



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO TECNOLÓGICO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS

Milena Nascimento da Silva

**PRODUÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E APLICAÇÃO DE MICROPARTÍCULAS
CONTENDO BIXINA ENCAPSULADA EM ALGINATO-GELATINA-
CARRAGENINA**

Florianópolis

2024

Milena Nascimento da Silva

**PRODUÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E APLICAÇÃO DE MICROPARTÍCULAS
CONTENDO BIXINA ENCAPSULADA EM ALGINATO-GELATINA-
CARRAGENINA**

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial para a obtenção do título de Doutora em Engenharia de Alimentos.

Orientador(a): Prof.(a) Alcilene Rodrigues Monteiro fritz, Dr.(a)

Coorientador: Prof. Cristiano José de Andrade, Dr.

Florianópolis

2024

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Silva, Milena Nascimento da
Produção, caracterização e aplicação de micropartículas contendo bixina encapsulada em alginato-gelatina-carragenina / Milena Nascimento da Silva ; orientadora, Alcilene Rodrigues Monteiro Fritz, coorientador, Cristiano José de Andrade, 2024.
104 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Florianópolis, 2024.

Inclui referências.

1. Engenharia de Alimentos. 2. Compostos bioativos. 3. Bixina microencapsulada. 4. hidrogel. 5. barras de cereais. I. Fritz, Alcilene Rodrigues Monteiro . II. Andrade, Cristiano José de . III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos. IV. Título.

Milena Nascimento da Silva

**PRODUÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E APLICAÇÃO DE
MICROPARTÍCULAS CONTENDO BIXINA ENCAPSULADA EM ALGINATO-
GELATINA-CARRAGENINA**

O presente trabalho em nível de doutorado foi avaliado e aprovado por banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Profa. Dra. Alcilene Rodrigues Monteiro Fritz - Presidente - UFSC

Dr. Victor Gomes Lauriano de Souza - Membro Externo - INL - *International Iberian Nanotechnology Laboratory*

Profa. Dra. Silvani Verruck - Membro Externo - UFSC

Profa. Dra. Jéssica de Matos Fonseca - Membro Interno – UFSC

Certificamos que esta é a **versão original e final** do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de doutora em Engenharia de Alimentos.

Profa. Dra. Jaciane Lutz Ienczak
Coordenadora do Programa

Profa. Dra. Alcilene Rodrigues Monteiro Fritz
Orientadora

Florianópolis, 2024.

Dedico a Deus e minha família.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelo dom da vida, pelo seu amor, sua misericórdia, pela saúde, por cuidar tanto de mim e guiar meus caminhos, sem ti eu nada não sou.

A minha família, meus pais, Otaviano e Maria do Socorro, aos meus irmãos, Miriam e Miguel, por serem minha base, pela educação, por me ensinarem valores que faz de mim um ser humano melhor, por todo esforço, apoio e incentivo que sempre fizeram a diferença, Amo vocês!

As minhas amigas, Zélia, Fabíola, Ingrid, Maria Angélica e Jaízia que nunca mediram esforços para me ajudarem, foram realmente essenciais pra que eu continuasse em meio aos desafios e dificuldades. Obrigada de coração pelo apoio e amizade!

Aos meus irmãos do Grupo de Oração Universitário GOU, obrigada por serem face de Cristo para mim, pelas orações, fraternidade, pelo incentivo, por "Vai dar certo", "estamos rezando por você" que sempre ouvi e que me fizeram sentir que o Senhor está sempre comigo!

A todos do laboratório PROFI pela ajuda, companheirismo, pelos momentos de descontração e troca de conhecimentos, em especial a Amanda Galvão e Betina, pela companhia em plenos fins de semana para trabalhar, que não mediram esforços, muito obrigada por me ajudarem tanto.

Quero também agradecer ao Wilson, colega do grupo de pesquisa que ajudou na análise de digestibilidade. Obrigada pelo empenho e contribuição.

Aos Professores Dr.^a Alcilene Rodrigues Monteiro Fritz e Dr. Cristiano José de Andrade pela orientação, direcionamento, incentivo, dedicação e paciência!

A banca pela disponibilidade e contribuições.

Agradeço aos servidores, Fernando da secretaria PPGEAL, Leandro e Fernanda da Central de Análise pelo trabalho dedicação e carinho, sempre fazendo o trabalho da melhor forma com muita seriedade, e contribuindo com o desenvolvimento das pesquisas, muito obrigada!

Aos laboratórios parceiros LABSEM, LATEC, LAMEB, LCME, e Central de Análises do EQA obrigada por estarem sempre de portas abertas pela disponibilidade para as análises e equipamentos para realização desse trabalho.

Agradeço a Universidade Federal de Santa Catarina e ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos.

A Capes, pela concessão da bolsa.
A todos que torcem por mim que me ajudaram de alguma forma!

AGRADECIDA DE CORAÇÃO!

“O heroísmo do trabalho está em acabar cada tarefa”.

São Josemaria Escrivá

RESUMO

O urucum (*Bixa orellana*) é um fruto que contém sementes ricas em carotenoides. A forma de pós é a mais comercializada do urucum direcionada a culinária, mais especificamente como condimento para dar cor e sabor. Sua cor predominante é vermelho-alaranjado devido ao alto teor de bixina, um apocarotenóide. Uma das propriedades biológicas mais importantes da bixina é o seu poder antioxidante. Entretanto, a bixina, assim como a maioria dos carotenoides, apresenta alguns inconvenientes em relação às aplicações alimentícias como baixa solubilidade em água, sensibilidade e degradação na presença de luz, oxigênio, entre outros. Logo, a sua aplicação é condicionada à estabilização da mesma, e concomitantemente a sua biodisponibilidade. Nesse contexto, a microencapsulação é uma das estratégias mais promissoras e eficientes para a estabilização da bixina para posterior aplicação. Assim, esta pesquisa objetivou estabilizar o extrato de urucum contendo alto teor de bixina usando a técnica de encapsulamento por gelificação iônica, formando micropartículas de hidrogel usando uma combinação de biopolímeros e aplicação em formulação alimentícia. As micropartículas foram produzidas usando alginato, alginato-gelatina e alginato-carragenina, seguida de secagem sob vácuo em estufa ou liofilização, de forma a avaliar a influência desses processos nas micropartículas e bixina encapsulada. As micropartículas foram caracterizadas quanto sua morfologia, propriedades químicas e físico-química. Extrato de bixina e micropartículas de bixina foram utilizadas nas formulações para produção de barra de cereais. As barras com e sem bixina encapsulada foram caracterizadas e ensaios de liberação de bixina nas condições bucal, gástrica e intestinal foram realizados. A técnica de gelificação iônica apresentou elevadas eficiências de encapsulamento de bixina 95,72%, 94,70%, e 93,71% para as micropartículas de alginato, alginato-gelatina e alginato-carragenina, respectivamente. As micropartículas apresentaram baixa atividade de água, entre 0,2 a 0,3 e amorfismo. O tipo de secagem (estufa à vácuo e liofilização) não influenciou nas características termofísicas das micropartículas, porém influenciou no material de parede e processo de liberação. Em relação aos resultados do teste de liberação, para a condição simulando meio gastrointestinal, as micropartículas revestidas de alginato-gelatina liofilizada (AGLb) apresentaram a maior liberação de bixina próximo a 61%. As barras de cereais foram produzidas utilizando as micropartículas de Alginato-gelatina devido a maior liberação de bixina na fase intestinal. As barras com e sem bixina (barras controle -

BC, extrato - BEX e Micropartículas - BMP) apresentaram os seguintes resultados: barras BMP apresentaram maior teor de cinzas (1,40%) e maior atividade de água (0,52), quando comparadas as outras barras de cereais. Em relação ao perfil de textura, não houve diferença significativa na dureza, força de cisalhamento e coesão. Considerando a mastigabilidade, a barra BEX (39,87) foi significativamente diferente das barras BC (17,30) e BMP (22,15). Em relação à liberação de bixina as barras de cereais contendo micropartículas apresentaram maior liberação na fase intestinal. Os resultados obtidos nesta pesquisa mostraram que a combinação de alginato-gelatina foi a melhor combinação para encapsular e liberar controladamente a bixina. Adicionalmente esta pesquisa apresenta uma alternativa viável para ampliação da produção de um alimento saudável com propriedades ativas a serem incorporadas pelas indústrias de alimentos.

Palavras-chave: bixina; micropartículas ativas; formulação alimentícia.

ABSTRACT

Annatto (*Bixa orellana*) is a fruit that contains seeds rich in carotenoids. The powder form is the most commercialized form of annatto for cooking, more specifically as a condiment to add color and flavor. Its predominant color is orange-red due to the high content of bixin, an apocarotenoid. One of the most important biological properties of bixin is its antioxidant power. However, bixin, like most carotenoids, presents some drawbacks in relation to food applications, such as low solubility in water, sensitivity and degradation in the presence of light, oxygen, among others. Therefore, its application is conditioned to its stabilization, and concomitantly its bioavailability. In this context, microencapsulation is one of the most promising and efficient strategies for stabilizing bixin for subsequent application. Thus, this research aimed to stabilize annatto extract containing a high bixin content using the ionic gelation encapsulation technique, forming hydrogel microparticles using a combination of biopolymers and application in food formulation. The microparticles were produced using alginate, alginate-gelatin and alginate-carrageenan, followed by drying under vacuum in an oven or freeze-drying, in order to evaluate the influence of these processes on the microparticles and encapsulated bixin. The microparticles were characterized regarding their morphology, chemical and physical-chemical properties. Bixin extract and bixin microparticles were used in formulations for cereal bar production. The bars with and without encapsulated bixin were characterized and bixin release assays under oral, gastric and intestinal conditions were carried out. The ionic gelation technique showed high bixin encapsulation efficiencies of 95.72%, 94.70%, and 93.71% for alginate, alginate-gelatin and alginate-carrageenan microparticles, respectively. The microparticles showed low water activity, between 0.2 and 0.3, and amorphism. The type of drying (vacuum oven and freeze-drying) did not influence the thermophysical characteristics of the microparticles, but it did influence the wall material and release process. Regarding the results of the release test, for the condition simulating the gastrointestinal environment, the microparticles coated with freeze-dried alginate-gelatin (AGLb) showed the highest release of bixin, close to 61%. The cereal bars were produced using Alginate-gelatin microparticles due to the greater release of bixin in the intestinal phase. The bars with and without bixin (control bars - BC, extract - BEX and Microparticles - BMP) showed the following results: BMP bars showed higher ash content (1.40%) and higher water activity (0.52), when compared to other cereal bars. Regarding the texture profile, there was

no significant difference in hardness, shear strength and cohesion. Considering chewiness, the BEX bar (39.87) was significantly different from the BC (17.30) and BMP (22.15) bars. Regarding the release of bixin, cereal bars containing microparticles showed greater release in the intestinal phase. The results obtained in this research showed that the alginate-gelatin combination was the best combination to encapsulate and controllably release bixin. Additionally, this research presents a viable alternative for expanding the production of healthy food with active properties to be incorporated by the food industry.

Keywords: bixin; active microparticles; food formulation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Resumo gráfico – produção, caracterização e aplicação de micropartículas contendo bixina.	18
Figura 2 - Estrutura química de alguns carotenoides de acordo com a classificação de carotenos e xantofilas. Adaptada de Kopec; Failla, (2018).	21
Figura 3 - Tendências científicas para encapsulamento de carotenoides: (A) Publicações por ano de 2011 a 2021. (B) Publicações por país.	22
Figura 4 - Frutos do urucuzeiro (<i>Bixa orellana</i> L.).....	23
Figura 5 - Estrutura da (A) bixina e (B) norbixina.	25
Figura 6 - Estrutura química do alginato de sódio.	33
Figura 7 Esquema de elaboração de micropartículas de hidrogel com biopolímero como alginato de sódio.	35
Figura 8 - Estruturas químicas das carrageninas.	36
Figura 9 - Estrutura química da gelatina.....	38
Figura 10 – Perfil do comportamento térmico do extrato e das micropartículas liofilizadas (A) e micropartículas secas em estufa (B).	59
Figura 11 - Difrátogramas de Raios X para as micropartículas liofilizadas (A) e para as micropartículas secas em estufa (B).	60
Figura 12 - Espectros de infravermelho do extrato, biopolímeros puros das micropartículas secas em estufa (A) e para as micropartículas liofilizadas (B).	61
Figura 13 - Morfologia (por MEV) de micropartículas com igual magnitude para os dois métodos de secagem: secagem em estufa e liofilização.	64
Figura 14 - Imagens de micropartículas úmidas e secas (Estufa e liofilização).....	67
Figura 15 - Comportamento da liberação das micropartículas no ensaio de digestibilidade na fase intestinal (testes realizados a 37 °C por 2 h).....	69
Figura 16 - Estabilidade da bixina à luz por 21 dias. AGLb - Alginato de micropartículas e gelatina liofilizada.	71
Figura 17 - Imagens das três formulações de barras de cereais produzidas.	72
Figura 18 - Concentração de bixina liberada das barras de cereais BEX e BMP em solvente.	77

Figura 19 - Simulação *in vitro* das formulações de barras de cereais controle, com extrato de bixina e com micropartículas de bixina.79

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição centesimal do urucum.....	24
Tabela 2 - Técnicas utilizadas para estabilizar os carotenoides puros e obtidos de frutas e vegetais.....	28
Tabela 3 - Concentrações dos fluídos utilizados nas etapas de simulação gastrointestinal.	51
Tabela 4 - Ingredientes utilizados na preparação das formulações das barras controle, com extrato e com micropartículas (200 g).....	52
Tabela 5 - Atividade antioxidante, compostos fenólicos e análise de cor do extrato.	55
Tabela 6 - Teor de umidade e atividade de água (A_w) das micropartículas.	57
Tabela 7 - Parâmetros de cor das micropartículas de bixina encapsulada: Alto teor de umidade, secos em estufas e liofilizados.	66
Tabela 8 - Parâmetros de cor de cada micropartícula nos três estados (úmido, seco por estufa e seco por liofilização).....	68
Tabela 9 - Caracterização físico-química das barras de cereais.	73
Tabela 10 - Perfil de textura das barras de cereais.	75

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABTS - Ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)

DSC - Calorimetria Exploratória Diferencial

DRX - Difração de Raios X

FTIR - Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier

MEV- Microscopia Eletrônica de Varredura

Mp - Micropartícula

AL - Alginato

AG - Alginato e gelatina

CG - Carragenina

ACG - Alginato e carragenina.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	OBJETIVOS	18
2.1	OBJETIVO GERAL	18
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	18
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19
3.1	COMPOSTOS BIOATIVOS	19
3.1.1	Carotenoides	20
3.1.2	Urucum	22
3.1.3	Bixina	24
3.2	MICROENCAPSULAMENTO DE BIOATIVOS	26
3.2.1	Microencapsulamento por hidrogel	30
3.2.1.1	<i>Gelificação iônica</i>	31
3.2.1.1.1	Gelificação externa	31
3.2.1.1.2	Gelificação interna	31
3.2.1.2	<i>Materiais poliméricos</i>	32
3.2.1.2.1	Alginato	33
3.2.1.2.2	Carragenina	35
3.2.1.2.3	Gelatina	37
3.3	MECANISMO DE LIBERAÇÃO.....	39
3.4	APLICAÇÃO DE MICROPARTÍCULAS DE HIDROGEL EM ALIMENTOS.....	40
3.4.1	Barra de cereal	41
4	MATERIAL E MÉTODOS	44
4.1	MATERIAL	44
4.2	MÉTODOS	44
4.2.1	Obtenção do extrato com bixina	44
4.2.2	Caracterização do extrato	45
4.2.2.1	<i>Atividade Antioxidante (ABTS)</i>	45
4.2.2.2	<i>Compostos fenólicos</i>	45
4.2.2.3	<i>Quantificação de bixina</i>	45
4.2.2.4	<i>Cor</i>	46
4.3	ENCAPSULAMENTO DO EXTRATO DE BIXINA.....	46
4.3.1	Caracterização das micropartículas	47

4.3.1.1	<i>Determinação de umidade e Atividade de água (aW)</i>	47
4.3.1.2	<i>Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)</i>	47
4.3.1.3	<i>Difração de Raios X (DRX)</i>	48
4.3.1.4	<i>Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)</i>	48
4.3.1.5	<i>Eficiência de Encapsulamento (EE)</i>	48
4.3.1.6	<i>Morfologia</i>	49
4.3.1.7	<i>Cor</i>	49
4.3.1.8	<i>Digestibilidade in vitro das micropartículas com bixina</i>	49
4.3.1.9	<i>Estabilidade a Luz</i>	51
4.4	APLICAÇÃO DE MICROPARTÍCULAS DE BIXINA EM BARRAS DE CEREAIS	52
4.4.1	Caracterização das Barras de Cereais	52
4.4.1.1	<i>Determinação de cinzas</i>	53
4.4.1.2	<i>Determinação de umidade e atividade de água</i>	53
4.4.1.3	<i>Análise Instrumental de Perfil de Textura (TPA)</i>	53
4.4.1.4	<i>Determinação do teor de bixina nas barras de cereais</i>	53
4.4.1.5	<i>Digestibilidade das barras de cereais</i>	54
4.5	ANÁLISE ESTATÍSTICA	54
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	55
5.1	CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO	55
5.2	CARACTERIZAÇÃO DAS MICROPARTÍCULAS	56
5.2.1	Determinação de umidade e atividade de água	56
5.2.2	Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)	57
5.2.3	Difração de Raios (DRX)	59
5.2.4	Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) 60	
5.2.5	Eficiência de Encapsulamento (EE)	63
5.2.6	Morfologia	63
5.2.7	Cor	65
5.2.8	Digestibilidade <i>in vitro</i> das micropartículas	69
5.2.9	Estabilidade de bixina a luz	71
5.3	APLICAÇÃO DAS MICROPARTÍCULAS	72
5.4	PRODUÇÃO DE BARRAS DE CEREAIS	72
5.3.2	Caracterização das Barras de Cereais	73

5.3.2.1	<i>Conteúdo de cinzas e umidade, atividade de água e análise de cor.....</i>	73
5.3.2.2	<i>Análise do Perfil de Textura (TPA)</i>	75
5.2.2.4	<i>Quantificação de bixina nas barras de cereais.....</i>	77
5.4.1.1	<i>Digestibilidade das barras de cereais.</i>	78
6	CONCLUSÃO	80
	REFERÊNCIAS	81

DIAGRAMA CONCEITUAL

O que?

Estabilizar bixina de sementes de urucum para aplicação em alimento.

Porquê?

- A estabilização de bioativos pode aumentar a absorção dos mesmos no organismo humano;
- A bixina é um bioativo apocarotenóide oriundo do urucum que apresenta notável atividade antioxidante.
- A bixina pode ser estabilizada, bem como ter sua liberação controlada, e assim aperfeiçoar sua eficiência biológica.
- O microencapsulamento é uma técnica que pode proteger, estabilizar e controlar a liberação da bixina.
- É necessário avaliar as condições digestivas de microcápsulas contendo bixina.
- Necessidade de produzir alimentos com melhor qualidade nutricional, bem como diminuir uso de corantes e/ou conservantes sintéticos;

O que já foi feito?

- Encapsulamento de extrato de bixina utilizando gelificação iônica e proteínas como materiais encapsulantes.
- Encapsulamento de extrato de bixina por outras técnicas: Eletrofiação, deposição interfacial, *spray drying* em outras matrizes poliméricas.
- Aplicação de extrato de bixina em alimentos como iogurte, muffins.

Hipóteses da pesquisa

- É possível estabilizar bixina usando a técnica de gelificação iônica e biopolímeros como material encapsulante.
- As micropartículas contendo bixina poderão ser utilizadas em formulação de alimentos contribuindo para sua qualidade nutricional, sem afetar as propriedades tecnológicas.

Metodologia experimental

Para alcançar as hipóteses propostas nesta pesquisa realizou-se:

- A capacidade antioxidante dos extratos de urucum e das micropartículas determinada pelo método ABTS e compostos fenólicos.
- Microencapsulamento do extrato de bixina foi realizado pela técnica de gelificação iônica, utilizando combinações poliméricas (alginato, carragenina e gelatina) como materiais encapsulantes.
- Desenvolveu-se barras de cereais como alimento modelo para avaliar as microcápsulas de bixina.
- Liberação da bixina encapsulada e das barras *in vitro* nas fases oral, gástrica e intestinal foram avaliadas.

Resultados

- Obteve-se um extrato rico em bixina com atividade antioxidante.
- Obteve-se micropartículas de bixina com elevado rendimento que possam

ser exploradas em nível comercial.

- Alta liberação de bixina das micropartículas Alginato-gelatina na fase intestinal;
- Aplicação das micropartículas em formulação de barras de cereais foi promissor, com elevada taxa de liberação da bixina na fase gastrointestinal.

1 INTRODUÇÃO

Devido à crescente preocupação dos consumidores em manter uma alimentação saudável e com a segurança alimentar no século XXI, as indústrias de alimentos têm investido cada vez mais no desenvolvimento e produção de alimentos funcionais, que auxiliem tanto na manutenção da saúde quanto na prevenção de doenças (SAQIB et al., 2022).

Nesse contexto, existe uma redução do uso de ingredientes artificiais e aumento por compostos associados a manutenção da saúde que reduzem de riscos de doenças, como carotenoides, compostos fenólicos, vitaminas A, D, E e K, óleos essenciais, e ácidos graxos; são componentes presentes em diversas frutas e vegetais, que por sua vez, são passíveis de serem utilizadas (BAZANA; CODEVILLA; DE MENEZES, 2019; REZAEI; FATHI; JAFARI, 2019; JAIN; WINUPRASITH; SUPHANTHARIKA, 2020).

Em particular, os carotenoides utilizados como corantes e antioxidantes, são substâncias que não são sintetizadas por humanos, sendo assim necessário consumir na dieta. Conhecendo as funções e benefícios relevantes, como um potente antioxidante, os carotenoides estão cada vez mais atraindo a atenção dos consumidores (EGGERSDORFER; WYSS, 2018; ROLL ZIMMER; BARBOZA MENDONÇA; ZAMBIAZI, 2022). Estruturalmente, os carotenoides possuem ligações duplas conjugadas, no centro de sua molécula, que desempenham um papel cromóforo (RODRIGUEZ-AMAYA, 2019; WATKINS; POGSON, 2020).

A semente de urucum possui carotenoides naturais que são difundidos e aplicados na indústria alimentícia. O extrato de coloração vermelha está correlacionado à bixina – o composto majoritário (JAHANGIRI et al., 2018; MORAES; ZABOT; MEIRELES, 2015).

A bixina é um apocarotenóide lipofílico composto por uma cadeia de hidrocarbonetos poliinsaturados ($C_{25}H_{30}O_4$) (JAHANGIRI et al., 2018). Possui propriedades biológicas notáveis, como atividade antimicrobiana e principalmente antioxidante (CHISTÉ et al., 2011; QUIROZ et al., 2020). No entanto, o consumo de bixina, assim como a sua aplicação em formulações alimentícias, apresenta desafios quanto às interações compostos-alimento, como a baixa solubilidade, instabilidade à luz e ao oxigênio, que limitam sua incorporação em produtos alimentícios (PINZÓN-GARCÍA et al., 2018; URSACHE et al., 2018).

Assim, o desenvolvimento de sistemas capazes de melhorar a aplicação de bixina, tais como técnicas de encapsulamento, tem sido uma alternativa promissora para melhorar a sua estabilidade. O material de barreira no processo de encapsulação tem a função de proteger compostos sensíveis a fatores ambientais, e também devem possibilitar sua liberação em locais de absorção favoráveis, proporcionando estabilidade química durante todo o processo, ou seja, desde a produção, armazenamento, transporte e consumo do produto (JAIN; WINUPRASITH; SUPHANTHARIKA, 2020).

Existe uma variedade de materiais poliméricos de fontes naturais ou sintéticas que são utilizados como encapsulantes. Embora os materiais sintéticos apresentem algumas funções importantes e ainda sejam amplamente utilizados, pesquisas vêm se intensificando para explorar e potencializar cada vez mais o uso de polímeros naturais como alginato, carragenina, gelatina, entre outros, que são capazes de formar géis, ou seja, constituindo um importante grupo de biomateriais biodegradáveis, biocompatíveis, não tóxicos e renováveis (LEONG et al., 2016).

Assim, micropartículas de hidrogel com bixina, em bases poliméricas de origem natural, são excelentes, potencialmente, para incorporação em formulações alimentícias, como por exemplo, as barras de cereais.

As barras de cereais foram desenvolvidas na década de 80 nos Estados Unidos, como um produto alternativo rápido e nutritivo. No Brasil, foi introduzida no início dos anos 90 (DE BARROS VINHAL et al., 2022; DE MELO et al., 2019). A elaboração de barras de cereais é um processo relativamente simples, pois podem ser produzidas com diversos componentes como fibras, fitoquímicos antioxidantes, pré e probióticos, proteínas, micropartículas bioativas, entre outros (De Melo et al. 2020; (SAMAKRADHAMRONGTHAI; JANNU; RENALDI, 2021), afim de agregar valor e possibilitar a ingestão de componentes conforme demanda e necessidade de cada indivíduo.

Nesse sentido, uma das alternativas para investigar o potencial das micropartículas contendo bixina foi a produção, caracterização e aplicação em formulações de barra de cereais.

2 OBJETIVOS

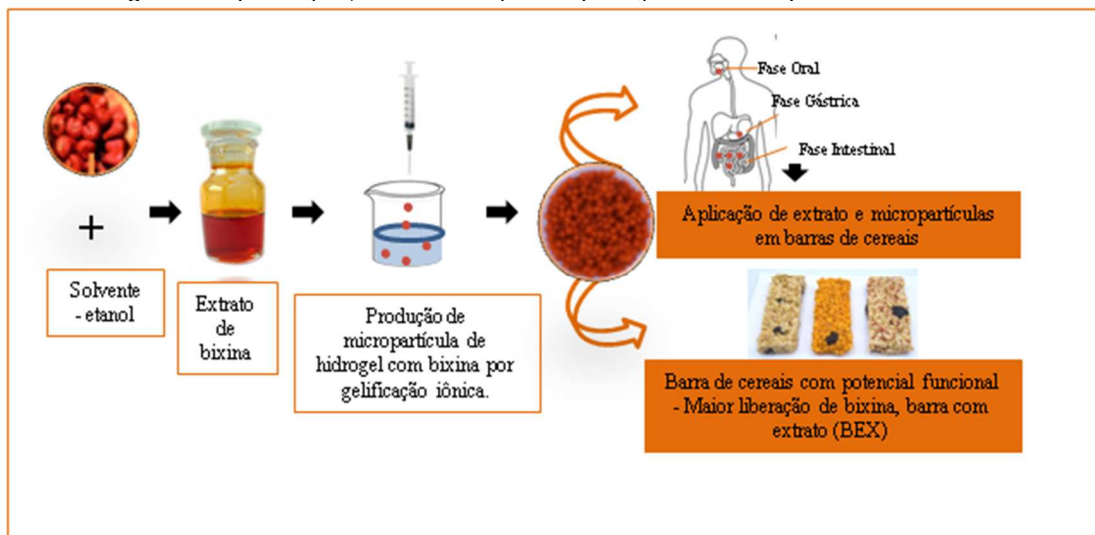
2.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo do presente trabalho foi produzir e caracterizar micropartículas contendo bixina pela técnica de gelificação iônica e, incorporar as mesmas em formulações de alimentos, usando como modelo barras de cereais.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Produzir micropartículas com bixina por gelificação iônica utilizando alginato, carragenina e gelatina como materiais encapsulantes.
- ✓ Caracterizar as micropartículas: Propriedades térmicas, morfológicas, grupos funcionais, liberação em condições gastrointestinais simuladas, cor.
- ✓ Identificar o perfil gastrointestinal (*in vitro*) de liberação de bixina das micropartículas produzidas.
- ✓ Analisar a estabilidade das micropartículas à exposição à luz.
- ✓ Avaliar as barras de cereais contendo extrato de urucum e micropartículas contendo o extrato de urucum.

