

UNIVERSIDADE VILA VELHA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE QUÍMICA DOS
CONSTITUINTES BIOATIVOS DO FRUTO DO PALMITEIRO
JUÇARA (*Euterpe edulis* Martius) APÓS
MICROENCAPSULAÇÃO**

RENATA ALVES MAZUCO

VILA VELHA-ES
MAIO/2015

UNIVERSIDADE VILA VELHA-ES
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE QUÍMICA DOS
CONSTITUINTES BIOATIVOS DO FRUTO DO PALMITEIRO
JUÇARA (*Euterpe edulis* Martius) APÓS
MICROENCAPSULAÇÃO**

Dissertação apresentada à
Universidade Vila Velha como pré-
requisito do Programa de Pós-
graduação em Ciências
Farmacêuticas, para obtenção do
grau de Mestre em Ciências
Farmacêuticas.

RENATA ALVES MAZUCO

VILA VELHA-ES
MAIO/2015

Catálogo na publicação elaborada pela Biblioteca Central / UVV-ES

M476a Mazuco, Renata Alves.

Avaliação da estabilidade química dos constituintes bioativos do fruto do palmito Juçara (*Euterpe edulis Martius*) após microencapsulação / Renata Alves Mazuco. – 2015.

51 f. : il.

Orientador: Denise Coutinho Endringer.

Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Vila Velha, 2015.

Inclui bibliografias.

1. Juçara. 2. Antocianinas. 3. Liofilização. 4. Compostos bioativos.
I. Endringer, Denise Coutinho. II. Universidade Vila Velha. III. Título.

CDD 580

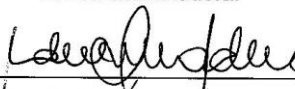
RENATA ALVES MAZUCO

**AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE QUÍMICA DOS
CONSTITUINTES BIOATIVOS DO FRUTO DO PALMITEIRO
JUÇARA (*Euterpe edulis* Martius) APÓS
MICROENCAPSULAÇÃO**

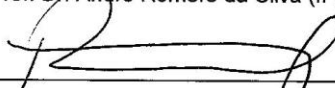
Dissertação apresentada à
Universidade Vila Velha como pré-
requisito do Programa de Pós-
graduação em Ciências
Farmacêuticas, para obtenção do
grau de Mestre em Ciências
Farmacêuticas.

Aprovada em 15 de maio de 2015,

Banca examinadora:



Prof. Dr. André Romero da Silva (IFES)



Prof. Dr. Rodrigo Scherer (UVV)



Prof. Dr.ª Denise Coutinho Endringer (UVV)
(Orientadora)

Dedico esse trabalho a Deus, que sempre foi meu refúgio e fortaleza, aos meus pais, Roberto e Catarina, ao meu amor Leandro e aos amigos queridos que permaneceram comigo durante esses dois anos. Com todo meu carinho, dedico a vocês essa conquista.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus em primeiro lugar, pois foi Ele quem me proporcionou essa grande oportunidade e me manteve erguida em todos os momentos, concedendo-me sabedoria para chegar até aqui, não me deixando desistir nas horas difíceis e acalmando meu coração durante as aflições. Agradeço pela infinita bondade e misericórdia, por ter guiado os meus passos, me mostrando o quanto sou forte e capaz e que dias melhores sempre irão existir.

Minha imensa gratidão a minha orientadora, Prof. Dr^a. Denise Coutinho Endringer, por me orientar na condução dessa pesquisa com tamanha dedicação, carinho e por compartilhar comigo de forma incondicional os seus conhecimentos com grande atenção, pela incrível capacidade em responder os e-mails com enorme agilidade, na maioria das vezes, em menos de 24 horas! Sou muito grata pela total paciência, por sempre ter se mostrado presente, mesmo durante a licença maternidade, nunca se negou a responder uma dúvida ou ajudar resolver algum problema e em vários momentos me recebeu em sua casa. Agradeço pela maneira respeitosa e carinhosa como sempre me tratou, por muitas das vezes ter escutado minhas reclamações em momentos de intensa aflição e me mostrado, em poucas palavras, que tudo tinha solução, por cada conselho e palavra amiga, por sempre me estimular nos momentos de desânimo com suas expressões “jovem, você vai brilhar” e “vai dar tudo certo”. Sinta-se abraçada com muito carinho por mim, pois essa vitória não teria o mesmo brilho se não fosse com a sua participação, jamais irei me esquecer de você e do quanto contribuiu para o meu crescimento profissional e pessoal.

Agradeço aos meus amados pais, Roberto e Catarina, pelo total apoio durante esse mestrado, por sempre acreditarem na minha capacidade e se mostrarem orgulhosos de mim em todos os momentos. A vocês, a minha eterna gratidão, pois sei que sempre estiveram ao meu lado.

Ao Leandro, meu namorado, agradeço pela compreensão nos momentos em que precisei me ausentar devido aos estudos, por sempre ter me apoiado, me estimulado, fazendo a minha vontade de vencer aumentar a cada conversa e a cada sorriso seu. Muito obrigada por tudo meu amor!

Carinhosamente agradeço a minha amiga e companheira de pesquisa Priscylla Cardoso. Quando te conheci, há alguns anos antes do mestrado, não imaginava a amiga que você iria se tornar, na verdade você se tornou como uma irmã para mim. Foram diversas tardes realizando experimentos juntas, dividindo os problemas, trocando conselhos, compartilhando alegrias e confidências e comemorando quando algum experimento finalmente tinha dado certo após várias tentativas. Obrigada por cada risada durante os momentos de café, pela amizade e companheirismo. A você, desejo toda sorte e sucesso do mundo, que Deus sempre abençoe muito a sua vida.

Agradeço ao Professor Dr^o. Rodrigo Scherer pela boa vontade durante as importantes contribuições, em diversos momentos da pesquisa.

Ao laboratório Tommasi Analítica, por ceder o equipamento LC-MS/MS e o espaço para a realização de parte do trabalho.

A equipe da Quimiplan por contribuírem para o meu aprendizado na área de cromatografia.

Ao Incaper por gentilmente ceder a fruta juçara, objeto dessa pesquisa.

À **FAPES**, pelo suporte financeiro para realização do mestrado e pela oportunidade enriquecedora de realização do estágio técnico-científico na Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG.

Aos professores da UFMG, Dr^o Fernão Castro Braga, Dr^a. Raquel Oliveira Castilho e Dr^o André Faraco, por me receberem durante o período de estágio técnico-científico, pela atenção e grandes contribuições para a minha pesquisa. Agradeço também aos colaboradores do laboratório Fitoquímica, especialmente as mestrandas Raquel Isidorio e Kamilla Nunes, pela amizade e

boa vontade que tiveram em me ajudar mesmo em meio a tantos compromissos.

Agradeço ao Paulo Wagner do Labsan – UFES, por ter contribuído com o processo de liofilização da polpa juçara, sempre com simpatia e boa vontade.

Agradeço ao Jairo Oliveira do Laboratório Ultraestrutura Celular Carlos Alberto Redins (UFES), pela grande contribuição nas análises da morfologia das micropartículas.

Muito obrigada aos colaboradores do Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas, Maria Eduarda, pela ajuda em diversos momentos do meu trabalho, Thaís Vargas, pela ajuda com nas atividades realizadas no laboratório Tommasi e Lucas Dazzi pela contribuição no início da pesquisa e aos demais amigos e participantes do programa, pela convivência e contribuições.

Enfim, quero agradecer o grande crescimento profissional e pessoal que a vivência do mestrado me proporcionou. Hoje percebo que os desafios enfrentados serviram para o meu amadurecimento, tornaram-me mais forte, segura e capaz, e cada um deles foi transformado em um aprendizado que levarei por toda a vida.

“Man's mind, once stretched by a new idea,
never regains its original dimensions.”
(Oliver Wendell Holmes)

RESUMO

Mazuco, Renata Alves M.Sc, Universidade Vila Velha-ES, maio de 2015.
Avaliação da estabilidade química dos constituintes bioativos do fruto do palmitero juçara (*Euterpe edulis* Martius) após microencapsulação.
Orientadora: Denise Coutinho Endringer.

A palmeira juçara (*Euterpe edulis* Martius) é nativa da Mata Atlântica, seu fruto fornece uma polpa de cor violeta intensa quando maduro. Essa coloração está associada à presença de antocianinas, que, são pigmentos naturais de baixa estabilidade, sofrendo degradação frente a fatores como luz, oxigênio e temperatura. A microencapsulação é uma técnica que pode fornecer uma proteção a esses compostos envolvendo-os com uma parede de polímeros. Esse trabalho teve por objetivo avaliar a eficácia da microencapsulação por spray-dryer e liofilização, com maltodextrina (DE 16,5-19,5) e goma arábica, em diferentes proporções, na preservação de antocianinas de frutos de juçara. A análise da eficiência do processo foi realizada por meio da quantificação de antocianinas nas micropartículas produzidas, análises calorimetria de varredura diferencial (DSC), termogravimetria (TGA), espectroscopia de infravermelho (IV) e análise da morfologia das partículas formadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV). As micropartículas formadas preservaram o teor de antocianinas em até 83,69%, empregando-se como material de parede, maltodextrina e goma arábica na proporção 1:1, em misturas de polpa e material de parede nas proporções 2:3 e 2:1. As análises térmicas indicaram o comportamento das micropartículas frente ao aumento da temperatura, sendo que as obtidas por liofilização na proporção 2:3 mostraram-se maior resistência à degradação com o aumento da temperatura. Nos espectros obtidos por IV evidenciou-se a incorporação da polpa nas formulações. As micropartículas obtidas por liofilização apresentaram formato de flocos com tamanhos diversos e as obtidas por spray-dryer, formato esférico. Portanto, foi possível a quantificação e a microencapsulação do teor de antocianinas presente na polpa da fruta juçara, indicando a microencapsulação como uma alternativa para uma melhor estabilidade das antocianinas presentes nesse fruto.

Palavras-chave: juçara, *Euterpe edulis*, antocianinas, microencapsulação, spray-dryer, liofilização.

ABSTRACT

Mazuco, Renata Alves MSc, Universidade Vila Velha-ES, maio de 2015.
Evaluation of the chemical stability of the bioactive constituents do fruit palmiteiro juçara Do (*Euterpe edulis* Martius) after microencapsulation.
Orientadora: Denise Coutinho Endringer.

Juçara palm (*Euterpe edulis* Martius), native from Atlantic Forest, produces a fruit which provides an intense violet pulp. This color is associated with the presence of anthocyanins. These substances are natural pigments of low stability, suffering due to the degradation factors such as light, oxygen and temperature. Microencapsulation is a promising technique that can provide protection to these compounds. This study aimed to evaluate the effectiveness of microencapsulation by spray-dryer and freeze-drying, with maltodextrina (DE 16,5-19,5) and gum arabic, on the retention of anthocyanin of juçara pulp. The efficiency process analysis was performed by the quantification of anthocyanins in microparticles formed, analysis differential scanning calorimetry (DSC), thermogravimetry (TGA), infrared spectroscopy (IR) and analysis of the morphology of the particles by scanning electron microscopy (MEV). The formed microparticles preserved the anthocyanin content up to 83.69%, being used as wall material, maltodextrin and gum arabic in a 1: 1 mixture, pulp and wall material, in proportions of 2:3 and 2:1. The thermal analysis demonstrated that microparticles obtained by lyophilization in 2: 3 ratio showed a higher resistance to degradation with increasing temperature. In the spectra obtained by IR showed the incorporation of the pulp in the formulations. The microparticles obtained by lyophilization format with flakes had various sizes and those obtained by spray-dryer, spherical shape. Therefore, quantization and microencapsulation of anthocyanins present in the fruit pulp juçara was possible, indicating the microencapsulation as an alternative to the stability of anthocyanins present in this fruit.

