacidade antioxidante equivalente a 1 mM do Trolox, e os resultados estão apresentados na Tabela 6.

Tabela 6. Capacidade antioxidante, pelo método DPPH• e ABTS•, da polpa e óleo de bocaiuva.

Análises	Polpa	Óleo
DPPH• (g de amostra/g DPPH)	13,19	67,86
ABTS• (μ g Trolox/g de amostra)	10,61	184,65

*Resultados apresentados em base seca.

A polpa da bocaiuva apresentou maior inibição ao DPPH• em relação ao óleo. Entretanto, os valores obtidos pelo método ABTS• indicam que o óleo apresenta maior

atividade antioxidante. Isto pode ser explicado porque no ensaio com DPPH• se utilizou metanol (50%) como solvente, conforme descrito na metodologia (RUFFINO *et al.* 2010). No entanto, Castelo-Branco e Torres (2011), indicam que são necessárias adaptações para amostras lipídicas, visto que o metanol é um solvente polar, sugerindo o uso de acetato de etila. No método ABTS• foi utilizada a acetona P.A para a obtenção do extrato, o que favoreceu a miscibilidade do óleo e, conseqüentemente à melhor extração verificada pelos valores obtidos da capacidade antioxidante.

Contudo, Rufino *et al.* (2010) avaliando a capacidade sequestradora de radicais livres de extratos da polpa de açaí (*Euterpe oleracea*) e de jussara (*Euterpe edulis*) obtiveram valores de 598 e 606 g/g DPPH•, respectivamente. Desta forma, o estudo indica alto potencial antioxidante nos extratos da bocaiuva.

Componentes bioativos como fenólicos, carotenoides e flavonóides são importantes antioxidantes (FINLEY, 2005). Park *et al.*, (2011), verificaram uma forte correlação entre atividade antioxidante e os compostos fenólicos. No entanto, ações sinérgicas de outros compostos antioxidantes presentes nos extratos não podem ser descartadas. Até o momento não foram encontrados trabalhos científicos que relatem a atividade antioxidante da bocaiuva. Os frutos de bocaiuva podem ser uma boa fonte de compostos antioxidantes. Contudo é necessária a caracterização das substâncias que apresentam capacidade antioxidante, assim como, estudos *in vivo* para elucidar os mecanismos de ação.

5.4 Microencapsulação

5.4.1 Obtenção das micropartículas coacervadas

Na Tabela 7 são apresentados o rendimento a eficiência da encapsulação e o tamanho das microcápsulas de óleo de bocaiuva obtidas a partir do delineamento fatorial completo, os experimentos foram realizados em triplicata totalizando 27 ensaios, os resultados estão expressos com os valores da média de cada ensaio.

A coacervação complexa ocorre em condições extremamente específicas para que os pares poliméricos tenham balanço de cargas produzidas, entre outros fatores, como pelo ajuste fino do pH, obtendo-se alto rendimento de microcápsulas. Assim, o coacervado é formado na forma de precipitado e esse precipitado é o responsável pelo aprisionamento do óleo na fase coacervada.

Embora não tenha sido observado efeito individual significativo das variáveis estudadas (Tabela 7) (recheio, temperatura e velocidade de homogeneização), o maior rendimento da microencapsulação (99,02%) foi obtido nas condições de 7,5 g de recheio, 50°C e 15000 rpm (Ensaio 9). Contudo, não houve diferença significativa entre os rendimentos obtidos para os ensaios 2, 4, 5, 7, 8 e 9. No entanto, sugerem que a formação de microcápsulas depende da tensão superficial, que por sua vez dependem da intensidade da agitação (PRATA, 2006).

Tabela 7. Rendimento e eficiência da microencapsulação e tamanho das microcápsulas do óleo de bocaiuva obtidas por coacervação complexa, em diferentes condições de processo.

Variáveis				Respostas		
Ensaio	Recheio (g)	Temperatura (°C)	Velocidade (rpm)	Rendimento (%)	Eficiência da encapsulação (%)	Tamanho (µm)
1	5 (-1)	40 (-1)	12000 (-1)	69,55 ± 8,46 ^{ac}	68,44 ± 1,00 ^a	238,51 ^a
2	10 (1)	40 (-1)	12000 (-1)	94,65 ± 7,06 ^{bd}	89,92 ± 2,14 ^{bc}	384,99 ^a
3	5 (-1)	60 (1)	12000 (-1)	82,24 ± 2,74 ^{ab}	86,41 ± 2,77 ^b	277,14 ^a
4	10 (1)	60 (1)	12000 (-1)	88,25 ± 5,92 ^{bd}	59,77 ± 1,37 ^e	382,65 ^a
5	5 (-1)	40 (-1)	18000 (1)	90,05 ± 4,72 ^{bd}	87,67 ± 2,14 ^b	439,18 ^a
6	10 (1)	40 (-1)	18000 (1)	64,50 ± 1,89 ^c	76,36 ± 1,53 ^f	639,57 ^b
7	5 (-1)	60 (1)	18000 (1)	95,89 ± 3,15 ^d	97,86 ± 1,29 ^d	265,91 ^a
8	10 (1)	60 (1)	18000 (1)	96,61 ± 0,46 ^d	93,72 ± 1,92 ^{cd}	320,37 ^a
9	7,5 (0)	50 (0)	15000 (0)	99,02 ± 1,21 ^d	94,19 ± 3,46 ^{cd}	320,49 ^a

Letras iguais na mesma coluna não diferem significativamente entre si ao nível de 5% Teste de Tukey.

A formação de uma grande quantidade de massa coacervada não significa necessariamente a encapsulação do óleo, sendo necessária avaliar a eficiência da encapsulação. A eficiência da encapsulação corroborou com o rendimento, obtendo-se valores entre 59,77% e 97,86%. Wieland-Berghausen *et al.* (2002) reportaram que a proporção ativo-material polimérico foi um fator importante na eficiência de encapsulação. Diminuindo a concentração do recheio, se aumenta a chance de os polímeros cobrirem as gotas de material, o que permite maior eficiência. Além disso, verificaram que a eficiência aumenta em sistemas mais viscosos quando relacionado com o material encapsulado. Isto explica a alta eficiência observada na formação das microcápsulas de óleo de bocaiuva.

Rabiskova *et al.* (1994) obtiveram altas porcentagens de encapsulação de esqualeno em cápsulas coacervadas de goma arábica e gelatina. A eficiência de 93,2 a 99,6% foi obtida. Segundo os pesquisadores, a eficiência de extração está diretamente relacionada com o número de extrações e o tipo de solvente utilizado. No presente estudo a extração foi realizada pelo método de Bligh e Dyer, essa metodologia produz um rendimento superior aos demais métodos, esta capacidade de extração esta atribuída, ao processo de homogeneização vigorosa (BRUM *et al.*, 2009).

Bueno *et al.* (2011), estudaram a microencapsulação do óleo de salmão com material de parede gelatina suína e gelatina de peixe, observaram efeito significativo da concentração de recheio sobre a eficiência de encapsulação, no entanto não foi observado efeito significativo ($p > 0,05$) quanto comparado ao material de parede sobre a eficiência da encapsulação.

A avaliação dos resultados obtidos pelo planejamento indicou que as variáveis: recheio, temperatura e velocidade, influenciaram sinergicamente no rendimento do processo, como observado nos ensaios 7, 8 e 9, evidenciando a importância dos fatores avaliados.

Contudo, a concentração do recheio na formação da emulsão e as interações entre as variáveis estudadas, não apresentaram efeito significativo ($p > 0,05$) sobre a eficiência da encapsulação. A eficiência da encapsulação obtida foi elevada, os valores apresentados foram de $59,77 \pm 1,37\%$ até $97,86 \pm 1,29\%$. Os resultados encontrados foram superiores aos obtidos por Maji e Hussain (2009) na microencapsulação de óleo essencial produzido com quitosana e gelatina apresentando eficiência de 32 a 60%.

5.4.2 Morfologia

O tamanho médio das micropartículas coacervadas úmidas contendo óleo de bocaiuva determinados por microscopia ótica são apresentados na Tabela 7. As microcápsulas apresentaram tamanhos entre 238,51 e 384,99 μm , o que é esperado para microcápsulas produzidas por coacervação complexa, que de acordo com Favaro-Trindade *et al.* (2008) podem variar de 1 a 500 μm . No entanto, na formulação do ensaio 6 (Tabela 7), pode-se observar que o diâmetro médio foi 639,57 μm , esta diferença pode ser devido as condições do processo, na qual inclui as condições de preparo da emulsão e velocidade de esfriamento, características físicas e químicas dos materiais de parede, bem como a tensão superficial e o grau de hidrofobicidade do material de recheio utilizado. Foram descritos na literatura diâmetros médios variando entre 39 até 680 μm para partículas obtidas por coacervação complexa (BUILDERS *et al.*, 2008; PRATA *et al.*, 2008).

A Figura 2 mostra duas micrografias correspondentes aos ensaios com máximo rendimento (ensaio 9, Figura 2A) e mínimo rendimento das microcápsulas (ensaio 6, Figura 2B). As microcápsulas de óleo da bocaiuva obtidas com material de parede constituído de gelatina e goma arábica, nas condições de recheio (7,5 g), temperatura (50°C) e velocidade de homogeneização (15000 rpm) apresentaram formato arredondado. O material de parede e a presença do óleo no núcleo podem ser claramente observados (Figura 2A).