Figura 1- Resumo gráfico – produção, caracterização e aplicação de micropartículas contendo bixina.



3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 COMPOSTOS BIOATIVOS

Os compostos bioativos são metabólitos secundários que vêm chamando a atenção da indústria alimentícia, em especial aplicados a formulações de alimentos, por apresentarem notáveis propriedades biológicas como atividade antioxidantes e anti-inflamatórias, antimicrobianas e anticancerígenas. Como exemplo desses compostos, os carotenoides, compostos fenólicos, antocianinas, ácidos graxos essenciais, minerais, vitaminas, flavonóides, entre outros (BOT et al., 2018; GIACONIA et al., 2020).

Nesse sentido, alguns compostos bioativos são corantes naturais, como os carotenoides, que possuem atividade antioxidante, ou seja, dificultam a oxidação lipídica, uma das principais causas da deterioração alimentícia, preservando o sabor, a cor e outras características importantes de alimentos (OZKAN et al., 2019). No entanto, as principais dificuldades associadas aos carotenoides bioativos de forma livre estão relacionadas à sua baixa solubilidade em água e biodisponibilidade (DELSHADI et al., 2020; RODRIGUEZ-AMAYA, 2019).

Existe a necessidade de preservar tais compostos biologicamente ativos, de forma a proporcionar a sua liberação controlada, e de melhorar o seu desempenho, aproveitando os seus benefícios. Para isso faz-se o uso de técnicas que melhorem a sua solubilidade e tornem sua aplicação efetiva (JAHANGIRI et al., 2018).

O encapsulamento de ativos vem se consolidando ao longo das décadas, por se tratar de uma tecnologia que permite a proteção e, conseqüentemente, a preservação das propriedades de compostos susceptíveis à degradação, como os carotenoides. O encapsulamento consiste em revestir o composto bioativo com outro material, geralmente um polímero, obtendo partículas de natureza sólida ou líquida com a função de preservar as qualidades do componente encapsulado, atuando como barreira física contra fatores externos (HECKERT BASTOS et al., 2020; SANTOS et al., 2021). A microencapsulação é uma das estratégias mais promissoras para estabilização e aplicação de substâncias bioativas (SAMPAIO et al., 2019).

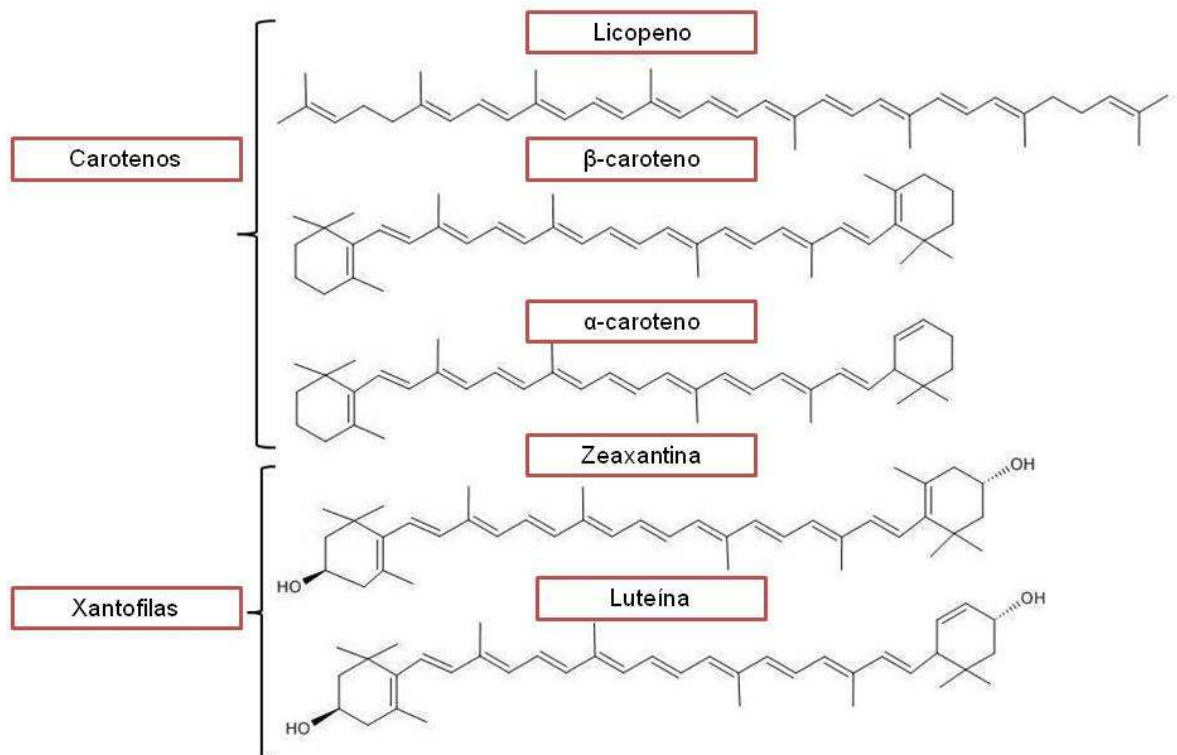
3.1.1 Carotenoides

Os carotenoides são bioativos pertencentes à categoria dos tetraterpenos. Estruturalmente são compostos por moléculas lineares com oito unidades de isoprenóides, além de um centro de inversão (PHAN et al., 2021). Esses compostos desempenham funções essenciais no processo de fotossíntese, que auxiliam a captação de luz, bem como a transferência dessa energia para a clorofila (ROWLES; ERDMAN, 2020; VON LINTIG; MOON; BABINO, 2020; WATKINS; POGSON, 2020).

Os carotenoides podem ser sintetizados por plantas (encontrados em uma variedade de frutas e legumes como tomate, melancia e cenoura), algas (*Phaeodactylum tricornutum*), leveduras (*Xanthophyllomyces dendrorhous*), fungos (*Blakeslea trispora*) e algumas bactérias (*Pseudomonas aeruginosa*, *Chromobacterium* spp.). Logo, a absorção de carotenoides por seres humanos é exclusivamente dependente da dieta. Os carotenoides compõem uma ampla classe dos terpenóides (tetraterpenóides com 40 carbonos) que são compostos por cromóforos de polieno com até onze ligações duplas conjugadas e anéis terminais de carbono. Essa conjugação confere aos carotenoides uma conformação estrutural química notável, que por sua vez é relacionada à determinadas funções biológicas como antioxidante e provitamínico A (GILLE et al., 2018; LI; SWOFFORD; SINSKEY, 2020; MOISE; AL-BABILI; WURTZEL, 2014; NANOU; ROUKAS; KOTZEKIDOU, 2007; PRIYADARSHANI, 2018; RAM et al., 2020; RAMMUNI et al., 2019; VON LINTIG et al., 2019).

De acordo com a estrutura química, os carotenoides podem ser classificados em dois grupos: Carotenos (e.g. α -caroteno, β -caroteno, β -criptoxantina e licopeno) que são hidrocarbonetos e as xantofilas (e.g. zeaxantina e luteína) que são derivados oxigenados (alcoólicos), ou seja possuem oxigênio na estrutura (ARYEE; AGYEI; AKANBI, 2018; KHALID et al., 2019; VON LINTIG et al., 2019; WATKINS; POGSON, 2020). A Figura 2 apresenta as estruturas químicas de alguns carotenoides de acordo com essa classificação.

Figura 2 - Estrutura química de alguns carotenoides de acordo com a classificação de carotenos e xantofilas. Adaptada de Kopec; Failla, (2018).



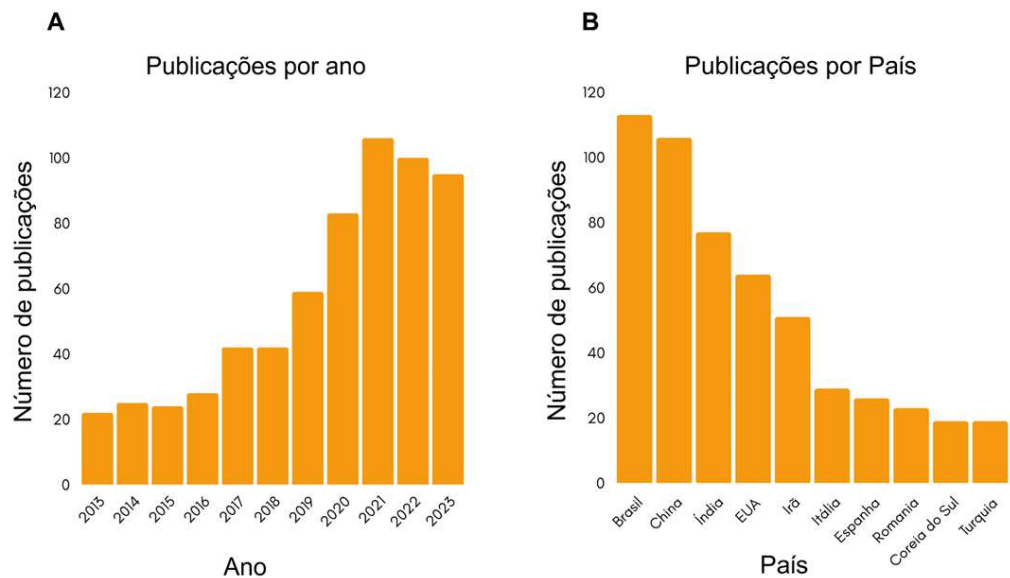
A atividade biológica mais importante atribuída aos carotenoides é a provitamina A. Devido às suas características estruturais, o β-caroteno é o único carotenoide com 100% de atividade de provitamina A, pois é o único bioativo capaz de gerar duas moléculas retinianas. Após a ingestão, os carotenoides β-caroteno e provitamina A são absorvidos e convertidos em retinal no intestino (MESQUITA; TEIXEIRA; SERVULO, 2017; RIBEIRO et al., 2018; SANTOS et al., 2021).

A estrutura química lipofílica dos carotenoides, bem como sua baixa estabilidade à exposição a luz e à elevada temperatura dificultam sua aplicação massiva, principalmente em formulações alimentícias. A microencapsulação de carotenoides pode ampliar sua forma de aplicação.

Tendências científicas foram observadas a partir da análise de dados do Scopus (www.scopus.com). A pesquisa foi realizada em 5 de abril de 2024. Os parâmetros de busca foram título, resumo, palavras-chave, tipo de documento e dados de publicação, de 2013 a 2023, utilizando as palavras-chaves: "*encapsulation carotenoids*" ou "*carotenoid hydrogel*" ou "*carotenoid hydrogel microparticles*".

Conforme a Figura 3 (A) foram obtidos 626 documentos no levantamento. É possível observar que houve um aumento significativo de publicações de 2020 (83 publicações) a 2021 (106 publicações). Do total de 626 documentos, cerca de 68% (427) corresponde a artigos de pesquisa, 23% (145) são artigos de revisão, 6,4% (40) são relacionados à publicação de capítulos de livros. No cenário de publicações por país, é importante destacar que o Brasil é o país com maior número de publicações (113 documentos), seguido da China com 106 documentos.

Figura 3 - Tendências científicas para encapsulamento de carotenoides: (A) Publicações por ano de 2013 a 2023. (B) Publicações por país.



Fonte: Elaborada pelo autor (2024).

3.1.2 Urucum

A *Bixa orellana* L. comumente conhecida no Brasil como "urucum", no México como "achiote", pertence à família *Bixa* ceace, é uma planta com altura entre 3 a 6 cm, natural da América Central e do Sul, e economicamente importante por ser uma das mais antigas e conhecidas fontes de corante natural. A coloração se encontra no arilo presente em suas sementes, e dispõe de uma pigmentação vermelha. Este é largamente utilizado na indústria farmacêutica, cosmética e

principalmente na indústria alimentícia (SHAHID-UL-ISLAM; RATHER; MOHAMMAD, 2016; DE OLIVEIRA JÚNIOR et al., 2019; NATHAN et al., 2019).

Figura 4 - Frutos do urucuzeiro (*Bixa orellana* L.).



Fonte: Furukawa, 2013 - EMBRAPA.

O Brasil é o maior produtor mundial de urucum, aproximadamente 12,00 t/ano, sendo 70% da produção brasileira utilizada pelas indústrias de alimentos e cosméticos como corante (FONTINELE et al., 2018). As numerosas sementes que se localizam no interior do fruto são envolvidas por uma camada de polpa vermelha. De modo geral e popularmente as sementes são retiradas e submetidas ao processo de trituração, obtendo-se o pó de urucum (origem da palavra tupi guarani "uru'ku", que significa vermelho) muito utilizado como colorífico na culinária brasileira (FONTINELE et al., 2018).

As aplicações do urucum são inúmeras, desde a coloração em produtos lácteos como queijos, produtos de panificação, sobremesas, cremes, manteigas, dentre outros (SHAHID-UL-ISLAM; RATHER; MOHAMMAD, 2016). Além dos pigmentos, a semente de urucum apresenta em sua composição outros componentes importantes como lipídeos, proteínas, carboidratos e minerais. Os teores percentuais dos componentes estão dispostos na Tabela 1.

Tabela 1 - Composição centesimal do urucum.

Composição do Urucum	Teores (%)	Referência
Umidade	9,6 a 13,3%	Albuquerque; Meireles, (2012) Silva et al. (2008)
Cinzas	5,4 a 6,9%	Albuquerque; Meireles, (2012)
Lipídios	2,0 a 4,8%	Albuquerque; Meireles, (2012), Carvalho et al. (2010)
Proteína	12,1 a 17%	Albuquerque; Meireles, (2012)
Carboidrato total	70%	Albuquerque; Meireles, (2012)
Bixina	1,0 a 6,3%	Silva et al. (2008), Carvalho et al. (2010), Da Silva et al. (2009) e Albuquerque; Meireles, (2012).

Fonte: Elaborada pelo autor (2023).

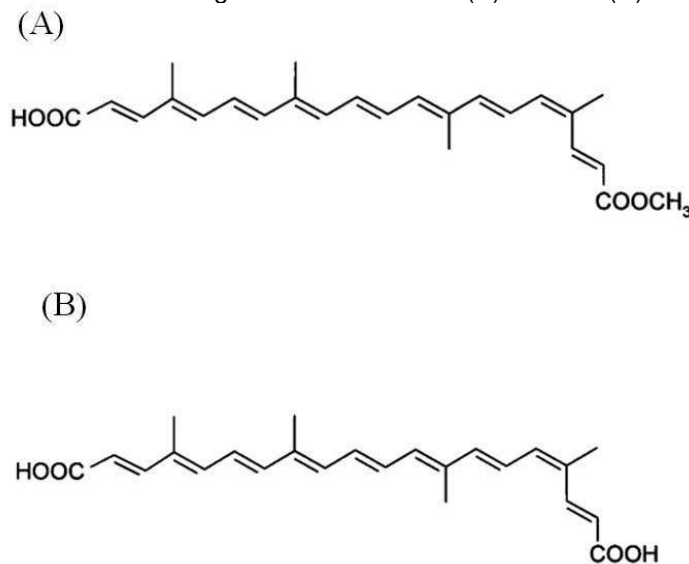
Além da utilização do pó de urucum, é possível fazer a extração do pigmento por meio de extratos. Os extratos da semente de urucum são obtidos de forma geral por extração com solvente. Dentro dessa diversificação de componentes presentes na semente de urucum como mostra a tabela, a bixina se destaca como o carotenoide com maior percentual na semente, com uma variação de 1 a aproximadamente 6%. Além da bixina, a norbixina também é um composto presente na semente e são os carotenoides que estão em predominância na composição (ZHU et al., 2023).

A bixina encontra-se majoritariamente na superfície das sementes de urucum (Rodrigues et al., 2014). A variabilidade do teor de bixina nas sementes de urucum se dá pela influência da variedade cultivar, ou seja cada variedade possui sua composição, além da influência das técnicas de pré e pós colheita (ALCÁZAR-ALAY et al., 2017). A potente capacidade de coloração dos carotenoides do urucum, bem como suas notáveis atividades biológicas fundamentam pesquisas no setor alimentício.

3.1.3 Bixina

A bixina é um apocarotenóide, que estruturalmente ($C_{25}H_{30}O_4$) engloba uma cadeia de hidrocarboneto poli-insaturada com um ácido carboxílico e um grupo éster metílico presentes nas extremidades da cadeia, sendo o motivo da sua lipofilicidade (Figura 5) (ROSTAMABADI; FALSAFI; JAFARI, 2019). A bixina representa cerca de 80% dos carotenoides encontrados nas sementes de urucum, enquanto 20% consistem em *trans*- e *cis*- norbixina ($C_{25}H_{28}O_4$). Ela é um agente de pigmentação amplamente utilizado em alimentos, principalmente para fornecer coloração em alguns produtos lácteos, também é utilizado na indústria de cosméticos e indústria de curtume (CELLI et al., 2019; GARCIA SILVEIRA; TAPIA-BLÁCIDO, 2018; MØLLER et al., 2020).

Figura 5 - Estrutura da (A) bixina e (B) norbixina.



Fonte: TOCCHINI & MERCADANTE, (2001).

A bixina é um corante e aditivo natural reconhecido como ingrediente seguro, aprovado pela *Food and Drug Administration* (FDA) (ZHU et al., 2021). Sua bioatividade alinhada à conferência de cor tem despertado interesse científico e tecnológico para o setor industrial alimentício, principalmente. Sendo um apocarotenóide, é um composto com potencial antioxidante (ZHANG et al., 2018), que também tem sido investigado no tratamento hipoglicêmico, anti-inflamatório, e antitumoral (PIZÓN-GARCÍA et al., 2018; DE OLIVEIRA JÚNIOR et al., 2019).

Apesar de ser um ingrediente ativo com propriedades interessantes, a aplicação da bixina, assim como os outros carotenoides, é limitada em decorrência à baixa solubilidade em meio aquoso, evidenciada pela composição de sua estrutura química lipofílica, bem como pela instabilidade à luz. Portanto, é evidente a

necessidade de utilizar meios e técnicas para preservar a bioatividade da bixina e possibilitar a sua incorporação em alimentos, e melhorar a sua solubilidade e liberação (JAHANGIRI et al., 2018). Nesse contexto, o microencapsulamento é uma das estratégias mais promissoras de estabilização de composto com bioatividade como a bixina (SAMPAIO et al., 2019).

Quiroz et al. (2020) encapsularam extrato de urucum por meio da técnica de gelificação iônica, utilizando proteínas de quinoa, lentilha e soja e caseinato de sódio como materiais de barreira. Dentre as análises de caracterizações, os compostos polifenólicos e o teor de bixina do extrato livre e encapsulado foram avaliados em diferentes temperaturas (4 °C, 25 °C e 65 °C) durante o armazenamento por 12 dias. Os resultados demonstraram a capacidade de encapsulamento com eficiências entre 58% a 80%. O teor dos compostos polifenólicos totais e da bixina no extrato livre tiveram reduções significativas nas temperaturas de 25 °C e 65 °C, com reduções de $0,205 \pm 0,008$ para $0,114 \pm 0,010$ mg de bixina/g de amostra e os compostos fenólicos de $31,25 \pm 7,83$ mg AG/g de amostras para $12,52 \pm 0,34$ mg AG/g de amostras durante os 12 dias de armazenamento. No que se refere aos extratos encapsulados, apesar de apresentarem menor concentração nas micropartículas, os bioativos permaneceram estáveis em todas as temperaturas de armazenamento.

O microencapsulamento é uma tecnologia promissora para a incorporação de ingredientes como a bixina que por meio de uma diversidade de técnicas como hidrogel, precipitação antissolvente, secagem por aspersão (*spray drying*), coaservação, dentre outras, favorece a proteção e assim a permanência da bioatividade para a aplicação.

3.2 MICROENCAPSULAMENTO DE BIOATIVOS

A microencapsulação é uma técnica utilizada para estabilização e aplicação de uma ampla gama de compostos bioativos (como antioxidantes, vitaminas, células, enzimas, fenóis, entre outros) (DHAKAL; HE, 2020; NAZZARO et al., 2012).

No processo de encapsulamento, alguns fatores são primordiais e devem ser considerados, como o material encapsulado ou núcleo (a natureza do composto, se é hidrofílico ou hidrofóbico, se é sensível a determinado pH, temperatura, se é degradável na presença de luz), o encapsulante ou material de parede (se é de origem natural, sintética), a técnica de microencapsulação, o mecanismo de

liberação (se degrada em condições de baixo pH, se ocorre a liberação em condições básicas de pH como é o caso do pH do intestino) e a aplicação das micropartículas (aplicação em alimento úmidos, ou secos, gordurosos, ou ácido, dentre outros) (AGUIAR; ESTEVINHO; SANTOS, 2016).

O microencapsulamento é um processo difundido na literatura, e devido a diversidade de técnicas, pode ser utilizado para o encapsulamento de vários compostos bioativos, como antocianinas utilizando a técnica de *spray drying* (PHAN et al., 2021) e gelificação iônica (DE MOURA et al., 2018), curcumina por *spray drying* e liofilização (GUO et al., 2020), gelificação iônica (NGUYEN et al., 2022; XU et al., 2019), carotenoides pela técnica de *spray drying* (CURI-BORDA et al., 2021; TUPUNA et al., 2018) coaservação complexa (GOMEZ-ESTACA et al., 2018), dentre outras possibilidade de técnicas e bioativos. A tabela 2 a seguir apresenta algumas técnicas, materiais e tipos de carotenoides mais utilizados no encapsulamento.

Tabela 2 - Técnicas utilizadas para estabilizar os carotenoides puros e obtidos de frutas e vegetais

Técnica de encapsulamento	Carotenoides	Resultados obtidos	Referência
Emulsão e micropartículas de hidrogel	Licopeno	a estabilidade do licopeno foi significativamente maior nas esferas de alginato (35,6%) do que nas emulsões (29,5%).	(Jain; WInuprasith; Supphantharika, 2020).
Emulsão eletropulverizada	β -caroteno	A taxa de degradação do β -caroteno desacelerou do terceiro até o sétimo dia. Enquanto o β -caroteno sem o material da parede protetora se degrada rapidamente.	(Niu; Shao; Sun, 2020).
Aerogel	β -caroteno	Quase 80% do β -caroteno foi liberado na liberação in vitro.	(Zhang et al., 2023).
Deposição interfacial	Bixina	A eficiência de encapsulamento foi de $48,46 \pm 0,82\%$ e a carga de bixina foi de $24,23 \pm 0,41$ mg/g.	(Figueiredo-Junior et al., 2021).
Emulsificação O/A	Carotenoides do melão	O potencial antioxidante dos carotenoides aumentou após a nanoencapsulação (57-59%).	(Louise et al., 2021).
Gelificação Iônica	extrato de semente de urucum	O extrato encapsulado apresentou degradações de $\sim 34,00\%$ a $\sim 4,05\%$ para compostos polifenólicos e $\sim 20,0\%$ para bixina, respectivamente.	(Quiroz et al., 2020).
Spray drying	Óleo de buriti	A eficiência de encapsulamento de carotenoides e óleo acima de 52% e retenção de carotenoides e óleo acima de 47%.	(Luisa et al., 2020).
Método de emulsificação e complexo coacervação	Fucoxantina	O ensaio da taxa de liberação in vitro mostrou que mais de 90% da fucoxantina encapsulada foi liberada no fluido intestinal simulado.	(Li et al., 2019).
Precipitação antissolvente	Carotenoides de <i>synechococcus</i> sp. pcc7002	Eficiência de encapsulamento (%) entre 82,34 e 85,65. Atividade de eliminação de radicais livres de nanopartículas com carotenoides foi maior do que as nanopartículas livres.	(Wang et al., 2021).
Liofilização e spray-drying	Carotenoides residuais de cenoura	O β -caroteno encapsulado por liofilização apresentou a melhor estabilidade oxidativa, e por <i>spray drying</i> apresentaram a menor atividade de água, teor de umidade e tamanho de partícula.	(Šeregelj et al., 2021).

Cocrystalização	Extratos de cenoura ricos em carotenoides	Eficiência de encapsulamento de 78% de β -caroteno.	(Kaur et al., 2021).
Spray drying	Bixina	Em três condições de pH (1,2, 6,8 e 7,4) teve liberação inicial repentina de bixina seguida por uma liberação controlada.	(Balakrishnan et al., 2021).
Gelificação Iônica	Extrato de melancia rico em licopeno	Alta proteção do licopeno contra as condições de (60 e 90 °C) e pH (2, 5 e 8).	(Sampaio et al., 2019).
Spray dryer	Óleo rico em carotenoides recuperado de casca.	80% dos carotenoides e 82% da capacidade antioxidante ficaram retidos no pó encapsulado em comparação ao óleo. Durante 6 meses de armazenamento, o pó encapsulado apresentou maior retenção de carotenoides que o óleo.	(Chuyen et al., 2019).
Emulsão pickering	β -caroteno	Protegeu o β -caroteno da degradação no armazenamento, cerca de 94,3% a 25 °C e 70,1% a 37 °C foram retidos após um mês de armazenamento.	(Fu et al., 2019).
Processo Antisolvente supercrítico	Astaxantina	A astaxantina bruta foi quase totalmente degradada após 3 meses a 40 °C. Nas melhores condições de armazenamento, as taxas de degradação foram de 12,4, 16,5 e 67,5%.	(Liu et al., 2019).

Os hidrogéis, por sua vez têm se destacado em meio aos métodos de microencapsulamento por ser uma técnica que utiliza temperaturas amenas, relativamente de fácil execução e baixo custo.

3.2.1 Microencapsulamento por hidrogel

Os hidrogéis são redes poliméricas tridimensionais formadas por macromoléculas naturais, polímeros hidrofílicos. Comumente utilizados como suporte e veículo de entrega de biomateriais, os hidrogéis podem ser divididos de acordo com o tipo de reticulação, sendo hidrogéis químicos e físicos. Hidrogéis químicos são aqueles que possuem fortes ligações cruzadas (reticulação) devido a ligações covalentes. Em contraste, hidrogéis físicos são aqueles formados a partir de um emaranhado de cadeias, bem como interações físicas resultantes de interações iônicas, hidrogênio, van der Waals e hidrofóbicas (ABAE; MOHAMMADIAN; JAFARI, 2017; LIU; GARCÍA, 2016; LIU et al., 2016; MILCOVICH et al., 2017).