Keywords: juçara, *Euterpe edulis*, anthocyanins, microencapsulation, spray-dryer, freeze drying.

SUMÁRIO

| | |
|-------------------------------------|-----------|
| RESUMO..... | IX |
| ABSTRACT..... | X |
| RESUMO..... | 11 |
| INTRODUÇÃO | 13 |
| MATERIAL E MÉTODOS | 15 |
| RESULTADOS E DISCUSSÃO | 21 |
| CONCLUSÃO | 37 |
| REFERÊNCIAS | 38 |
| APÊNDICE | 45 |
| ANEXO | 48 |

Microencapsulação de polpa de fruto do palmitero juçara (*Euterpe edulis Martius*)

Renata Alves Mazuco^a, Priscylla Cardoso^a, Rodrigo Scherer^a, Fernão Castro Braga^b, Raquel Oliveira Castilho^b, André Faraco^b, José Aires Ventura^c, Jairo Oliveira^d, Marco C. C. Guimarães^d, Denise Coutinho Endinger^{a*}

* Corresponding author

^a Universidade Vila Velha – ES

^b Faculdade de Farmácia/Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG

^c Instituto Capixada de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural, ES

^d Laboratório Ultraestrutura Celular Carlos Alberto Redins/Universidade Federal do Espírito Santo - UFES

Resumo

A palmeira juçara (*Euterpe Edulis Martius*) é nativa da Mata Atlântica, seu fruto fornece uma polpa de cor violeta intensa quando maduro e essa cor está associada à presença de antocianinas. Estas substâncias são pigmentos naturais de baixa estabilidade, sofrendo degradação frente a fatores como luz, oxigênio e temperatura. A microencapsulação é uma técnica promissora que pode fornecer uma proteção a esses compostos envolvendo-os com uma parede de polímeros. Esse trabalho teve por objetivo avaliar a eficácia da microencapsulação por spray-dryer e liofilização, com maltodextrina (DE 16,5-19,5) e goma arábica, em diferentes proporções na preservação de antocianinas de frutos de juçara. A análise da eficiência do processo foi realizada por meio da quantificação de antocianinas nas micropartículas produzidas, análises calorimetria de varredura diferencial (DSC), termogravimetria (TGA), espectroscopia de infravermelho (IV) e análise da morfologia das partículas formadas por microscopia eletrônica de varredura

(MEV). As micropartículas formadas preservaram o teor de antocianinas em até 83,69%, empregando-se como material de parede, maltodextrina e goma arábica na proporção 1:1, em misturas de polpa e material de parede nas proporções 2:3 e 2:1. As análises térmicas indicaram o comportamento das partículas frente ao aumento da temperatura, sendo que as micropartículas obtidas por liofilização na proporção 2:3 mostraram-se com maior resistência à degradação com o aumento da temperatura. Nos espectros obtidos por IV evidenciou-se a incorporação da polpa nas formulações. As micropartículas obtidas por liofilização apresentaram formato de flocos com tamanhos diversos e as obtidas por spray-dryer, formato esférico. Portanto, foi possível a quantificação e a microencapsulação do teor de antocianinas presente na polpa da fruta juçara, indicando a microencapsulação como uma alternativa para uma melhor estabilidade das antocianinas presentes nesse fruto.

Palavras-chave: juçara, *Euterpe edulis*, antocianinas, microencapsulação, spray-dryer, liofilização.

INTRODUÇÃO

As frutas tropicais são produtos naturais conhecidos por possuírem bons valores nutricionais, devido à presença de vitaminas, minerais e compostos biológicos, dentre esses, os antioxidantes naturais chamam a atenção por prevenirem doenças crônicas como o câncer e doenças cardiovasculares, que estão associadas ao estresse oxidativo (Borges et al. 2011a; Rufino et al. 2011; Murillo et al 2013; Silva et al. 2013).

A palmeira juçara (*Euterpe edulis Martius*) pertence à família Arecaceae e ao gênero *Euterpe*, é nativa da Mata Atlântica, possui ampla distribuição na costa brasileira sendo encontrada desde parte do sul da Bahia até o norte do Rio Grande do Sul (Reis et al. 2000; Rauup et al. 2009). O fruto juçara, também conhecido como juçaí (Ribeiro et al. 2011), possui formato redondo, cor violeta intensa quando maduro e possui semelhanças sensoriais e nutritivas ao do fruto açai (*Euterpe oleracea Martius*) nativo da região Amazônica, porém, seu consumo é menos comum do que este último. O alto consumo do palmito juçara colocou a espécie na lista de espécies ameaçadas de extinção. Por essa razão, programas de manejo sustentável estão sendo aplicados e a estimulação do consumo da polpa tem crescido, visto que, grande parte das sementes pode ser recolhida após o despoldamento e são usadas para reflorestamento em áreas onde a espécie já foi extinta (Reis et al. 2000; Britto et al. 2007; Silva et al. 2013).

A fruta juçara é conhecida por ser fonte de polifenóis e antocianinas, sendo essas últimas responsáveis pela pigmentação nas tonalidades vermelho, violeta e azul em frutas, vegetais e flores. Além disso, ambos são considerados

antioxidantes naturais e seu consumo está associado a benefícios da saúde (Brito et al. 2007; Borges et al. 2011; Bicudo et al. 2014).

Trabalhos anteriores relatam a presença de cianidina 3-O-glicosídeo como antocianina majoritária, além de outras em menor quantidade, como a cianidina 3-O-rutinosídeo, cianidina 3, 5-diglicosídeo, pelargonidina 3-O-rutinosídeo, peonidina 3-O-glicosídeo, peonidina 3-O-rutinosídeo, cianidina 3-sambubiosídeo e cianidina 3-ramnosídeo (Ribeiro et al. 2011; Brito et al. 2007; Bicudo et al. 2014; Castro et al. 2014).

As antocianinas possuem baixa estabilidade frente a fatores como, incidência de luz, exposição ao oxigênio, variações de temperatura e pH, podendo facilmente sofrerem degradação e perda de suas atividades biológicas, durante o processamento e armazenamento (Tonon et al. 2009; Selim et al. 2008). A microencapsulação é um conjunto de técnicas onde compostos são revestidos por um agente microencapsulante, que em muitos casos são polímeros, formando micropartículas. Esse processo oferece proteção ao que está sendo revestido contra fatores que podem lhes causar degradação, conferindo-lhes maior estabilidade (Gharsallaoui et al. 2007; Nazzaro et al. 2012; Silva et al. 2014). O processo de microencapsulação tem sido utilizado para a conservação de antocianinas, sendo as técnicas de liofilização e spray-drying as mais utilizadas (Desobry et al. 2007; Laine et al. 2008; Robert et al. 2010; Ravichandran et al. 2014).

No presente estudo, objetivou-se avaliar se a microencapsulação da polpa juçara, pelas técnicas liofilização e spray-drying, utilizando os polímeros maltodextrina e goma arábica, seria eficaz na preservação do conteúdo de antocianinas da fruta e se esses processos modificaram sua composição.

MATERIAIS E MÉTODOS

Reagentes

O padrão cloreto de cianidina-3-glicosídeo e a maltodextrina (DE 16,5-19,5) foram adquiridos da Sigma-Aldrich, USA. O reagente Folin- Ciocalteau e a goma arábica foram adquiridos da Dinâmica Química Contemporânea LTDA e os solventes grau HPLC utilizados, metanol e acetonitrila, da Panreac Applichem.

Material Vegetal

A polpa do fruto juçara coletado na região de Rio Novo do Sul, no estado Espírito Santo, foi fornecida congelada em sacos de polietileno pelo Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural (INCAPER), no mês junho de 2014. Parte do material foi liofilizado em liofilizador (Labconco Freezone® modelo 7752020, EUA), recolhido em recipiente de polietileno com tampa e armazenado em freezer à -20°C até o momento dos experimentos, o restante da polpa in natura foi mantida congelada em freezer até o momento de seu uso. Uma folha da palmeira onde as frutas foram coletadas foi depositada no herbário da Universidade Vila Velha (UVV/ES), identificada pela botânica Solange Zanotti Schneider, MSc e registrada sob o registro UVV ES n°2396.

Composição centesimal

A análise do teor de proteínas e lipídeos foi conduzida de acordo com Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 2005), pelos métodos de Kjeldahl e de Goldfish, respectivamente. A determinação do teor de cinzas e umidade foram realizadas segundo as orientações da Organização Mundial de

Saúde (WHO, 1998). O valor para carboidratos totais foi calculado por diferença. Os valores de todos os componentes foram expressos em g/100g de polpa fresca.

Quantificação de polifenóis totais

A quantificação dos polifenóis totais da polpa foi realizada usando a reação de Folin-Ciocalteu, descrita por Souza et al. (2007), com as modificações descritas por Mariani et al. (2013). A curva de analítica foi preparada com solução do padrão ácido gálico (Sigma Aldrich, EUA) (10 a 300 µg/mL). A quantificação dos polifenóis totais foi feita utilizando a absorbância obtida aplicada na equação da reta $y = 0,01x + 0,001$ com $r^2 = 0,991$, obtida na construção da curva analítica. Os resultados foram expressos como mg de EAG (equivalentes de ácido gálico) por g de amostra liofilizada. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

Quantificação de antocianinas totais monoméricas

O conteúdo de antocianinas totais da polpa do fruto juçara e das micropartículas foi determinado pelo método pH diferencial, utilizando soluções de KCl 0,02 M (pH 1) e CH₃COONa 0,4 M (pH 4,5), descrito por Giusti e Wroslstad (2005) em espectrofotômetro. A absorbância final foi calculada empregando-se a equação 1 e o teor total de antocianinas pela equação 2.

Equação 1: Absorbância final = (A 520 nm – A 700 nm)_{pH1} – (A 520 nm – A 700 nm)_{pH4,5}

Equação 2: Teor total de antocianinas = (A x MM x FD x 1000)/(εx1)

Food and Bioprocess Technology

Onde A = absorvância final, $MM = 449,2$ (massa molecular da cianidina 3-glicosídeo C3G), FD = fator de diluição, 1000 = conversão de gramas para miligramas, l = comprimento do caminho óptico em centímetros e $\epsilon = 26900$ (absortividade molar da cianidina-3-glicosídeo) e o resultado expresso em mg C3G/100g de polpa liofilizada.