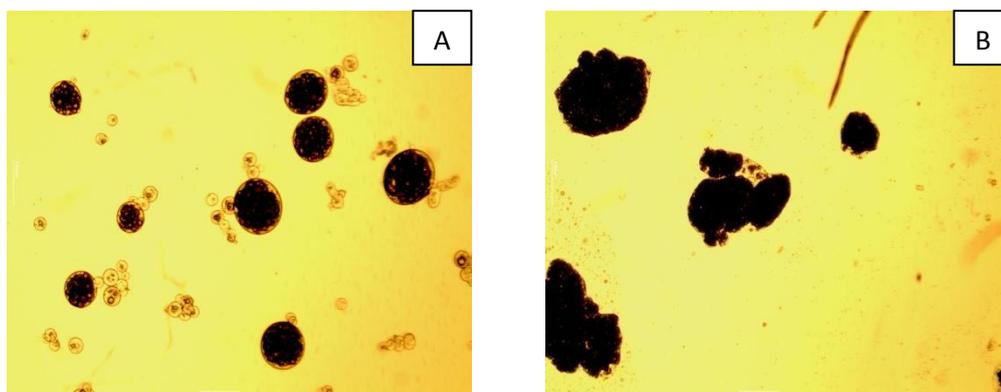


Figura 2. Micrografias das microcápsulas de óleo de bocaiuva coacervadas com goma arábica e gelatina. Condições de coacervação: (A) recheio, 7,5 g, temperatura, 50°C e velocidade de homogeneização, 15000 rpm. (B) recheio 10 g, temperatura 40°C e velocidade de homogeneização, 18000 rpm.

Mendanha *et al.*, 2009, no encapsulamento de caseína hidrolisada tendo como material de parede a pectina, também obtiveram formato arredondado. Em condições de menor temperatura (40°C) e maior conteúdo de recheio (10g) o tamanho das microcápsulas foi significativamente maior (ensaio 6) e o formato variado (Figura 2B).

Favaro-Trindade *et al.* (2008) indicam que o tamanho das microcápsulas produzidas por coacervação complexa, utilizando como material de parede gelatina e goma arábica é influenciado por diversos fatores, tais como taxa de agitação, viscosidade da solução, recheio/polímero, quantidade de água. Neste estudo, a temperatura influenciou significativamente no tamanho da microcápsula. As Figuras 3A e 3B mostram que quanto menor a quantidade de recheio (óleo) menor é o tamanho da microcápsula.

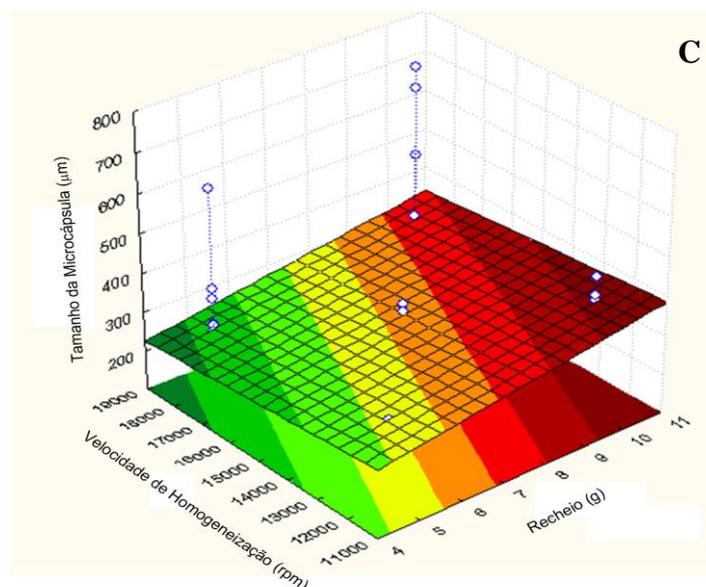
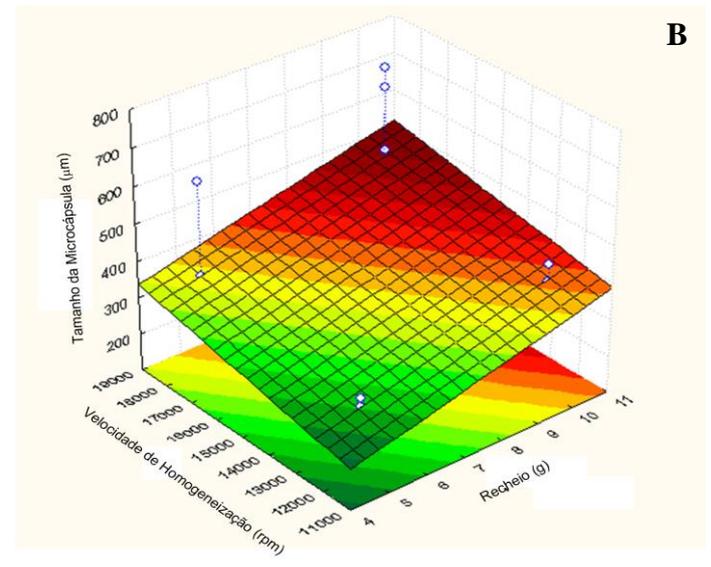
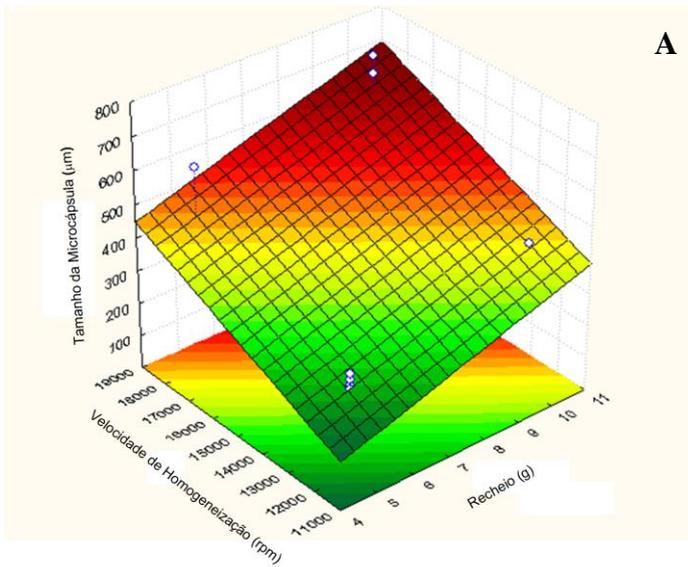


Figura 3. Influência da temperatura sobre o tamanho médio das microcápsulas. (A) Temperatura de 40°C, (B) Temperatura de 50°C, (C) Temperatura de 60°C.

Com o aumento da temperatura do processo de coacervação, observa-se redução do tamanho da microcápsula (Figura 3C). A coacervação a 60°C forneceu microcápsulas menores sendo também influenciadas pelo recheio. A velocidade de homogeneização entrou como variável significativa no processo. De acordo com Prata (2006), a alta temperatura aumenta a solubilidade dos polímeros e consequentemente dos complexos formado sendo um dos principais fatores que interferem na conformação das moléculas do complexo, sendo um parâmetro chave para a encapsulação.

5.4.3 Compostos bioativos nas microcápsulas

Os carotenoides e os compostos fenólicos podem sofrer alterações durante o processo de microencapsulação devido à temperatura e à velocidade de homogeneização. Neste contexto, os teores de carotenoides totais, compostos fenólicos e a atividade antioxidante das amostras foram determinadas no material microencapsulado de todos os ensaios.

O efeito dos fatores recheio, temperatura e velocidade de homogeneização sobre os carotenoides presentes nas microcápsulas esta representada na Figura 4. As variáveis significativas foram a velocidade de homogeneização e a interação temperatura-velocidade de homogeneização.

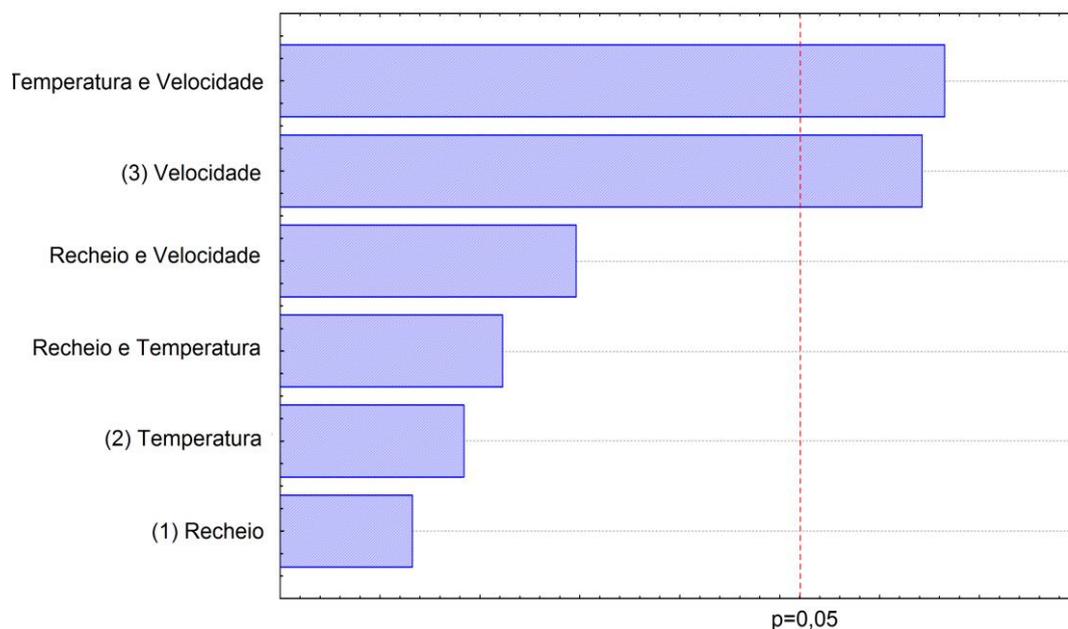


Figura 4. Gráfico de Pareto dos efeitos e interações das variáveis temperatura (°C), recheio (g) e velocidade de homogeneização (rpm) sobre os carotenoides na produção das microcápsulas, ao nível de 95% de confiança ($p=0,05$). Erro puro= 1457,042.