De acordo com alguns aspectos, os hidrogéis podem ser classificados como:

- 1) Fontes: Naturais ou sintéticas;
- 2) Composição polimérica: Homopolímero, copolímero ou multipolímero;
- 3) Configuração: Amorfo, semicristalino ou cristalino;
- 4) Tipo de reticulação: Reticulação química ou física;
- 5) Aspecto físico: Matriz, filme ou microesfera;
- 6) Carga elétrica da rede elétrica: Eletrólito não iônico (neutro), iônico, anfotérico ou zwitteriônico (MOHAMED et al., 2017).

O interesse gradual na microencapsulação por hidrogel está relacionado com a biocompatibilidade inerente à utilização de biopolímeros, geralmente de fontes naturais; praticidade de obtenção, principalmente hidrogéis obtidos por gelificação iônica, que é uma técnica simples, com baixo custo de produção; e versatilidade na aplicação, principalmente quando se trata de micropartículas de hidrogel que podem ser veículos de compostos bioativos antioxidantes e colorantes, como a bixina.

3.2.1.1 *Gelificação iônica*

A gelificação iônica é uma técnica simples e amplamente utilizada para a formação de micropartículas, e apresenta como vantagens baixo custo de produção, sendo assim, não há necessidade de equipamentos e aparatos complexos, além de ser uma técnica que utiliza condições amenas (sem solventes orgânicos e altas temperaturas) (COMUNIAN et al., 2017; DA SILVA CARVALHO et al., 2019). Na técnica de gelificação iônica, é possível obter micropartículas por dois processos: gelificação interna e externa.

3.2.1.1.1 *Gelificação externa*

Na gelificação externa, também chamada de extrusão, o composto bioativo ou material do núcleo é homogeneizado em uma solução polimérica (o polímero mais utilizado é o alginato) e, em seguida, a solução resultante é gotejada manualmente com uma seringa (ou atomizada com o auxílio de bombas peristálticas) em uma solução reticulante, geralmente cloreto de cálcio (CaCl_2). A solução reticulante pode conter elementos específicos como íons minerais, ácidos, bases ou enzimas que são capazes de promover o entrelaçamento das cadeias do biopolímero. A membrana encapsulante endurece na formação de micropartículas devido à substituição de íons Na^+ na estrutura do alginato por íons Ca^{2+} (MCCLEMENTS, 2017; UYEN et al., 2020). Alguns fatores como a taxa de gotejamento, a espessura do bocal ou agulha utilizada, bem como a distância de queda da gota têm influência direta na configuração final das micropartículas.

3.2.1.1.2 *Gelificação interna*

O outro processo é a gelificação interna, também chamada de emulsificação, ocorre a partir de uma emulsão água em óleo composta por uma solução polimérica (a grande maioria também utiliza o alginato), uma fonte lipídica (óleo vegetal), carbonato de cálcio, composto ativo que será encapsulado e um ácido orgânico que, quando em contato com a fase aquosa, reage com o carbonato de cálcio causando a formação de íons cálcio e ácido carbônico, sucedendo a gelificação (COOK et al., 2012; HOLKEM et al., 2016).

A escolha do material usado como encapsulante ou material de parede é fundamental para a formação das micropartículas, bem como para todo o processo até a aplicação. Uma série de biopolímeros tem sido utilizada para encapsulamento e liberação direcionada de biocompósitos, células e drogas. Nesse contexto, materiais polissacarídeos naturais têm destaque e estão sendo amplamente estudados, pois são principalmente bicompatíveis, biodegradáveis e mecanicamente estáveis (YEGAPPAN et al., 2018). Dentre os materiais que têm demonstrado efetividade no microencapsulamento na gelificação iônica principalmente e que foram escolhidos para a execução dessa pesquisa são os polissacarídeos, alginato, carragenina, e a gelatina bovina.

3.2.1.2 *Materiais poliméricos*

No sistema de microencapsulamento, os materiais de encapsulamento ou materiais de parede desempenham um papel primordial no envolvimento e proteção do bioativo. Assim, a seleção desses materiais deve ser feita com base em critérios, entre eles, a capacidade de proteger compostos bioativos, compatibilidade com a matriz a ser incorporada, ser atóxico (DELSHADI et al., 2020; GOMEZ-ESTACA et al., 2018).

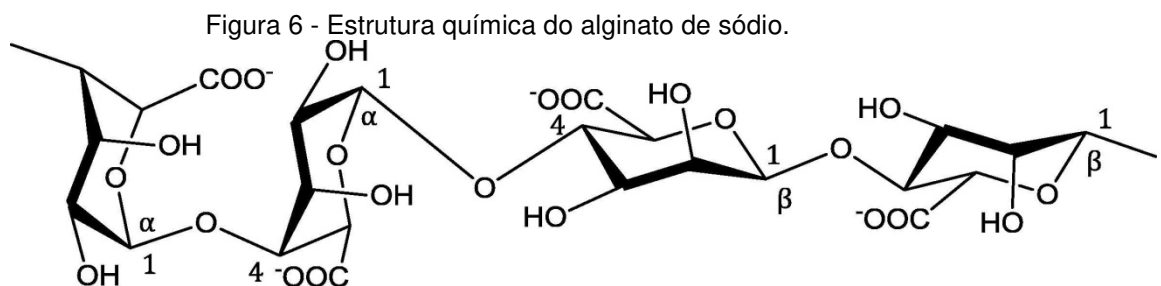
Existe uma diversidade de materiais que podem ser utilizados como agentes microencapsulantes, como polímeros naturais (por exemplo, polissacarídeos; alginato, carragenina, quitosana, goma arábica, proteínas; gelatina), sintéticos ou semissintéticos, como polietilenoglicol, polivinilpirrolidona, álcool polivinílico, dentre outros. A escolha do material microencapsulante é fundamental para as características e propriedades das micropartículas resultantes do processo (CARVALHO; ESTEVINHO; SANTOS, 2016; MOGOŞANU; GRUMEZESCU, 2014).

A combinação de polímeros como proteínas e polissacarídeos para a elaboração de novos sistemas de gel é atrativa e de grande valia, tendo em vista as variadas formas de interações dos polissacarídeos com as proteínas, proporcionando de certa forma domínio sobre as liberações dos géis (OZEL et al., 2017).

3.2.1.2.1 Alginato

O polissacarídeo alginato pode ser extraído de uma ampla gama de fontes de microalgas marinhas, acessíveis em áreas costeiras de vários países, e também é produzido pelas bactérias como, *Azotobacter vinelandii*, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, entre outras (KARMAKAR et al., 2022). As microalgas são microrganismos fotossintéticos vivos, unicelulares ou multicelulares e representam um grupo amplo e diversificado quanto à origem, morfologia e composição (CAETANO et al., 2022; MAHANA; GULIY; MEHTA, 2021). As algas marinhas em geral são compostas por uma variedade de moléculas interessantes como compostos polifenólicos, componentes minerais, além de lipídeos e proteínas (peptídeos) (RUDKE; DE ANDRADE; FERREIRA, 2020). Para obter um biopolímero com maior aplicabilidade, alguns métodos podem ser usados para extrair macroalgas e, assim, obter alginato solúvel em água (COLEMAN et al., 2011; LIN et al., 2019; VARAPRASAD et al., 2020).

A solubilidade em água é uma propriedade interessante do alginato. O fato de ser um polímero amplamente utilizado está relacionado a algumas características importantes como: Biocompatibilidade, biodegradabilidade, não ser tóxico, além da capacidade gelificante, estabilidade em dispersões e viscosidade. Esses aspectos estão diretamente ligados à configuração química do alginato (LIN et al., 2019; VARAPRASAD et al., 2020).



Fonte: (UYEN et al., 2020).

O alginato é amplamente utilizado na produção de partículas, micropartículas, filmes, pois assemelha-se a estruturas de matrizes do tecido vivo,

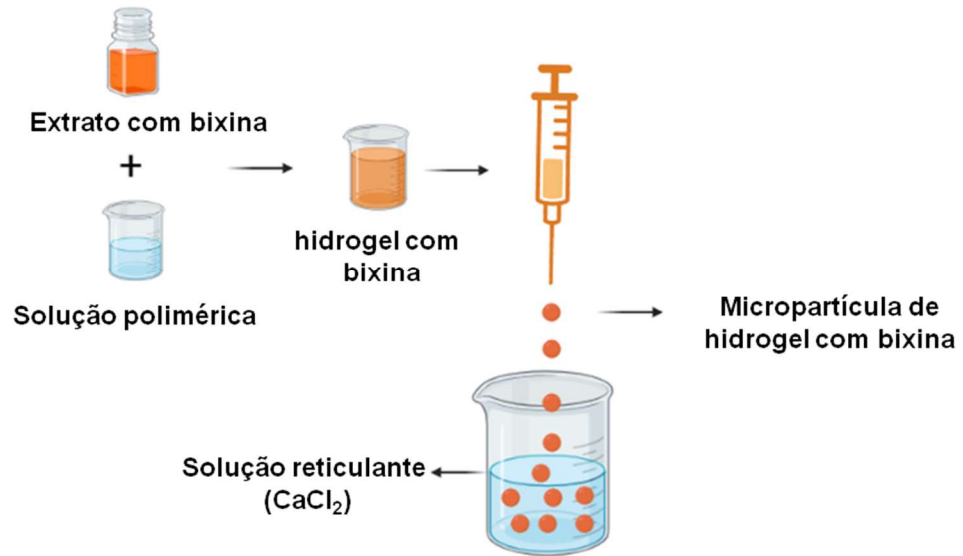
podendo ser facilmente aplicado na entrega de agentes bioativos dentre outros compostos (CHING; BANSAL; BHANDARI, 2017; LEE; MOONEY, 2012).

A capacidade de formação de géis é um dos principais motivos do alginato ser um dos ingredientes mais utilizados nessa função na indústria alimentícia, sendo incorporado em formulações para esse fim, um dos atributos físicos mais explorados do alginato. E essa capacidade tem sido utilizada também para o microencapsulamento. A formação do gel pode acontecer através da ligação seletiva de um cátion multivalente ou através do processo de precipitação ácida (MRUDULAKUMARI VASUDEVAN; LEE; LEE, 2021; SANCHEZ-BALLESTER; BATAILLE; SOULAIROL, 2021).

O processo de gelificação do alginato é resultado de interações fortes e específicas entre íons cálcio e blocos de resíduos de ácido gulurônico, ou seja, há uma ligação de cooperação de cátions bivalentes e as regiões do bloco G (ácido gulurônico). Ao adicionar íons de cálcio ao alginato, duas cadeias (G) são ligadas de forma oposta. A partir desse alinhamento, forma-se uma estrutura em forma de diamante que representa uma cavidade hidrofílica que se liga fortemente ao cálcio, que é o agente de reticulação mais utilizado para a formação do alginato iônico (BRACCINI; PÉREZ, 2001; CHING; BANSAL; BHANDARI, 2017).

Ao formar o hidrogel, mecanismos como extrusão podem ser aplicados para obter micropartículas. Basicamente neste processo, o composto bioativo é homogeneizado na solução de hidrogel (geralmente alginato, outros polímeros ou blenda polimérica), e posteriormente esta mistura é gotejada em uma solução de reticulação (solução de cloreto de cálcio CaCl_2 , geralmente) através de uma seringa (UYEN et al., 2020). A Figura 7 apresenta o esquema para a obtenção de micropartículas por gelificação iônica.

Figura 7- Esquema de elaboração de micropartículas de hidrogel com biopolímero como alginato de sódio.



Fonte: Elaborada pelo autor (2023).

A microencapsulação de carotenoides como a bixina tem se mostrado um método eficiente para aumentar a biodisponibilidade, bem como a absorção, além de fornecer estabilidade química durante todo o processamento e armazenamento (ROLL ZIMMER; BARBOZA MENDONÇA; ZAMBIAZI, 2022).

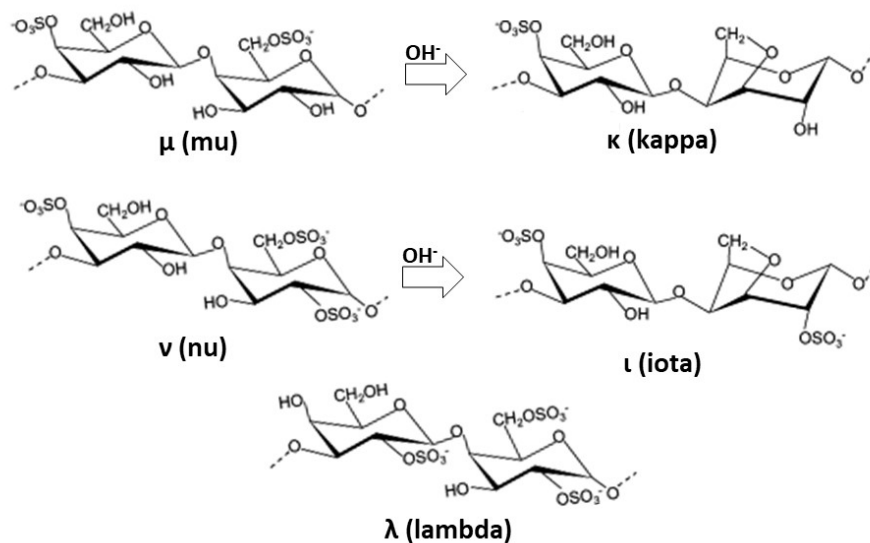
3.2.1.2.2 Carragenina

As carrageninas são hidrocolóides de algas marinhas que diferem em estrutura, propriedades químicas e possibilidades de aplicação (SHAFIE et al., 2022). De natureza estruturalmente linear, as carrageninas são polissacarídeos hidrofílicos compostos por 3,6-anidrogalactose, sulfatados e não sulfatados, interligados por ligações glicosídicas intercaladas $-(1,3)$ e $-(1,4)$ resultantes de algas vermelhas. As principais algas, *Rhodophyceae* sp., como *Euchema cottonii*, *E spinosum* e *Chondrus crispus*, produzem carragenina kappa, carragenina iota e carragenina lambda, respectivamente. É pertinente observar que o cultivo de algas é estritamente relacionado à sustentabilidade ambiental e pode ser utilizado nos setores alimentícios. Cada tipo de carragenina obtida tem funções diferentes, por exemplo, a kappa-carragenina tem a capacidade de formar um gel duro com íons potássio, a carragenina lambda é usada como espessante, enquanto a carragenina

iota forma géis macios na presença de íons cálcio (HENNINK; VAN NOSTRUM, 2012; RAMDHAN et al., 2020; SHAFIE et al., 2022).

De acordo com as configurações estruturais referentes às unidades repetidas de dissacarídeos, existem seis tipos de carrageninas: Kappa (κ), lambda (λ), iota (ι), nu (ν), mu (μ) e teta (θ), com ênfase no setor comercial para κ , λ e ι -carragenina (KHOTIMCHENKO et al., 2020).

Figura 8 - Estruturas químicas das carrageninas.



Fonte: Rhein-Knudsen, Ale, & Meyer, (2015).

No setor alimentício, a carragenina é utilizada devido às suas características tecnológicas, como propriedades gelificantes, emulsificantes e estabilizantes; características essenciais na indústria para atender a crescente demanda de aplicações em alimentos, principalmente para melhorar a qualidade de produtos lácteos, como doces, pudins e queijos (FREDIANSYAH, 2021; ZIA et al., 2017). Neste trabalho foi utilizado a kappa-carragenina.

De um modo geral, a k-carragenina comercial é composta por cerca de 25% de sulfato de éster e 34% de 3,6-anidro-galactose (ZIA et al., 2017). Entre as características e atributos da kappa-carragenina, a capacidade de formar um gel é a principal e essencial (GEONZON et al., 2020) que torna este biopolímero uma opção de material encapsulante interessante.

O processo de gelificação da kappa-carragenina ocorre após o resfriamento (abaixo de uma temperatura crítica) induzindo uma mudança na configuração das

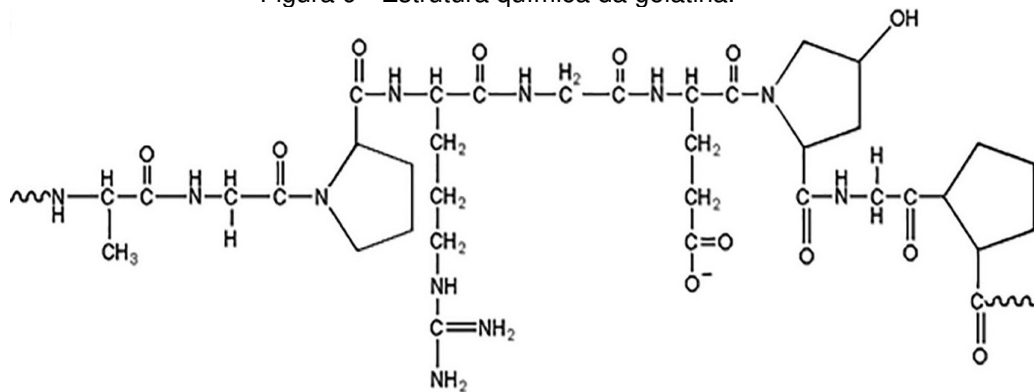
cadeias, ou seja, uma transição da forma de bobina aleatória para hélice. Essa mudança ocorre em uma faixa de temperatura restrita, e quanto menor a temperatura (dentro dessa faixa) maior a fração de hélice. A mesma natureza conformacional dessas frações permite sua agregação, que quando em alta concentração forma uma rede percolante (CHINH et al., 2022; NONO; NICOLAI; DURAND, 2011).

Muitos estudos têm sido realizados para melhorar a encapsulação de bioativos e solucionar algumas limitações características dos encapsulantes, e uma das ferramentas utilizadas é a investigação de combinações poliméricas como materiais de barreira. Aspectos como viscosidade e carga negativa favorecem a escolha de géis feitos a partir da mistura de carragenina com outros polímeros e também com polímeros com carga catiônica ou polieletrólito para serem utilizados como revestimento de microcápsulas e posterior administração de compostos (LI et al., 2014).

3.2.1.2.3 Gelatina

A gelatina é produzida a partir do colágeno, no qual ocorre a desnaturação das proteínas do colágeno, resultando em uma modificação estrutural e consequente perda da forma de barra e conformações helicoidais (TYUFTIN; KERRY, 2021). A gelatina pode ser obtida de diversas fontes, como pele de porco (46%), couro bovino (29,4%) e ossos de porco e bovino (23,1%). Estruturalmente, consiste em grupos amino livres e grupos carboxila. A gelatina tem alta solubilidade em água quente e durante a dissolução, a estrutura helicoidal sofre uma mudança para a estrutura em espiral. No resfriamento, ocorre o processo inverso, resultando na formação do gel. Existem dois tipos de gelatina, a gelatina tipo A, que é obtida a partir do processo de extração ácida, e a gelatina tipo B, obtida por extração alcalina (AHMAD et al., 2017; DUCONSEILLE et al., 2015; ROHMAN et al., 2020; SARIKA; JAMES, 2016).

Figura 9 - Estrutura química da gelatina.



Fonte: Ranganathan; Balagangadharan; Selvamurugan, (2019).

O processo de gelificação ocorre através da forte ligação de hidrogênio entre os grupos carboxila e amino em sua estrutura. Como polianfólito com carga positiva em pH abaixo de seu ponto isoelétrico e carga negativa em pH acima de seu ponto isoelétrico, a gelatina permite a formação de um complexo polieletrólito com polímeros catiônicos e aniônicos, dependendo do pH do meio. Além disso, o gel de gelatina apresenta uma transição solução-gel em diferentes temperaturas, sendo, portanto, um hidrogel reversível.

A gelatina tem sido um material encapsulante amplamente utilizado para o aprisionamento de substâncias bioativas, como por exemplo, antocianinas, conforme relatado por Ma et al. (2020) que usaram gelatina e quitosana como materiais de parede no encapsulamento de antocianinas de mirtilo afim de verificar a degradação do leite e obteve 83,31% de eficiência no encapsulamento. Outros componentes como carotenoides e curcumina foram estudados por Sarika; James, (2016) que encapsularam a curcumina usando gelatina e alginato de sódio e obtiveram nanopartículas com eficiência de encapsulamento de 69%, enquanto Li et al. (2019) encontraram 90% na liberação intestinal de fucoxantina encapsulada com gelatina, acácia e alginato.

Os hidrogéis de gelatina são biocompatíveis, biodegradáveis, não tóxicos (WANG et al., 2022b), características relevantes como essas tornam esses hidrogéis potenciais opções para aplicação em diferentes áreas e principalmente no setor alimentício.

O uso da gelatina como biomaterial tem sido recorrente e apresenta vantagens devido a alguns aspectos, inclusive por ser de origem natural e, portanto,

ser economicamente viável (RANGANATHAN; BALAGANGADHARAN; SELVAMURUGAN, 2019).

Esses fatores proporcionam avanços na produção de matrizes à base de gelatina, possibilitando oportunidades para o desenvolvimento de sistemas de liberação controlada, como as micropartículas de hidrogel de gelatina, evidenciando a capacidade de ser um veículo de entrega de vários componentes, como bioativos (RANGANATHAN; BALAGANGADHARAN; SELVAMURUGAN, 2019; ALEMDAR, 2016; BUIE; MCCUNE; COSGRIFF-HERNANDEZ, 2020).

3.3 MECANISMO DE LIBERAÇÃO

O encapsulamento de bioativos geralmente tem a finalidade de direcionar, de forma controlada, a liberação dos mesmos especificamente no trato gastrointestinal. Para componentes bioativos protegidos em partículas de hidrogel, como carotenoides, recomenda-se que a liberação ocorra na região do intestino delgado, pois nesta região são solubilizados em sais gastrointestinais e são mais biodisponíveis para absorção (YANG et al., 2022).

Assim como a seleção dos biopolímeros, a escolha da técnica de encapsulamento a ser utilizada, é fundamental ter um entendimento de como ocorre o processo de liberação, os mecanismos pelos quais o princípio ativo é liberado. Segundo Li et al. (2022) a liberação de bioativos de sistemas encapsulados ocorre por meio de quatro mecanismos principais; difusão, erosão, inchaço/encolhimento e fragmentação.

O mecanismo de difusão é o mais comum no processo de liberação. Corresponde à transferência de massa do ingrediente ativo (molécula) de um material semipermeável da concentração mais concentrada para a menos concentrada. Alguns fatores como pH, temperatura, tamanho das moléculas, propriedades dos polímeros utilizados, interações solvente-polímero influenciam diretamente na liberação do composto ativo (SABAGHI et al., 2022; SAQIB et al., 2022).

Já no mecanismo de erosão, dois possíveis eventos podem ocorrer devido a fatores químicos, físicos ou enzimáticos, são eles: a erosão superficial, em que o desgaste do veículo de entrega, ou seja da micropartícula é observado apenas na região externa e erosão de massa que atinge toda a partícula. Neste caso, quando o

fluido entra em contato, provoca quebras de ligações e o transporte do componente encapsulado para o líquido. A taxa de erosão está diretamente relacionada ao peso molecular, processo de gelificação, além da estabilidade físico-química da matriz (BOOSTANI; JAFARI, 2021; SAQIB et al 2022).

No mecanismo de inchamento, a liberação ocorre devido à absorção de líquido na partícula que causa o inchamento e o composto bioativo se difunde quase que exclusivamente por difusão. A porosidade do sistema influencia a liberação, como matrizes porosas ou microporosas, que ao inchar, ocorre o aumento dos poros, difundindo os compostos do núcleo (SABAGHI et al., 2022; SAQIB et al., 2022).

No caso do mecanismo de fragmentação, a liberação do bioativo ocorre devido à ruptura física da partícula, que é resultante da compressão ou da força de cisalhamento imposta ao sistema (SAQIB et al., 2022).

3.4 APLICAÇÃO DE MICROPARTÍCULAS DE HIDROGEL EM ALIMENTOS

A aplicação de bioativos como a bixina em uma matriz alimentícia é precedida de algumas etapas que são fundamentais. No caso de bioativos encapsulados, após o processo de escolha da técnica, bem como dos materiais, a formulação e posterior obtenção, as micropartículas necessitam passar por análises e caracterizações quanto a morfologia, estabilidade química e desempenho na liberação. Após incorporação das micropartículas na matriz alimentícia, é interessante o estudo e a avaliação de fatores como a estabilidade dos componentes microencapsulados durante o processamento, se sofre degradação frente a temperatura, luz, no armazenamento, bem como a liberação e biodisponibilidade no organismo (DELFANIAN; SAHARI, 2020).

Quando incorporados aos alimentos, os carotenoides podem potencializar a atividade antioxidante da matriz alimentar e, ainda, contribuir por meio da coloração para atributos sensoriais (TIWARI; YAWALE; UPADHYAY, 2022). Šeregelj et al. (2021) encapsularam carotenoides extraídos de resíduo de cenoura, utilizando técnica de extrusão e alginato como biopolímero. As micropartículas obtidas (em duas concentrações, 2,5 e 5 g/100 g) apresentaram uma eficiência de encapsulação de 72% e foram incorporadas ao iogurte. Os resultados demonstraram a capacidade

antioxidante dos carotenoides encapsulados de 9,36 $\mu\text{mol TE}/180\text{ g}$ de iogurte com poder redutor de 3,11 $\mu\text{mol TE}/180\text{ g}$ de iogurte.

De Campo et al. (2019) produziram nanopartículas e nanoemulsão de zeaxantina para incorporação também em iogurte. Algumas caracterizações do iogurte foram realizadas durante 28 dias de armazenamento, dentre elas, análise de pH, acidez titulável, textura, entre outros. Após o tempo de armazenamento, a retenção de zeaxantina nas nanoemulsões foi de $16,84 \pm 0,53\%$ e $(22,31 \pm 2,53\%)$ nas nanopartículas. Observou-se também que nos dias 21 e 28 a formulação controle apresentou maior percentual de ácido láctico. Esse resultado indica que a adição de zeaxantina ao iogurte proporcionou menor acidez, aumentando a vida de prateleira.

Ursache et al. (2018) encapsularam carotenoides do extrato de espinheiro marítimo (*Hippophae rhamnoides* L.) em biopolímeros de isolado de proteína de soro de leite e goma usando coacervação e liofilização para incorporação em muffins. Os resultados obtidos mostraram que a eficiência de encapsulamento (EE) foi de $56,16 \pm 1,24\%$. O extrato apresentou um teor de carotenoides totais de $2,82 \pm 0,17\text{ mg/g PS}$, com atividade antioxidante de $548,00 \pm 0,23\ \mu\text{mol Trolox/g PS}$. A formulação de muffins com a adição dos carotenoides encapsulados apresentou um teor de carotenoides totais de $2,42 \pm 1,29\text{ mg}/100\text{ g}$ peso seco e uma atividade antioxidante correspondente de $293,90 \pm 2,07\ \mu\text{M Trolox/g}$ peso seco.

Sampaio et al. (2019) desenvolveram micropartículas de licopeno encapsuladas, usando alginato e pectina como material polimérico. As micropartículas (úmidas e secas) foram submetidas a processos térmicos e diferentes pHs (2, 5 e 8). Como resultados, obtiveram eficiência de encapsulamento em torno de 100%. Todas as micropartículas foram estáveis em temperaturas (60 e 90 °C). As micropartículas úmidas mantiveram uma retenção de 29% (alginato) e as micropartículas secas cerca de 21% (pectina) por 60 dias. Além disso, as micropartículas secas atingiram mais de 80% de retenção de licopeno.