Processamento das micropartículas

O preparo das micropartículas obtidas por liofilização seguiu a metodologia de Selim et al. (2008), com modificações. Foram preparadas soluções em meio aquoso na concentração de 80 mg/mL de polpa (solução acidificada com ácido cítrico até pH 2, para fins de estabilização das antocianinas), maltodextrina e goma arábica separadamente, sendo os dois últimos os agentes microencapsulantes (AM). Posteriormente, as soluções foram homogeneizadas por 30 minutos com homogeneizador Fisatom 711 ao abrigo da luz e em temperatura ambiente, nas proporções volume/volume (v/v) 2:3 e 2:1 de polpa e AM, respectivamente. Os agentes microencapsulantes foram previamente misturados em proporção 1:1 (v/v). Após o preparo das soluções, o material foi congelado à -80°C , liofilizado em liofilizador (modelo L101, Liotop LTDA, São Paulo), recolhido e identificado em vidros âmbar e mantidos em freezer até o momento das análises. As micropartículas obtidas nesse processo foram identificadas como "Liof. 2:3" e "Liof. 2:1". Também foi preparada, nas mesmas condições, uma amostra designada como "branco", constituída apenas pelos agentes microencapsulantes.

Para o preparo das micropartículas utilizando a técnica por spray-dryer, foi utilizada a metodologia de Tonon et al. (2009) com modificações. A proporção

Food and Bioprocess Technology

de polpa e AM escolhida foi 2:3 massa/massa (m/m) e a homogeneização foi realizada em meio aquoso por 20 minutos, com auxílio de homogeneizador Fisatom 711, ao abrigo da luz e em temperatura ambiente. Antes da adição dos agentes microencapsulantes a polpa foi centrifugada por 15 minutos a 10000 rpm para a eliminação de sólidos em suspensão, evitando assim o entupimento do bico atomizador e posteriormente acidificada também com ácido cítrico até pH 2, para fins de estabilização das antocianinas. O spray-dryer utilizado foi o modelo Buchi 190 mini spray-dryer (Suíça), com bico atomizador de 0,7mm. A temperatura do ar de entrada foi de (126°C±4) e a de saída foi de (89°C±2), com fluxo de ar de 600 mL/min, pressão da bomba -50 mbar e vazão de alimentação de 28 mL/min..

Quantificação da cianidina-3-glicosídeo por LC-MS/MS

A polpa juçara e as micropartículas foram analisadas em cromatógrafo líquido marca Agilent Technologies, modelo 1200 series, com coluna cortecs C18 150 x 4.6mm; 2.7 µm (Waters, USA) à temperatura de 35°C, acoplado a detector de massas do tipo triploquadrupolo marca Applied Biosystems, modelo API 3200. A fonte de ionização electrospray (ESI) foi utilizada em modo positivo.

As fases móveis utilizadas consistiram em 0,1% de ácido fórmico em água (solvente A) e 100% de acetonitrila (solvente B) em um fluxo de 0,7 mL/min, e o volume de injeção foi de 20 µL. Foi usado um gradiente linear de 5% a 80% de B em 8 minutos, voltando para a condição inicial (5% de B), permanecendo por 2 minutos na condição inicial.

A antocianina na amostra foi identificada e quantificada com base no tempo de retenção da substância e íons monitorados Q1 = 449.1, Q3 = 287.1 e 137.1

Food and Bioprocess Technology

(*m/z*) na injeção prévia do padrão cianidina-3-glucosídeo, preparado em solução metanol 50% em água, para a otimização do equipamento e construção da curva de calibração, em uma faixa de concentração de 1,25 a 0.078 μ g/mL.

A polpa juçara foi preparada em etanol 80% acidificado com 0,1% de HCl, com extração em aparelho ultrassom por 20 minutos seguido de filtração em seringa acoplada a filtro Chromafil Xtra CA-20/25 com poros de 0,20 μ m. As amostras das micropartículas foram preparadas de maneira semelhante, porém, usando uma solução metanol 50% em água com 0,1% de ácido fórmico, seguido de 10 minutos de extração em aparelho ultrassom e filtração no mesmo filtro citado anteriormente. Todos os procedimentos foram realizados em triplicata.

Perfil de Liberação das micropartículas

Foram pesados 150 mg de cada grupo das micropartículas, colocadas em tubos de ensaio, seguido da adição de 30 mL de tampão fosfato pH 7,4. Em intervalos pré-determinados (2, 5, 10, 15 e 30 minutos), foram retiradas alíquotas de volume relativo a 1% do volume total de análise e adicionadas a tubos contendo as soluções para determinação do teor de antocianinas liberado, pelo método pH diferencial descrito por Giusti e Wrosltad (2005) . Todos os testes foram realizados em triplicatas.

Análise termogravimétrica (TGA) e calorimetria de varredura diferencial (DSC)

As curvas TGA e DSC foram obtidas simultaneamente em termobalança SDT Q600 TA Instrumento do Laboratório de Encapsulamento Molecular e

Food and Bioprocess Technology

Biomateriais/LEMB/DQ/UFMG, sob atmosfera dinâmica de N₂ com vazão aproximada de 50 mL/min⁻¹, empregando cadinho de alumina e aquecimento de 25 a 700°C com uma razão de aquecimento de 10°C min⁻¹. Os dados obtidos foram analisados no software TA Instruments Universal Analysis 2000. Foram utilizados aproximadamente 5 mg de cada amostra das micropartículas e amostra “branco”.

Microscopia eletrônica de varredura

As amostras foram fixadas em stubs de alumínio por meio de cola dupla face de carbono condutor onde receberam uma cobertura de ouro (30mA, 120s) em metalizador (Desk V, Denton Vacuum), para visualização em microscópio eletrônico de varredura (Jeol, JEM 6610 LV) operado a 20 KV.

Espectroscopia de infravermelho

Os espectros no infravermelho foram obtidos em espectrofotômetro Perkin Elmer (modelo Spectrum One FT-IR), na região de 4000-650 cm⁻¹, à temperatura de 25 °C. Os espectros foram adquiridos diretamente para as amostras: polpa liofilizada, micropartículas e agentes microencapsulantes (branco), sem emprego de diluição em brometo de potássio (KBr).

Análise estatística

Os dados foram expressos como média ± D.P e para análise estatística foi realizada ANOVA de 1 via seguido do *post hoc* de Tukey (p <0,05) em software GraphPad Prism versão 5.0.

RESULTADOS E DISCUSSÃO*Composição centesimal*

A composição centesimal, expressa em g/100g de polpa fresca, obtida nesse trabalho, está apresentada na Tabela 1.

Tabela 1 Composição centesimal em g/100g da polpa do fruto juçara (*Euterpe edulis* Martius)

| Umidade | Cinzas | Proteínas | Lípídeos | Carboidratos |
|----------|---------------|------------|-------------|--------------|
| 89 ± 0,5 | 0,002 ± 0,001 | 6,06 ± 0,3 | 0,13 ± 0,02 | 4,27 ± 0,27 |

Valores são médias ± desvio padrão de três repetições

A umidade observada para a polpa de juçara no presente trabalho apresenta valores semelhante aos descritos previamente para polpa de juçara, 88,9 g/100g (Ribeiro et al. 2011), e 86,42 g/100g (Vieira et al. 2013), e para a polpa do fruto açaí, 85,95 g/100g (Tonon et al. 2009). Embora o teor de cinzas totais previamente relatado para polpa de juçara seja baixo, 0,38 g/100g (Ribeiro et al. 2011), 0,41 g/100g (Vieira et al. 2013), e 0,44 g/100g (Tonon et al. 2009), no presente estudo este teor foi nulo (Tabela 1). As proteínas totais quantificadas no presente estudo estão em quantidade semelhante às relatadas por Borges et al. (2011) em polpa de juçara coletada em diferentes regiões do estado de Santa Catarina, cuja variação foi de 5,84 a 7,13 g/100g e diferiu dos dados relatados por Vieira et al. (2013) que foi de 1,15 g/100g.

A quantidade de lipídeos quantificada no presente estudo apresentou-se menor do que a anteriormente descrita para a mesma fruta, que foi variou de 3,17% a 4,36% (Ribeiro et al. 2011; Silva et al. 2013).

O teor de carboidratos totais, quantificados por diferença (Tabela 1), observado no presente estudo encontra-se abaixo do previamente relatado para a polpa de fruto da mesma espécie, 6,27 g/100g (Ribeiro et al. 2011) e 6,75 g/100g (Silva et al. 2013). As diferenças observadas na composição centesimal podem estar relacionadas ao cultivo em locais com condições geográficas e climáticas diferentes, bem como a outros fatores como estágio de maturação do fruto no momento da colheita, manipulação e armazenamento do mesmo, também podem influenciar em suas características químicas (Luzia e Jorge 2014; Bicudo et al. 2014).

Quantificação de polifenóis totais

Os polifenóis referem-se a uma denominação de metabólitos secundários presentes em diversos vegetais, são conhecidos por apresentarem diversas atividades, como ação anti-inflamatória, antioxidante e antimicrobiana (Fang e Bhandari, 2010). O total de polifenóis quantificados na polpa da fruta em estudo foi de $750 \pm 16,7$ mg EAG/100g de amostra liofilizada. Em trabalho com o fruto juçara, Borges et al. (2011b) descreveram valores variando entre 303,63 a 806,37 mg EAG/100g material fresco, em função da aplicação de variáveis no processo de preparação das amostras do fruto juçara para o experimento. Bicudo et al. (2014) quantificaram polifenóis totais em fruto juçara colhido em diferentes fases de maturação, encontrando valores que variaram entre 49,09 e 81,69 mg EAG/g matéria seca. Pode-se observar que o valor descrito no presente estudo, foi superior ao previamente descrito para juçara, indicando ser a espécie coletada no ES uma potencial espécie para ser selecionada para propagação.

Quantificação da cianidina-3-glicosídeo por LC-MS/MS

A identificação e quantificação da antocianina majoritária na polpa juçara foi realizada por LC-MS/MS, com monitoramento múltiplo de reações (MRM) utilizado em modo positivo. O espectro foi monitorado empregando-se a avaliação do pico principal correspondente à cianidina 3-glicosídeo no tempo retenção TR = 4,91 min, semelhante ao tempo de retenção da obtido para substância padrão de 5,05 min. A curva de calibração foi obtida com r^2 0,9981 e limites de detecção e quantificação de 0,0064 e 0,019 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente. A massas do íon molecular $[M + H]^+$ monitorado foi de 449 (m/z). O fragmento 287 (m/z) foi gerado devido à fragmentação da molécula, com perda do glicosídeo (glicose) de massa 162 (m/z) e o fragmento com massa 137 (m/z) para confirmação, corroborando com estudos prévios que trabalharam com a identificação da antocianina em questão por HPLC acoplado à espectrometria de massas (Ferreira et al. 2009; Osorio et al. 2010; Torre et al. 2013; Shao et al. 2014).