Temperaturas elevadas podem contribuir com perda considerável dos carotenoides, o aumento da mesma é relatada como uma das causas da degradação deste composto bioativo (RODRIGUEZ-AMAYA, 2008), justificando a sua influência neste estudo.

Os resultados corroboram com encontrados por Ying-Qv e Jiang (2011), na microencapsulação do carotenoide luteína por coacervação complexa, onde houve a diminuição da taxa de retenção da luteína com o aumento da temperatura. Foi observado que a temperatura teve efeitos notáveis sobre o princípio ativo encapsulado.

Verifica-se ainda a interação da velocidade de homogeneização com a temperatura sobre os carotenoides. Este fato pode estar relacionado à agitação, onde ocorre o cisalhamento gerando gotas coacervadas menores, além da incorporação de bolhas de ar durante a agitação, pois segundo Rodriguez-Amaya (2008), a presença de oxigênio é um dos fatores que contribuem para a degradação dos carotenoides.

Na determinação dos compostos fenólicos presente nas microcápsulas produzidas não foi observado efeito significativo na interação das variáveis nas formulações como mostrado na Figura 5.

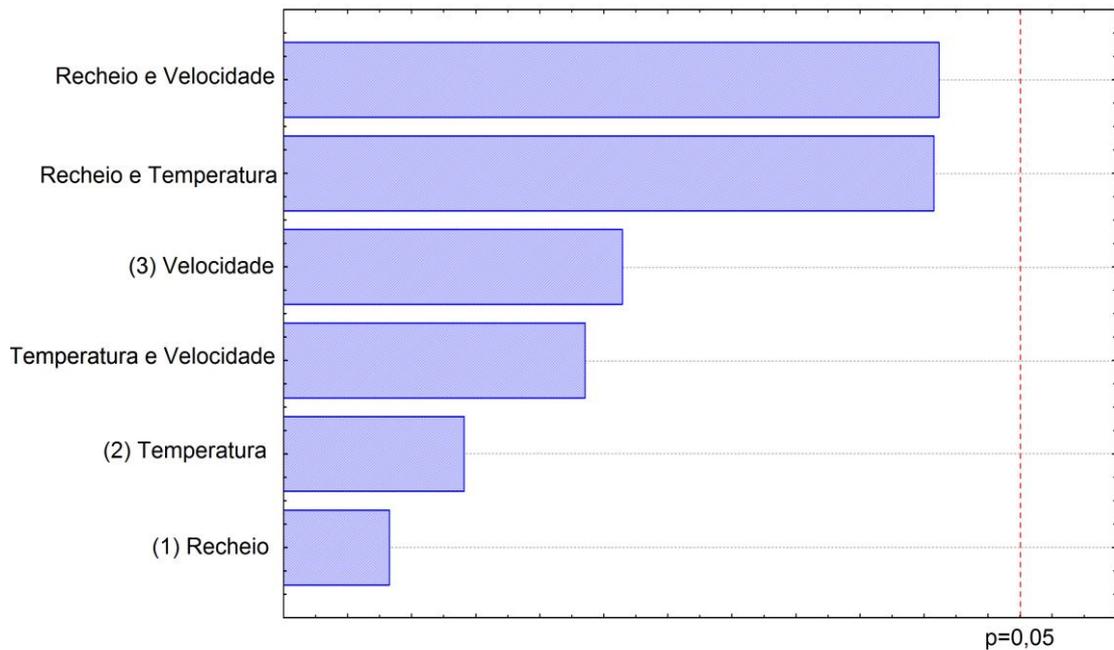


Figura 5. Gráfico de Pareto dos efeitos e interações das variáveis temperatura (°C), recheio (g) e velocidade de homogeneização (rpm) sobre os compostos fenólicos na produção das microcápsulas, ao nível de 95% de confiança ($p=0,05$). Erro puro= 0,0755049.

Esta observação corrobora com resultados encontrados por Nori *et al.* (2011) para microencapsulação do extrato da própolis, onde os pesquisadores verificaram que não houve influência da temperatura sobre os compostos fenólicos.

A Figura 6 apresenta a interação entre o recheio- temperatura e temperatura- velocidade sobre a atividade antioxidante através do método ABTS•.

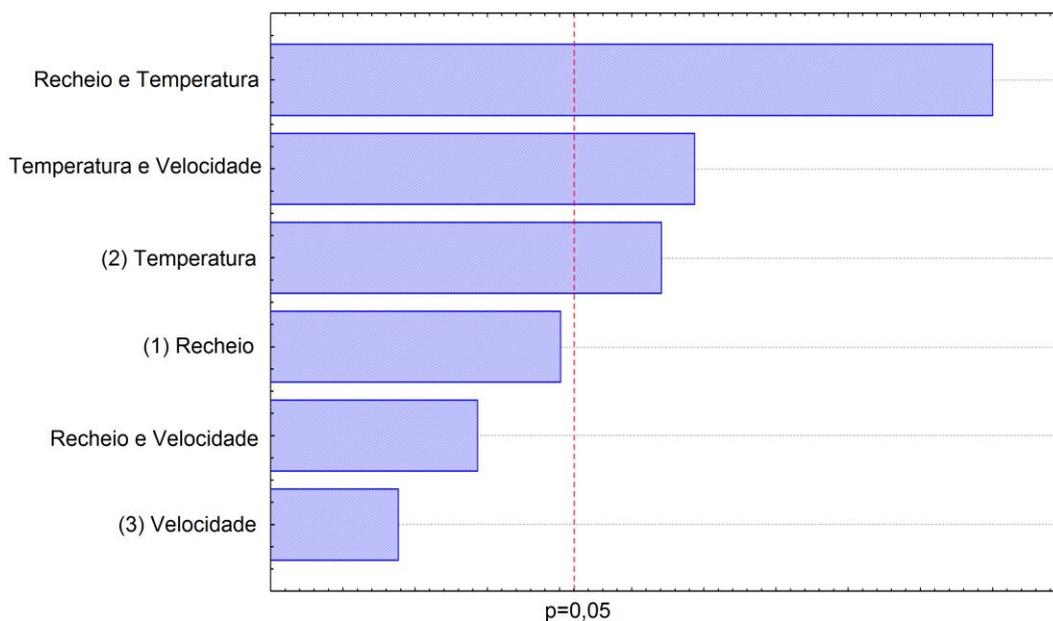


Figura 6. Gráfico de Pareto dos efeitos e interações das variáveis temperatura (°C), recheio (g) e velocidade de homogeneização (rpm) sobre a atividade antioxidante pelo método ABTS•, ao nível de 95% de confiança ($p=0,05$). Erro puro= 0,16.

Para a atividade antioxidante, foram observados efeitos significativos da interação recheio-temperatura e temperatura-velocidade. Este comportamento pode ser explicado, pela ação da temperatura no processo de degradação, através da ativação de algumas reações oxidativas (VOZ *et al.*, 2010), e na distribuição do recheio que pode estar fortemente associada com a estabilidade das emulsões formadas pelas diferentes combinações entre as variáveis (PRATA, 2006).

Analisando a atividade antioxidante e os carotenoides (Tabela 8), é possível sugerir que os carotenoides presentes nas microcápsulas foram preservados. Apesar da degradação dos carotenoides em função da temperatura e velocidade de homogeneização o material microencapsulado apresenta atividade antioxidante. Que foi confirmada pela influência entre o composto e as variáveis propostas no planejamento.

Tabela 8. Carotenoides totais e atividade antioxidante pelo método ABTS das microcápsulas do óleo de bocaiuva obtidas por coacervação complexa, em diferentes condições de processo. Valores da média das triplicatas.

Variáveis				Respostas	
Ensaio	Recheio (g)	Temperatura (°C)	Velocidade (rpm)	Carotenoides (µg/ g de amostra)	Atividade antioxidante (µg Trolox/g de amostra)
1	5 (-1)	40 (-1)	12000 (-1)	148,70	2,64 ± 0,39
2	10 (1)	40 (-1)	12000 (-1)	212,24	1,52 ± 0,18
3	5 (-1)	60 (1)	12000 (-1)	174,45	1,39 ± 0,12
4	10 (1)	60 (1)	12000 (-1)	85,35	2,69 ± 0,35
5	5 (-1)	40 (-1)	18000 (1)	198,42	1,38 ± 0,15
6	10 (1)	40 (-1)	18000 (1)	192,35	1,53 ± 0,97
7	5 (-1)	60 (1)	18000 (1)	178,71	1,89 ± 0,05
8	10 (1)	60 (1)	18000 (1)	253,71	2,86 ± 0,04
9	7,5 (0)	50 (0)	15000 (0)	229,29	2,60 ± 0,34

Em estudo de Ying-Qv e Jiang (2011), apesar da influência de altas temperaturas e luz sobre a luteína, a microencapsulação por coacervação complexa deste carotenoide proporcionou maior estabilidade quanto à oxidação, luz, umidade e temperatura ambiente.

Sabe-se que a atividade antioxidante, é o resultado de ações sinérgicas de vários compostos, portanto, todos eles devem ser preservados. Neste contexto, para garantir maior estabilidade do óleo da bocaiuva, a elaboração de microcápsulas utilizando a técnica de coacervação complexa pode ser recomendado.

Diante dos resultados o processo de microencapsulação com 5g de recheio, temperatura de 60°C e velocidade de homogeneização 18000 rpm, foi considerado o mais eficaz para obter microcápsulas de óleo de bocaiuva com maior rendimento, eficiência e menor tamanho, prosseguindo-se às análises *in vivo* com microcápsulas obtidas na melhor condição de processo.