3.4.1 Barra de cereal

A mudança no estilo de vida do consumidor tem impulsionado o desenvolvimento de alimentos e lanches rápidos, práticos, acessíveis que demande pouco tempo de preparo. Os alimentos considerados como lanches, dentre eles,

biscoito, pipocas e barras de cereais, são consumidos como refeições realizadas nos intervalos das refeições mais importantes do dia (MARTINS; ALVES; PINHEIRO, 2021).

Uma das opções mais utilizadas como lanche são as barras de cereais que é um produto obtido a partir da mistura de cereais secos com outros ingredientes. A aveia é um cereal predominante na maioria das composições das barras. Além disso, barras de cereais podem ser adicionadas de vários outros ingredientes como, frutas desidratadas, castanhas, nozes, amêndoas, sementes, dentre outros ingredientes. A elaboração de barras de cereais parte da premissa da necessidade de se ter no mercado um produto de valor nutricional considerável, que supra a expectativa de ser saboroso e agradável sensorialmente (DA SILVA; SOBRINHO; CEREDA, 2013; EKE-EJIOFOR; OKOYE, 2018).

O elevado consumo das barras de cereais se consolida a cada dia devido a praticidade de ser nutritivo, de fácil transporte que se adéqua as realidades de consumidores com muitos compromissos e conseqüentemente com pouco tempo para preparar refeições mais elaboradas, mas que não abrem mão de se alimentarem bem e priorizam a busca por uma alimentação com alimentos mais saudáveis (DE MELO et al., 2019).

A formulação de barras de cereais é feita mediante a combinação de ingredientes e essa combinação deve refletir nos atributos sensoriais como, aparência, textura, cor, sabor, que são aspectos importantes, geralmente requeridos pela demanda dos consumidores (DAMASCENO, 2016; SAMAKRADHAMRONGTHAI; JANNU; RENALDI, 2021).

A tendência de substituir o consumo de alimentos sem valor nutricional como doces, sobremesas e guloseimas, por alimentos mais nutritivos, agrega ainda mais valor as barras de cereais e permite a variabilidade na composição das barras, sendo possível a produção de barras tanto doces, como salgadas, barras com maior conteúdo proteico, outras com maior quantidade de fibras, frutas secas, tornando-se importantes meios para o consumo de ingredientes bioativos e nutritivos (DA SILVA et al., 2016).

De Barros Vinhal et al. (2022) elaboraram barras de cereais com adição de Murici (*Byrsonima verbascifolia*) desidratado que é um fruto rico em carotenoides. Os resultados mostraram a presença de dois carotenoides principalmente, a luteína e o β -caroteno. As barras de cereais foram produzidas com diferentes quantidades de

Murici e a concentração de carotenoides foi maior conforme o aumento da fruta nas barras de cereais variando de $0,659 \pm 0,060$ a $1,294 \pm 0,110$ μg de β -caroteno/g).

Muniz et al. (2020) reaproveitaram as cascas de goiaba e o bagaço de caju (oriundos do processamento industrial) e submeteram esses subprodutos à fermentação sólida e posteriormente elaboraram as barras de cereais com esses resíduos fermentados ricos em fibras. Os resultados obtidos demonstraram que a fermentação em estado sólido proporcionou um aumento de até 11 vezes no teor de proteína de ambos os subprodutos. O aumento do teor de fibras com a adição dos resíduos fermentados influenciou diretamente na textura das barras, resultando em barra com maior dureza e coesão em todas as formulações. Além disso, todas as formulações de barras revelaram estabilidade composicional durante o período de armazenamento de 28 dias.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O desenvolvimento desta pesquisa foi realizado no Laboratório de Propriedades Físicas de Alimentos (PROFI) do Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos (EQA) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC).

4.1 MATERIAL

As sementes de urucum foram obtidas no mercado central de Florianópolis/SC/Brasil. O Alginato de sódio (Scientific Exodus, Brasil), a gelatina bovina tipo B: bloom 250 (Gelnex, Itá, Santa Catarina, Brasil) e a carragenina comercial (Florianópolis, Brasil) foram utilizados como agentes encapsulantes. O cloreto de cálcio (Vetec, Brasil) foi utilizado como reticulante. Água destilada e etanol ($\geq 99,6\%$, NEON) foram usados como solventes. ABTS (2,2 Azino bis (ácido 3-etilbenzotiazolin-6-sulfônico) sal de diamônio) ($\geq 98\%$), Trolox - (+) -6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametil-cromano-2-ácido carboxílico (97%), Folin & Ciocalteu (2 N) reagente fenol e ácido gálico adquiridos da SIGMA-ALDRICH, carbonato de sódio ($\geq 99,5\%$, NEON) e persulfato de potássio ($\geq 99,0\%$, NEON). Além das enzimas, α -amilase salivar (Sigma-Aldrich A1031), pepsina suína (Sigma-Aldrich P7012), pancreatina (Sigma-Aldrich P7545), sais biliares (Sigma-Aldrich B3883) para testes de digestibilidade. Todos os outros reagentes eram de grau analítico.

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Obtenção do extrato com bixina

O extrato etanólico da bixina foi obtido das sementes de urucum de acordo com Monge Neto et al. (2021), com adaptações. Na extração sólido-líquido, as sementes de urucum foram misturadas com etanol na proporção de 1:4 (m/v e concentração de 250 mg/mL) seguido de agitação por 30 min para obtenção do extrato. Decorrido o tempo, a solução foi transferida para um funil de porcelana e com um filtro de papel foi filtrada a vácuo.

Por fim, o extrato obtido foi acondicionado em frascos de vidro ambar, armazenados (a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$), protegido da luz até posteriores análises.

4.2.2 Caracterização do extrato

4.2.2.1 *Atividade Antioxidante (ABTS)*

A atividade antioxidante do extrato de bixina foi determinada pelo método ABTS realizada segundo a metodologia de Arriola et al. (2019), Re et al. (1999), e Zhang et al. (2015). O extrato (30 μ L) foi adicionado em um tubo de ensaio e reagiu com a solução de ABTS (3 mL) na ausência de luz por 6 min. Em seguida, a absorbância da solução foi medida a 734 nm em um espectrofotômetro UV-Vis (Quimis, Q898U2M5, Brasil) e a solução de etanol foi usada como branco. Os resultados obtidos foram expressos em μ mol trolox/g de semente de urucum em base seca.

4.2.2.2 *Compostos fenólicos*

Os Compostos fenólicos totais (FT) do extrato foram determinados pelo método de Folin-Ciocalteu de acordo com Singleton; Rossi Jr.; Rossi J A Jr. (1965), com modificações. Em um tubo de ensaio foi adicionado 0,1 mL de extrato de bixina diluído (1:1 v/v), 7,9 mL de água destilada e 0,5 mL do reagente Folin-Ciocalteu (2 N). Após reagir por 3 minutos adicionou-se 1,5 mL de solução de Na_2CO_3 (20 % m/v). A mistura ficou reagindo em ambiente com ausência de luz por 120 minutos e a absorbância foi medida a 760 nm. Uma curva padrão foi preparada com ácido gálico (AG) 100-750 mg/L ($Y = 0,0011 x + 0,0548 / R^2 = 0,99$), expressando os resultados em mg AG / g de semente de urucum.

4.2.2.3 *Quantificação de bixina*

A quantificação de bixina foi feita por espectrofotometria visível com curva padrão de bixina (sigma 6983-79-5). O Extrato etanólico de urucum foi diluído em acetonitrila-metanol (1:1 v/v) de acordo com Curi-Borda et al. (2021) com adaptações. Posteriormente foi transferido para microplaca de 96 poço para a leitura a 470 nm em Multileitora Infinite M200 TECAN.

4.2.2.4 Cor

Os parâmetros de cor dos extratos de bixina, foram obtidos por imagem, de acordo com a metodologia descrita por Cárdenas-Pérez et al. (2017). Para a obtenção dos dados foi utilizado um sistema de visão computacional, composto pelo software ImageJv 1.6.0 (National Institutes of Health, Bethesda, EUA) com o plug-in Color Space Converter, (que converte as cores do sistema RGB para o escala CIELab) e uma câmera (Nikon D5500, Nikon Corporation, Japão) para capturar as imagens das amostras. No sistema de cores, os parâmetros “a*” expressam o grau de variação entre vermelho e verde (a* positivo = vermelho, a* negativo = verde), o “b*”, o grau de variação entre azul e verde. O amarelo (b* positivo = amarelo, b* negativo = azul) e a coordenada “L*” expressam o grau de luminosidade da cor medida (L* = 0 (preto) a 100 (branco)). O croma (C*), que expressa o grau de intensidade ou saturação da cor (Eq. 1), e o ângulo de matiz (°Hue), que representa a tonalidade da cor (Eq. 2), foram calculados (PÉREZ-MONTERROZA et al., 2018).

$$C = ((a^2) + (b^2))^{1/2} \quad (1)$$

$$°\text{Hue} = \arctg (b/a) \quad (2)$$

4.3 ENCAPSULAMENTO DO EXTRATO DE BIXINA

Para obter o extrato de bixina encapsulado, as micropartículas foram preparadas seguindo a metodologia descrita por Arijana Bušić (2018) com adaptações. Para o material de parede foi utilizado alginato e duas combinações de polímeros: polissacarídeo-polissacarídeo usando alginato com carragenina (ACG) e polissacarídeo-proteína, usando alginato com gelatina (AG). O encapsulamento do extrato de bixina foi realizado pela técnica de gelificação iônica. Soluções aquosas de alginato (2% m/v) e dos demais biopolímeros, carragenina (CG-1,5%) e gelatina (G-20%) foram preparadas sob agitação magnética à temperatura ambiente (25 °C) até a completa dissolução. Em seguida, os biopolímeros foram misturados na proporção mássica de 80:20 (m/m) nas combinações descritas, (a escolha dos materiais, bem como das proporções e combinações utilizadas foram obtidas

mediante testes preliminares) sequencialmente a solução foi agitada para homogeneização e adicionado 5 mL de extrato de bixina. Soluções de hidrogel com extrato de bixina foram agitadas em agitador magnético a 40 °C por 30 min (é importante destacar que segundo Ashraf et al. (2023), a temperatura de degradação da bixina é 200 °C). As soluções foram submetidas a um banho de ultrassom por 15 min para remoção das bolhas formadas no processo de agitação. Subsequentemente, as soluções de hidrogel (25 mL) de bixina foram gotejadas usando uma seringa de 10 mL na solução aquosa de reticulação de cloreto de cálcio (3%) sob agitação magnética constante (250 rpm). Após gotejamento, as micropartículas foram agitadas por 30 min para completa reticulação. As micropartículas foram filtradas em peneira metálica e lavadas com água destilada para remover o excesso de reticulante da superfície. O mesmo procedimento foi realizado para o controle (sem extrato de bixina). Posteriormente, as micropartículas foram submetidas a dois processos de secagem: secagem em estufa a vácuo por 6h a 40 °C e liofilização (liofilizador modelo L101, Liobrás, Brasil), por 48h a -55 °C e pressão em torno de 53 µHg.

4.3.1 Caracterização das micropartículas

4.3.1.1 Determinação de umidade e Atividade de água (a_w)

A umidade das micropartículas úmidas, secas em estufa e liofilizadas foi determinada pelo método gravimétrico em estufa sob vácuo (TECNAL, modelo TE-395, Piracicaba, Brasil) a 70 °C (A.O.A.C, 2018). A atividade de água das amostras foi determinada em higrômetro digital (Aqualab Modelo - Series 3 TE, Decagon Devices, Inc., Pullman, EUA), a 25 °C. As análises foram realizadas em triplicata.

4.3.1.2 Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)

As propriedades térmicas dos extratos de bixina, biopolímeros encapsulantes e micropartículas secas em estufa e liofilizadas foram analisadas por Calorimetria de Varredura Diferencial (DSC, na Central de Análise do Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos-EQA/UFSC), utilizando um calorímetro, Perkin-

Elmer, Jade (Massachusetts, EUA) equipado com um sistema 2P Intracooler, usando gás de arraste de nitrogênio (N₂) com fluxo de 45 mL/min, previamente calibrado com Índio e Zinco. Aproximadamente 5,0 mg de amostra foram colocados em recipientes de alumínio hermeticamente fechados, pesados em balança analítica (Shimadzu, AY220, Filipinas). Os termogramas das amostras foram obtidos em uma faixa de temperatura de -30 a 350 °C, com taxa de aquecimento de 10 °C/min.

4.3.1.3 *Difração de Raios X (DRX)*

Os difratogramas dos biopolímeros e micropartículas secas em estufa e liofilizadas foram obtidos por difração de raios X, de acordo com Pizón-Gracia et al. (2018) e Fontenele et al. (2018), com modificações, usando um difratômetro de raios X, Rigaku MiniFlex600 DRX, no Laboratório Interdisciplinar para o Desenvolvimento de Nanoestruturas (LINDEN), no Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina (EQA/UFSC). Os padrões de DRX foram registrados à temperatura ambiente (25 °C) na faixa de dispersão de $10^\circ < 2\theta < 80^\circ$ a uma taxa de varredura de $0,05^\circ\text{s}^{-1}$.

4.3.1.4 *Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)*

Os grupos funcionais presentes nos biopolímeros e nas micropartículas secas em estufa e liofilizadas foram determinados pela técnica de Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR), de acordo com Monge Neto et al. (2021). As amostras foram introduzidas em pastilhas de brometo de potássio (KBr) e analisadas com espectros de infravermelho em um intervalo de 4000 a 400 cm^{-1} no espectrômetro, modelo Agilent Technologies – Cary 660 FTIR, localizado na Central de Análises do Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina (EQA-UFSC).

4.3.1.5 *Eficiência de Encapsulamento (EE)*

A eficiência de encapsulamento foi realizada de acordo com Wang et al. (2019). Para a determinação da eficiência, 10 mg de micropartículas úmidas foram

maceradas usando um pistão em um almofariz, e aproximadamente 2 mL de solvente acetonitrila-metanol (1:1) foi adicionado. Após a maceração, adicionou-se 1 mL do mesmo solvente e homogeneizou-se manualmente e depois filtrou-se. O procedimento foi repetido utilizando o volume restante para extrair o pigmento total das micropartículas. A quantidade de bixina foi determinada por espectrofotômetro UV-vis a 470 nm usando uma curva de absorbância UV padrão para bixina. A eficiência de encapsulamento foi calculada usando a seguinte equação.

$$EE (\%) = \frac{\text{Concentração de bixina extraída das micropartancapsulamento}}{\text{Concentração de bixina inicial nas micropartículas}} \times 100 \quad (3)$$

4.3.1.6 *Morfologia*

A morfologia das micropartículas de hidrogel secas em estufa e liofilizadas foi avaliada por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) de acordo com Quiroz et al. (2020), utilizando microscópio eletrônico de varredura (JEOL, JSM-6390LV, Japão) com sensor de elétrons secundários retroespalhados localizado no Laboratório Central de Microscopia Eletrônica da Universidade Federal de Santa Catarina (LCME/UFSC). As micropartículas foram fixadas em um suporte metálico (*stubs*) e posteriormente recobertas por uma fina camada de ouro em um recobridor - aniônico de ouro (LEICA, EM SCD500, Germany) com uma tensão de aceleração de 15 kV.

4.3.1.7 *Cor*

Os parâmetros de cor das micropartículas úmidas, secas em estufa e liofilizadas foram obtidos por imagem, de acordo com a metodologia descrita item 4.3.1.4.

4.3.1.8 *Digestibilidade in vitro das micropartículas com bixina*

As micropartículas de bixina obtidas utilizando materiais de parede (alginato, alginato-gelatina e alginato-carragenina) foram avaliadas quanto à digestibilidade. A simulação gastrointestinal *in vitro* de micropartículas úmidas, secas em estufa e

liofilizadas seguiu o protocolo descrito por Brodkorb et al. (2019), que simulam condições típicas na boca (fase oral), estômago (fase gástrica) e intestino (fase intestinal) sequencialmente.

Fase oral: Inicialmente 5 g de micropartículas foram adicionadas de 1:1 (m/v) de Fluido Salivar Simulado (SSF) (Tabela 3) e solução de α -amilase salivar humana (75 U mL^{-1} , Sigma-Aldrich A1031). A mistura resultante foi ajustada (pH 7) e incubada em banho maria a $37 \text{ }^\circ\text{C}$ com agitação (180 rpm) durante 2 min.

Fase gástrica: A mistura proveniente da fase oral, também chamada de bolo oral foi misturado com 1:1 (v/v) de Fluido Gástrico Simulado (SGF) (Tabela 3) pré-aquecido a $37 \text{ }^\circ\text{C}$. HCl 1 M foi utilizado para ajustar o pH para 3,0. Em seguida, adicionou-se solução de pepsina suína (2.000 U/mL , Sigma-Aldrich P7012). As amostras foram incubadas novamente a $37 \text{ }^\circ\text{C}$ em banho maria, por 2h sob agitação de 100 rpm.

Fase intestinal: Na fase intestinal, foi adicionado ao quimo gástrico 1:1 (v/v) de Fluido de simulação intestinal (SIF) (Tabela 3) (previamente aquecido em banho-maria a $37 \text{ }^\circ\text{C}$) contendo pancreatina (100 U/mL baseada na atividade da tripsina, Sigma-Aldrich P7545) e sais biliares (10 mM , Sigma-Aldrich B3883). O pH foi ajustado para 7,0 com a adição de NaOH 1 M. A solução foi então agitada a 100 rpm, $37 \text{ }^\circ\text{C}$ por 2 h. As amostras resultantes de cada etapa da simulação foram coletadas e armazenadas à $-18 \text{ }^\circ\text{C}$. Posteriormente foram centrifugadas (4.677 g por 15 min, Kasvi, Brasil) para separação da parte sólida do sobrenadante e, em seguida, filtradas em filtro de membrana de $0,22 \text{ }\mu\text{m}$. O sobrenadante foi diluído (1:1) com solvente acetonitrila-metanol (1:1) e analisado espectrofotometricamente para determinar o teor de bixina liberada das micropartículas em cada fase usando uma curva padrão de bixina. A bioacessibilidade da bixina nas micropartículas, foi calculada de acordo com a Equação:

$$\text{Bioacessibilidade (\%)} = \frac{n_x}{n_i} \times 100$$

Onde n_x é o conteúdo quantificado após cada etapa da simulação, e n_i é o conteúdo quantificado antes da simulação (inicial).

Tabela 3 - Concentrações dos fluídos utilizados nas etapas de simulação gastrointestinal.

Concentrações (mM)			
	SSF pH 7	SGF pH 3	SIF pH 7
KCl	15,1	6,9	6,8
KH ₂ PO ₄	3,7	0,9	0,8
NaHCO ₃	13,6	25	85
NaCl	-	47,2	38,4
MgCl ₂ (H ₂ O) ₆	0,15	0,12	0,33
(NH ₄) ₂ CO ₃	0,06	0,5	-
HCl	1,1	15,6	8,4
CaCl ₂ (H ₂ O) ₂	1,5	0,15	0,6

SSF: Fluido salivar simulado; SGF: Fluido gástrico simulado; SIF: Fluido intestinal simulado

4.3.1.9 Estabilidade à Luz

O efeito da luz na estabilidade da micropartícula selecionada para aplicação (AGbL) foi realizada de acordo com Monge Neto et al. (2021). Em uma câmara (45 cm x 30 cm), aproximadamente 1 g da micropartícula foi exposto a 10 cm de lâmpada halógena (25 W, branca, kian CFL Reta, China) durante 21 dias a 20 °C. Para a quantificação da bixina, 10 mg de micropartículas de bixina mantidas sob exposição à luz em tubos de ensaio foram suspensas em 3 mL de água destilada e mantidas em banho ultrassônico por 40 min. Após este processo, 5 mL de solvente (acetonitrila-metanol 1:1) foram adicionados a cada uma das amostras, posteriormente agitadas e centrifugadas (4.677 g por 5 min). Os sobrenadantes foram colocados de lado, 5 ml de solvente foram adicionados novamente ao precipitado e o procedimento foi repetido. Ambos os sobrenadantes de lavagem foram homogeneizados e analisados a 470 nm no espectrofotômetro. Os valores de absorbância obtidos foram comparados com uma curva padrão de bixina construída. A quantificação da bixina foi realizada nos dias 0, 3, 5, 10, 15 e 21 em triplicata.

4.4 APLICAÇÃO DE MICROPARTÍCULAS DE BIXINA EM BARRAS DE CEREAIS

As barras de cereais controle (BC), barra com extrato (BEX) e barra com micropartícula (BMP) foram formuladas de acordo com Muniz et al. (2020) com modificações. Os ingredientes secos (flocos de aveia, uvas passas, flocos de arroz e micropartículas de bixina) foram misturados aos ingredientes líquidos (mel e óleo de coco). O mel e o óleo de coco foram aquecidos em panela antiaderente até atingir 80° Brix para evaporar a água, em seguida foram adicionados os ingredientes secos. Na barra de BMP foram adicionados 2% das micropartículas juntamente com os ingredientes secos. Na barra com extrato, o extrato de bixina (quantidade (em g) correspondente a 2% de micropartícula, conforme a Tabela 4, foi adicionado aos ingredientes líquidos. A mistura foi então aquecida a 70 °C por 10 min. Em seguida, o conteúdo foi espalhado em uma bandeja (forma) de alumínio (27 X 10 x 5,5 cm) protegida com papel manteiga, resfriada à temperatura ambiente por duas horas, em seguida cortada em porções (10 cm x 3,3 cm) e armazenada em embalagem laminada, sob refrigeração, até posteriores análises. Na Tabela 4 estão apresentadas os ingredientes das formulações para cada barra de cereal.

Tabela 4 - Ingredientes utilizados na preparação das formulações das barras controle, com extrato e com micropartículas (200 g).

Ingredientes	Formulações		
	BC	BEX	BMP
Mel	82 g	82 g	82 g
Óleo de coco	4 g	4 g	4 g
Aveia em flocos	50 g	50 g	48 g
Flocos de arroz	42 g	42 g	40 g
Uva passa	22 g	22 g	22 g
Extrato	-	14,5 g	-
Micropartícula	-	-	4 g

4.4.1 Caracterização das Barras de Cereais

4.4.1.1 *Determinação de cinzas*

A determinação de cinzas das três formulações de barras de cereais foi realizada de acordo com Muniz et al. (2020), com modificações, utilizando-se uma mufla. Nessa análise, 5 g de amostras foram carbonizadas e incineradas em mufla a 550 °C durante aproximadamente 12h.

4.4.1.2 *Determinação de umidade e atividade de água*

A umidade e a atividade de água das barras de cereais foram realizadas de acordo com a metodologia descrita no item 4.4.1.1.

4.4.1.3 *Análise Instrumental de Perfil de Textura (TPA)*

As barras de cereais foram analisadas quanto à textura instrumental para obter parâmetros como dureza, coesividade, elasticidade e mastigabilidade usando um texturômetro (TA.HD.plus Texture Analyzer, Stable Micro Systems) de acordo com Lasta et al. (2021) e Samakradhamrongtha et al. (2021). Uma sonda cilíndrica (sonda cilíndrica com 35 mm de diâmetro) com velocidade de pré-teste e pós-teste de 1 mm s⁻¹, tempo de penetração de 20 s e distância de penetração de 10 mm. No teste de força de cisalhamento foi utilizada uma sonda (V- cut probe) com pré-teste, pós-teste e velocidade de compressão de: 1 mm/s, 1 mm/s e 2 mm/s, respectivamente. A distância de penetração foi de 30 mm, com tempo de 80 s. As barras de cereais foram preparadas em porções de (2,5 x 2,5 cm). Os testes foram realizados na Central de Análise (EQA-UFSC), utilizando 10 repetições, sendo realizado em triplicata.

4.4.1.4 *Determinação do teor de bixina nas barras de cereais em solvente orgânico*

A determinação do teor de bixina nas barras BEX e BMP foi realizada de acordo com a metodologia de Samakradhamrongthai et al. (2021) com algumas modificações. Uma porção da amostra (1 g) de barra de cereal foi marcerada em

almofariz com auxílio de pistão, posteriormente foi adicionado 5 mL de solvente acetonitrila-metanol (1:1) e transferida para um tubo falcon de 10 mL. Após 1 h em repouso e na ausência de luz para extração, o conteúdo foi novamente macerado e parte do líquido foi filtrada em papel Whatman nº 1. Em seguida, 2,5 mL do solvente foram adicionados ao conteúdo no almofariz e completamente filtrados. Os 2,5 mL restantes (10 mL no total) foram usados para lavar o recipiente e remover quaisquer vestígios de cor do conteúdo da barra do recipiente. Após a filtração, os fluidos extraídos foram submetidos à análise espectrofotométrica a 470 nm e a bixina foi quantificada usando uma curva padrão.

4.4.1.5 *Digestibilidade das barras de cereais*

A digestibilidade das barras de cereais foram realizadas de acordo com a metodologia descrita para determinação da digestibilidade das micropartículas, no item 4.3.1.8.

4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados obtidos foram tratados estatisticamente utilizando o *software* Statistica 12.0 (StatSoft, Tulsa, Estados Unidos), por meio de análise de variância (ANOVA). A comparação múltipla das médias foi realizada pelo teste de Tukey, com nível de confiança de 95%.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO

A atividade antioxidante, os compostos fenólicos e os parâmetros de cor L*, a* e b do extrato são mostrados na Tabela 5.

Tabela 5 - Atividade antioxidante, compostos fenólicos e análise de cor do extrato.

Análises		Extrato
Atividade antioxidante- ABTS ($\mu\text{mol TROLOX/g}$ semente)		17,09 \pm 2,03
Compostos Fenólicos (mg ácido gálico/g semente)		2,79 \pm 0,42
Bixina (mg/g semente)		6,24 \pm 0,16
Cor	L	32,34 \pm 1,08
	a	50,04 \pm 1,53
	b	42,28 \pm 2,30

Fonte: Elaborada pelo autor (2023).

O teor de compostos fenólicos do extrato etanólico de urucum foi 2,53 vezes maior do que o relatado por Cardarelli; Benassi; Mercadante (2008), que relatou 1,10 \pm 0,07 mg de ácido gálico /g de sementes secas em extrato etanólico obtido em banho ultrassônico. Também foi 8,13 vezes maior do que o descrito por Quiroz et al. (2019), que obteve 0,343 \pm 0,003 (mg de ácido gálico/g de semente) em seu extrato etanólico obtido. Por outro lado, foi semelhante ao extrato registrado por Quiroz et al. (2019) da extração assistida por micro-ondas (MAE), que foi de 3,078 \pm 0,012 (mg de ácido gálico/g de semente).

Em relação à atividade antioxidante do extrato etanólico para o radical ABTS, os resultados obtidos foram inferiores aos relatados por Quiroz et al. (2019) - 174 M de extrato de Trolox/L. O teor obtido de bixina nessa pesquisa foi de 6,2 mg de bixina/g de semente. Chisté et al. (2011) utilizando a técnica de ultrassom com acetona:metanol:água como solvente relataram extratos com teor de 14,1 \pm 1,9 mg de bixina/g. Assim, essas variações (compostos fenólicos e atividade antioxidante) devem-se provavelmente às diferenças nas condições da agricultura como

composição do solo, água, luminosidade, entre outras, que influenciaram na composição do extrato das sementes.