O resultado da quantificação da antocianina cianidina-3-glicosídeo realizada por LC-MS/MS nas micropartículas e na polpa está representado na Figura 1, os valores estão expressos em mg de C3G por 100g de polpa liofilizada. Os valores (média \pm desvio padrão de triplicatas) obtidos foram 32,1 \pm 0,1 mg/100g (S.D 2:3), 41,5 \pm 1,6 mg/100g (Liof. 2:3) e 40,2 \pm 1,8 mg/100g (Liof. 2:1) e para a polpa foi de 196,6 \pm 2,6 mg/100g. A eficiência da preservação das antocianinas em relação à quantidade presente na polpa foi de 16,3%, 21,1% e 20,5%, para as micropartículas S.D 2:3, Liof. 2:3 Liof. 2:1, respectivamente. Esta preservação foi diferente ($p < 0,05$) entre as três formulações, sendo que nas condições aplicadas, a melhor preservação ocorreu nas micropartículas

produzidas por liofilização na proporção polpa e material de parede 2:3. A redução do teor de cianidina 3-O-glicosídeo nas micropartículas observada na quantificação por cromatografia pode ser justificada pelo tratamento realizado nas amostras antes de serem injetadas, onde houve a realização de extração em aparelho ultrassom com água aquecida (45 °C), filtragem do material, a amostra também ficou exposta a luz e ao oxigênio durante esses procedimentos, até o momento da injeção. As antocianinas são compostos conhecidos por sua instabilidade frente a esses fatores (Wang e Xu, 2007; Burin et al. 2011).

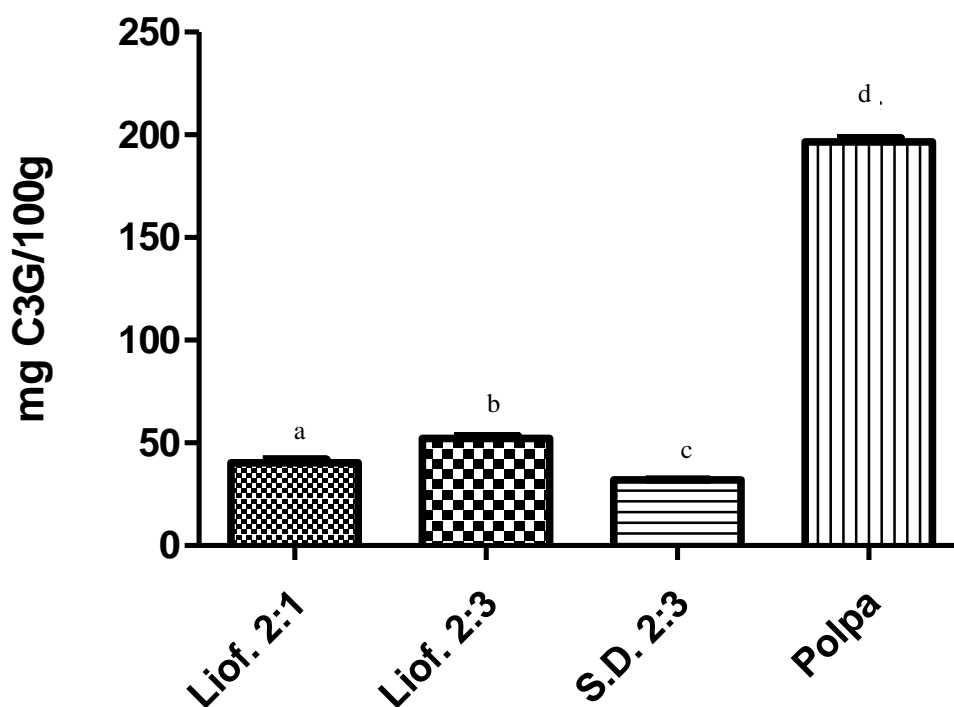


Fig. 1 Quantificação da cianidina 3-glicosídeo por LC-MS/MS. Liof. 2:3 e 2:1 (micropartículas obtidas por liofilização) S.D. 2:3(micropartículas obtidas por spray-dryer) Letras diferentes denotam diferenças ($p < 0,05$) entre as micropartículas e a polpa pelo teste de Tukey.

Quantificação de antocianinas totais monoméricas

O teor total de antocianinas monoméricas quantificado pelo método pH diferencial e no presente estudo foi de $181,25 \pm 5,36$ mg/100 g, não sendo observado diferença entre o teor de antocianinas determinado por LC-MS/MS. Esse valor está de acordo com o encontrado para o fruto do açaí (*Euterpe oleracea*) cultivado no Ceará, 111 mg/100g e para a juçara cultivado em São Paulo, 192 mg/100g (Rufino et al. 2010). Outros estudos também relataram teores de antocianinas próximos à faixa de concentração observada no presente estudo, como no caso do fruto do palmitero *Euterpe edulius* Martius, nativos de diferentes locais, e que apresentou teores de antocianinas de 183,7 mg/100g material fresco oriundo do Rio de Janeiro (Ribeiro et al. 2011), 165,94 mg/100g material fresco nativo de Santa Catarina (Borges et al. 2011b), 108,97mg/100g material seco vindo do Paraná (Bicudo et al. 2014) e 290 mg/100g material fresco oriundo de São Paulo (Brito et al. 2007).

A quantidade total de antocianinas que foi preservada nas micropartículas, expressa em mg de antocianinas monoméricas por 100g de polpa seca e a eficiência da microencapsulação, expressa em percentagem, calculada baseando-se na quantidade total de antocianinas na polpa microencapsulada em relação à presente na polpa de juçara em base seca, podem ser visualizadas na Tabela 2.

Tabela 2 Total de antocianinas na polpa, micropartículas e eficiência do processo, quantificadas pelo método pH diferencial.

| Amostra | mg/100g | % |
|-----------|----------------------------|--------|
| Polpa | 181,25±5,36 ^a | 100% |
| Liof. 2:1 | 116,89 ± 4,43 ^b | 64,06% |
| Liof. 2:3 | 151,68 ± 1,39 ^c | 83,69% |
| S.D. 2:3 | 150,76 ± 5,79 ^c | 83,18% |

Valores são médias ± desvio padrão de três repetições. ^{abc} Letras sobrescritas diferentes denotam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as micropartículas e a polpa pelo teste de Tukey.

As micropartículas produzidas na proporção 2:3 (polpa:material de parede), tanto por liofilização quanto por spray-drying apresentaram maior retenção do teor das antocianinas do que as produzidas na proporção 2:1, onde foi usada uma menor quantidade de material de parede. Esse fato ratifica a importância e eficácia da utilização dos polímeros em quantidades adequadas como material microencapsulante e para o seu papel protetor de compostos.

A eficiência do processo de microencapsulação obtida nesse trabalho foi superior à obtida por Laine et al. (2008) na microencapsulação do extrato de amora silvestre (*Rubus chamaemorus*), na proporção 1:9, onde obtiveram 79 e 48% utilizando maltodextrina DE 5-8 e DE 18.5, respectivamente.

De acordo com os valores apresentados neste trabalho, podemos observar que a microencapsulação foi uma técnica eficaz para evitar a total perda do teor de antocianinas, que são compostos que podem sofrer alterações na sua estabilidade devido às alterações temperatura, pH, exposição ao oxigênio e à luz (Wang e Xu. 2007; Burin, et al. 2011).

Food and Bioprocess Technology

A promoção da estabilidade das antocianinas vem sendo estudada e a microencapsulação se mostra como uma opção para a sua preservação (Fang e Bhandari 2010). A liofilização e o spray-drying são técnicas de microencapsulação amplamente empregadas para a preservação desses e outros compostos bioativos, apesar de possuírem mecanismos diferentes, ambas são eficazes oferecendo proteção contra a degradação desses compostos (Robert et al. 2010; Nazzaro et al. 2012; Ezhilarasi et al. 2013; Sarkar et al. 2013; Ravichandran et al. 2014).

Em trabalho com a microencapsulação do suco de açaí (*Euterpe oleraceae* Martius), valores em torno de 77,21% a 84,62% foram encontrados para a retenção de antocianinas usando maltodextrina 10 DE. A variação da retenção ocorreu em função das mudanças de temperaturas aplicadas no aparelho spray-dryer e diferentes concentrações de maltodextrina empregadas, mas os pesquisadores concluíram que apenas a temperatura do ar de secagem influenciou na retenção das antocianinas (Tonon et al. 2009).

Em estudo da estabilidade de compostos fenólicos e atividade antioxidante de vinho tinto, Galmarini et al. (2013) empregaram a microencapsulação pela técnica de liofilização, com a maltodextrina 10 DE como agente microencapsulante. Em sua avaliação sobre a preservação das antocianinas monoméricas, foram quantificados 59,3 mg/100g de antocianinas na amostra microencapsulada, que permaneceu estável por 70 dias à 28°C. Yousefi et al. (2010) estudaram a microencapsulação do suco de romã com goma arábica, maltodextrina e amido modificado, sendo que os melhores resultados foram obtidos com a goma arábica e com a maltodextrina.

Food and Bioprocess Technology

A maltodextrina e a goma arábica são polissacarídeos muito usados na microencapsulação (Barbosa, et al. 2005). A associação desses dois agentes microencapsulantes já foi tema em estudo da estabilidade de extrato de betalaínas, um pigmento com baixa estabilidade, assim como as antocianinas (Ravichandran et al. 2014.). No referido estudo, foi observado que a mistura da maltodextrina DE 20 com a goma arábica foi mais eficaz na conservação do teor de betalaínas do que a maltodextrina sozinha e que a microencapsulação pela técnica de liofilização pode ser mais segura do que a técnica realizada em spray-dryer, para compostos bioativos que são sensíveis ao calor, uma vez que, o processo de liofilização é realizado sob baixas temperaturas e durante o spray-drying o material é exposto à altas temperaturas, porém, a microencapsulação via spray-drying é uma técnica com menor custo e mais rápida do que via liofilização (Desobry et al. 1997., Ravichandran et al. 2014.).

Perfil de Liberação das micropartículas

A liberação de ativos microencapsulados pode ser afetada por alguns fatores como o peso do molecular do polímero usado como matriz encapsulante, composição dos ativos, porosidade, tamanho das partículas formadas. Porém, o perfil de liberação pode ser otimizado através de mudanças nas propriedades físicas e químicas das formulações e do meio onde as partículas serão inseridas, a fim de alcançar o perfil (Freiberg e Zhu 2004).

A liberação do conteúdo das micropartículas está representada na Figura 2, onde estão relacionados à concentração de antocianinas em mg/100g de polpa liofilizada liberada, em função do tempo . O total 35,8% do conteúdo foram liberados pelas micropartículas Liof. 2:3 e S.D 2:3 e 18,12% pelas

micropartículas Liof. 2:1, considerando a quantidade de antocianinas presente em 100g de polpa liofilizada. A liberação do conteúdo foi crescente até os primeiros 10 minutos, depois ocorreu a redução do teor liberado .

As antocianinas são mais estáveis em meios ácidos $\text{pH} < 3$, onde permanecem na forma de cátion flavílio e com o aumento do pH elas tendem à degradação (Clifford 2000; Betz et al. 2012), sendo assim, pode-se afirmar que em solução em $\text{pH} 7,4$ as micropartículas foram inseridas, não foi um meio favorável para a liberação e estabilidade das antocianinas, contudo, deve-se considerar que não foi realizado um procedimento de extração das micropartículas, pois foram diretamente adicionadas a solução PBS, assim pode-se sugerir que a quantidade quantificada foi apenas a presente na superfície do complexo formado e que provavelmente seu conteúdo interno não foi liberado para quantificação.