5.5 Avaliação Farmacológica

O uso tradicional de plantas medicinais como a bocaiuva para o tratamento de doenças renais, cardiovasculares e inflamatórias no Brasil é frequentemente comum como uma alternativa na medicina popular. Entretanto, normalmente plantas são usadas sem levar em consideração os aspectos farmacológicos (BOUANANI *et al.*, 2010), então a validação experimental se faz necessária.

Nesse sentido alguns modelos experimentais são realizados em animais de laboratório. Foram testados o óleo extraído da prensagem nas doses de 100, 300, 700 mg/kg.

No primeiro teste de pleurisia induzida pela carragenina, foram testadas doses de 100, 300, 700 mg/kg, via oral em ratos. Esse teste permite avaliar dois parâmetros importantes no processo inflamatório: a migração de leucócitos e o extravasamento proteico. A injeção de carragenina induziu uma reação inflamatória aguda verificada ao ser comparada o grupo controle (que recebeu a injeção de carragenina na pleura) e grupo naive (que recebeu salina na pleura). Os resultados mostram que o óleo foi eficaz na inibição da migração de leucócitos e do extravasamento plasmático.

Na Figura 7A verifica-se que houve aumento significativo da migração de leucócitos em cerca de 8 vezes no grupo controle em relação ao grupo naive. Além disso, os resultados demonstram que a administração via oral do óleo de bocaiuva nas doses de 300 e 700 mg/kg inibiu de maneira significativa a migração leucocitária induzida pela carragenina para a pleura dos ratos. As inibições foram de $91 \pm 3\%$, $81 \pm 16\%$, respectivamente. A administração do anti-inflamatório dexametasona apresentou uma inibição de $96 \pm 2\%$ (Figura 7A).

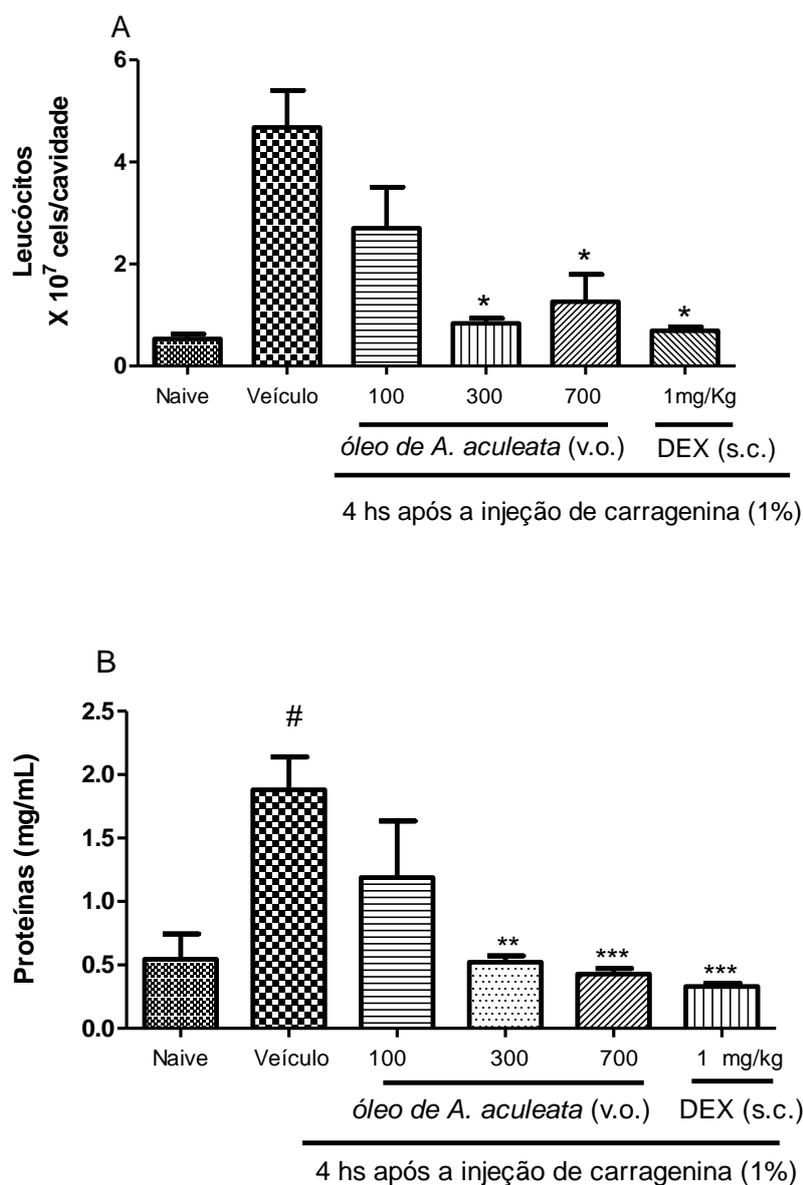


Figura 7. Efeito do óleo de bocaiuva sobre amigração leucocitária (A) e extravasamento plasmático (B) induzido pela carragenina no modelo de pleurisia em ratos. Os ratos (n=5) foram tratados, uma hora antes da injeção de Cg, com óleo de bocaiuva (nas doses de 100, 300 e 700 mg/kg, v.o.), dexametasona (1 mg/kg, s.c.) ou veículo. O exsudato foi coletado após 4 horas, após a injeção de carragenina. Os leucócitos totais que migraram, bem como, o extravasamento plasmático induzido pela Cg foram analisados. As diferenças entre os grupos foram analisadas por análise de variância (ANOVA de uma via) seguida pelo teste de Student-Newman-Keuls. Valores de $p < 0.05$ foram considerados significativos. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

Em relação ao extravasamento plasmático, ambas as doses de 300 e 700 mg/kg foram estatisticamente significativas em induzir a redução do extravasamento

plasmático em relação ao grupo controle. As inibições observadas foram de $98 \pm 2\%$ e de 100% , respectivamente. Como esperado o grupo de animais tratados com dexametasona inibiu 100% do extravasamento plasmático pleural induzido pela carragenina (Figura 7B).

O tratamento com o óleo de bocaiuva *in natura* inibiu a formação do edema nas doses de 300 mg/kg , com inibições de $35 \pm 8\%$ após 1 hora e de $67 \pm 7\%$ após 2 horas da injeção intraplantar de carragenina, mas após as 4 horas não houve a indução do edema (Figura 8).

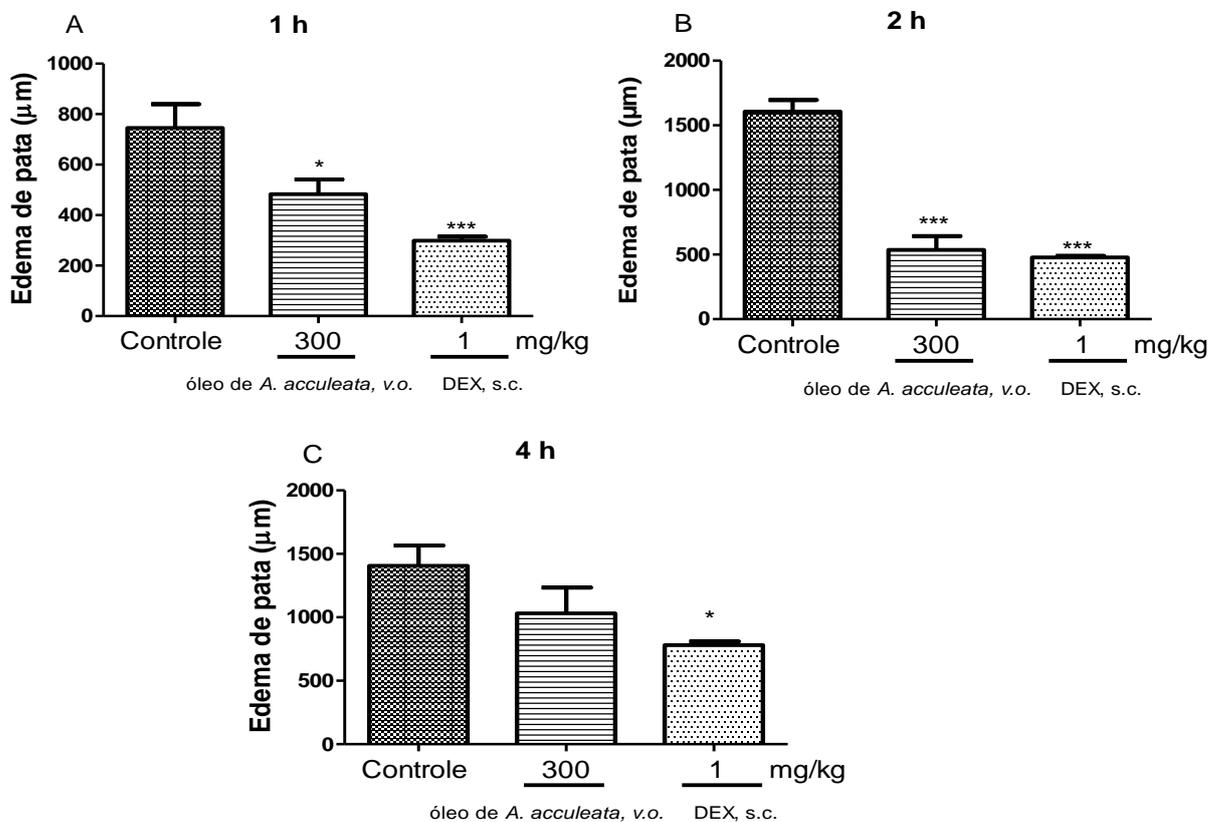


Figura 8. Efeito do óleo de bocaiuva sobre o edema de pata de pata após 1 hora (A), 2 horas (B) e 4 horas (C) da injeção intraplantar de carragenina. Os animais foram tratados com o óleo, na dose de 300 mg/kg via oral (v.o) ou veículo, ou ainda dexametasona (DEX) uma hora antes de injeção intraplantar de carragenina ($300 \mu\text{g/pata}$). Cada coluna representa a média \pm EPM. As diferenças entre os grupos foram analisadas por análise de variância (ANOVA de uma via) seguida pelo teste de Student-Newman-Keuls. Valores de $P < 0.05$ foram considerados significativos. * $P < 0.05$ e *** $P < 0.001$.