A cor é um parâmetro relevante desde o preparo, processamento, armazenamento, até chegar ao consumidor. Por isso é um parâmetro extremamente importante para ser analisado (SHARMA; DASH; BADWAIK, 2022). O parâmetro L^* obtido na análise de cor indica a faixa de brilho de 0 (preto) a 100 (branco). O parâmetro a^* varia de (+) vermelho a (-) verde, e b^* varia de (+) amarelo a (-) azul (DANG et al., 2021). A caracterização de cores com parâmetros a^* e b^* iguais a 50,04 e 42,28, respectivamente (ambos positivos) indicam a localização dos valores no primeiro quadrante do gráfico do espaço de cores CIELAB, demonstrando uma tendência para vermelho e amarelo, o que era esperado.

A luminosidade com $L^* = 32,34$, revela baixa luminosidade, ou seja, tendência ao escuro, corroborando com a coloração vermelha escura do extrato obtido. (SILVA, 2007) obteve valores semelhantes para o parâmetro de luminosidade (37,75) dos extratos etanólicos de urucum. Além disso, os valores de $a^* = 32,46$ e $b^* = 20,73$ foram inferiores aos valores obtidos. Cardarelli; Benassi; Mercadante, (2008) também relatou tendência semelhante para os parâmetros a^* e L^* na caracterização da cor dos extratos etanólicos de urucum. Os parâmetros de cor (a^* e b^*) mostraram correlações positivas com o teor de bixina e atividade sequestrante de radicais livres e teor de fenólicos.

5.2 CARACTERIZAÇÃO DAS MICROPARTÍCULAS

5.2.1 Determinação de umidade e atividade de água

Os resultados de umidade e atividade de água das micropartículas úmidas (U), secas em estufa (E) e liofilizadas (L) são mostrados na Tabela 6. O teor de umidade das micropartículas úmidas foi alto, o que era esperado, independente do material de barreira, ou da presença ou ausência do extrato, todas elas apresentaram umidade superior a 95%. Da mesma forma que a umidade, a atividade de água de ambas as micropartículas úmidas variou de 0,979 a 0,993, o que está alinhado com Arijana Bušić et al. (2018), Belščak-Cvitanovic et al. (2016), Biswas; Pal (2021), respectivamente.

Tabela 6 - Teor de umidade e atividade de água (Aw) das micropartículas.

Análises		AGc	AGb	ACGc	ACGb	ALc	ALb
U	Aw	0.979 ± 0.006 ^{bA}	0.981 ± 0.003 ^{bcA}	0.988 ± 0.003 ^{abA}	0.986 ± 0.005 ^{abcA}	0.992 ± 0.0007 ^{aA}	0.993 ± 0.0009 ^{aA}
	Umidade (%)	95.89 ± 0.19 ^{bA}	95.97 ± 0.41 ^{bA}	96.65 ± 0.10 ^{aA}	96.31 ± 0.07 ^{abA}	96.21 ± 0.31 ^{abA}	96.28 ± 0.26 ^{abA}
E	Aw	0.330 ± 0.038 ^{abB}	0.319 ± 0.077 ^{bB}	0.380 ± 0.024 ^{aB}	0.330 ± 0.045 ^{abB}	0.320 ± 0.005 ^{bB}	0.329 ± 0.010 ^{abB}
	Umidade (%)	12.79 ± 0.17 ^{cC}	11.60 ± 0.64 ^{dB}	16.87 ± 0.44 ^{aB}	13.10 ± 0.78 ^{cC}	14.65 ± 0.63 ^{bB}	12.50 ± 0.50 ^{cB}
L	Aw	0.336 ± 0.058 ^{aB}	0.293 ± 0.032 ^{bB}	0.304 ± 0.030 ^{bC}	0.289 ± 0.017 ^{bC}	0.236 ± 0.033 ^{cC}	0.236 ± 0.017 ^{cC}
	Umidade (%)	14.71 ± 1.70 ^{bB}	12.74 ± 0.23 ^{cdB}	16.69 ± 1.01 ^{aB}	14.09 ± 0.51 ^{bcB}	10.95 ± 0.88 ^{dC}	7.54 ± 0.80 ^{dC}

Letras minúsculas diferentes nas linhas indicam diferença estatística pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) entre as micropartículas. Letras maiúsculas diferentes nas colunas indicam diferença estatística pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) entre os métodos de secagem. U - Micropartículas úmidas; E - Micropartículas secas em estufa; L - Micropartículas liofilizadas. AL: Alginato AG: Alginato e gelatina; ACG: Alginato e Carragenina; c: controle; b: bixina.

Córdoba; Deladino; Martino, (2014) obtiveram atividade de água de 0,98 para micropartículas de extrato de erva-mate (*Ilex paraguariensis*), encapsuladas com hidrogéis de alginato de cálcio e amido de milho. Para micropartículas secas em estufa as umidades foram de 11,74 e 16,95%, e para micropartículas liofilizadas os teores de umidade entre 7,54 e 16,69%. Esses resultados são comparáveis aos de Afzal et al. (2022). Valores inferiores também foram obtidos para a atividade de água das micropartículas secas (0,2 a 0,3) e próximos aos relatados por Velázquez-Gutiérrez et al. (2021) que obtiveram 0,23 - 0,59. A micropartícula liofilizada de alginato e bixina (ALbL) apresentou o menor teor de umidade, sugerindo que a evaporação da água das micropartículas ocorreu mais facilmente quando comparada as micropartículas de blendas poliméricas. Ressalta-se que quando comparados os processos de estufa e liofilização, as micropartículas controle (sem extrato de bixina) apresentaram maiores teores de umidade, o que pode estar relacionado à estrutura química hidrofóbica do extrato etanólico de urucum.

5.2.2 Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)

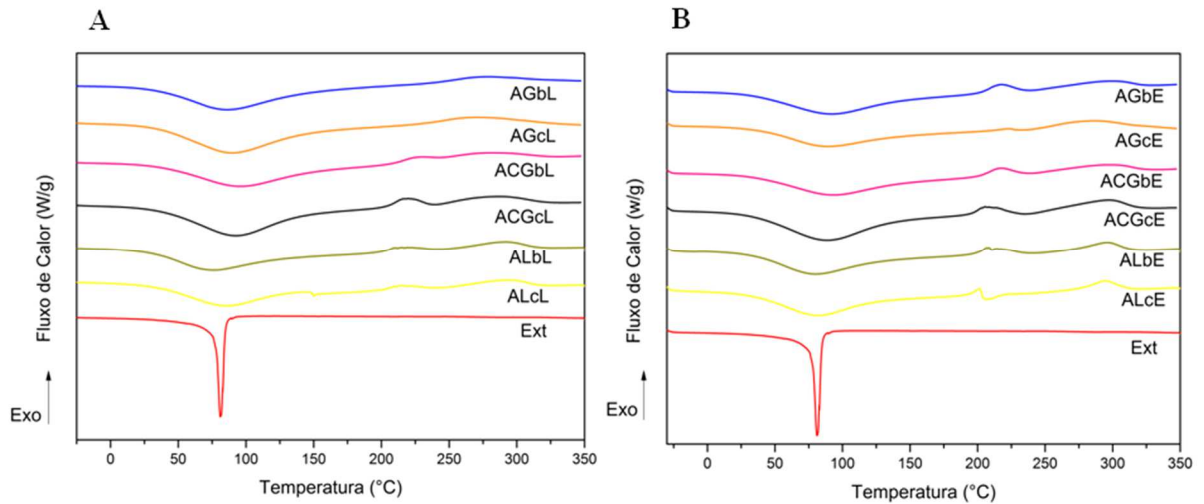
As curvas de DSC de ambas as micropartículas, secas em estufa (A) e liofilizadas (B) são mostradas na Figura 10.

O extrato de urucum apresentou pico endotérmico a 81 °C relacionado à perda de água. Zhang; Zhong, (2013) observaram que a perda de água da bixina em um pico endotérmico ocorreu a 73°C. Ao analisar pseudo-resíduos de urucum, Silva; Meireles, (2015) obteve pico endotérmico a 80,2 °C, valor próximo ao encontrado neste trabalho. Não foi possível identificar a temperatura de fusão do composto. Nos termogramas das micropartículas é possível identificar diferenças sutis entre os dois processos de secagem. Eventos mais acentuados foram observados nas micropartículas obtidas por secagem em estufa. A curvatura endotérmica das micropartículas é atribuída à perda de água, enquanto o pico exotérmico na região de 220°C indica reações de desidratação e despolimerização; em outras palavras, a ruptura de segmentos de ácido D-manurônico e ácido L-gulurônico do alginato de sódio sódio (SUHAIL ET AL. 2021; HACKENHAAR ET AL. 2022).

Os picos endotérmicos observados nas Figuras 10A e 10B em torno de 80 °C nas micropartículas produzidas com AG, ACG e AL apresentaram maior intensidade em relação ao extrato (Ext). Isso é característico dos biopolímeros, pois eles sofrem dessorção/adsorção de água em uma faixa mais ampla de temperatura, atribuída à gelificação formada.

Neste caso, a gelificação foi promovida por íons fornecidos pelo cloreto de cálcio. Como visto nas amostras controle, o extrato de bixina promove uma diminuição na temperatura máxima de gelificação para amostras secas em estufa (Figura 10A). No caso das micropartículas secas por liofilização (Figura 10B), não são observadas diferenças significativas em comparação com as amostras de controle. Isso pode ser atribuído à maior porosidade das micropartículas produzidas pela liofilização, o que promove processos de gelificação em temperaturas mais baixas devido ao aumento da área superficial, acelerando consequentemente esse processo. Portanto, as diferenças entre amostras de controle e amostras com bixina também são reduzidas. Adicionalmente, observa-se que para amostras submetidas à liofilização (Figura 10B), os picos são menos pronunciados, possivelmente devido a este método de secagem deixar menos água residual. Para todas as amostras, foram observados picos exotérmicos em torno de 220 °C e 300 °C, provavelmente devido a eventos de decomposição térmica ou reações de degradação.

Figura 10 – Perfil do comportamento térmico do extrato e das micropartículas liofilizadas (A) e micropartículas secas em estufa (B).



AL: Alginato AG: Alginato e gelatina; ACG: Alginato e Carragenina; Ext: Extrato c: Controle; b: bixina.

Fonte: Elaborada pela autora (2022).

5.2.3 Difração de Raios (DRX)

A Figura 11 mostra os padrões de difração de raios X das amostras puras de alginato, carragenina e gelatina e das micropartículas com extrato de bixina obtidas por secagem em estufa ou liofilização.

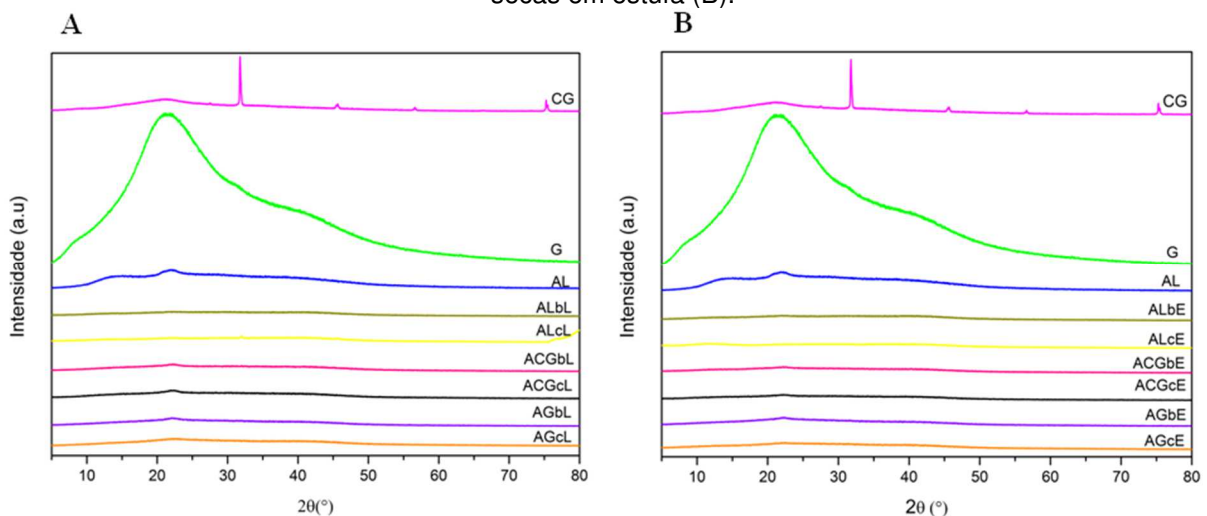
Os padrões que apresentam picos mais amplos (também identificados como banda larga) são evidências relacionadas ao grau de desordem das moléculas que resultam na difração de bandas dispersas, caracterizadas como uma estrutura amorfa (SILVA; MEIRELES, 2015), conforme ilustrado nos difratogramas da gelatina (G) e do alginato que apresentaram um pico amplo em $2\theta = 21,38^\circ$ e dois picos largos com baixa intensidade em $2\theta = 12,88$ e $21,14$, respectivamente. Estes são picos característicos de alginato e gelatina que também foram relatados por Dong; Wang; Du, (2006), Soury et al. (2022) e Chang et al. (2022). O difratograma de k-carragenina mostra um pico amplo de 2θ entre 15 e 25° , semelhante a Liew et al. (2017) e Chinh et al. (2022), que identificou a carragenina como um polímero semicristalino.

Por outro lado, os picos observados para as composições de polímeros puros interagindo com alginato e bixina mostram o desaparecimento ou redução de picos característicos de cada um deles. Isto pode ser devido ao processo de

gelificação iônica utilizado para produzir as micropartículas, levando à formação de uma rede tridimensional entre as cadeias poliméricas.

A criação desta estrutura tridimensional pode resultar na amorfização do material, reduzindo significativamente as estruturas cristalinas. Quando a gelificação iônica é realizada com cloreto de cálcio, promove a formação de ligações iônicas entre cadeias poliméricas (como no caso do alginato). Estas ligações iônicas podem interferir no ordenamento molecular e na estrutura cristalina original do polímero, neste caso, reduzindo a cristalinidade dos polímeros, conforme evidenciado pela diminuição da intensidade dos picos de difração em um padrão de difração de raios X. Tal como observado nas amostras controle, a bixina não tem impacto significativo na formação de estruturas amorfas ou cristalinas. Portanto, o processo de gelificação iônica é responsável pela alteração da estrutura física do material. Além disso, não há diferenças significativas entre os dois métodos de secagem.

Figura 11 - Difratogramas de Raios X para as micropartículas liofilizadas (A) e para as micropartículas secas em estufa (B).



AL: Alginato AG: Alginato e gelatina; ACG: Alginato e Carragenina; c: controle; b: bixina.

Fonte: Elaborada pela autora (2022).

5.2.4 Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

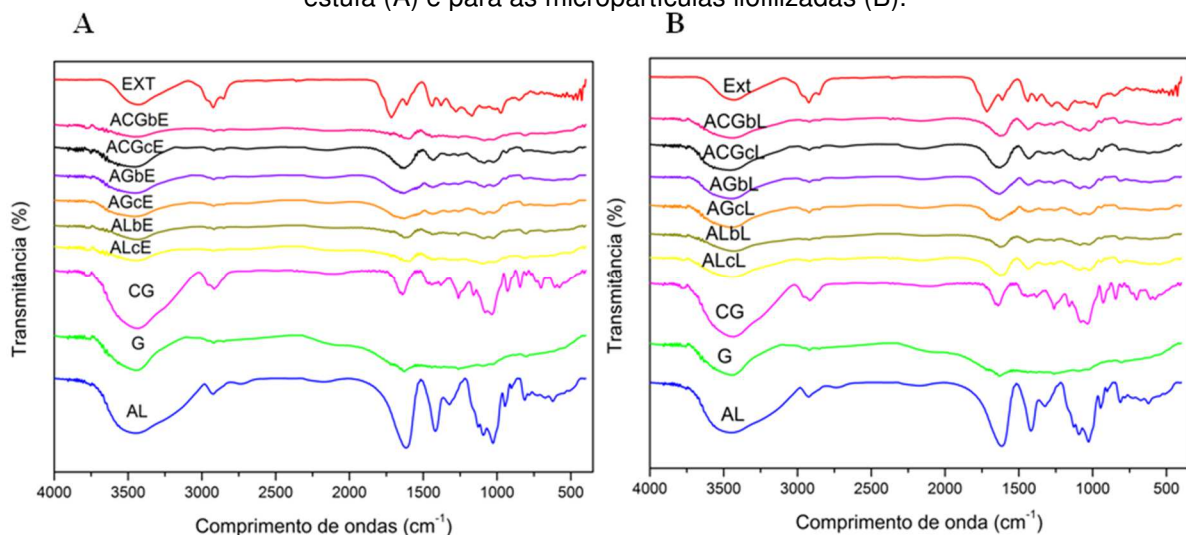
Os espectros de infravermelho do extrato de urucum, biopolímeros puros e micropartículas são mostrados na Figura 12.

As micropartículas foram caracterizadas por FTIR para avaliar a incorporação de extrato de urucum e diversos polímeros no processo de gelificação iônica, visando analisar a presença de grupos funcionais, confirmar interações e

avaliar reticulações. Compostos puros como alginato, carragenina e gelatina exibiram uma banda larga na faixa de 3.116 a 3.648 cm^{-1} , correspondente à vibração dos grupos -OH, provavelmente relacionada à presença de água nas amostras. Após o processo de produção de micropartículas, as bandas associadas aos grupos -OH apresentaram uma diminuição significativa, potencialmente influenciada pela redução do teor de água devido aos processos de secagem ou pela menor ocupação de volume total de polímeros em estruturas encapsuladas. Este fenômeno pode ser atribuído à substituição de prótons nos grupos carbonila e sulfônico por íons cálcio durante o processo de reticulação, levando a uma redução substancial nos grupos hidroxila na cadeia polimérica. Posteriormente, foi observado estiramento entre 3.080 e 2.770 cm^{-1} tanto para os compostos puros, excluindo a gelatina, quanto para o extrato. Esta região está associada a vibrações de estiramento de ligações CH em grupos metil (-CH₃) e metileno (-CH₂).

O alginato e a carragenina podem conter grupos CH₃ e CH₂, enquanto a gelatina inclui menos grupos CH₃ e CH₂ em comparação com os polissacarídeos. Da mesma forma, a presença de bandas nesta região para a bixina poderia estar associada a grupos alifáticos contendo ligações CH.

Figura 12 - Espectros de infravermelho do extrato, biopolímeros puros das micropartículas secas em estufa (A) e para as micropartículas liofilizadas (B).



AL: Alginato AG: Alginato e gelatina; ACG: Alginato e Carragenina; EXT: Extrato; C: Controle; B: Bixina.

Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Além disso, os picos em 1610 e 1174 cm^{-1} representam vibrações de estiramento do grupo C=O do ácido carboxílico alifático e estiramento COC,

respectivamente. Estas são características da bixina (EL-DEEB et al., 2022; RIGUETO et al., 2021). Particularmente no alginato, foi observada uma banda que se estende em torno de 1421 cm^{-1} , correspondendo à vibração assimétrica da ligação C-O em grupos carboxilato (TAVASSOLI-KAFRANI; SHEKARCHIZADEH; MASOUDPOUR-BEHABADI, 2016). Normalmente, a confirmação da reticulação é avaliada pela indicação de alterações, alterações e desaparecimento da intensidade máxima entre o espectro dos polímeros puros e o espectro dos produtos, neste caso, micropartículas produzidas por gelificação iônica.

Durante o processo de gelificação iônica, a interação entre íons cálcio, alginato e polímeros adicionais (gelatina ou carragenina) pode levar à formação de ligações cruzadas entre cadeias poliméricas. A redução ou ausência do pico em 1421 cm^{-1} e outros picos na região das micropartículas poderia indicar uma diminuição na mobilidade dos grupos carboxilato, possivelmente devido à formação destas ligações cruzadas com Ca^{2+} (RATHER; BHAT; SHALLA 2022). As micropartículas de secagem em estufa e liofilização apresentaram a mesma estrutura química, indicando que o processo de secagem não influenciou nas interações e não alterou a composição química dos materiais.

Ambos os espectros de extrato de urucum, biopolímeros e micropartículas apresentaram características semelhantes, com alguma diferença na intensidade dos picos. Todos as micropartículas apresentaram uma banda larga na faixa de $3116\text{ a }3648\text{ cm}^{-1}$ que corresponde ao alongamento dos grupos OH. Também é possível observar picos de absorção em 2923, que são resultado de vibrações de estiramento de CH e CH_2 e que são encontrados com menor intensidade nas micropartículas. Além disso, o pico de absorção em 1712, evidenciado no espectro do extrato, corresponde ao éster insaturado C=O e sofre um deslocamento no espectro das micropartículas para 1600 cm^{-1} . A redução na intensidade dos picos observados nas micropartículas é indicativa da ocorrência de interações principalmente associadas a ligações de hidrogênio e trocas iônicas e interações de reticulação com os biopolímeros. A interação entre íons Ca^{2+} e cadeias poliméricas é demonstrada por deslocamentos de grupos carboxila (RATHER; BHAT; SHALLA, 2022).

5.2.5 Eficiência de Encapsulamento (EE)

As micropartículas de hidrogel de extrato de urucum apresentaram altos valores de eficiência de encapsulação, em torno de 93,91% para a blenda polimérica de alginato e carragenina, 94,70% para alginato e gelatina e 95,72% para alginato. Não houve variação significativa entre as eficiências de encapsulamento das micropartículas. Geralmente, as micropartículas de hidrogel de alginato puro são descritas como porosas e propensas a perdas devido à difusão do composto encapsulado do gel para um meio aquoso (VOLÍĆ et al., 2018). No entanto, Soliman et al. (2013) investigaram a influência do aumento da concentração de alginato na capacidade de carga ao encapsular óleo de tomilho, cravo e canela e relataram o efeito proporcional do aumento da concentração de alginato (0,5% a 2%) com o aumento da carga dos compostos, ou seja, quanto maior for a concentração de alginato, maior será a eficiência de encapsulamento, correlacionando este comportamento com a densa estrutura em rede do alginato com o aumento da concentração.

Wang et al. (2019) mostraram uma tendência análoga (87,56% a 95,20%) para micropartículas de alginato de sódio-óxido de zinco - ZnO carregadas com curcumina. Lee; Chang, (2020) também obteve eficiência de 89,23% a 93,41% ao encapsular quercetina em grânulos de hidrogel de oligoquitosana e pectina yuzu (*Citrus junos*) deesterificada. Os altos valores de eficiência de encapsulamento estão relacionados à concentração do material de barreira e ao uso de blendas (combinação de dois materiais).

5.2.6 Morfologia

As microestruturas das micropartículas secas em estufa e liofilizadas são mostradas na Figura 13.

Figura 13 - Morfologia (por MEV) de micropartículas com igual magnitude para os dois métodos de secagem: secagem em estufa e liofilização.

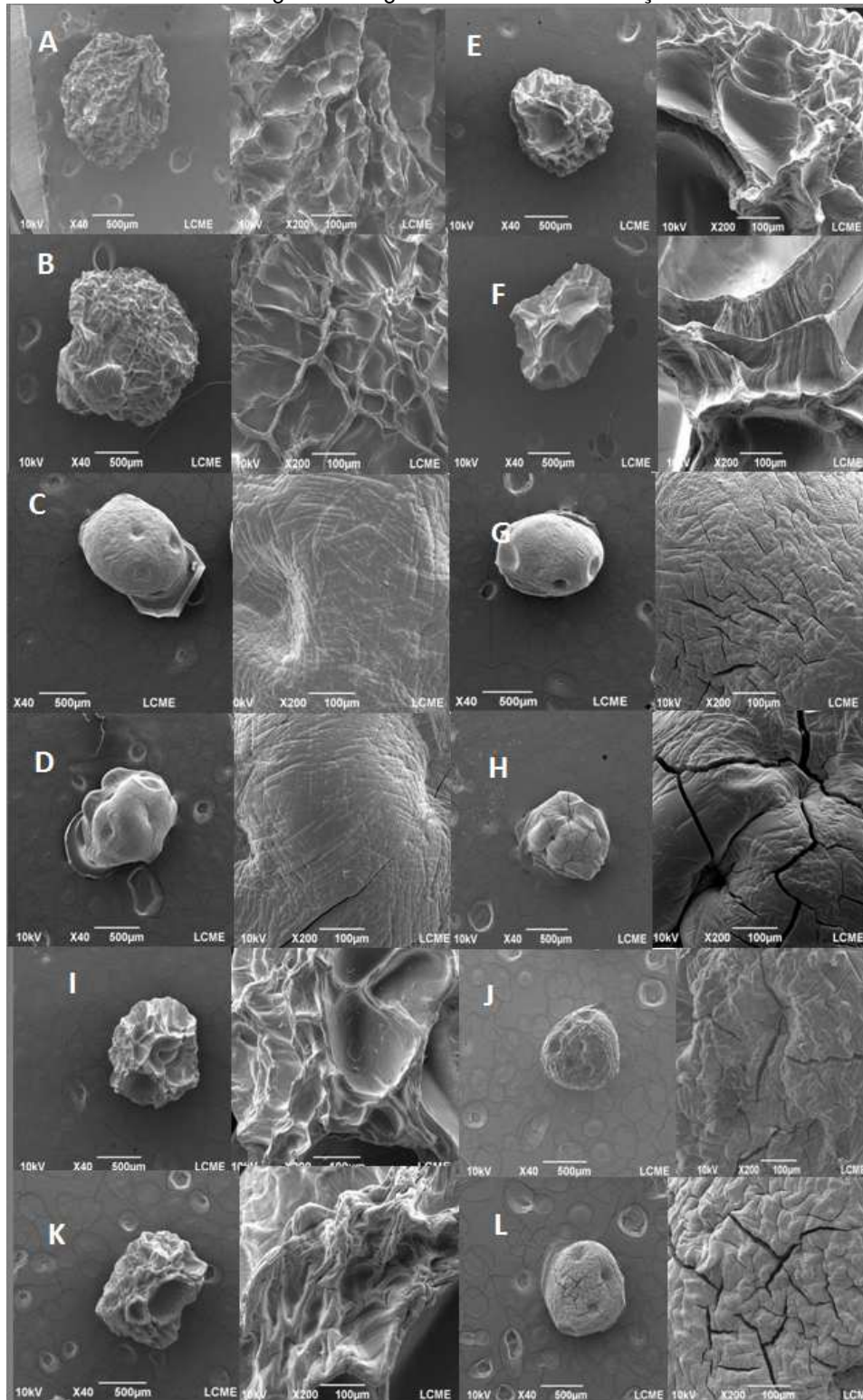


Figura 13 - Morfologia de micropartículas de igual magnitude para os dois métodos de secagem: secagem em estufa e liofilização (liofilização: a, b, e, f, i e k; secagem em estufa c, d, g, h, j e l) . A-AGb; B- AGc; C-AGb; D-AGc; E-ACGb; F-ACGc; G-ACGb; H-ACGc; I-ALb; J-ALc; K-ALb; L-ALc; AG: Alginato e gelatina; ACG: Alginato e Carragenina; c: controle e b: bixina.