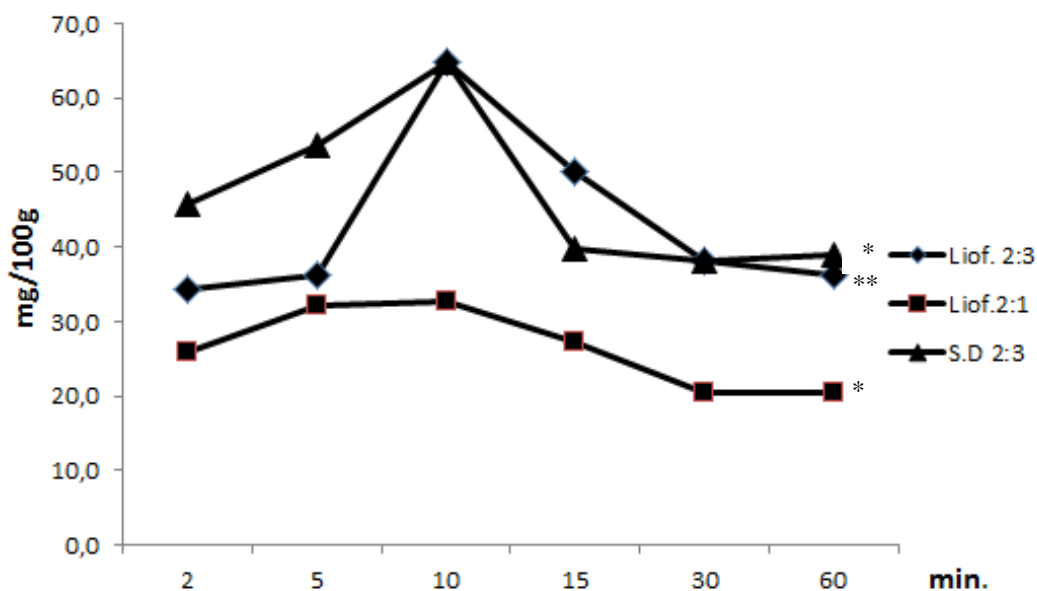


Fig. 2 Perfil de liberação do conteúdo das micropartículas. **Diferenças significativas ($p < 0,05$). Liof. 2:3 e 2:1 (micropartículas obtidas por liofilização) S.D. 2:3 (micropartículas obtidas por spray-dryer)

Análise termogravimétrica (TGA) e calorimetria de varredura diferencial (DSC)

Para avaliar as mudanças físico-químicas das micropartículas, pelo efeito da temperatura, as mesmas foram submetidas à análise termogravimétrica (TGA) e calorimetria exploratória diferencial (DSC – do inglês “Differential Scanning Calorimetry”), onde são analisados a perda de massa e a variação da temperatura da amostra (Bernal et al. 2002; Dubernet 1995).

Na Figura 3, são apresentadas as imagens dos termogramas obtidos para as micropartículas (a) Liof. 2:1 e (b) S.D 2:3. Na figura 4 estão os termogramas das amostras (a) Liof 2:3 e para (b) branco composto de MD e GA na proporção 1:1. As amostras de proporção 2:3 apresentaram comportamentos semelhantes. De acordo com as análises, não ocorreu atividade térmica até 30°C para as quatro amostras, e entre 30 e 180°C houve perda de massa de 12% (Liof. 2:1), 10% (S.D 2:3), 7% (Liof. 2:3) e 10% (branco). Essa perda pode ser atribuída à evaporação de água presente no interior e exterior das partículas além de compostos voláteis, um pico endotérmico, obtido pela análise térmica diferencial, pode ser observado nessa região em todas as imagens. As reduções de massas mais acentuadas ocorreram aproximadamente entre 180 e 250°C, onde as amostras Liof. 2:1, S.D 2:3 e Liof. 2:3 sofreram perdas de mais 35%, 16% e 10%, respectivamente. Essa perda acentuada pode ser atribuída, ao início da degradação dos componentes, ao ponto de fusão da maltodextrina e goma arábica que ocorrem em torno de 240 e 250°C, com posterior degradação dos polímeros. Picos endotérmicos, embora não muito acentuados e com alargamento causado pela mistura da maltodextrina com goma arábica, podem ser observados nessa

região das imagens das amostras microencapsuladas e do branco, comprovando nossa sugestão (Osorio et al. 2011; 2010b; Monthé e Rao 2000).

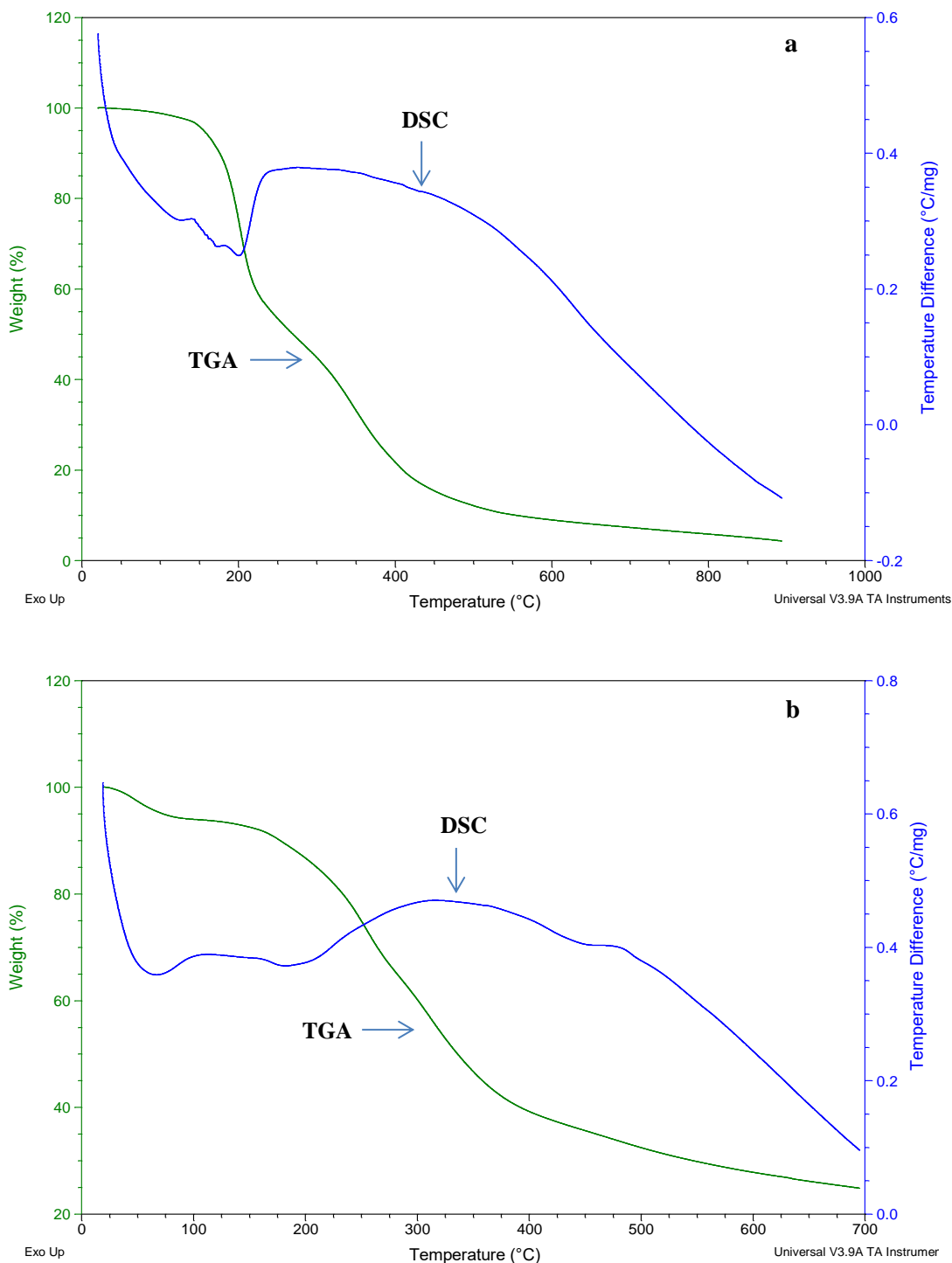


Fig. 3 Termogramas das amostras Liof. 2:1 (micropartículas obtidas por liofilização) (a) e S.D 2:3 (micropartículas obtidas por spray-dryer) (b), obtidos simultaneamente por análise termogravimétrica (TGA) e calorimetria de varredura diferencial (DSC).

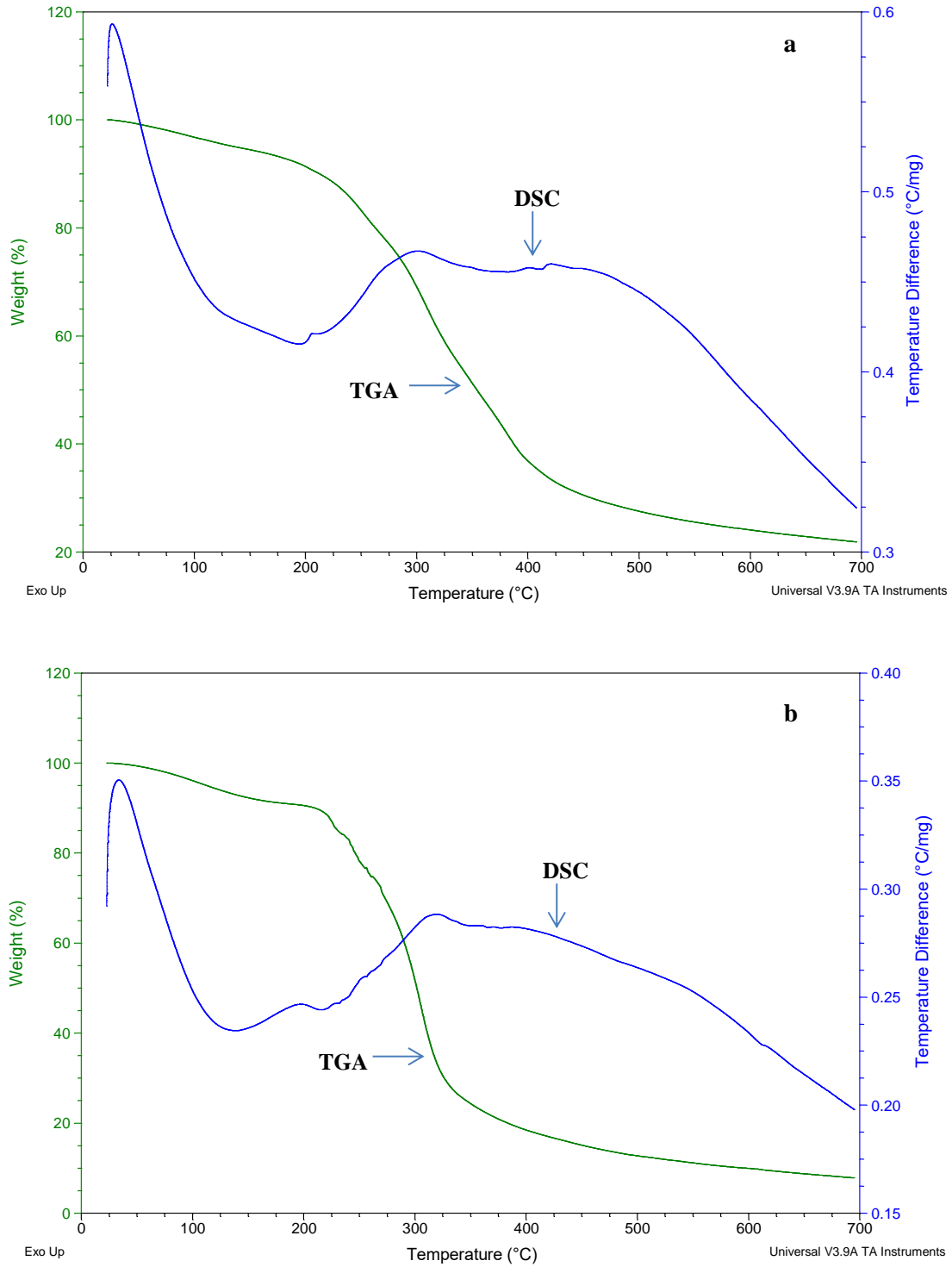


Fig. 4 Termogramas das amostras Liof. 2:3 (micropartículas obtidas por liofilização) (a) e branco (b), obtidos simultaneamente por análise termogravimétrica (TGA) e calorimetria de varredura diferencial (DSC).