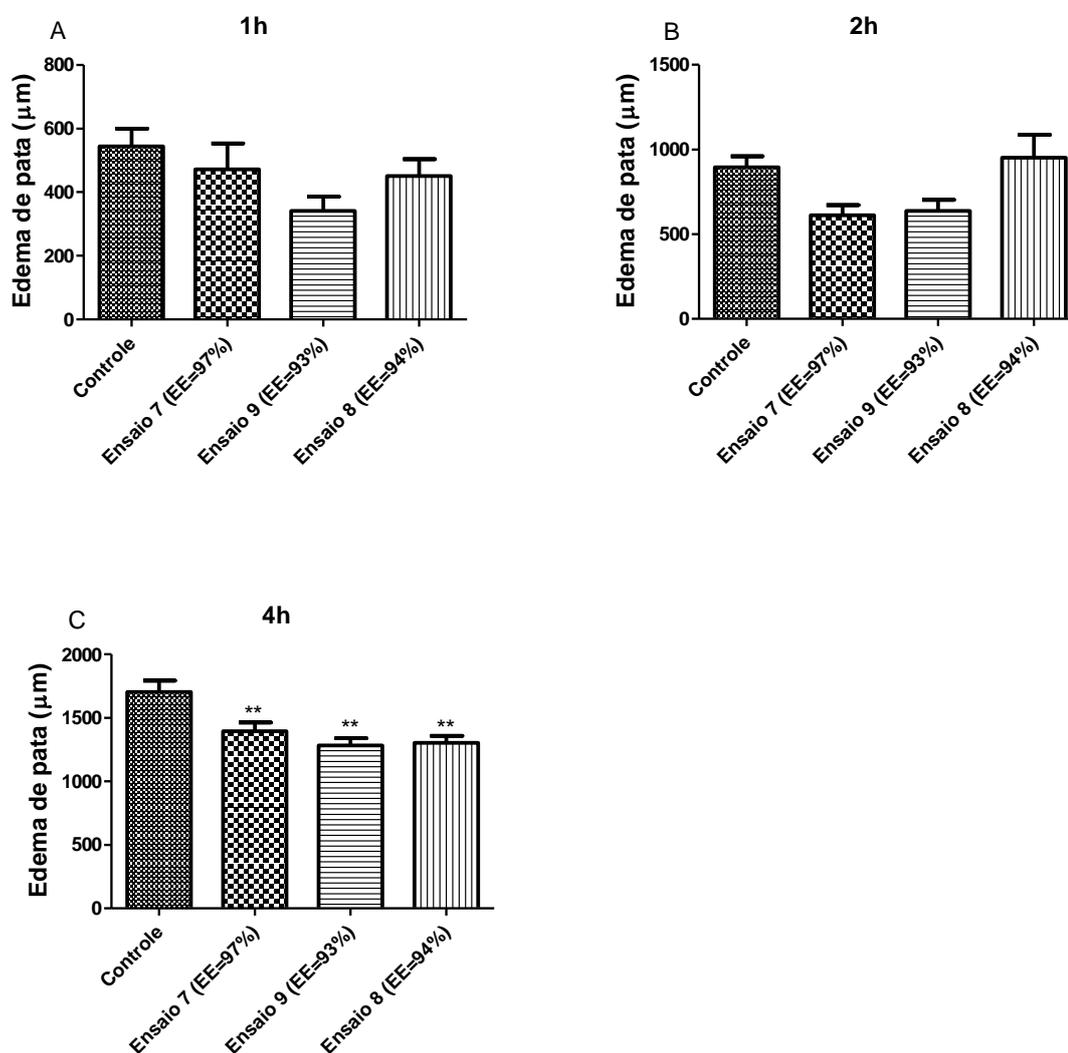


Figura 9. Efeito do microencapsulado obtido do óleo de bocaiuva sobre o edema de pata após 1 hora (A), 2 horas (B) e 4 horas (C) da injeção intraplantar de carragenina. Os animais foram tratados com o óleo microencapsulado, na dose de 300 mg/kg via oral (v.o) ou veículo uma hora antes de injeção intraplantar de carragenina (300 μg /pata). Cada coluna representa a média \pm EPM. As diferenças entre os grupos foram analisadas por análise de variância (ANOVA de uma via) seguida pelo teste de Student-Newman-Keuls. Valores de $P < 0.05$ foram considerados significativos. ** $P < 0.01$.

Por outro lado o tratamento com o microencapsulado do óleo de bocaiuva do ensaio 7 (EE=97%), ensaio 8 (EE=94%) e ensaio 9 (EE=93%) inibiu significativamente a formação do edema na dose de 300 mg/kg, com inibições de $18 \pm 4\%$ (ensaio 7), $25 \pm$

3% (ensaio 9) e $23 \pm 3\%$ (ensaio 8) após 4 horas da injeção intraplantar de carragenina, mas não em outros pontos de mensuração do edema (Figura 9). Demonstrando assim que a formulação do microencapsulado manteve a estabilidade do princípio ativo e apresentou a ação anti-edematogênica. Provavelmente o princípio ativo foi liberado de maneira mais lenta, pois somente às 4 horas após a carragenina a atividade foi verificada.

A Dexametasona, droga de referência utilizada como controle positivo, inibiu a formação do edema em $62 \pm 1\%$ após 1 hora e de $70 \pm 1\%$ após 2 horas da injeção intraplantar de carragenina (Figura 9).

5.5.1 Efeito diurético do óleo de bocaiuva

O óleo de bocaiuva (300 e 700mg/kg) causou aumento significativo na excreção urinária de líquidos (Figura 10). Da mesma maneira, o aumento na excreção de líquidos foi observado com medicamento furosemida.

Um diurético é uma substância que aumenta a taxa da excreção urinária (ROSE, 1991). Muitos diuréticos que são utilizados clinicamente agem reduzindo a taxa de reabsorção de sódio dos túbulos, os quais causam natriurese (aumento da excreção de sódio), que por sua vez causa diurese (aumento da excreção de água) (CARTER, 2012). O uso clínico mais comum dos diuréticos é para reduzir o volume do fluido extracelular, especialmente em doenças associadas com edema e hipertensão (FRAZIER; YAGER, 1973).

Como citado anteriormente, a bocaiuva tem sido usada popularmente no tratamento de doenças cardiovasculares. Até onde se sabe, somente nosso grupo de pesquisa tem buscado dar suporte a este uso etnofarmacológico, e na literatura somente uma publicação da planta *Acrocomia mexicana* comprova as propriedades anti-diabéticas dessa espécie.

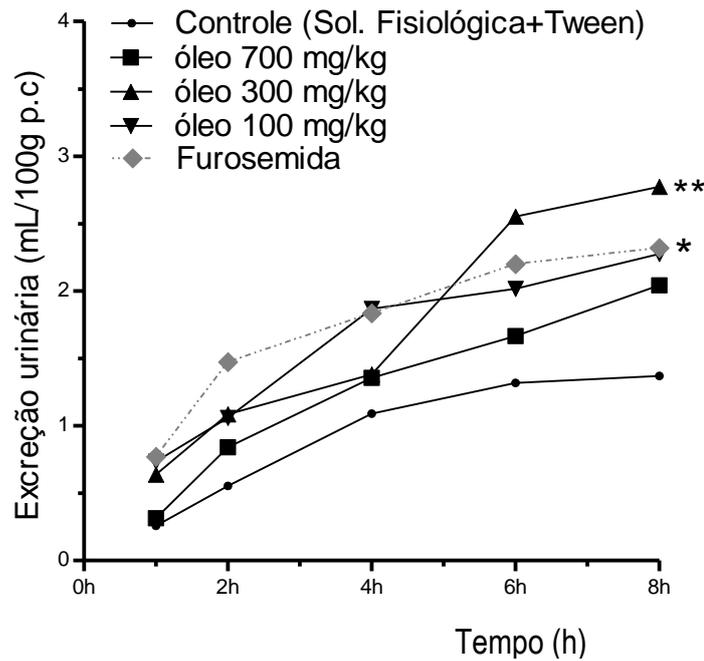


Figura 10. Variação do tempo de excreção urinária em ratos tratados com diferentes doses (100, 300 e 700 mg/kg) de óleo de baciaiva e furosemida (10 mg/kg) como droga de referência. O volume urinário foi medido em 1, 2, 4, 6, e 8 horas após o tratamento. Valores acumulados são apresentados como média \pm EPM por 5 ratos em cada grupo. Os asteriscos indicam o nível de significância em comparação com o grupo controle (one-way ANOVA seguido por Newman-Keulstest) * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$.

O óleo de baciaiva microencapsulado na dose de 300mg/kg causou aumento significativo na excreção urinária de líquidos (Figura 11). O tratamento com o microencapsulado do óleo de baciaiva do ensaio 7 (EE=97%) também aumentou de forma significativa a excreção urinária quando comparado ao grupo controle.