Todas as micropartículas de hidrogel, antes da secagem, eram totalmente esféricas. Após a secagem, as micropartículas produzidas, independente do processo de secagem, apresentaram formato esférico semelhante, com superfícies irregulares, o que é alinhado por Xu et al. (2019) e Wang et al. (2019).

A secagem de micropartículas por liofilização (figuras a, b, e, f, i e k) resultou na obtenção de micropartículas com formato e superfície enrugados, com aspecto esponjoso e com evidências de cavidades, provavelmente devido ao colapso pelo escoamento de água durante o processo de secagem, ou seja, é provável que esta ocorrência se deva à sublimação da água durante a secagem (ATENCIO et al., 2020). Por outro lado, as micropartículas secas em estufa à vácuo manteve o formato mais esféricos, comparando-se com as micropartículas liofilizadas, porém, visualmente apresentava rigidez e rugosidade, com aparentes rachaduras na superfície (Micrografia c, d, g L, J e i). Da Silva Fernandes et al. (2018) relataram as mesmas características.

A presença de poros e rugas pode ser um fenômeno resultante da migração de moléculas de água durante o processo de secagem e retração do gel. As micrografias obtidas permitem concluir que a técnica de secagem influenciou a estrutura morfológica das micropartículas, conferindo-lhes características distintas.

5.2.7 Cor

Os resultados dos parâmetros de cor das micropartículas úmidas, secas por estufa e liofilizadas são mostrados na Tabela 7.

Tabela 7 - Parâmetros de cor das micropartículas de bixina encapsulada: Alto teor de umidade, secos em estufas e liofilizados.

	Micropartículas	L	a	B
Úmidas	AGc	87,80 ± 1,57 ^{ab}	1,92 ± 0,53 ^a	-7,47 ± 0,69 ^a
	ACGc	88,58 ± 0,26 ^a	2,30 ± 0,10 ^b	-7,90 ± 0,32 ^b
	ALc	87,30 ± 1,38 ^b	2,38 ± 0,14 ^b	-8,04 ± 0,42 ^b
Secas (Estufa)	AGc	55,23 ± 2,13 ^a	10,12 ± 0,65 ^b	28,92 ± 1,00 ^a
	ACGc	56,98 ± 1,67 ^b	10,44 ± 0,53 ^b	30,06 ± 1,13 ^a
	ALc	51,23 ± 2,05 ^b	13,66 ± 1,03 ^a	26,32 ± 1,92 ^b
Liofilizadas	AGc	75,96 ± 1,38 ^a	3,79 ± 0,47 ^b	13,91 ± 1,18 ^b
	ACGc	68,95 ± 2,05 ^b	5,48 ± 0,90 ^a	18,57 ± 1,64 ^a
	AL	75,98 ± 1,41 ^a	3,91 ± 0,49 ^b	13,84 ± 0,67 ^b
Úmidas	AGb	32,98 ± 1,81 ^a	43,87 ± 1,15 ^a	42,29 ± 2,00 ^a
	ACGb	31,92 ± 1,09 ^a	42,79 ± 0,78 ^a	40,07 ± 0,60 ^a
	ALb	32,30 ± 2,01 ^a	43,51 ± 1,06 ^a	41,24 ± 1,52 ^a
Secas (Estufa)	AGb	9,29 ± 0,55 ^b	17,63 ± 0,48 ^a	2,04 ± 0,52 ^b
	ACGb	8,29 ± 0,73 ^c	17,84 ± 0,97 ^a	1,80 ± 0,45 ^b
	ALb	10,67 ± 0,73 ^a	11,29 ± 1,75 ^b	3,08 ± 0,58 ^a
Liofilizadas	AGb	17,49 ± 0,54 ^a	30,82 ± 0,33 ^a	18,40 ± 0,53 ^b
	ACGb	17,70 ± 1,07 ^a	29,85 ± 0,76 ^b	19,79 ± 0,98 ^a
	ALb	17,73 ± 0,99 ^a	29,80 ± 0,80 ^b	19,18 ± 0,95 ^{ab}

Letras minúsculas diferentes nas linhas indicam diferença estatística pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) entre as micropartículas. AL: Alginato AG: Alginato e gelatina; ACG: Alginato e Carragenina; c: controle; b: bixina.

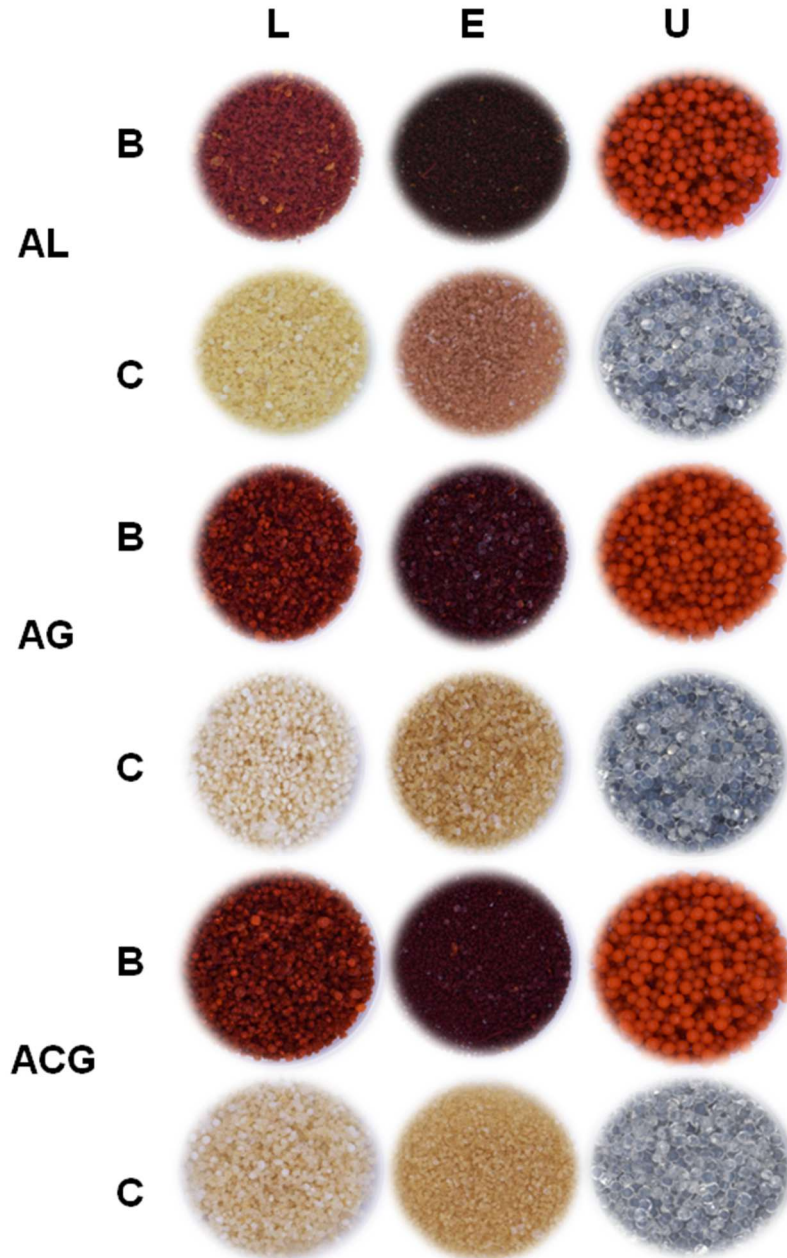
Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

Os resultados de cor das micropartículas mostram diferenças significativas para os valores de luminosidade entre os processos úmido e seco. Para as amostras controle, as micropartículas úmidas (sem extrato) apresentaram valores de L superiores às micropartículas obtidas pelo processo de secagem. Para micropartículas de bixina, a luminosidade apresenta valores menores, correspondendo à mudança de cor e, conseqüentemente, ao escurecimento das micropartículas. Além disso, em relação às amostras úmidas, não houve diferença entre as micropartículas, portanto, o material encapsulante não influenciou na luminosidade.

Neste trabalho, os valores dos parâmetros a^* e b^* para todas as micropartículas foram positivos, confirmando a tendência dominante de coloração vermelha e amarela. No entanto, para micropartículas secas em estufa e liofilizadas, os valores de a e b foram menores do que as micropartículas úmidas, mostrando a intensificação da cor com o processo de secagem.

A Figura 14 a seguir, mostra as imagens das micropartículas de bixina no estado úmido e seco (Estufa e liofilização).

Figura 14 - Imagens de micropartículas úmidas e secas (Estufa e liofilização).



U - Úmidas; E - Secas em estufa; L-Liofilizado; AL: Alginato; AG: Alginato e gelatina; ACG: Alginato e Carragenina; C-Control e B-Bixina.

A variação perceptível da cor está totalmente relacionada com o método de secagem. É interessante destacar que as micropartículas de gelatina (controle) secas apresentam uma coloração mais escura em relação as demais micropartículas controles secas, isso se deve pelo fato de a gelatina ter naturalmente uma coloração amarelada, diferentemente da carragenina e do alginato que são brancos.

O efeito do processo de secagem em relação a variação de cores é evidenciado pela análise da Tabela 8.

Tabela 8 - Parâmetros de cor de cada micropartícula nos três estados (úmido, seco por estufa e seco por liofilização).

	Micropartículas	L	a	b
AGc	Úmidas	87,80 ± 1,57 ^{ab}	1,92 ± 0,53 ^c	-7,47 ± 0,69 ^c
	Secas (Estufa)	88,58 ± 0,26 ^a	10,12 ± 0,65 ^a	28,92 ± 1,00 ^b
	Liofilizadas	75,96 ± 1,21 ^b	3,79 ± 0,47 ^b	13,91 ± 1,18 ^a
ACGc	Úmidas	88,58 ± 0,26 ^a	2,30 ± 0,10 ^c	-7,90 ± 0,32 ^c
	Secas (Estufa)	56,98 ± 1,67 ^b	10,44 ± 0,53 ^a	30,06 ± 1,13 ^a
	Liofilizadas	68,95 ± 1,66 ^c	5,48 ± 0,90 ^b	18,57 ± 1,64 ^b
ALc	Úmidas	87,30 ± 1,38 ^a	2,38 ± 0,14 ^c	-8,04 ± 0,42 ^c
	Secas (Estufa)	51,23 ± 2,05 ^c	13,66 ± 1,03 ^a	26,32 ± 1,92 ^a
	Liofilizadas	75,98 ± 1,41 ^b	3,91 ± 0,49 ^b	13,84 ± 0,67 ^b
AGb	Úmidas	32,98 ± 1,81 ^a	43,87 ± 1,15 ^a	42,29 ± 2,00 ^a
	Secas (Estufa)	9,29 ± 0,55 ^c	17,63 ± 0,48 ^b	2,04 ± 0,52 ^b
	Liofilizadas	17,49 ± 0,54 ^b	30,82 ± 0,33 ^c	18,40 ± 0,53 ^c
ACGb	Úmidas	31,92 ± 1,09 ^a	42,79 ± 0,78 ^a	40,07 ± 0,60 ^a
	Secas (Estufa)	8,29 ± 0,73 ^c	17,84 ± 0,97 ^c	1,80 ± 0,45 ^c
	Liofilizadas	17,70 ± 1,07 ^b	29,85 ± 0,76 ^b	19,79 ± 0,98 ^b
ALb	Úmidas	32,30 ± 2,01 ^a	43,51 ± 1,06 ^a	41,24 ± 1,52 ^a
	Secas (Estufa)	10,67 ± 0,73 ^c	11,29 ± 1,75 ^c	3,08 ± 0,58 ^c
	Liofilizadas	17,73 ± 0,99 ^b	29,80 ± 0,80 ^b	19,18 ± 0,95 ^b

Letras minúsculas diferentes nas linhas indicam diferença estatística pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) entre os métodos de secagem. AL: Alginato AG: Alginato e gelatina; ACG: Alginato e Carragenina; c: controle; b: bixina.

Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

Os valores correspondentes aos parâmetros L, a e b foram semelhantes aos de Pérez-Monterroza et al. (2018) ao analisar a cor das micropartículas de bixina com amido de milho com alto teor de amilose que obtiveram valores que variam de $a^* = 29$ a 40 , $b^* = 44$ a 57 e $L^* = 30$ a 56 . Houve variações estatísticas de cada micropartícula em relação aos três tipos de processo de secagem. As micropartículas úmidas apresentaram maiores valores de luminosidade L^* do que as micropartículas secas, o que resulta em micropartículas com aspectos mais claro.

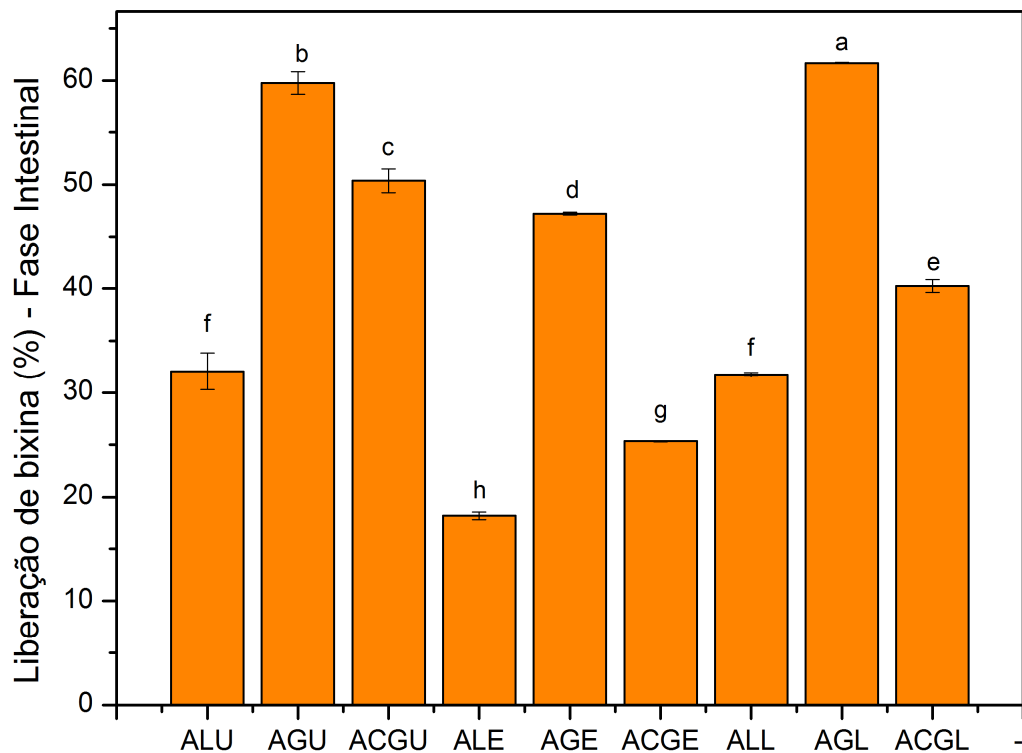
Em relação aos processos de secagem, as micropartículas secas em estufa apresentaram valores inferiores em todos os parâmetros (L^* , a^* e b^*), o que sugere que a secagem proporcionou a obtenção de micropartículas escuras e com cores mais intensas. Por outro lado, a liofilização resulta em micropartículas mais luminosas, e preservou melhor a coloração vermelho-alaranjado, expresso pelos valores de a^* e b^* quando comparados com as amostras úmidas e secas em estufa.

As características de cor são um reflexo das características físicas das micropartículas. Os processos de secagem estão correlacionados com a estrutura e conseqüentemente com a cor das micropartículas.

5.2.8 Digestibilidade *in vitro* das micropartículas

O conteúdo de liberação de bixina da digestão *in vitro* de micropartículas úmidas, secas em estufa e liofilizadas na fase intestinal é mostrado na Figura 15.

Figura 15 - Comportamento da liberação das micropartículas no ensaio de digestibilidade na fase intestinal (testes realizados a 37 °C por 2 h).



ALU: Alginato-úmido; AGU: Alginato e gelatina úmida; ACGU: Alginato e carragena úmida; ALE: Alginato-seco em estufa; AGE: Alginato e Gelatina seca em estufa; ACGE: Alginato e carragenina secas em estufa; ALL: Alginato-liofilizado; AGL: Alginato e gelatina liofilizada; ACGL: Alginato e Carragenina Liofilizada; b: bixina.

Devido à baixa concentração de bixina liberada (abaixo da absorvência) não foi possível quantificar o teor de bixina nas fases oral e gástrica, provavelmente devido ao material encapsulante evitar a liberação da mesma. Zhang; Zhao; Shi, (2016) relataram que em pH ácido os grupos carboxila do alginato podem ser protonados, o que está relacionado a modificações estruturais (encolhimento) que reduzem o tamanho dos poros. Este processo permite a proteção do composto das fases oral e gástrica.

De acordo com os resultados obtidos, o material de parede teve influência no processo de liberação na fase intestinal. Redes de gel à base de alginato são descritas como veículos com baixa eficiência na retenção de compostos (MARTINS; ALVES; PINHEIRO, 2021). Assim, a combinação de polímeros como alginato, gelatina e carragenina são relevantes para melhorar o desempenho das micropartículas, como a liberação. As maiores taxas de liberação foram: alginato + gelatina > alginato + carragenina > alginato, com destaque para as micropartículas de alginato e gelatina (AGb) com liberação de 59,79% das micropartículas úmidas e para as micropartículas liofilizadas a maior liberação foi de 61,68%. Este resultado sugere que o processo de secagem afetou positivamente o mecanismo de liberação. Correlacionando os resultados de digestibilidade com as imagens obtidas em microscopia (MEV), é provável que micropartículas porosas com baixa liberação, como o alginato puro com bixina (ALL), tenham possibilitado a ação de ácidos e enzimas, possivelmente causando a degradação da bixina. Porém, o fato de possuir menos poros, como é o caso das micropartículas de AGL e AGE (observado na Figura 11- MEV), pode ter impedido a degradação das bixinas nessas micropartículas, que, conseqüentemente, em condição neutra e com a ação de a enzima pancreatina, permitiu a liberação.

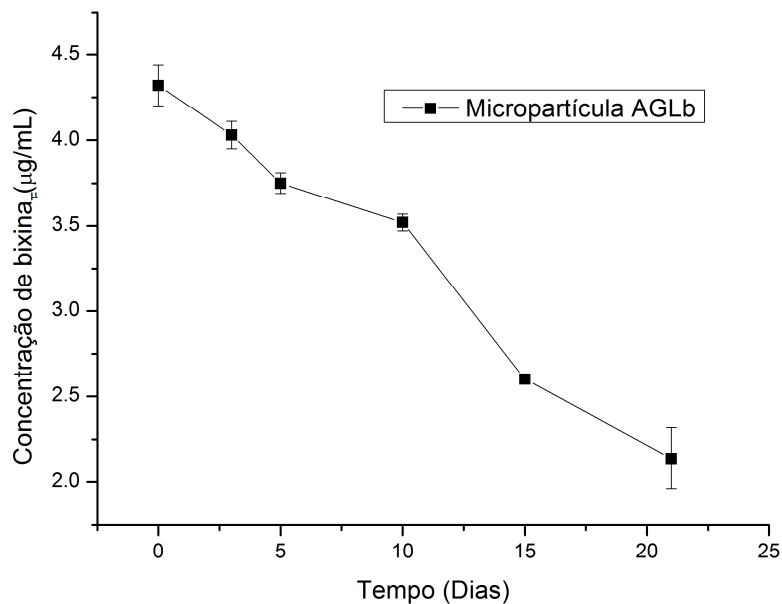
Wang et al. (2022) observaram que micropartículas de hidrogel da fase gástrica para a fase intestinal (pH neutro) aumentaram as forças eletrostáticas entre as cadeias poliméricas (goma gelana) resultantes da desprotonação e conseqüentemente da ionização dos grupos carboxila gerando maior expansão da rede de partículas, favorecendo a liberação. Essa teoria corrobora com maior liberação de bixina na fase intestinal. Li et al. (2019) observaram uma tendência semelhante. Com base nos dados obtidos nas condições gastrointestinais simuladas, a micropartícula com maior liberação, a micropartícula de alginato e

gelatina (AGLb) foi escolhida para dar continuidade à pesquisa com posterior aplicação na matriz alimentícia.

5.2.9 Estabilidade de bixina a luz

A Figura 16 apresenta os resultados obtidos da estabilidade à luz da micropartícula AGLb, micropartícula escolhida para ser incorporada na aplicação.

Figura 16 - Estabilidade da bixina à luz por 21 dias. AGLb - Alginato de micropartículas e gelatina liofilizada.



AGLb - Micropartículas de alginato e gelatina liofilizada.

No teste de estabilidade à luz constante, houve redução de 50% no teor de bixina considerando o tempo inicial (0 dias) com o tempo de exposição final (21 dias). A estabilidade à luz é um parâmetro importante para avaliar e estabelecer as condições de aplicação e armazenamento dos alimentos, para evitar a degradação dos pigmentos funcionais. Esse resultado corrobora os resultados relatados por Monge Neto et al. (2021) em testes de estabilidade de luminosidade constante de microcápsulas de bixina, que relataram níveis próximos a 50% do valor inicial após 21 dias de análise.

Marcolino et al. (2011) concluíram que a complexação da bixina com β -CD fornece proteção contra a luz; como ele observou que a deterioração da cor nas

micropartículas era menor do que na bixina sem complexação. Tupuna-Yerovi et al. (2020) produziram refrigerantes isotônicos de tangerina adicionados de microcápsulas de norbixina, e relataram perda de cor, do laranja para amarelo claro após 9 dias de armazenamento e exposição à luz. Os autores acrescentaram ainda que a variação de cor foi mais intensa quando exposta à luz do que quando submetida ao calor.

5.3 APLICAÇÃO DAS MICROPARTÍCULAS

5.4 PRODUÇÃO DE BARRAS DE CEREAIS

A Figura 17 a seguir apresenta as três formulações de barras de cereais elaboradas: A barra controle (BC), a barra com extrato (BEX) e a barra com micropartícula (BMP).

Figura 17 - Imagens das três formulações de barras de cereais produzidas.



BC - Barra de Cereal Controle, BEX - Barra de Cereal com Extrato, BMP - Barra de Cereal com Micropartículas.

5.3.2. Caracterização das Barras de Cereais

5.3.2.1 Conteúdo de cinzas e umidade, atividade de água e análise de cor

A Tabela 9 apresenta a caracterização físico-química das barras de cereais. O teor de umidade médio não foi afetado significativamente pelo extrato de bixina adicionado de forma livre ou encapsulado. Esses valores estão próximos aos encontrados por Martins; Alves; Pinheiro, (2021) que produziram barra de cereal sem glúten, sem lactose e também sem adição de açúcar, indicada para consumidores intolerantes à lactose e celíacos. Os valores reportados por eles foram de 5,34 a 7,84% de umidade. Embora se esperasse que a formulação do extrato tivesse maior teor de umidade, a natureza hidrofóbica do extrato não influenciou o teor de água da barra. A atividade de água para a barra de cereal contendo micropartículas foi significativamente maior do que a barra controle (BC) e a barra extrato (BEX).

Tabela 9 - Caracterização físico-química das barras de cereais.

Análises	BC	BEX	BMP
Umidade (%)	7,51 ± 0,18 ^a	8,27 ± 0,08 ^a	8,51 ± 0,83 ^a
Atividade de água (Aw)	0,45 ± 0,006 ^b	0,44 ± 0,05 ^b	0,52 ± 0,023 ^a
Cinzas (%)	0,90 ± 0,08 ^b	0,88 ± 0,06 ^b	1,40 ± 0,04 ^a
L	65,61 ± 1,98 ^a	55,58 ± 4,18 ^b	62,36 ± 2,95 ^a
a	7,15 ± 3,98 ^c	29,90 ± 2,37 ^a	11,31 ± 2,95 ^b
b	29,40 ± 10,08 ^b	56,32 ± 5,87 ^a	27,02 ± 6,96 ^b
C*	30,93 ± 8,50 ^b	63,91 ± 4,43 ^a	29,65 ± 5,81 ^b
Hue	73,00 ± 13,71 ^a	61,81 ± 4,15 ^b	65,88 ± 9,55 ^{ab}

Letras minúsculas diferentes nas colunas indicam diferença estatística pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) entre as formulações. BC - Barra controle, BEX - Barra com extrato e BMP - Barra com micropartícula, C* - Croma, Hue - Ângulo Hue.

Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

Houve aumento da atividade de água da barra com micropartícula (BMP) em relação às demais formulações. Esse fato pode estar relacionado com o polímero presente nas micropartículas, que aumenta o conteúdo de água retido nos capilares e interage mais com a água, prendendo-a e aumentando a pressão de vapor da água no produto. Em relação a barra com extrato, a água do extrato interage menos com a bixina que é hidrofóbica, e assim, tem menor pressão de vapor, como também na barra sem bixina. Em geral, as barras de cereais sem adição de açúcar apresentaram atividade de água elevada, acima de 0,7. Em contrapartida, as barras de cereais à base de alguma fonte de açúcar (mel ou outras fontes de açúcar) apresentaram menor atividade de água (0,1 - 0,6) (SAMAKRADHAMRONGTHAI et al., 2021), o que está de acordo com este estudo que utilizou o mel como fonte de açúcar e obteve valores de atividade de água que variaram de 0,44 a 0,52% e estão próximos aos valores obtidos por Martins; Alves; Pinheiro (2021) que produziu uma barra de cereais sem glúten e sem lactose, indicada para intolerantes à lactose e para celíacos.

O teor de cinzas que corresponde ao teor mineral foi encontrado em maior quantidade na formulação da barra com micropartícula (BMP) em relação às demais barras de cereais. Os teores de cinzas se assemelham aos valores de 1,00 a 1,90%, 0,62 a 1,45% e 1,32 a 1,53 encontrados em barras de cereais por Sethupathy et al. (2020), Spim et al. (2021) e Muniz et al. (2020), respectivamente. A cor é uma característica importante e decisiva na percepção da qualidade e reflete diretamente na intenção de compra de um alimento, por parte do consumidor.

Os resultados obtidos na análise de cor variaram de 55,58 a 65,61, 7,15 a 29,90, 27,02 a 56,32, 29,65 a 63,91 e 61,81 a 73,00 para os valores de L*, a*, b, C* e Hue*, respectivamente. O parâmetro L* está relacionado com a luminosidade da amostra. O maior valor para L* (65,61) foi observado na formulação controle BC, enquanto o menor valor (55,58) foi registrado na BEX, o que sugere que a barra controle possui uma cor mais clara que a barra com extrato, o que era esperado. Para ambas as formulações, todas tiveram a* positivo, o que significa uma tendência ao vermelho. Vale ressaltar que a barra de controle diferiu significativamente das demais barras.

O parâmetro b* mede a intensidade da cor azul-amarela, e em todas as barras os valores foram positivos, indicando a prevalência do amarelo, com destaque para a formulação da barra com extrato ($b = 56,32 + 5,87$) que diferiu das

outras pela intensidade da cor, resultado já esperado pela tonalidade original (vermelho intenso) do extrato e pela forma livre adicionada à barra. Borges et al. (2021) obtiveram valores mais baixos em todos os parâmetros (L, a, b e C) ao analisarem barras de cereais enriquecidas com biomassa de fermentação de vinho.