Microscopia eletrônica de varredura

A caracterização morfológica das amostras foi realizada por meio de microscopia eletrônica de varredura. As imagens obtidas para as micropartículas, figuras 5 (A, B, C e D), produzidas pelo processo de liofilização não apresentaram diferenças entre si, para ambas foram observadas estruturas amorfas, semelhantes a flocos com tamanhos diversificados, provavelmente devido à trituração realizada após o preparo. Esse aspecto é bastante comum para micropartículas obtidas por liofilização, tendo sido observado em outros estudos semelhantes a esse trabalho, onde micropartículas foram produzidas por esse mesmo processo de microencapsulação (Laine et al. 2008; Ezhilarasi et al. 2013; Khazaei et al. 2014).

A morfologia das micropartículas obtidas por spray-dryer, figuras 5 (E e F), evidencia formatos esféricos irregulares, com superfície lisa, o mesmo observado para microcápsulas produzidas por spray-dryer utilizando maltodextrina e goma arábica (Yousefi et al. 2011; Robert et al. 2010). Partículas com superfícies menos porosas são mais desejáveis, pois conferem melhor estabilidade e proteção ao agente microencapsulado bem como, um melhor controle de sua liberação (Osorio et al. 2010).

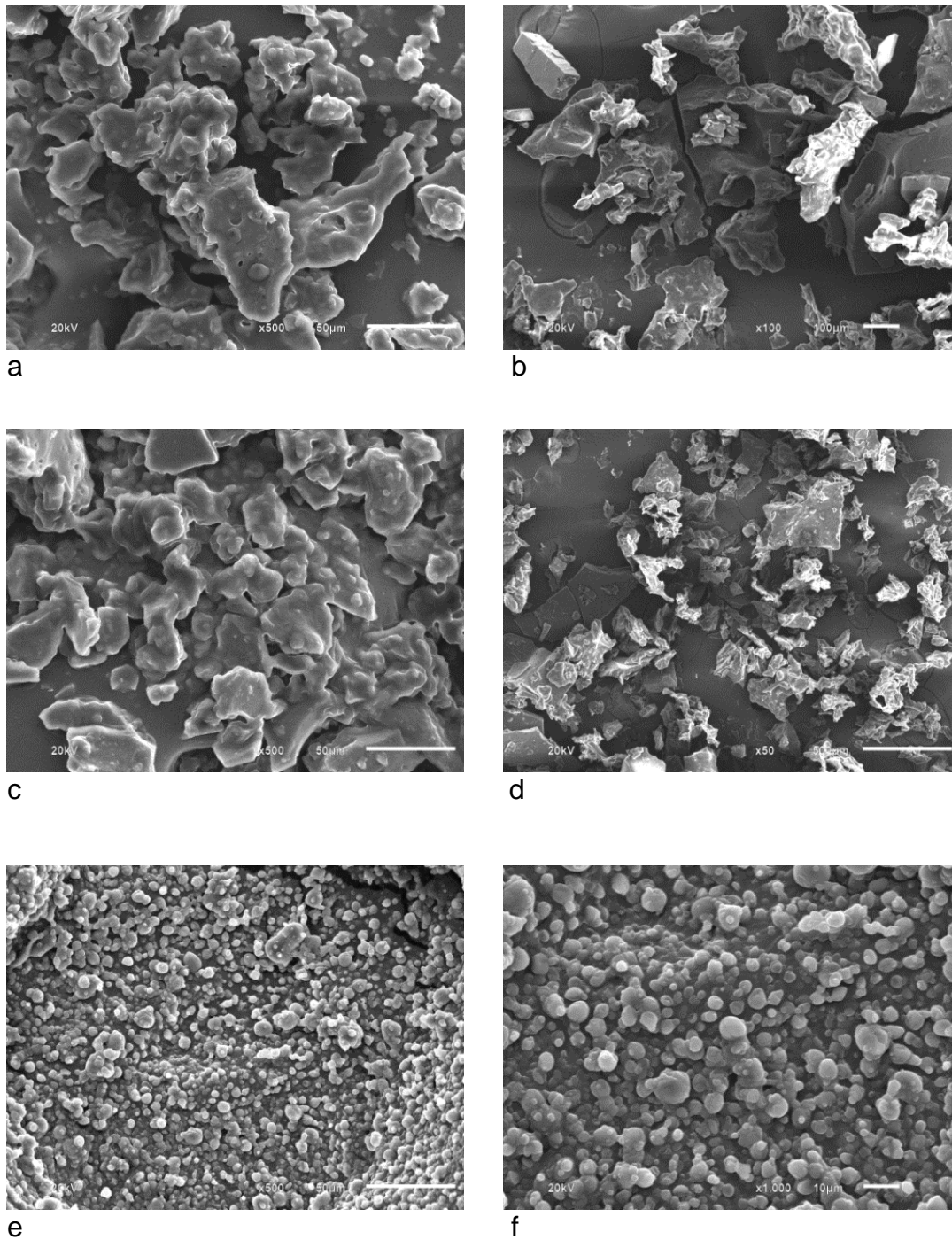


Fig. 5 Microscopia eletrônica de varredura: micropartículas liofilizadas 2:1 (a – b), Liof. 2:3 (c – d) e micropartículas obtidas por spray-dryer 2:3 (e – f).

Espectroscopia de infravermelho

A análise espectrométrica no infravermelho foi aplicada para avaliar se os processos de microencapsulação promoveram interações e alterações entre os compostos presentes nas micropartículas os espectros podem ser observados na Figura 6 (a e b).

As características das bandas de absorção da polpa juçara pura foram preservadas nas micropartículas sem consideráveis mudanças, sugerindo que nenhuma reação evidente ocorreu entre o material de parede e a mesma, assim pode-se inferir que o polímero preservou a maior parte da integridade da composição da polpa após a microencapsulação. A intensificação de banda em torno de 1700 cm^{-1} , atribuída ao estiramento de cromóforo carbonila, proveniente de um dos componentes da polpa juçara, também foi observada nos espectros das micropartículas, sugerindo que a polpa foi incorporada às partículas. Observações similares foram relatadas por Costa et al. (2013) em análise de nanopartículas contendo fração de barbatimão (*Stryphnodendron obovatum*) e por Costa et al. (2015) em análise de micropartículas contendo ácido linoleico conjugado, ambas produzidas por spray-drying, onde os produtos foram incorporados aos polímeros utilizados, de maneira efetiva e sem reação efetiva entre eles, comprovando que esse método de microencapsulação é um processo físico e n procedimento de preparo das partículas, não altera a estrutura química das substâncias que são microencapsuladas.

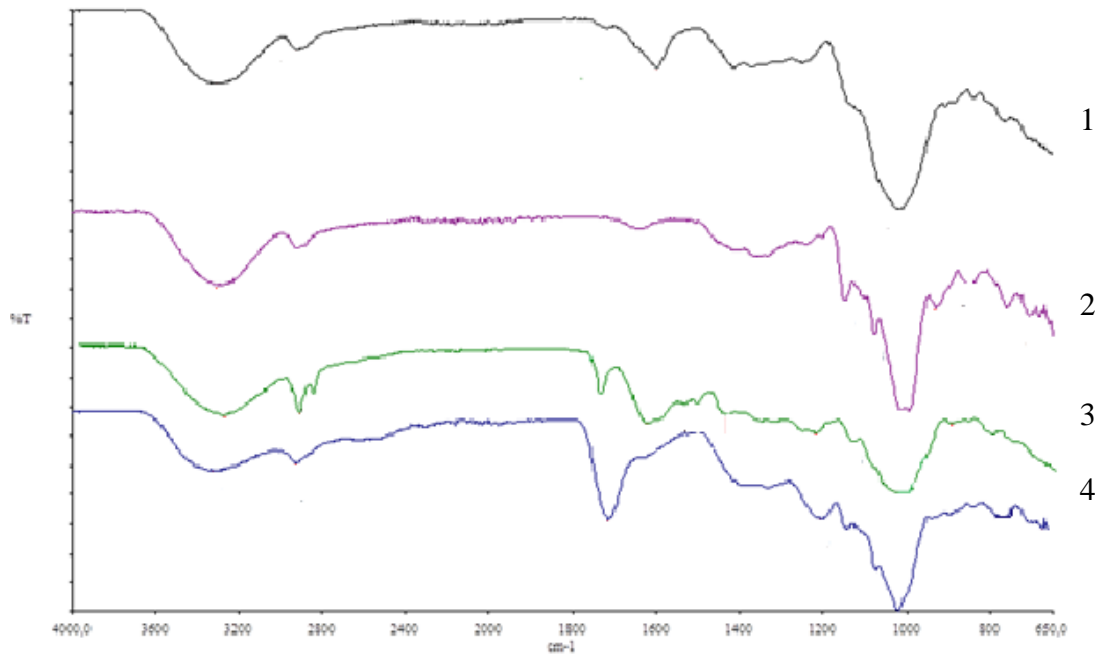


Fig. 6 a Espectro Infravermelho obtido para: goma arábica (1), maltodextrina (2), polpa juçara liofilizada (3) e micropartículas S.D 2:3 (4).