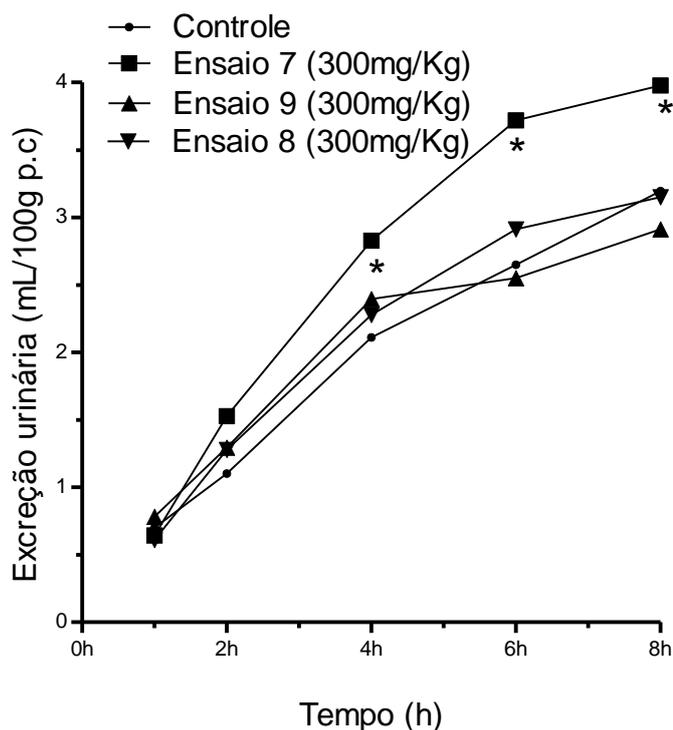


Figura 11. Variação do tempo de excreção urinária em ratos tratados com diferentes microcápsulas Ensaio 7, Ensaio 9, Ensaio 8 (300 mg/kg) de óleo de bocaiuva. O volume urinário foi medido em 1, 2, 4, 6, e 8 horas após o tratamento. Valores acumulados são apresentados como média \pm EPM por 5 ratos em cada grupo. Os asteriscos indicam o nível de significância em comparação com o grupo controle (one-way ANOVA seguido por Newman-Keulstest) * $P < 0,05$.

Demonstrando assim que a formulação no ensaio 7 (EE=97%) do microencapsulado manteve a estabilidade do princípio ativo, quando comparado com o ensaio 9 (EE=93%) e ensaio 8 (EE=94%). Provavelmente esta ação está relacionada à eficiência de encapsulação, pois foi o ensaio que apresentou o maior resultado bem como a preservação dos compostos bioativos, onde o emprego do biopolímero aumenta a proteção do ativo (OLIVEIRA *et al.*, 2012), bem como a presença de minerais como potássio que exerce papel importante na regulação da bomba de sódio e potássio.

Capítulo VI

Conclusão

6 CONCLUSÃO

O óleo da polpa da bocaiuva apresentou predominância de ácidos graxos monoinsaturados, em especial do ácido oléico. Dos ácidos graxos poliinsaturados essenciais para a dieta humana a bocaiuva apresentou percentual para o ácido linoleico e linolênico.

Os carotenoides foram os compostos bioativos mais relevantes no óleo de bocaiuva e a capacidade antioxidante determinada pelo método ABTS*, corroborou com esses resultados.

A aplicação da técnica de coacervação complexa para microencapsular o óleo da bocaiuva foi eficiente produzindo em torno de 64 a 99% de microcápsulas e 59 a 97% de óleo encapsulado. As microcápsulas apresentaram tamanho médio e forma esférica bem definida. A temperatura foi o parâmetro que influenciou significativamente na morfologia das microcápsulas, a esfericidade das microcápsulas foi obtida na temperatura de 50 e 60°C.

A coacervação complexa auxiliou na preservação dos carotenoides e na atividade antioxidante. No planejamento experimental houve interação da temperatura e recheio na preservação dos carotenoides. Para a atividade antioxidante as variáveis que interferiram foram recheio-temperatura e temperatura-velocidade.

A ação anti-inflamatória e diurética do óleo de bocaiuva foram verificadas em edema de pata e pleura induzido por carregenina. O óleo microencapsulado manteve a estabilidade do princípio ativo e apresentou ação anti-edematogênica, bem como atividade diurética. A microencapsulação demonstrou potencial na biodisponibilidade do óleo da bocaiuva.

7 REFERÊNCIAS

- A.O.A.C. (Association of Official Analytical Chemists), **Official methods of analysis**, 14 ed., Arlington, v.1, 1984.
- ALVIM, I.D.; GROSSO, C.R.F. Microparticles obtained by complex coacervation: Influence of the type of reticulation and the drying process on the release of the core material. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, p. 1069-1076, 2010.
- ANDARWULAN, N.; KURNIASIH, D.; APRIADY, R.A.; RAHMAT, H.; ROTO, A.; BOLLING, B.W. Polyphenols, carotenoids, and ascorbic acid in underutilized medicinal vegetables. **Journal of functional food**, v. 4, p. 339 – 347, 2012.
- ARSHADY, R. Microcapsules for food. **Journal of Microencapsulation**, v. 10, n. 4, p. 413-435, 1993.
- ASTROG, P.; GRADELET, S.; BERGES, R.; SUSCHETET, M. Dietary lycopene decreases initiation of liver preneoplastic foci by diethylnitrosamine in rat. **Nutrition and Cancer**, v. 29, p. 60–68. 1997.
- AZZI, A.; DAVIES, K. Free radical biology – terminology and critical thinking. **FEBS Letters**, v. 558, p. 3-6. 2004.
- BA, L.; DOERING, M.; BURKHOLZ, T.; JACOB, C. Metal trafficking: from maintaining the metal homeostasis to future drug design. **Metallomics**, v. 1, p. 292-311, 2009.
- BACCHIOCCA, M.; BIAGIOTTI, E.; NINFALI, P. Nutritional and Technological reasons for evaluating the antioxidant capacity of vegetable products. **Italian Journal of Food Science**, v. 18, n. 2, p. 209-217. 2006.
- BAKAN, J. A. Microencapsulation of foods and related products. **Food Technology**, v. 27, n. 11, p. 34-44, 1973.
- BARRETO, G.P.M.; BENASSI, M.T.; MERCADANTE, A.Z. Bioactive compounds from several tropical fruits and correlation by multivariate analysis to free radical scavenger activity. **Journal Brazilian Chemical Society**, v. 20, p. 1856-1861, 2009.
- BEHLING, E.; SENDÃO, M.; FRANCESCATO, H.; ANTUNES, L.; BIANCHI, M. Flavonóide quercetina: aspectos gerais e ações biológicas. **Alimentação e Nutrição, Araraquara**, v. 15, n. 3, p. 285-292, 2004.
- BERTRAM, J.S. Carotenoids and gene regulation. **Nutr Rev**, v. 57, p. 182–191, 1999.
- BORA, P.S., MOREIRA, R.V.R. Catolé palm (*Syagrus oleracea* Mart) fruits: fatty and amino acids composition. **Grasas y aceites**, v. 54, p. 145-150, 2003.

BORA, P.S.; ROCHA, R.V.M. Macaíba palm: fatty and amino acids composition of fruits. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 4, n. 3, p. 158-162, 2004.

BOUANANI, S.; HENCHIRI, C.; MIGIANU-GRIFFONI, E.; AOUF, N.; LECOUCVEY, M. Pharmacological and toxicological effects of *Paronychia argentea* in experimental calcium oxalate nephrolithiasis in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 129, n. 1, p. 38-45, 2010.

BRADFORD, M.M. Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248-254, 1976.

BRASIL. Portaria n° 33, de 13 de janeiro de 1998 da ANVISA. Resolução referente à Ingestão diária recomendada (IDR) para proteínas, vitaminas e minerais. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA, 1998.

BRUMM, A.A.S.; ARRUDA, L.F.; REGITANO-d'ARCE, M.A.B. Métodos de extração e qualidade da fração lipídica de matérias-primas de origem vegetal e animal. **Química Nova**, v. 32, n. 4, p. 849-854. 2009.

BUENO, C.M.; ALVIM, I.D.; KOBERSTEIN, T.C.R.D.; PORTELA, M.C.; GROSSO, C. Production of tilapia skin gelatin and its use in the production of micro-particles containing salmon oil. **Brazil Journal of Food Technology**, v. 14, p. 65-73, 2011.

BUILDERS, P. F.; KUNLE, O. O.; OKPAKU, L. C.; BUILDERS, M. I.; ATTAMA, A. A., ADIKWU, M. U. Preparation and evaluation of mucinated sodium alginate microparticles for oral delivery of insulin. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 70, p. 777-783, 2008.

CARTER, B. L. Guidelines for Use of Diuretics: A View From a Member of JNC 7. **The Journal of Clinical Hypertension**, v. 14, n. 5, p. 273-276, 2012.

CASTELO-BRANCO, V.N.; TORRES, A.G. Capacidade antioxidante total de óleos vegetais comestíveis: determinantes químicos e sua relação com a qualidade dos óleos. **Revista de Nutrição**, v. 24, p. 173-187, 2011.

CHUBA, C.A.M; SANJINEZ-ARGANDOÑA, E.J. Caracterização biométrica, física e química de frutos da palmeira bocaiuva *Acrocomia aculeata* (Jacq) Lodd. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 3, p. 1023-1028, 2011.

CLERECI, M.T.P.S, CARVALHO-SILVA, L.B. Nutritional bioactive compounds and technological aspects of minor fruits grown in Brazil. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 1658-1670, 2011.

COIMBRA, M.C.; JORGE, N. Proximate composition of guariroba (*Syagrus oleracea*), jerivá (*Syagrus romanzoffiana*) and macaúba (*Acrocomia aculeata*) palm fruits. **Food Research International**, v. 44, p. 2139–2142, 2011.