5.3.2.2. Análise do Perfil de Textura (TPA)

A Tabela 10 apresenta os parâmetros do perfil de textura analisados nas barras de cereais produzidas neste trabalho.

Tabela 10 - Perfil de textura das barras de cereais.

Análises	BC	BEX	BMP
Dureza (N)	189,48 ± 13,74 ^a	186,31 ± 12,49 ^a	190,12 ± 13,74 ^a
Força de cisalhamento (N)	33,17 ± 2,01 ^a	31,56 ± 2,50 ^a	34,61 ± 3,10 ^a
Coesão	0,21 ± 0,03 ^a	0,18 ± 0,04 ^a	0,23 ± 0,03 ^a
Elasticidade (%)	48,56 ± 8,89 ^a	55,06 ± 10,44 ^a	55,59 ± 7,19 ^a
Resiliência (%)	7,46 ± 1,09 ^b	7,81 ± 0,43 ^{ab}	9,75 ± 1,32 ^a
Mastigabilidade (N)	17,30 ± 5,37 ^b	39,87 ± 3,41 ^a	22,15 ± 3,61 ^b

Letras minúsculas diferentes nas colunas indicam diferença estatística pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) entre as formulações. BC - Barra controle, BEX - Barra com extrato e BMP - Barra com micropartícula.

Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

A textura instrumental pode ser expressa de diversas formas. A análise instrumental da dureza de um alimento é realizada por meio de um teste que expressa a força de compressão máxima necessária para a deformação da amostra na primeira mordida (LASTA et al., 2021; MUNIZ et al., 2020). Os valores obtidos para dureza foram BC (189,48 N), BEX (186,31 N) e BMP (190,12 N). Não houve diferença significativa entre as três formulações, indicando que a adição de extrato de bixina livre e microencapsulados não influenciou as características de textura das barras de cereais estudadas neste trabalho, bem como a característica de crocância

de ambas as barras de cereais. Valores semelhantes para dureza foram relatados por Muniz et al. (2020) (122,00 a 210,55 N) em barras de cereais enriquecidas com casca de goiaba fermentada e bagaço de caju. No entanto, Munhoz et al. (2014) relataram que as forças necessárias para quebrar barras de cereais com polpa de frutas e amêndoas de bocaiuva foram 161,54 N e 117,48 N. Lasta et al. (2021) relataram um valor de 161,02 N para barra de cereal da farinha da folha de *Pereskia aculeata* e banana verde com adição de *Lactobacillus acidophilus* LA02-ID-1688.

No teste de cisalhamento, valores médios de 33,17; 31,56 e 34,61 N foram obtidos para BC, BEX e BMP, respectivamente. Esses valores são semelhantes aos de Melati et al. (2021) que relataram uma variação de 19,60 a 47,49 N, porém inferior ao encontrado por Lasta et al. (2021) que obtiveram uma força de 61,43 N em barra de farinha de folha de *Pereskia aculeata* e banana verde com o prebiótico *Lactobacillus acidophilus* LA02-ID-1688.

A elasticidade é determinada pela amplitude de recuperação no intervalo entre a primeira e a segunda compressão, ou seja, é o índice que quantifica o retorno de um material à sua forma não deformada após a aplicação de uma força (MAU et al., 2017; SZCZESNIAK, 2002). A coesão indica a resistência interna de uma estrutura de material à compressão (DANALACHE et al., 2015; MAU et al., 2017). Esses parâmetros não se alteraram com a adição de extrato e micropartículas quando comparados à barra controle e estão próximos aos encontrados por Kaur et al. (2018) e Allai et al. (2022).

A resiliência é outro atributo que revela o potencial de resistência à deformação dos alimentos. A barra controle - BC apresentou menor resiliência, enquanto a barra - BMP apresentou maior valor médio. Apesar das diferenças, ambas as barras apresentaram valores consideravelmente elevados, demonstrando a resistência à deformação esperada para as barras de cereais. De acordo com Mei Wee et al. (2018), os alimentos com baixa resiliência incluem alimentos considerados macios, como purê de cenoura e fatias de mamão (0,11; 0,06, respectivamente).

Em relação ao parâmetro de mastigabilidade, houve aumento da barra - BEX em relação às demais formulações. A mastigabilidade de um material é expressa pela energia necessária para o processo de mastigação, ou seja, para a desintegração do alimento antes da deglutição (SZCZESNIAK 2002; CHANDRA; SHAMASUNDAR, 2015; MAU et al., 2017). Valores muito inferiores (0,35 a 2,82N)

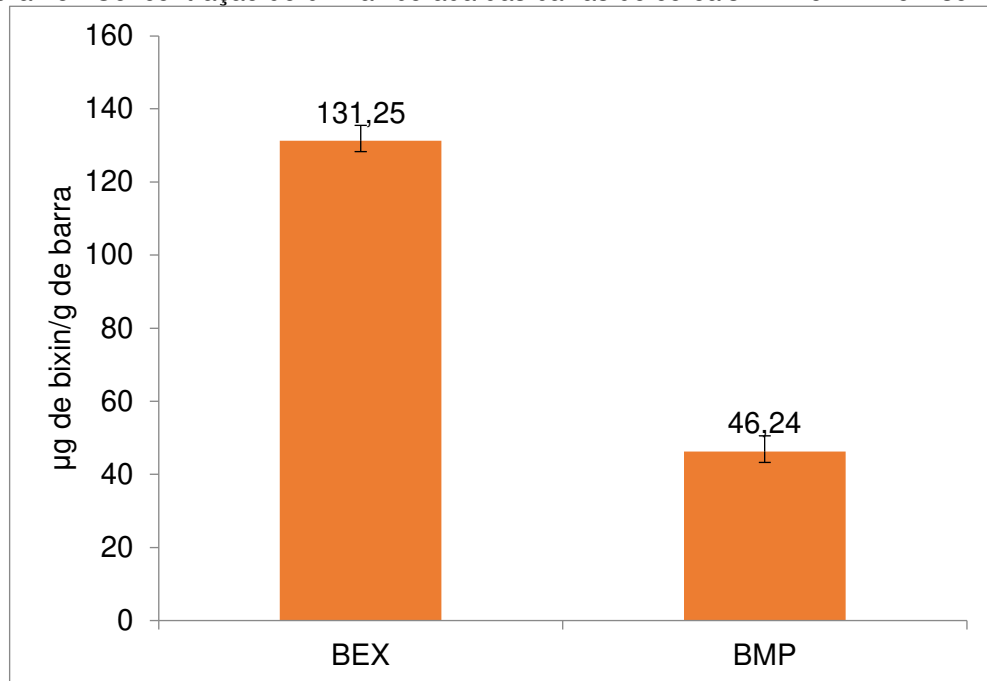
do que os encontrados neste estudo para mastigabilidade foram relatados por Samuel; Peerkhan, (2020) ao analisar a barra de proteína de milho.

É pertinente destacar que existe uma diversidade de ingredientes, formulações, diferentes métodos de preparo que dificultam possíveis comparações, principalmente nos parâmetros de análise instrumental.

5.2.2.4. Quantificação de bixina nas barras de cereais

A determinação do teor de bixina nas barras com extrato (BEX) e barras com micropartículas (BMP) em solvente é mostrada na Figura 18. É possível observar que na barra de cereal com extrato - BEX, houve maior liberação em solvente da bixina em relação a liberação em solvente da bixina de micropartículas presente na barra de cereal - BMP, provavelmente devido a bixina estar livre e mais bem distribuída nos ingredientes das barras com extrato, sendo mais facilmente dissolvida no solvente. Ao contrário da bixina apisionada na micropartícula.

Figura 18 - Concentração de bixina liberada das barras de cereais BEX e BMP em solvente.



BEX - Barra com extrato e BMP - Barra com micropartícula.

Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

As formulações de barras de cereais são excelentes matrizes alimentícias para incorporação de diversos ingredientes, com destaque para as fontes bioativas

como a bixina, pois são preparadas em temperaturas amenas, além disso, são alimentos de fácil introdução na rotina alimentar de consumidores de qualquer faixa etária.

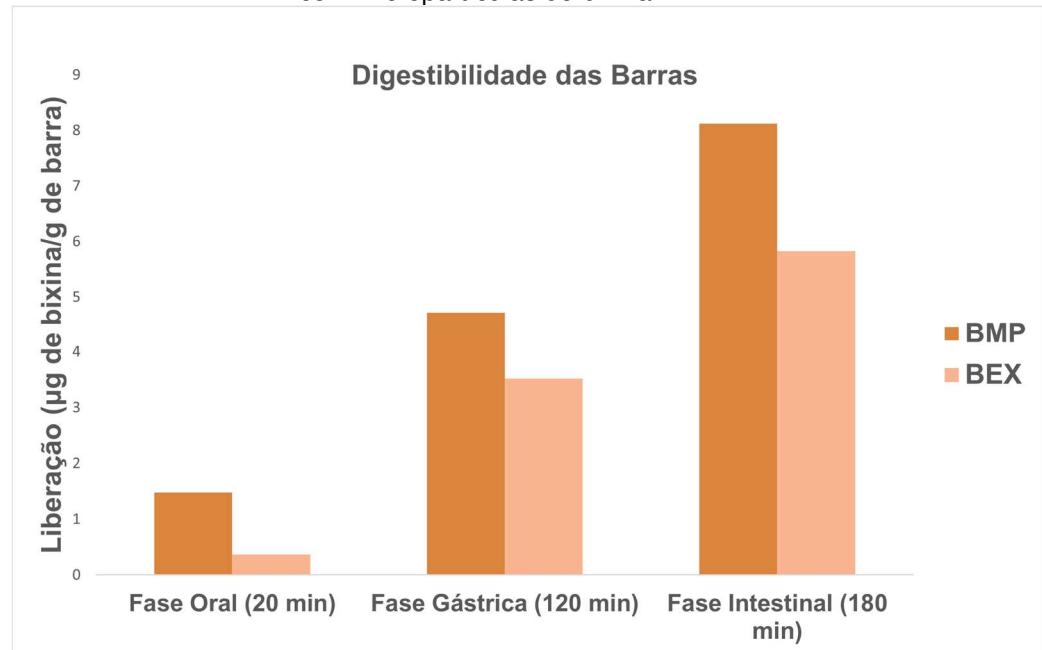
5.4.1.1 *Digestibilidade das barras de cereais*

Os resultados da simulação da digestão gastrointestinal *in vitro* das formulações de barras de cereais são mostrados na Figura 19.

A formulação de barras de cereais com micropartículas ativas, apresentou maior liberação do que as barras de cereais contendo extrato, com alta concentração na fase intestinal. A maior liberação de bixina das micropartículas provavelmente está associada à estabilidade e proteção contra degradação, pelo material da parede. As diferenças observadas nos resultados da simulação gastrointestinal das micropartículas em relação aos resultados obtidos para a simulação gastrointestinal das barras de cereais podem estar relacionadas também a composição da matriz alimentar. Nas barras, a presença de alguns ingredientes como o mel, o óleo do coco, pode ter favorecido a migração de compostos o que resultou na liberação de bixina ainda na fase gástrica, o que não foi observado nos ensaios de digestibilidade das micropartículas.

Em relação as barras com extratos, estas estão mais expostos ao meio ambiente, de forma mais livre e propensos a degradação. Além disso, o extrato pode apresentar baixa solubilidade em água. O alto teor de bixina na fase intestinal é muito importante e crucial, uma vez que os compostos bioativos liberados podem ser absorvidos pelo trato gastrointestinal e distribuídos por diversas partes do corpo. Além disso, a bixina é considerada um apocarotenoide com propriedades antioxidantes, antiinflamatórias e protetora do organismo humano (ASHRAF et al., 2023).

Figura 19 - Simulação in vitro das formulações de barras de cereais controle, com extrato de bixina e com micropartículas de bixina.



BEX - Barra com extrato e BMP - Barra com micropartícula.

Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

Esses resultados traz uma contribuição importante quanto ao uso de material encapsulante protetor de compostos ativos, com benefícios a saúde. Vários estudos mostram que a bixina em concentrações de 5 a 50 mg/mL foi eficaz para inibir o desenvolvimento de células cancerígenas (NURCAHYANTI; KUSMITA; WINK, 2021; ASHRAF et al., 2023). Neste estudo, a bixina encapsulada adicionada pela primeira vez à barra de cereal, com liberação controlada, traz uma nova perspectiva para utilização como alimento ativo e saudável pela indústria.

Foram encontradas na literatura alguns trabalhos propondo formulações de barras de cereais ativas. Favaro et al. (2020) produziram barras de cereais com adição de extrato do fruto da palmeira juçara (*Euterpe edulis*) com alto teor de antocianinas, e obtiveram barras com 74,07 a 87,8% de atividade antioxidante. Sung et al. (2014) elaboraram barras de cereais contendo extrato de *Allium fistulosum*. O consumo de barras com o extrato reduziu o peso corporal de camundongos obesos, o acúmulo de lipídios no fígado e diminuiu os níveis de triacilglicerol, glicose e insulina.

6 CONCLUSÃO

Micropartículas de hidrogel encapsuladas tiveram eficiência de encapsulamento de bixina maior que 90%. De acordo com as caracterizações físicas (com excessão do MEV) e propriedades térmicas, não foi identificado diferenças significantivas em relação aos dois processos de secagem estudados. A análise por microscopia de varredura (MEV) indicou uma superfície mais lisa para micropartículas secas em estufa quando comparadas às micropartículas liofilizadas (mais expansivas com superfície rugosa). Essa estrutura mais porosa, característica das micropartículas liofilizadas resultou em maior liberação de bixina (AGL). A digestão gastrointestinal *in vitro* mostrou um efeito significativo na digestão dos materiais encapsulantes, bem como na forma (úmida, secagem em estufa e liofilização). A micropartícula de alginato de gelatina liofilizada (AGLb) levou à maior liberação de bixina na fase intestinal. A barra com extrato (BEX) apresentou maior liberação de bixina em solvente orgânico e coloração mais intensa em relação à barra com micropartícula. Por outro lado, quando testado *in vitro* nas fases oral, gastrica e intestinal, as barras de cereias contendo bixina encapsuladas apresentaram maior liberação, principalmente na fase intestinal. Além disso, as barras de cereais não diferiram estatisticamente em termos de dureza, força de cisalhamento, coesão e elasticidade. As barras de cereais com micropartícula é uma alternativa viável para ampliação da produção de um alimento saudável com propriedades ativas a serem incorporadas pelas indústrias de alimentos.

7 REFERÊNCIAS

ABAE, A.; MOHAMMADIAN, M.; JAFARI, S. M. Whey and soy protein-based hydrogels and nano-hydrogels as bioactive delivery systems. **Trends in Food Science and Technology**, v. 70, n. June, p. 69–81, 2017.

AFZAL, M. Z. et al. Sonocatalytic degradation of ciprofloxacin using hydrogel beads of TiO₂ incorporated biochar and chitosan. **Journal of Hazardous Materials**, v. 434, n. November 2021, p. 128879, 2022.

AGUIAR, J.; ESTEVINHO, B. N.; SANTOS, L. Microencapsulation of natural antioxidants for food application – The specific case of coffee antioxidants – A review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 58, p. 21–39, 2016.

AHMAD, T. et al. Recent advances on the role of process variables affecting gelatin yield and characteristics with special reference to enzymatic extraction: A review. **Food Hydrocolloids**, v. 63, p. 85–96, 2017.

AKOLADE, J. O. et al. Influence of formulation parameters on encapsulation and release characteristics of curcumin loaded in chitosan-based drug delivery carriers. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 45, n. February, p. 11–19, 2018.

ALBUQUERQUE, C. L. C.; MEIRELES, M. A. A. Defatting of annatto seeds using supercritical carbon dioxide as a pretreatment for the production of bixin: Experimental, modeling and economic evaluation of the process. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 66, p. 86–95, 2012.

ALCÁZAR-ALAY, S. C. et al. Obtaining bixin from semi-defatted annatto seeds by a mechanical method and solvent extraction: Process integration and economic evaluation. **Food Research International**, v. 99, n. September 2016, p. 393–402, 2017.

ALEMDAR, N. Fabrication of a novel bone ash-reinforced gelatin/alginate/hyaluronic acid composite film for controlled drug delivery. **Carbohydrate Polymers**, v. 151, p. 1019–1026, 2016.

ALLAI, F. M. et al. Development of Protein Rich Pregelatinized Whole Grain Cereal Bar Enriched With Nontraditional Ingredient: Nutritional, Phytochemical, Textural, and Sensory Characterization. **Frontiers in Nutrition**, v. 9, n. April, p. 1–12, 2022.

Arijana Bušić 2018. , [s.d.].

ARRIOLA, N. D. A. et al. Encapsulation of stevia rebaudiana Bertonii aqueous crude extracts by ionic gelation – Effects of alginate blends and gelling solutions on the polyphenolic profile. **Food Chemistry**, v. 275, n. September 2018, p. 123–134, 2019.

ARYEE, A. N.; AGYEI, D.; AKANBI, T. O. Recovery and utilization of seaweed pigments in food processing. **Current Opinion in Food Science**, v. 19, n. Figure 2, p. 113–119, 2018.

ASHRAF, A. et al. The role of bixin as antioxidant, anti-inflammatory, anticancer, and skin protecting natural product extracted from *Bixa orellana* L. **Fitoterapia**, v. 169, n. July, p. 105612, 2023.

ATENCIO, S. et al. Encapsulation of ginger oil in alginate-based shell materials. **Food Bioscience**, v. 37, n. December 2019, 2020.

BAZANA, M. T.; CODEVILLA, C. F.; DE MENEZES, C. R. Nanoencapsulation of bioactive compounds: challenges and perspectives. **Current Opinion in Food Science**, v. 26, p. 47–56, 2019.

BELŠČAK-CVITANOVIC, A. et al. Emulsion templated microencapsulation of dandelion (*Taraxacum officinale* L.) polyphenols and β -carotene by ionotropic gelation of alginate and pectin. **Food Hydrocolloids**, v. 57, p. 139–152, 2016.

BISWAS, S.; PAL, A. Iron oxide-loaded alginate-bentonite hydrogel beads as a green and sustainable catalyst for 4-nitrophenol reduction. **Materials Today Communications**, v. 28, n. February, p. 102588, 2021.

BOOSTANI, S.; JAFARI, S. M. A comprehensive review on the controlled release of encapsulated food ingredients; fundamental concepts to design and applications. **Trends in Food Science and Technology**, v. mdpi, n. March 2020, p. 303–321, 2021.

BORGES, M. S. et al. Enriched cereal bars with wine fermentation biomass. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 101, n. 2, p. 542–547, 2021.

BOT, F. et al. The effect of pulsed electric fields on carotenoids bioaccessibility: The role of tomato matrix. **Food Chemistry**, v. 240, n. January 2017, p. 415–421, 2018.

BRACCINI, I.; PÉREZ, S. Molecular basis of Ca^{2+} -induced gelation in alginates and pectins: The egg-box model revisited. **Biomacromolecules**, v. 2, n. 4, p. 1089–1096, 2001.

BRODKORB, A. et al. INFOGEST static in vitro simulation of gastrointestinal

food digestion. **Nature Protocols**, v. 14, n. 4, p. 991–1014, 2019.

BUIE, T.; MCCUNE, J.; COSGRIFF-HERNANDEZ, E. Gelatin Matrices for Growth Factor Sequestration. **Trends in Biotechnology**, v. 38, n. 5, p. 546–557, 2020.

CAETANO, P. A. et al. Microalgae-based polysaccharides: Insights on production, applications, analysis, and future challenges. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. mdpi, n. June, 2022.

CARDARELLI, C. R.; BENASSI, M. DE T.; MERCADANTE, A. Z. Characterization of different annatto extracts based on antioxidant and colour properties. **LWT - Food Science and Technology**, v. 41, n. 9, p. 1689–1693, 2008.

CARVALHO, I. T.; ESTEVINHO, B. N.; SANTOS, L. Application of microencapsulated essential oils in cosmetic and personal healthcare products - A review. **International Journal of Cosmetic Science**, v. 38, n. 2, p. 109–119, 2016.

CARVALHO, P. R. N. et al. Concentração de bixina e lipídios em sementes de urucum da coleção do instituto agrônômico (IAC). **Bragantia**, v. 69, n. 3, p. 519–524, 2010.

CELLI, G. B. et al. Solvent-mediated pressure-treated bixin-casein complexation for targeted color delivery. **Food Chemistry**, v. 278, n. October 2018, p. 434–442, 2019.

CHANDRA, M. V.; SHAMASUNDAR, B. A. Texture profile analysis and functional properties of gelatin from the skin of three species of fresh water fish. **International Journal of Food Properties**, v. 18, n. 3, p. 572–584, 2015.

CHANG, Z. et al. Preparation of gelatin/Ag NPs under ultrasound condition: A potent and green bio-nanocomposite for the treatment of pleomorphic hepatocellular carcinoma, morris hepatoma, and novikoff hepatoma. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 15, n. 6, p. 103858, 2022.

CHING, S. H.; BANSAL, N.; BHANDARI, B. Alginate gel particles—A review of production techniques and physical properties. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 57, n. 6, p. 1133–1152, 2017.

CHINH, N. T. et al. Optimizing the component ratio to develop the biocomposites with carrageenan/collagen/allopurinol for the controlled drug release. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 68, n. July 2021, p. 102697, 2022.

CHISTÉ, R. C. et al. In vitro scavenging capacity of annatto seed extracts

against reactive oxygen and nitrogen species. **Food Chemistry**, v. 127, n. 2, p. 419–426, 2011.

COLEMAN, R. J. et al. Phosphorylation of alginate: Synthesis, characterization, and evaluation of in vitro mineralization capacity. **Biomacromolecules**, v. mdpi, n. 4, p. 889–897, 2011.

COMUNIAN, T. A. et al. Improving oxidative stability of echium oil emulsions fabricated by Microfluidics: Effect of ionic gelation and phenolic compounds. **Food Chemistry**, v. 233, p. 125–134, 2017.

COOK, M. T. et al. Microencapsulation of probiotics for gastrointestinal delivery. **Journal of Controlled Release**, v. 162, n. 1, p. 56–67, 2012.

CÓRDOBA, A. L.; DELADINO, L.; MARTINO, M. Release of yerba mate antioxidants from corn starch-alginate capsules as affected by structure. **Carbohydrate Polymers**, v. 99, p. 150–157, 2014.

CURI-BORDA, C. K. et al. Model for measuring light stability of photolabile substances in powder beds using spray dried bixin microcapsules. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 627, p. 127131, 20 out. 2021.

DA SILVA CARVALHO, A. G. et al. Anthocyanins from jussara (*Euterpe edulis* Martius) extract carried by calcium alginate beads pre-prepared using ionic gelation. **Powder Technology**, v. 345, p. 283–291, 2019.

DA SILVA, É. C.; SOBRINHO, V. DOS S.; CEREDA, M. P. Stability of cassava flour-based food bars. **Food Science and Technology**, v. 33, n. 1, p. 192–198, 2013.

DA SILVA, E. P. et al. Physicochemical and sensory characteristics of snack bars added of jerivá flour (*Syagrus romanzoffiana*). **Food Science and Technology (Brazil)**, v. 36, n. 3, p. 421–425, 2016.

DA SILVA FERNANDES, R. et al. Thermal, microstructural, and spectroscopic analysis of Ca²⁺ alginate/clay nanocomposite hydrogel beads. **Journal of Molecular Liquids**, v. 265, p. 327–336, 2018.

DA SILVA, M. G. et al. Potential of annatto in agroindustries and animal feed: Fragrance, flavor, taste and color of *Bixa orellana* L. Derivatives. **Journal of Applied Sciences Research**, v. 5, n. 12, p. 2482–2488, 2009.

Damasceno2016.pdf, [s.d.].

DANALACHE, F. et al. Texture, microstructure and consumer preference of

mango bars jellified with gellan gum. **LWT - Food Science and Technology**, v. 62, n. 1, p. 584–591, 1 jun. 2015.

DANG, D. S. et al. Nix Pro 2 and Color Muse as potential colorimeters for evaluating color in foods. **LWT**, v. 147, p. 111648, 1 jul. 2021.

DE BARROS VINHAL, G. L. R. R. et al. Murici (*Byrsonima verbascifolia*): A high bioactive potential fruit for application in cereal bars. **LWT**, v. 160, p. 113279, 15 abr. 2022.

DE CAMPO, C. et al. Incorporation of zeaxanthin nanoparticles in yogurt: Influence on physicochemical properties, carotenoid stability and sensory analysis. **Food Chemistry**, v. mdpi, n. July, p. 125230, 2019.

DE MELO, P. F. et al. Cereal bars functionalised with tempeh: nutritional composition, isoflavone content and consumer acceptance. 2019.

DE MOURA, S. C. S. R. et al. Encapsulating anthocyanins from *Hibiscus sabdariffa* L. calyces by ionic gelation: Pigment stability during storage of microparticles. **Food Chemistry**, v. 241, n. August, p. 317–327, 2018.

DE OLIVEIRA JÚNIOR, R. G. et al. Bixin, an apocarotenoid isolated from *Bixa orellana* L., sensitizes human melanoma cells to dacarbazine-induced apoptosis through ROS-mediated cytotoxicity. **Food and Chemical Toxicology**, v. 125, n. January, p. 549–561, 2019.

DELFANIAN, M.; SAHARI, M. A. Improving functionality, bioavailability, nutraceutical and sensory attributes of fortified foods using phenolics-loaded nanocarriers as natural ingredients. **Food Research International**, v. mdpi, n. April, p. 109555, 2020.

DELSHADI, R. et al. Micro and nano-encapsulation of vegetable and essential oils to develop functional food products with improved nutritional profiles. **Trends in Food Science & Technology**, 2020.

DHAKAL, S. P.; HE, J. Microencapsulation of vitamins in food applications to prevent losses in processing and storage: A review. **Food Research International**, v. 137, n. June 2019, p. 109326, 2020.

DOMINGUES, J. T. et al. Polymer-bixin nanofibers: A promising environmentally friendly material for the removal of dyes from water. **Separation and Purification Technology**, v. 248, n. February, p. 117118, 2020.

DONG, Z.; WANG, Q.; DU, Y. Alginate/gelatin blend films and their properties for drug controlled release. **Journal of Membrane Science**, v. 280, n. 1–

2, p. 37–44, 2006.

DUCONSEILLE, A. et al. Gelatin structure and composition linked to hard capsule dissolution: A review. **Food Hydrocolloids**, v. 43, p. 360–376, 2015.

EGGERSDORFER, M.; WYSS, A. Carotenoids in human nutrition and health. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 652, n. June, p. 18–26, 2018.

EKE-EJIOFOR, J.; OKOYE, C. Nutrient composition , lipid profile and sensory properties of cereal bar made from locally available cereals and nuts. **International Journal of Biotechnology and Food Science**, v. 6, n. 1, p. 1–8, 2018.