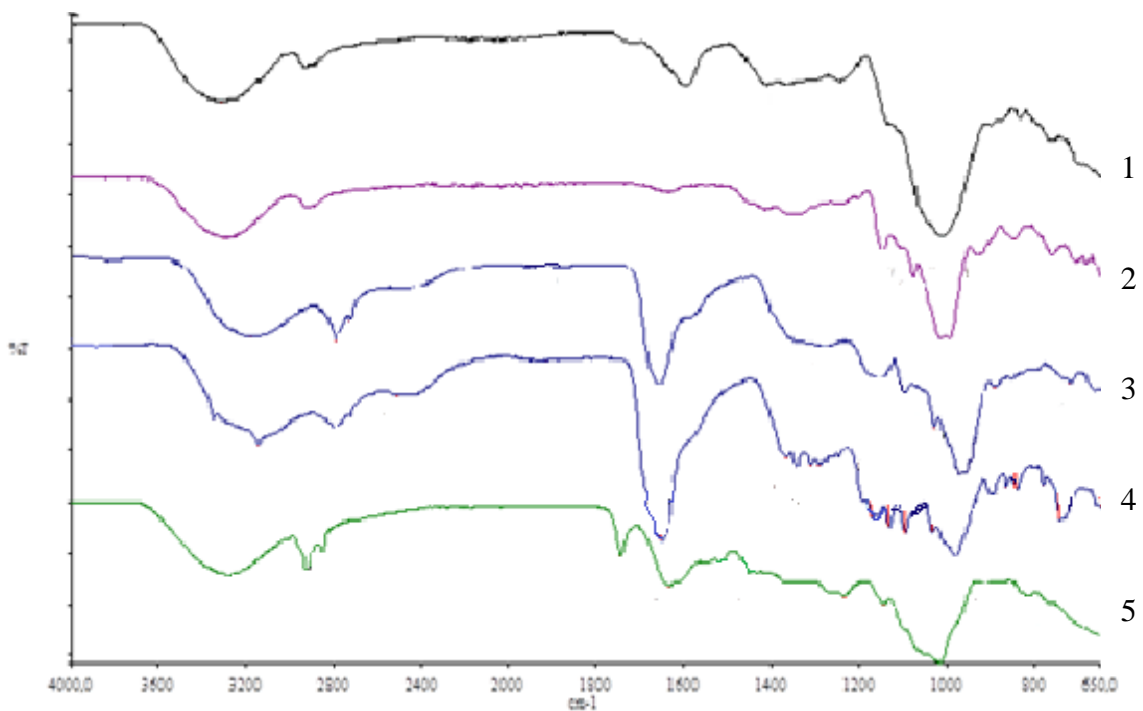


Fig. 6 b Espectro Infravermelho obtido para: goma arábica (1), maltodextrina (2), micropartículas Liof. 2:3(3), micropartículas Liof. 2:1 (4) e polpa liofilizada (5).

CONCLUSÃO

Nas condições aplicadas, a proporção de polpa e material de parede 2:3 das micropartículas obtidas por spray-dryer e liofilização, conferiu maior retenção do conteúdo de antocianinas em relação às micropartículas produzidas na proporção 2:1, sugerindo que a quantidade de material microencapsulante é uma variável que influencia de maneira significativa o resultado final do produto. Pode-se sugerir que a microencapsulação é uma alternativa para a preservação das antocianinas do fruto do palmito juçara (*Euterpe edulis* Martius), podendo viabilizar uma utilização otimizada da sua polpa nas indústrias farmacêuticas, alimentícias e cosméticas, com uma melhor preservação das suas propriedades.

Agradecimentos

A FAPES agradece-se pelo financiamento de bolsas do estudo. Agradece-se ao Laboratório de Saneamento (UFES) e ao Tommasi Analítica LTDA pela colaboração nas análises cromatográficas. À UVV pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

AOAC. (2005). *Official methods of analysis of the association of the official analysis chemists*. (16th ed.). Arlington, VA: Association of Official Analytical Chemists.

Barbosa, M. I. M. J., Borsarelli, C. D., Mercadante, A. Z. (2005). Light stability of spray-dried bixin encapsulated with different edible polysaccharide preparations. *Food Research International*, 38, 989-994.

Bernal, C., Couto, A. C., Breviglieri, S. T., Cavalheiro. E. T. G. (2002). Influência de alguns parâmetros experimentais nos resultados de análises calorimétricas diferenciais – DSC. *Química Nova*, 25(5), 849-855.

Betz, M., Steiner, B., Schantz, M., Oidtmann, J., Mader, K., Richling, E., et al. (2012). Antioxidant capacity of bilberry extract microencapsulated in whey protein hydrogels. *Food Research International*, 42, 51-57.

Bicudo, M. O. P., Ribani, R. H., Beta, T. (2014). Anthocyanins, Phenolic Acids and Antioxidant Properties of Juçara Fruits (*Euterpe edulis* M.) Along the On-tree Ripening Process. *Plant Foods for Human Nutrition*, 69, 142–147.

Borges, G. S. C., Vieira F. G. K., Copetti C., Gonzaga L. V., Zambiasi R. C., et al. (2011). Chemical characterization, bioactive compounds, and antioxidant capacity of jussara (*Euterpe edulis*) fruit from the Atlantic Forest in Southern Brazil. *Food Research International*, 44, 2128-2133.

Borges, G. S. C., Vieira, F. G. K., Copetti, C., Gonzaga, L. V., Fett, R. (2011b). Optimization of the extraction of flavonols and anthocyanins from the fruit pulp of *Euterpe edulis* using the response surface methodology. *Food Research International*, 44, 708-715.

Brito, E. S., Araújo, M. C. P., Alves, R. E., Carkeet, C., Clevidence, C. A., Novotny, J. A. (2007). Anthocyanins Present in Selected Tropical Fruits:

Acerola, Jambolão, Jussara, and Guajiru. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 9389–9394.

Burin, M. V., Rossa, P. N., Ferreira-Lima, N. E., Hillmann, M. C. R., Boirdignon-Luiz, M. T. (2011). Anthocyanins: optimisation of extraction from Cabernet Sauvignon grapes, microcapsulation and stability in soft drink. *International Journal of Food Science and Technology*, 46, 186–193.

Castro, C A., Natali, a. J., Cardoso, L. M., Machado, A. B. F., Novello, A. A., Silva, K. A., et al. (2014). Aerobic exercise and not a diet supplemented with jussara açai (*Euterpe edulis* Martius) alters hepatic oxidative and inflammatory biomarkers in ApoE-deficient mice. *British Journal of Nutrition*, 112, 285–294.

Clifford, M. N. (2000). Review Anthocyanins- nature, occurrence and dietary burden. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80, 1063-1072.

Costa, A. M. M., Nunes, J. C., Lima, B. N. B., Pedrosa, C., Calado, V., Torres, A. G., et al. (2015). Effective stabilization of CLA by microencapsulation in pea protein. *Food Chemistry*, 168, 157-166.

Desobry, S. A., Netto, F. M., Labuza, T. (1997). Comparison of spray-drying, drum-drying and freeze-drying for β -Carotene encapsulation and Preservation. *Journal of Food Science*, 62(6), 1158-1162.

Dubernet, C. (1995). Thermoanalysis of microspheres. *Thermochimica Acta*, 248, 259-269.

Ezhilarasi, P. N., Indrani, D., Jena, B. S., Anandharamkrishnan, C. (2013). Freeze drying technique for microencapsulation of Garcinia fruit extract and its effect on bread quality. *Journal of Food Engineering*, 117, 513-520.

Fang, Z. & Bhandari, B. (2010). Encapsulation of polyphenols – a review. *Food Science and Technology*, 21, 510-523.

Ferreira, S. S., Faria, A. F., Grosso, C. R. F., Mercadante, A. Z. (2009). Encapsulation of Blackberry Anthocyanins by Thermal Gelation of Curdlan. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 20(10), 1908-1915.

Freiberg, S., Zhu, X. (2004). Polymer microspheres for controlled drug release. *International Journal of Pharmaceutics*, 282, 1–18.

Galmarini, M. V., Maury, C., Mehinagic, E., Sanchez, V., Baeza, R. I., Mignot, S., et al. (2013). Stability of individual phenolic compounds and antioxidant activity during storage of a red wine powder. *Food and Bioprocess Technology*, 6, 3585–3595.

Gharsallaoui, A., Roudaut, G., Chmabin, O., Voilley, A., Saurel, R. (2007). Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food Research International*, 40, 1107-1121.

Giusti, M.M., Wrolstad, R.E. (2001). Characterization and measurement of anthocyanins with UV-visible spectroscopy. In Wrolstad R.E (ed). *Current protocols in food analytical chemistry* (F1.2.1–1.2.13). New York: Wiley.

Kong, J. M., Chia, L. S., Goh, N. K., Chia, T. F., Broillard, R. (2003). Analysis and biological activities of anthocyanins. *Phytochemistry*, 64, 923-933.

Laine, P., Kylli, P., Heinonen, M., Jouppila, K. (2008). Storage Stability of Microencapsulated Cloudberry (*Rubus chamaemorus*) Phenolics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 11251–11261.

Luzia, D. M. M. & Jorge, N. (2011). Study of antioxidant activity of non-conventional Brazilian fruits. *Journal of Food Science and Technology*, 51(6), 1167–1172.

Mariani, P. M., Freitas, P. R., Kalil, I. C., Brasil, G. A., Ronchi, S. N., Lenz, D.

Food and Bioprocess Technology

(2013). Efectos quimiopreventivos y antimutagénicos *in vivo* del extracto hidroetanólico de frutos de *Carica papaya* L. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 18(3), 381-390.

Mothe, C.G., Rao, M. A. (2000). Thermal behavior of gum arabic in comparison with cashew gum. *Thermochimica Acta* 357, 9±13.

Murillo, E., Giuffrida, D., Menchaca, D., Dugo, P., Torre, G., Meléndez-Martínez, A., J., et al. (2013). Native carotenoids composition of some tropical fruits. *Food Chemistry*, 140, 825-836.

Nazzaro, T., Orlando, P., Fratianni, F., Coppola, F. (2012). Microencapsulaton in food science and biotechnology. *Current Opinion in Biotechnology*, 23, 182-186.

Osorio, C., Acevedo, B., Hillebrand, S., Carriazo, J., Winterhalter, P., Morales, A., L. (2010). Microencapsulation by Spray-Drying of Anthocyanin Pigments from Corozo (*Bactris guineensis*) Fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 6977–6985.

Osorio, C., Forero, D. P., Carriazo, J. G. (2011). Characterization and performance assessment of guava (*Psidium guajava* L.). *Food Research International*, 44, 1174–1181.

Raupp, S. V., Brack, P., Leite, S. L. C. (2009). Aspectos demográficos de palmitero (*Euterpe edulis* Mart.) em uma área da Floresta Atlântica de Encosta, em Maquiné, Rio Grande do Sul. *Iheringia Série Zoologia*, 64, 57-61.

Ravichandran, K., Palaniraj, R., Saw, N. M. M. T., Ahmed M. M., Ahmed, G. A. R., Knorr, D., et al. (2014). Effects of different encapsulation agents and drying process on stability of betalains extract. *Journal of Food Science and Technology*, 51(9):2216–2221.

Reis, M. S., Fantini, C. a., Nodari, R. O., Reis A., Guerra, M. P., et al. (2000). Management and Conservation of Natural Populations in Atlantic Rain Forest: The Case Study of Palm Heart (*Euterpe edulis* Martius). *Biotropica*, 32(4b), 894-902.

Ribeiro, L. O., Mendes, M. F., Pereira, C. S. S. (2011). Evaluation of Chemical Composition, Mineral and Content of Anthocyanins of Juçuí Pulp (*Euterpe edulis* Martius). *Revista Eletrônica TECEN*, 4(2), 5-16.

Robert, P., Gorena, T., Romero, N., Sepulveda, E., Chavez, J., Saenz, C. (2010). Encapsulation of polyphenols and anthocyanins from pomegranate (*Punica granatum*) by spray drying. *International Journal of Food Science and Technology*, 45, 1386–1394.

Rufino, M. S. M., Alves, R. E., Brito, E. S., Pérez-Giménez, J., Saura-Calixto, F., Filho J. M. (2010). Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. *Food Chemistry*, 121, 996-1002.