- COUSSENTS, L.M; WERB, Z. Inflammation and cancer. **Nature**, v. 420, p. 860-867, 2002.
- CREPALDI, I.C.; ALMEIDA-MURADIAN, L.B.; RIOS, M.D.G.; PENTEADO, M.V.C.; SALATINO, A. Composição nutricional do fruto de licuri (*Syagrus coronata* (Martius) Beccari). **Revista Brasileira de Botânica**, v. 24, p.155-159, 2001.
- DEBMANDAL, M.; MANDAL, S. Coconut (*Cocos nucifera* L.: Areaceae): In health promotion and disease prevention. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, p. 241-247, 2011.
- DEMBINSKA-KIEC, A. Carotenoids: risk or benefit for health. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1740, p. 93– 94, 2005.
- DESSIMONI-PINTO, N.A.V.; SILVA, V.M.; BATISTA, A.G.; VIEIRA, G.; SOUZA, C.R.; DUMONT, P.V.; SANTOS, G.K.M. Características físico-químicas da amêndoa de macaúba e seu aproveitamento na elaboração de barras de cereais. **Alimentos e Nutrição**, v. 21, n. 1, p. 77-84, 2010.
- DONG, W.; BODMEIER, R. Encapsulation of lipophilic drugs within enteric microparticles by a novel coacervation method. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 326, p. 128–138, 2006.
- ELLIOTT, R. Mechanisms of genomic and non-genomic actions of carotenoids. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1740, p. 147–154, 2005.
- FAVARO-TRINDADE, C. S.; GROSSO, C. R. F. Microencapsulation of *L.acidophilus* (La-05) and *B. lactis* (Bb-12) and evaluation of their survival at the pH values of the stomach and in bile. **Journal of Microencapsulation**, v. 19, p. 485-494, 2002.
- FAVARO-TRINDADE, C.S.; PINHO, S.C.; ROCHA, G.A. Revisão: Microencapsulação de Ingredientes Alimentícios. **Revista Brasileira de Tecnologia de Alimentos**, v. 11, p.103-112, 2008.
- FERRARI, C.K.B. Functional foods and physical activities in health promotion of aging people. **Maturitas**, v. 58, p.327–339, 2007.
- FINLEY, J.W. Proposed criteria for assessing the efficacy of cancer reduction by plant foods. **Annals of Botany**, v. 95, p. 1075–1096, 2005.
- FRAZIER, H. S.; YAGER, H. The Clinical use of diuretics. **New England Journal of Medicine**, v. 288, n. 9, p. 455-457, 1973.
- GEORGE, S. PIERRE, B.; ALTER, P.; AMIOT, M.J. Rapid determination of polyphenols and vitamina C in plant-derived products. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 53, p. 1370-1373, 2005.
- HARTMAN, L., LAGO, R.C.A. Rapid preparation of fatty acids methyl esters. **Laboratory Practice**, v.22, p.475-476, 1973.

HASSIMOTTO, M.; GENOVESE, I.; LAJOLO, M. Antioxidant activity of dietary fruits, vegetables, and commercial frozen fruit pulps. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 2928-2935. 2005.

HIANE, P.A.; BALDASSO, P.A.; MARANGONI, S.; MACEDO, M.L.R. Chemical and nutritional evaluation of kernels of bocaiuva, *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 3, p. 683-689, 2006.

HIANE, P.A.; BOGO, D.; RAMOS, M.I.L.; RAMOS, F.M.M. Carotenoides pró-vitamínicos a e composição em ácidos graxos do fruto e da farinha do bacuri (*Scheelea phalerata* Mart.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, p. 206-209, 2003.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas**: métodos químicos e físicos para análise de alimentos. 3. ed. São Paulo, v.1, 2008. Disponível em: http://www.ial.sp.gov.br/index.php?option=com_remository&Itemid=20. Acessado em 01 de março de 2011.

JACKSON, L. S.; LEE, K. Microencapsulation and Food Industry. **LWT - Food Science and Technology**, v. 24, n. 4, p. 289-297, 1991.

JUN-XIA, X.; HAI-YAN, Y.; JIAN, Y. Microencapsulation of sweet orange oil by complex coacervation with soybean protein isolate/gum arabic. **Food Chemistry**, v. 125, p. 1267-1272. 2011.

KALIORA, A.; DEDOUSSIS, G.; SCHMIDT, H. Dietary antioxidants in preventing atherogenesis. **Atherosclerosis**, v. 187, p. 1-17. 2006.

KASSUYA, C.A.; CREMONEZE, A.; BARROS, L.F.; SIMAS, A.S.; LAPA, F.R.; MELLO-SILVA, R.; ZAMPRONIO, A.R. Antipyretic and anti-inflammatory properties of the ethanolic extract, dichloromethane fraction and costunolide from *Magnolia ovata* (Magnoliaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 124, n. 3, p. 369-76. 2009.

KAU, S. T.; KEDDIE, J.R.; ANDREWS, D. A method for screening diuretic agents in the rat. **Journal Pharmacology Methods**, v. 11, p. 67-75, 1984.

KIM, D.O.; JEONG, S.W.; LEE, C.Y. Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. **Food Chemistry**, v. 81, p. 231-326, 2003.

KIM, J.Y.; KIM, D.B.; LEE, H.J. Regulations on health/functional foods in Korea. **Toxicology**, v. 221, p. 112-118, 2006.

KLINK, C.A.; MACHADO, R.B. Conservation of the Brazilian Cerrado. **Conservation Biology**, v. 19, n. 3, 2005.

KRALOVEC, J.A.; ZHANG, S.; ZHANG, W.; BARROW, J.C. A review of the process in enzymatic concentration and microencapsulation of omega-3 rich oil from fish and microbial sources. **Food Chemistry**, v. 131, p. 639-644, 2011.

- LIU, K.; XU, Y.; WANG, X. Microencapsulation of sweet orange oil terpeneless using the orifice method. **Journal of Food Engineering**, v. 110, p. 390–394, 2012.
- LIU, R. H. Potencial synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism of action. **The Journal of Nutrition**, v. 134, p. 3479-3485. 2004.
- LORENZI, G.M.A.C. *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex Mart. - **Areaceae: Bases para o extrativismo sustentável**. Brasil: Universidade Federal do Paraná, 2006.
- MAJI, T.K.; HUSSAIN, M.R. Microencapsulation of *Zanthoxylum limonella* oil (ZLO) in Genipin Crosslinked Chitosan–Gelatin Complex for Mosquito Repellent Application. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 111, p. 779-785, 2009.
- MANACH, C.; SCALBERT, A; MORAND, C.; RÉMÉSY, C.; JIMÉNEZ, L. Polyphenols: food sources and bioavailability. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 79, p. 727-747. 2004.
- MARKMAN, B.E.O.; BACCHI, E.M.; MYIAKE, E.T. Antiulcerogenic effects of *Campomanesia xanthocarpa*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 94, p. 55–57, 2004.
- MENDANHA, D.V.; ORTIZ, S.E.M.; FAVARO-TRINDADE, C.S.; MAURI, A.; MONTERREY-QUINTERO, E.S.; THOMAZINI, M. Microencapsulation of casein hydrolysate by complex coacervation with SPI/pectin. **Food Research International**, v. 42, p. 1099–1104, 2009.
- MENENDÉZ, R.; CARVAJAL, D.; MAS, R.; PÉREZ, Y.; MOLINA, V.; ARRUZAZABALA, M.L.; GONZÁLEZ, R.M. Efectos del D-004, extracto lipídico de los frutos de la palma Real (*Roystonea regia*), sobre El granuloma inducido por algodón en ratas y sobre La lipoxigenasa presente en leucocitos polimorfonucleares (PMNs). **Acta Farmacéutica Bonaerense**, v. 25, p. 213- 218, 2006.
- NAKAGAWA, K.; NAGAO, H. Microencapsulation of oil droplets using freezing-induced gelatin–acacia complex coacervation. **Colloids and Surfaces A**, v. 411, p. 129–139, 2012.
- NORI, M.P.; FAVARRO-TRINDADE, C.S.; ALENCAR, S.M.; THOMAZINI, M.; BALIEIRO, J.C.C.; CASTILLO, C.J.C. Microencapsulation of propolis extract by complex coacervation. **LWT Food Science and Technology**, v. 44, p. 429-435, 2011.
- OLIVEIRA, A.D.; BARREIRO, M.F.; LOPRETTI, M. Microesferas de quitosano como potenciales transportadores de ácidos nucleicos y otros bioactivos. **Revista Iberoamericana de Polímeros**, v. 13, n. 5, p. 238-244, 2012.
- OLIVEIRA, M.L.; NUNES-PINHEIRO, D.C.; TOMÉ, A.R.; MOTA, E.F.; LIMA-VERDE, I.A.; PINHEIRO, F.G.; CAMPELLO, C.C.; MORAIS, S.M. In vivo topical anti-inflammatory and wound healing activities of the fixed oil of *Caryocar coriaceum* Wittm. Seeds. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 129, p. 214–219, 2010.

PAIVA, S.; RUSSELL, R. Beta carotene and other carotenoids as antioxidants. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 18, p. 426–433, 1999.

PARK, Y.S.; LEONTOWINCZ, H.; LEONTOWINCZ, M.; NAMIESNIK, J.; SUHAJ, M.; CVIKROVÁ, M.; MARTINCOVÁ, O.; WEISZ, M.; GORINSTEIN, S. Comparison of the contents of bioactive compounds activity in different kiwifruit cultivars. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 24, p. 963–970, 2011.