EL-DEEB, N. M. et al. Alginate/κ-carrageenan oral microcapsules loaded with *Agaricus bisporus* polysaccharides MH751906 for natural killer cells mediated colon cancer immunotherapy. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 205, n. November 2021, p. 385–395, 2022.

FONTINELE, L. P. et al. Norbixin extracted from urucum (*Bixa orellana* L.) for the formation of conductive composites with potential applications in electrochemical sensors. **Surfaces and Interfaces**, v. 13, n. August, p. 92–100, 2018.

FREDIANSYAH, A. The antiviral activity of iota-, kappa-, and lambda-carrageenan against COVID-19: A critical review. **Clinical Epidemiology and Global Health**, v. mdpi, n. May, p. 100826, 2021.

GARCIA SILVEIRA, T. M.; TAPIA-BLÁCIDO, D. R. Is isolating starch from the residue of annatto pigment extraction feasible? **Food Hydrocolloids**, v. 77, p. 117–125, 2018.

GEONZON, L. C. et al. Gelation mechanism and network structure in gels of carrageenans and their mixtures viewed at different length scales – A review. **Food Hydrocolloids**, v. mdpi, n. January, p. 106039, 2020.

GIACONIA, M. A. et al. Overcoming restrictions of bioactive compounds biological effects in food using nanometer-sized structures. **Food Hydrocolloids**, v. 107, p. 105939, 2020.

GILLE, A. et al. Microalgae as a potential source of carotenoids: Comparative results of an in vitro digestion method and a feeding experiment with C57BL/6J mice. **Journal of Functional Foods**, v. 49, n. September, p. 285–294, 2018.

GOMEZ-ESTACA, J. et al. Physico-chemical properties, stability, and potential food applications of shrimp lipid extract encapsulated by complex coacervation. **Food and Bioprocess Technology**, v. 11, n. 8, p. 1596–1604, 2018.

GUO, J. et al. Microencapsulation of curcumin by spray drying and freeze drying. **Lwt**, v. 132, n. February, p. 109892, 2020.

HACKENHAAR, C. R. et al. Development of a biocomposite based on alginate/gelatin crosslinked with genipin for β -galactosidase immobilization: Performance and characteristics. **Carbohydrate Polymers**, v. 291, n. December 2021, 2022.

HECKERT BASTOS, L. P. et al. Encapsulation of black pepper (*Piper nigrum* L.) essential oil with gelatin and sodium alginate by complex coacervation. **Food Hydrocolloids**, v. 102, n. December 2019, 2020.

HENNINK, W. E.; VAN NOSTRUM, C. F. Novel crosslinking methods to design hydrogels. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. mdpi, n. SUPPL., p. 223–236, 2012.

HOLKEM, A. T. et al. Development and characterization of alginate microcapsules containing *Bifidobacterium* BB-12 produced by emulsification/internal gelation followed by freeze drying. **LWT - Food Science and Technology**, v. 71, p. 302–308, 2016.

JAHANGIRI, A. et al. Hydrophilization of bixin by lipase-catalyzed transesterification with sorbitol. **Food Chemistry**, v. 268, n. June, p. 203–209, 2018.

JAIN, S.; WINUPRASITH, T.; SUPHANTHARIKA, M. Encapsulation of lycopene in emulsions and hydrogel beads using dual modified rice starch: Characterization, stability analysis and release behaviour during in-vitro digestion. **Food Hydrocolloids**, v. mdpi, n. October 2019, p. 105730, 2020.

KARMAKAR, S. et al. Recent progress in alginate-based carriers for ocular targeting of therapeutics. **Food Hydrocolloids for Health**, v. mdpi, n. May, p. 100071, 2022.

KAUR, R. et al. Development of gluten-free cereal bar for gluten intolerant population by using quinoa as major ingredient. **Journal of Food Science and Technology**, v. 55, n. 9, p. 3584–3591, 2018.

KHALID, M. et al. Biosynthesis and biomedical perspectives of carotenoids with special reference to human health-related applications. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 17, n. September 2018, p. 399–407, 2019.

KHOTIMCHENKO, M. et al. Antitumor potential of carrageenans from marine red algae. **Carbohydrate Polymers**, v. 246, n. February, p. 116568, 2020.

LASTA, E. L. et al. Encapsulation and dispersion of *Lactobacillus acidophilus*

in a chocolate coating as a strategy for maintaining cell viability in cereal bars. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 1–12, 2021.

LEE, K. Y.; MOONEY, D. J. Alginate: Properties and biomedical applications. **Progress in Polymer Science (Oxford)**, v. 37, n. 1, p. 106–126, 2012.

LEE, T.; CHANG, Y. H. Structural, physicochemical, and in-vitro release properties of hydrogel beads produced by oligochitosan and de-esterified pectin from yuzu (*Citrus junos*) peel as a quercetin delivery system for colon target. **Food Hydrocolloids**, v. 108, n. December 2019, 2020.

LEONG, J. Y. et al. Advances in fabricating spherical alginate hydrogels with controlled particle designs by ionotropic gelation as encapsulation systems. **Particuology**, v. 24, p. 44–60, 2016.

LI, C.; SWOFFORD, C. A.; SINSKEY, A. J. Modular engineering for microbial production of carotenoids. **Metabolic Engineering Communications**, v. 10, n. December 2019, p. e00118, 2020.

LI, H. et al. Designing delivery systems for functional ingredients by protein/polysaccharide interactions. **Trends in Food Science and Technology**, v. mdpi, n. May 2021, p. 272–287, 2022.

LI, L. et al. Carrageenan and its applications in drug delivery. **Carbohydrate Polymers**, v. 103, n. 1, p. 1–11, 2014.

LI, X. M. et al. Fabrication of chitosan hydrochloride and carboxymethyl starch complex nanogels as potential delivery vehicles for curcumin. **Food Chemistry**, v. 293, p. 197–203, 30 set. 2019a.

LI, Y. et al. Improvement of fucoxanthin oral efficacy via vehicles based on gum Arabic, gelatin and alginate hydrogel: Delivery system for oral efficacy enhancement of functional food ingredients. **Journal of Functional Foods**, v. 63, n. October, p. 103573, 2019b.

LIEW, J. W. Y. et al. Liew2017 Synthesisandcharacterizationofmodifiedk-carrageenanforenhancedprotonconductivityaspolymerelectrolytemembrane.pdf. **Plos One**, v. 12, n. 9, p. 1–15, 2017.

LIN, X. et al. Dual-responsive alginate hydrogels for controlled release of therapeutics. **Molecules**, v. mdpi, n. 11, p. 1–13, 2019.

LIU, A. L.; GARCÍA, A. J. Methods for Generating Hydrogel Particles for Protein Delivery. **Annals of Biomedical Engineering**, v. mdpi, n. 6, p. 1946–1958, 2016.

LIU, W. et al. On enhancing the solubility of curcumin by microencapsulation in whey protein isolate via spray drying. **Journal of Food Engineering**, v. 169, p. 189–195, 2016.

MA, Y. et al. Development and optimization of dynamic gelatin/chitosan nanoparticles incorporated with blueberry anthocyanins for milk freshness monitoring. **Carbohydrate Polymers**, v. 247, n. March, p. 116738, 2020.

MAHANA, A.; GULIY, O. I.; MEHTA, S. K. Accumulation and cellular toxicity of engineered metallic nanoparticle in freshwater microalgae: Current status and future challenges. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. mdpi, p. 111662, 2021.

MARCOLINO, V. A. et al. Interaction of curcumin and bixin with β -cyclodextrin: Complexation methods, stability, and applications in food. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 7, p. 3348–3357, 2011.

MARTINS, V.; ALVES, M. R.; PINHEIRO, R. Analysis of microstructure and texture of gluten- and lactose-free cereal bars, produced with different hydrocolloids and drying temperatures and no-added sugar. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 45, n. 4, p. 1–10, 2021.

MAU, J. L. et al. Physicochemical, antioxidant and sensory characteristics of chiffon cake prepared with black rice as replacement for wheat flour. **LWT**, v. 75, p. 434–439, 1 jan. 2017.

MCCLEMENTS, D. J. Recent progress in hydrogel delivery systems for improving nutraceutical bioavailability. **Food Hydrocolloids**, v. 68, p. 238–245, 2017.

MELATI, J. et al. Physical and sensory characteristics of salty cereal bar with different binding agents. **Food Science and Technology**, v. 41, n. suppl 1, p. 150–154, jun. 2021.

MESQUITA, S. D. S.; TEIXEIRA, C. M. L. L.; SERVULO, E. F. C. Carotenoids: Properties, applications and market. **Revista Virtual de Quimica**, v. mdpi, n. 2, p. 672–688, 2017.

MILCOVICH, G. et al. Recent advances in smart biotechnology: Hydrogels and nanocarriers for tailored bioactive molecules depot. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. mdpi, n. February, p. 163–180, 2017.

MOGOȘANU, G. D.; GRUMEZESCU, A. M. Natural and synthetic polymers for wounds and burns dressing. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 463, n. 2, p. 127–136, 2014.

MOHAMED, S. A. et al. Chemical modification of curcumin: Solubility and antioxidant capacity. **International Journal of Food Properties**, v. 20, n. 3, p. 718–724, 2017.

MOISE, A. R.; AL-BABILI, S.; WURTZEL, E. T. Mechanistic aspects of carotenoid biosynthesis. **Chemical Reviews**, v. 114, n. 1, p. 164–193, 2014.

MØLLER, A. H. et al. Mechanism behind the degradation of aqueous norbixin upon storage in light and dark environment. **Food Chemistry**, v. 310, n. December 2019, p. 125967, 2020.

MONGE NETO, A. Á. et al. Direct microencapsulation of an annatto extract by precipitation of psyllium husk mucilage polysaccharides. **Food Hydrocolloids**, v. 112, n. September 2020, 2021.

MORAES, M. N.; ZABOT, G. L.; MEIRELES, M. A. A. Extraction of tocotrienols from annatto seeds by a pseudo continuously operated SFE process integrated with low-pressure solvent extraction for bixin production. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 96, p. 262–271, 2015.

MRUDULAKUMARI VASUDEVAN, U.; LEE, O. K.; LEE, E. Y. Alginate derived functional oligosaccharides: Recent developments, barriers, and future outlooks. **Carbohydrate Polymers**, v. 267, n. December 2020, p. 118158, 2021.

MUNHOZ, C. L. et al. Elaboração de barra de cereal de bocaiuva: Avaliação física, nutricional, microbiológica e sensorial. **Acta Scientiarum - Technology**, v. 36, n. 3, p. 553–560, 2014.

MUNIZ, C. E. S. et al. Solid-state fermentation for single-cell protein enrichment of guava and cashew by-products and inclusion on cereal bars. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 25, p. 101576, 1 maio 2020.

NANOU, K.; ROUKAS, T.; KOTZEKIDOU, P. Role of hydrolytic enzymes and oxidative stress in autolysis and morphology of *Blakeslea trispora* during β -carotene production in submerged fermentation. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 74, n. 2, p. 447–453, 2007.

NATHAN, V. K. et al. Antioxidant and Antimicrobial Potential of Natural Colouring Pigment Derived from *Bixa orellana* L. Seed Aril. **Proceedings of the National Academy of Sciences India Section B - Biological Sciences**, v. 89, n. 1, p. 137–143, 2019.

NAZZARO, F. et al. Microencapsulation in food science and biotechnology. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 23, n. 2, p. 182–186, 2012.

NGUYEN, D. H. et al. Microencapsulation of curcumin by ionotropic gelation with surfactants: Characterization, release profile and antioxidant activity. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 76, n. September, 2022.

NONO, M.; NICOLAI, T.; DURAND, D. Gel formation of mixtures of κ -carrageenan and sodium caseinate. **Food Hydrocolloids**, v. mdpi, n. 4, p. 750–757, 2011.

NURCAHYANTI, A. D. R.; KUSMITA, L.; WINK, M. Bixin and fucoxanthin sensitize human lung cancer and cervical cancer cell to cisplatin in vitro. **BMC Research Notes**, v. 14, n. 1, p. 1–8, 2021.

OZEL, B. et al. Polysaccharide blended whey protein isolate-(WPI) hydrogels: A physicochemical and controlled release study. **Food Hydrocolloids**, v. 71, p. 35–46, 2017.

OZKAN, G. et al. A review of microencapsulation methods for food antioxidants: Principles, advantages, drawbacks and applications. **Food Chemistry**, v. 272, n. July 2018, p. 494–506, 2019.

PÉREZ-MONTERROZA, E. J. et al. Encapsulation of Bixin with High Amylose Starch as Affected by Temperature and Whey Protein. **Food Biophysics**, v. 13, n. 4, p. 343–352, 2018.

PHAN, K. et al. Non-food applications of natural dyes extracted from agro-food residues: A critical review. **Journal of Cleaner Production**, v. mdpi, p. 126920, 2021.

PINZÓN-GARCÍA, A. D. et al. Evidence of hypoglycemic, lipid-lowering and hepatoprotective effects of the Bixin and Bixin: β -CD inclusion compound in high-fat-fed obese mice. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 106, n. February, p. 363–372, 2018.

PRIYADARSHANI, A. M. B. Insights of hypercarotenaemia: A brief review. **Clinical Nutrition ESPEN**, v. 23, p. 19–24, 2018.

QUINTERO QUIROZ, J. et al. Optimization of the Microwave-Assisted Extraction Process of Bioactive Compounds from Annatto Seeds (*Bixa orellana* L.). 2019.

QUIROZ, J. Q. et al. Use of plant proteins as microencapsulating agents of bioactive compounds extracted from annatto seeds (*Bixa orellana* L.). **Antioxidants**, v. 9, n. 4, p. 4–6, 2020.

RAM, S. et al. Bacteria as an alternate biofactory for carotenoid production: A

review of its applications, opportunities and challenges. **Journal of Functional Foods**, v. 67, n. March, p. 103867, 2020.

RAMDHAN, T. et al. Physical and mechanical properties of alginate based composite gels. **Trends in Food Science and Technology**, v. mdpi, n. July, p. 150–159, 2020.

RAMMUNI, M. N. et al. Comparative assessment on the extraction of carotenoids from microalgal sources: Astaxanthin from *H. pluvialis* and β -carotene from *D. salina*. **Food Chemistry**, v. 277, n. October 2018, p. 128–134, 2019.

RANGANATHAN, S.; BALAGANGADHARAN, K.; SELVAMURUGAN, N. Chitosan and gelatin-based electrospun fibers for bone tissue engineering. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 133, p. 354–364, 2019.

RATHER, R. A.; BHAT, M. A.; SHALLA, A. H. Multicomponent interpenetrating metal based Alginate-Carrageenan biopolymer hydrogel beads substantiated by graphene oxide for efficient removal of methylene blue from waste water. **Chemical Engineering Research and Design**, v. 182, p. 604–615, 1 jun. 2022.

RE, R. et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free radical biology and medicine**, v. 26, n. (9-10), p. 1231–1237, 1999.

REZAEI, A.; FATHI, M.; JAFARI, S. M. Nanoencapsulation of hydrophobic and low-soluble food bioactive compounds within different nanocarriers. **Food Hydrocolloids**, v. 88, n. October 2018, p. 146–162, 2019.

RHEIN-KNUDSEN, N.; ALE, M. T.; MEYER, A. S. Seaweed hydrocolloid production: An update on enzyme assisted extraction and modification technologies. **Marine Drugs**, v. 13, n. 6, p. 3340–3359, 2015.

RIBEIRO, D. et al. Antioxidant and pro-oxidant activities of carotenoids and their oxidation products. **Food and Chemical Toxicology**, v. mdpi, n. August, p. 681–699, 2018.

RIGUETO, C. V. T. et al. Adsorption of diclofenac sodium by composite beads prepared from tannery wastes-derived gelatin and carbon nanotubes. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 9, n. 1, p. 105030, 2021.

RODRIGUES, L. M. et al. Bixin extraction from defatted annatto seeds. **Comptes Rendus Chimie**, v. 17, n. 3, p. 268–283, 1 mar. 2014.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Update on natural food pigments - A mini-

review on carotenoids, anthocyanins, and betalains. **Food Research International**, v. 124, n. May 2018, p. 200–205, 2019.

ROHMAN, A. et al. Review on analytical methods for analysis of porcine gelatine in food and pharmaceutical products for halal authentication. **Trends in Food Science and Technology**, v. 101, n. January, p. 122–132, 2020.

ROLL ZIMMER, T. B.; BARBOZA MENDONÇA, C. R.; ZAMBIAZI, R. C. Methods of protection and application of carotenoids in foods - A bibliographic review. **Food Bioscience**, v. mdpi, n. May, p. 101829, 2022.

ROOHBAKHSH, A.; KARIMI, G.; IRANSHAHI, M. Carotenoids in the treatment of diabetes mellitus and its complications: A mechanistic review. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 91, p. 31–42, 2017.

ROSICLER, S. et al. Lentinula edodes mushroom as an ingredient to enhance the nutritional and functional properties of cereal bars. [s.d.].

ROSTAMABADI, H.; FALSAFI, S. R.; JAFARI, S. M. Nanoencapsulation of carotenoids within lipid-based nanocarriers. **Journal of Controlled Release**, v. 298, n. February, p. 38–67, 2019.

ROWLES, J. L.; ERDMAN, J. W. Carotenoids and their role in cancer prevention. **Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids**, n. January, p. 158613, 2020.

RUDKE, A. R.; DE ANDRADE, C. J.; FERREIRA, S. R. S. Kappaphycus alvarezii macroalgae: An unexplored and valuable biomass for green biorefinery conversion. **Trends in Food Science and Technology**, v. mdpi, n. July, p. 214–224, 2020.

SABAGHI, M. et al. A critical review on approaches to regulate the release rate of bioactive compounds from biopolymeric matrices. **Food Chemistry**, v. mdpi, n. January, p. 132411, 2022.

SAMAKRADHAMRONGTHAI, R. S.; JANNU, T.; RENALDI, G. Physicochemical properties and sensory evaluation of high energy cereal bar and its consumer acceptability. **Heliyon**, v. 7, n. 8, p. e07776, 1 ago. 2021.

SAMPAIO, G. L. A. et al. Encapsulation of a lycopene-rich watermelon concentrate in alginate and pectin beads: Characterization and stability. **Lwt**, v. 116, n. April, p. 108589, 2019.

SAMUEL, K. S.; PEERKHAN, N. Pearl millet protein bar: nutritional, organoleptic, textural characterization, and in-vitro protein and starch digestibility.

Journal of Food Science and Technology, v. 57, n. 9, p. 3467–3473, 2020.

SANCHEZ-BALLESTER, N. M.; BATAILLE, B.; SOULAIROL, I. Sodium alginate and alginic acid as pharmaceutical excipients for tablet formulation: Structure-function relationship. **Carbohydrate Polymers**, v. mdpi, n. May, p. 118399, 2021.

SANTOS, P. D. DE F. et al. Microencapsulation of carotenoid-rich materials: A review. **Food Research International**, v. mdpi, n. February, p. 110571, 2021.

SAQIB, M. N. et al. Hydrogel beads for designing future foods: Structures, mechanisms, applications, and challenges. **Food Hydrocolloids for Health**, v. mdpi, n. May, p. 100073, 2022.

SARIKA, P. R.; JAMES, N. R. Polyelectrolyte complex nanoparticles from cationised gelatin and sodium alginate for curcumin delivery. **Carbohydrate Polymers**, v. 148, p. 354–361, 2016.

ŠEREGELJ, V. et al. New concept of fortified yogurt formulation with encapsulated carrot waste extract. **Lwt**, v. mdpi, n. December 2020, 2021.

SETHUPATHY, P. et al. Physical, sensory, in-vitro starch digestibility and glycaemic index of granola bars prepared using sucrose alternatives. 2019.

SHAFIE, M. H. et al. Application of Carrageenan extract from red seaweed (Rhodophyta) in cosmetic products: A review. **Journal of the Indian Chemical Society**, v. mdpi, n. 9, p. 100613, 2022.

SHAHID-UL-ISLAM; RATHER, L. J.; MOHAMMAD, F. Phytochemistry, biological activities and potential of annatto in natural colorant production for industrial applications - A review. **Journal of Advanced Research**, v. 7, n. 3, p. 499–514, 2016.

SHARMA, M.; DASH, K. K.; BADWAIK, L. S. Physicochemical and release behaviour of phytochemical compounds based on black jamun pulp extracts-filled alginate hydrogel beads through vibration dripping extrusion. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 194, n. November 2021, p. 715–725, 2022.

SILVA, E. K.; MEIRELES, M. A. A. Influence of the degree of inulin polymerization on the ultrasound-assisted encapsulation of annatto seed oil. **Carbohydrate Polymers**, v. 133, p. 578–586, 2015.

SILVA, G. F. et al. Extraction of bixin from annatto seeds using supercritical carbon dioxide. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 25, n. 2, p. 419–426, 2008.

SILVA, P. Métodos de extração e caracterização de bixina e norbixina em sementes de urucum (*Bixa orellana* L.). p. 145, 2007.

SINGLETON, V. L.; ROSSI JR., J. A.; ROSSI J A JR. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, n. 3, p. 144–158, 1965.

SOURY, R. et al. Synthesis and characterization of a new meso-tetrakis (2,4,6-trimethylphenyl) porphyrinato) zinc(II) supported sodium alginate gel beads for improved adsorption of methylene blue dye. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 202, n. November 2021, p. 161–176, 2022.

SUHAIL, M. et al. Fabrication of alginate based microgels for drug-sustained release: In-vitro and in-vivo evaluation. **International journal of biological macromolecules**, v. 192, n. October, p. 958–966, 2021.

SUNG, Y. Y. et al. Nutritional composition and anti-obesity effects of cereal bar containing *Allium fistulosum* (welsh onion) extract. **Journal of Functional Foods**, v. 6, n. 1, p. 428–437, 2014.

SZCZESNIAK, A. S. Texture is a sensory property. **Food Quality and Preference**, v. 13, n. 4, p. 215–225, 1 jun. 2002.

TAVASSOLI-KAFRANI, E.; SHEKARCHIZADEH, H.; MASOUDPOUR-BEHABADI, M. Development of edible films and coatings from alginates and carrageenans. **Carbohydrate Polymers**, v. 137, p. 360–374, 2016.

TIWARI, S.; YAWALE, P.; UPADHYAY, N. Carotenoids: Extraction strategies and potential applications for valorization of under-utilized waste biomass. **Food Bioscience**, v. mdpi, n. May, p. 101812, 2022.

TOCCHINI, L.; MERCADANTE, A. Z. Extração E Determinação, Por Clae, De Bixina E Norbixina Em Coloríficos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 21, n. 3, p. 310–313, 2001.

TUPUNA-YEROVI, D. S. et al. Addition of norbixin microcapsules obtained by spray drying in an isotonic tangerine soft drink as a natural dye. **Journal of Food Science and Technology**, v. 57, n. 3, p. 1021–1031, 2020.

TUPUNA, D. S. et al. Encapsulation efficiency and thermal stability of norbixin microencapsulated by spray-drying using different combinations of wall materials. **Industrial Crops and Products**, v. 111, p. 846–855, 1 jan. 2018.

TYUFTIN, A. A.; KERRY, J. P. Gelatin films: Study review of barrier properties and implications for future studies employing biopolymer films. **Food**

Packaging and Shelf Life, v. 29, n. August 2020, p. 100688, 2021.

URSACHE, F. M. et al. Valorizations of carotenoids from sea buckthorn extract by microencapsulation and formulation of value-added food products. **Journal of Food Engineering**, v. mdpi, p. 16–24, 2018.

UYEN, N. T. T. et al. Fabrication of alginate microspheres for drug delivery: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 153, p. 1035–1046, 2020.

VARAPRASAD, K. et al. Alginate-based composite materials for wound dressing application: A mini review. **Carbohydrate Polymers**, v. 236, n. September 2019, p. 116025, 2020.

VELÁZQUEZ-GUTIÉRREZ, S. K. et al. Influence of the wall material on the moisture sorption properties and conditions of stability of sesame oil hydrogel beads by ionic gelation. **Lwt**, v. 140, n. December 2020, 2021.

VOLIĆ, M. et al. Alginate/soy protein system for essential oil encapsulation with intestinal delivery. **Carbohydrate Polymers**, v. 200, n. July, p. 15–24, 2018.

VON LINTIG, J. et al. Carotenoid metabolism at the intestinal barrier. **Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids**, n. October, p. 158580, 2019.

VON LINTIG, J.; MOON, J.; BABINO, D. Molecular components affecting ocular carotenoid and retinoid homeostasis. **Progress in Retinal and Eye Research**, n. April, p. 100864, 2020.

WANG, H. et al. Characterization, release, and antioxidant activity of curcumin-loaded sodium alginate/ZnO hydrogel beads. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 121, p. 1118–1125, 2019.

WANG, P. et al. Impact of calcium ions and degree of oxidation on the structural, physicochemical, and in-vitro release properties of resveratrol-loaded oxidized gellan gum hydrogel beads. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 196, p. 54–62, 31 jan. 2022a.

WANG, X. et al. Hofmeister effect in gelatin-based hydrogels with shape memory properties. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. mdpi, n. June, p. 112674, 2022b.

WATKINS, J. L.; POGSON, B. J. Prospects for Carotenoid Biofortification Targeting Retention and Catabolism. **Trends in Plant Science**, p. 1–12, 2020.

XU, W. et al. Encapsulation and release behavior of curcumin based on

nanoemulsions-filled alginate hydrogel beads. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 134, p. 210–215, 2019.

YANG, Z. et al. Targeted delivery of hydrogels in human gastrointestinal tract: A review. **Food Hydrocolloids**, v. mdpi, n. July 2022, p. 108013, 2022.

YEGAPPAN, R. et al. Carrageenan based hydrogels for drug delivery, tissue engineering and wound healing. **Carbohydrate Polymers**, v. 198, n. June, p. 385–400, 2018.

ZHANG, H. et al. Therapeutic potential of bixin in PM2.5 particles-induced lung injury in an Nrf2-dependent manner. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 126, n. July, p. 166–176, 2018.

ZHANG, P.; ZHAO, Y.; SHI, Q. Characterization of a novel edible film based on gum ghatti: Effect of plasticizer type and concentration. **Carbohydrate Polymers**, v. 153, p. 345–355, 2016.

ZHANG, Y.; ZHONG, Q. Encapsulation of bixin in sodium caseinate to deliver the colorant in transparent dispersions. **Food Hydrocolloids**, v. 33, n. 1, p. 1–9, 2013.

ZHANG, Z. et al. Designing hydrogel particles for controlled or targeted release of lipophilic bioactive agents in the gastrointestinal tract. **European Polymer Journal**, v. 72, p. 698–716, 2015.

ZHU, Y. et al. Bixin protects mice against bronchial asthma through modulating PI3K/Akt pathway. **International Immunopharmacology**, v. 101, n. PB, p. 108266, 2021.

ZHU, Y. et al. Development of nonionic nanoemulsions to improve hydrophobic 9'-cis-bixin stability in acidic aqueous medium with in vitro cytotoxicity and nanosafety evaluation. **Food Chemistry**, v. 400, n. April 2022, p. 134076, 2023.

ZIA, K. M. et al. A review on synthesis, properties and applications of natural polymer based carrageenan blends and composites. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 96, p. 282–301, 2017.