PASQUALIM, P.; CULPI, T.A.; KAMINSKI, G.T.A.; FIN, M.T.; SASSO, D.G.B.; COSTA, C.K.; MIGUEL, M.D.; FUJIWARA, G.M.; RODRIGUES, B.H.; ZANIN, S.M.W. Microcápsulas de alginato de cálcio e óleo vegetal pela técnica de geleificação iônica: Um estudo da capacidade de encapsulamento e aplicação dermatológica. **Visão Acadêmica**, v. 11, n. 1, p. 23-36, 2010.

PRADO, A. Composição fenólica e atividade antioxidante de frutas tropicais. **Dissertação de mestrado (Ciência e Tecnologia de Alimentos)**, Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2009.

PRATA, A. S.; ZANIN, M. H.; RÉ, M. I.; GROSSO, C. R. Release properties of chemical and enzymatic crosslinked gelatin-gum arabic microparticles containing a fluorescent probe plus vetiver essential oil. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 67, p. 171-178, 2008.

PRATA, A.N. **Estudo dos parâmetros físico-químicos envolvidos na formação de microcápsulas produzidas por coacervação complexa**. Brasil: Universidade Estadual de Campinas, 2006.

QUASIM, T.; MCMILLAN, D.C.; TALWAR, D.; SATTAR, N.; O'REILLY, D.S.; KINSELLA, J. Lower concentrations of carotenoids in the critically-ill patient are related to a systemic inflammatory response and increased lipid peroxidation. **Clinical Nutrition**, v. 22, n. 5, p. 459–462, 2003.

QUIRINO, G.S.; LEITE, G.O.; REBELO, L.M.; TOMÉ, A.R.; COSTA, J.G.M.; CARDOSO, A.H.; CAMPOS, A.R. Healing potential of Pequi (*Caryocar coriaceum* Wittm.) fruit pulp oil. **Phytochemistry Letters**, v. 2, p. 179-183, 2009.

RABISKOVA, M. I.; CANÇÃO, J.; OPAWALE, F.O.; BURGESS, D.J. The influence of surface-properties on uptake of oil into complex coacervate microcapsules. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v.46, p.631-635, 1994.

RAMOS, M.I.L., RAMOS-FILHO, M.M.; HIANE, P.A.; BRAGA-NETO, J.A.; SIQUEIRA, E.M.A. Qualidade nutricional da polpa da bocaiuva *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, p. 90-94, 2008.

RAO, A.V.; RAO, L.G. Carotenoids and human health. **Pharmacological Research**, v. 55, p. 207–216, 2007.

RATTER, J.A.; RIBEIRO, J.F.; BRIDGEWATER, S. The Brazilian Cerrado vegetation and threats to its biodiversity. **Annals of Botany**, v. 80, p. 223-230, 1997.

RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Quantitative analysis, in vitro assessment of bioavailability and antioxidant activity of food carotenoids-A review. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 23, p. 726-740, 2010.

RODRIGUEZ-AMAYA, D.B.; KIMURA, M.; AMAYA-FARFAN, J. **Fontes brasileiras de carotenoides**. 2. ed. Brasília, v.1, 2008, 100p.

ROSE, B. D. Diuretics. **Kidney Int**, v. 39, p. 336-352, 1991.

RUFINO, M.S.M.; ALVES, R.E.; BRITO, E.S.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F.; MANCINI-FILHO, J. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v.121, p. 996–1002, 2010.

SALINAS, Y.G.; GARCIA, R. Métodos químicos para el analisis de suelos acidos y plantas forrajeras. **Cali: Centro Internacional de Agricultura Tropical**, 1985. 83p.

SANGUANSRI, P.; AUGUSTIN, M. A. Nanoscale materials development – a food industry perspective. **Trends in Food Science and Technology**, London, v. 17, n. 10, p. 547-556, 2006.

SANTOS, A.B.; FERREIRA, V.P.; GROSSO, C.R.F. Microcápsulas: uma alternativa viável. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, n. 16, p. 26-30, 2001.

SANTOSO, U.; KUBO, K.; OTA, T.; TADOKORO, T.; MAEKAWA, A. Nutrient composition of kopyor coconuts (*Cocos nucifera* L.). **Food Chemistry**, v. 51, p. 299-304, 1996.

SARAIVA, S.A.; ARARUNA, M.K.; OLIVEIRA, R.C.; MENEZES, K.D.; LEITE, G.O.; KERNTOPF, M.R.; COSTA, J.G.; ROCHA, J.B.; TOMÉ, A.R.; CAMPOS, A.R.; MENEZES, I.R. Topical anti-inflammatory effect of *Caryocar coriaceum* Wittm. (Caryocaraceae) fruit pulp fixed oil on mice ear edema induced by different irritant agents. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 136, p. 504–510, 2011.

SCHLESIER, K.; HARWAT, M.; BOHM, V.; BITSCH, R. Assessment of antioxidante activity by using different in vitro methods. **Free Radical Research**, v. 36, n. 2, p.177-187. 2002.

SCHOTTENFELD, D.; BEEBE-DIMMER, J. Chronic inflammation: A common and important factor in the pathogenesis of neoplasia. **CA Cancer Journal Clinical**. 56, n. 2, p. 69–83, 2006.

SHAHIDI, F. Functional Foods: Their Role in Health Promotion and Disease Prevention. **Journal of food science**, v. 69, n. 5, p. 146-149, 2004.

SHINDE, U.; MANGAL, N. Microencapsulation of eugenol by gelatin-sodium alginate complex coacervation. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 73, n. 3, p. 311–315. 2011.

SILVA, M.R.; LACERDA, D.B.C.L.; SANTOS, G.G.; MARTINS, D.M.O. Caracterização química de frutos nativos do cerrado. **Ciência Rural**, v. 38, 2008.

SILVA, S.M.; BRAIT, J.D.A.; FARIA, F.P.; SILVA, S.M.; OLIVEIRA, S.L.; BRAGA, P.F.; SILVA, F.M.S.M. Chemical characteristics of pequi fruits (*Caryocar brasiliense* Camb.) native of three municipalities in the State of Goiás – Brazil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n. 4, p. 771-777, 2009.

SINGH, M.N.; HEMANT, K.S.Y.; RAM, M.; SHIVAKUMAR, H.G. Microencapsulation: A promising technique for controlled drug delivery. **Research in Pharmaceutical Sciences**, v. 5, n. 2, p. 65-77, 2010.

SUAVE, J.; DALL'AGNOL, E.C.; PEZZIN, A.P.T.; SILVA, D.A.K.; MEIER, M.M.; SOLDI, V. Microencapsulação: Inovação em diferentes áreas. **Revista Saúde e Ambiente**, v. 7, n. 2. 2006.

TEOW, C.C; TRUONG, V.; MCFEETERS, R.F; THOMPSON, R.L; PECOTA, K.V.; YENCHO, G.C. Antioxidant activities, phenolic and B-carotene contents of sweet potato genotypes with varying flesh colours. **Food Chemistry**, v. 103, p. 829-838. 2007.

The National Academies Press. 2005. **Food and Nutrition Board. Dietary reference intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein and aminoacids** (macronutrients table). Disponível em: www.nap.edu. Acessado em 01 de dezembro de 2012.

TONON, R.V.; GROSSO, C.R.F.; HUBINGER, M.D. Influence of emulsion composition and inlet air temperature on the microencapsulation of flaxseed oil by spray dryng. **Food Research International**, v. 44, p. 282-289, 2011.

UBBINK, J.; KRÜGER, J. Physical approaches for the delivery of active ingredients in foods. **Trends in Food Science and Technology**, v. 17, n. 5, p. 244-254, 2006.

VELIOGLU, Y. S.; MAZZA, G.; CAO, L.; OOMAH, B. D. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, p. 4113-4117. 1998.

VILELLA, A.L.M.; PEREIRA, L.C.; GONÇALVES, C.A.; GRISOLIA, C.K. Pequi fruit (*Caryocar brasiliense* Camb.) pulp oil reduces exercise-induced inflammatory markers and blood pressure of male and female runners. **Nutrition Research**, v. 29, p.850–858, 2009.

VOZ, P.; FAAS, M.M.; SPASOJEVIC, M.; SIKKEMA, J. Encapsulation for preservation of functionality and targeted delivery of bioactive food components. **International Dairy Journal**, v. 20, p. 292–302, 2010.

WEATHERILL, A.R.; LEE, J.Y.; ZHAO, L.; LEMAY, D.G.; YOUN, H.S.; HWANG, D.H. Saturated and polyunsaturated fatty acids reciprocally modulate dendritic cell

functions mediated through TLR4. **Journal of Immunology**, v.174, p.5390-5397, 2005.

WIELAND-BERGHAUSEN, S.; SCHOTE, U.; FREY, M.; SCHMIDT, F. Comparison of microencapsulation techniques for the water-soluble drugs nitenpyram and clomipramine HCl. **Journal of Controlled Release**, v. 85, p. 35-43, 2002.

WU, X.; GU, L.; HOLDEN, J.; HAYTOWITZ, D.; GEBHARDT, S.; BEECHER, G.; PRIOR, R. Development of a database for total antioxidant capacity in foods: a preliminary study. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 17, p. 407-422. 2004.

XU, X.R.; ZOU, Z.Y.; HUANG, Y.M.; XIAO, X.; MA, L.; LIN, X.M. Serum carotenoids in relation to risk factors for development of atherosclerosis. **Clinical Biochemistry**, v. 45, p. 1357–1361, 2012.

YING-QV, X; ZENG, Z.P.; JIANG,J.G. Preparation of lutein microencapsulation by complex coacervation method and its physicochemical properties and stability. **Food Hydrocolloids**, v. 25, n. 6, p. 1596-1603, 2011.