Sarkar, S., Gupta, S., Variyar, P. S., Sharma, A., Singhal, R. S. (2013). Hydrophobic derivatives of guar gum Arabic as matrices for microencapsulation of mint oil. *Carbohydrate polymers*, 95, 177-182.

Selim, K. A., Khalil, K. E., Abdel-Bary, M. S., Abdel-Azeim, N. A. (2008). Extraction, Encapsulation and Utilization of Red Pigments from Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) as Natural Food Colourants. *Food Science and Technology Department*, 7-20.

Shao, Y., Xu, F., Sun, X., Bao, J., Beta, T. (2014). Phenolic acids, anthocyanins and antioxidant capacity in rice (*Oryza sativa* L.) grains at four stages of development after flowering. *Food Chemistry*, 143, 90-96.

Food and Bioprocess Technology

Silva, P. P. M., Carmo, L. F., Silva, G. M., Silveira-Diniz, M. F., Renata Casemiro, R. C., Spoto, M. H. F. (2013). Physical, chemical, and lipid composition of juçara (*Euterpe edulis* Mart.) Pulp. *Brazilian Journal Food Nutrition*, 24 (1), 7-13.

Silva, P. T., Fries, L. L. M., Menezes, C. R., Holkemi, A. T., Schwanl, C. L., Wigmannl, E. F., et al. (2014). Microencapsulation: concepts, mechanisms, methods and some applications in food technology. *Ciência Rural*, 44 (7), 1304-1311.

Sousa, C. M. M., Silva, H. R., Vieira-Jr, G. M., Ayres, M. C. C., Costa, C. L. S., Araújo, S. D. (2007). Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. *Química Nova*, 30 (2), 351-355.

Tonon, R. V., Brabet, C., Hubinger, M. D. (2009). Influence of drying air temperature and carrier agent concentration on the physicochemical properties of açai juice powder. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 29(2), 444-450.

Torre, M. P. D., Vera, C. F., Capote, F. P., Castro, M. D. L. (2013). Anthocyanidins, Proanthocyanidins, and Anthocyanins Profiling in Wine Lees by Solid-Phase Extraction–Liquid Chromatography Coupled to Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry with Data-Dependent Methods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61, 12539–12548.

Vieira, G. S., Cavalcanti, R. N., Meireles, M. A. A., Hubinger, M. D. (2013). Chemical and economic evaluation of natural antioxidant extracts obtained by ultrasound-assisted and agitated bed extraction from jussara (*Euterpe edulis*). *Journal of Food Engineering*, 119, 196-204.

Wang, W.D., Xu, S. Y. (2007). Degradation kinetics of anthocyanins in blackberry juice and concentrate. *Journal of Food Engineering*, 82, 271–275.

Food and Bioprocess Technology

WHO – World Health Organization (1998). **Quality control methods for medicinal plant materials** (pp. 25–26). Geneva: Switzerland.

Yousefi, S., Emam-Djomeh, Z., Mousavi, S. M. (2011). Effect of carrier type and spray drying on the physicochemical properties of powdered and reconstituted pomegranate juice (*Punica Granatum* L.). *Food Science and Technology*, 48(6):677–684.

APÊNDICES

Espectros obtidos por Infravermelho:

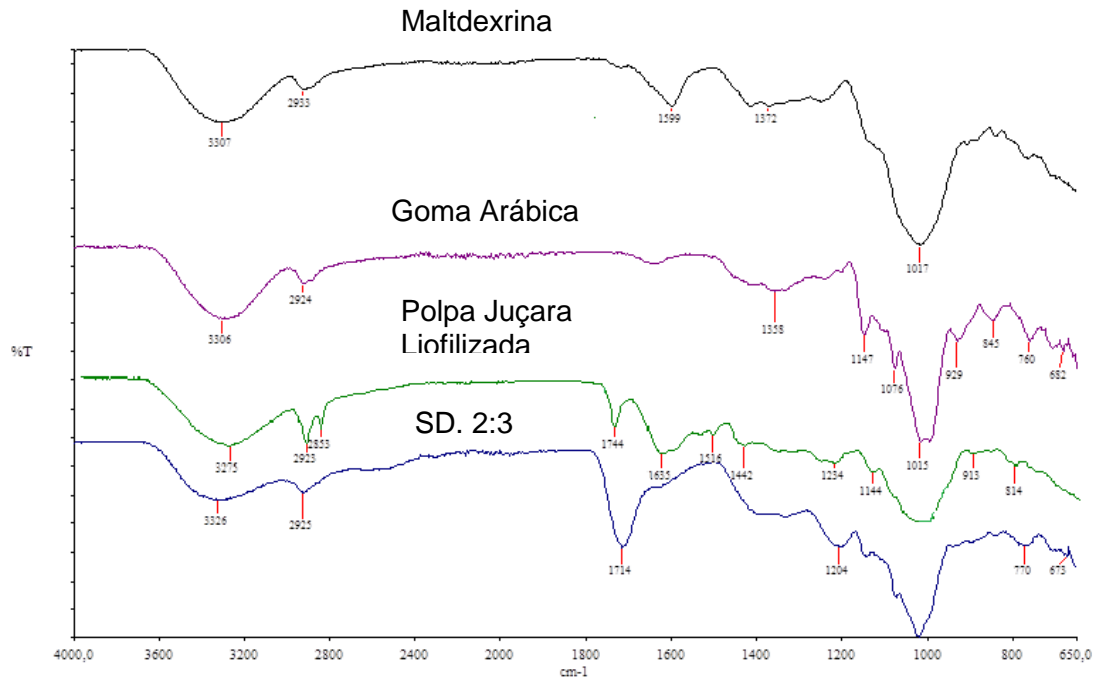


Fig 1. Espectros obtidos por Infravermelho para maltodextrina, goma arábica, polpa de juçara liofilizada e micropartículas obtidas por spray-dryer na proporção 2:3 (SD 2:3)

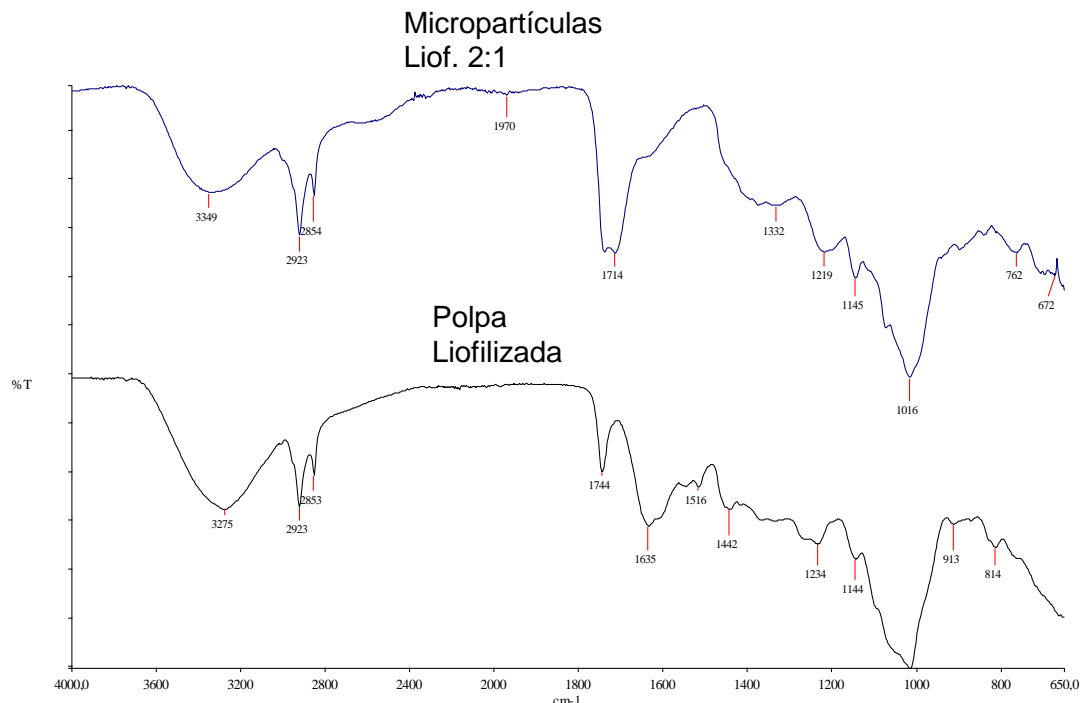


Fig 2. Espectros obtidos por Infravermelho para micropartículas obtidas por liofilização na proporção 2:1 (liof. 2:1) e polpa liofilizada.

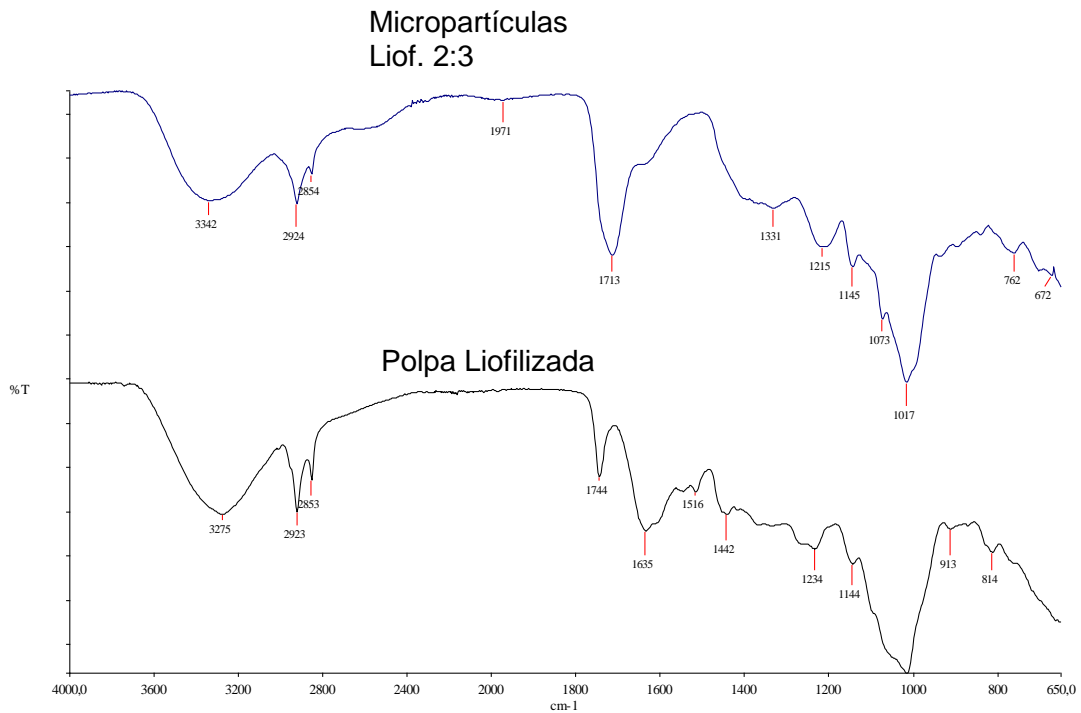


Fig 3. Espectros obtidos por Infravermelho para micropartículas obtidas por liofilização na proporção 2:3 (liof. 2:3) e polpa liofilizada.

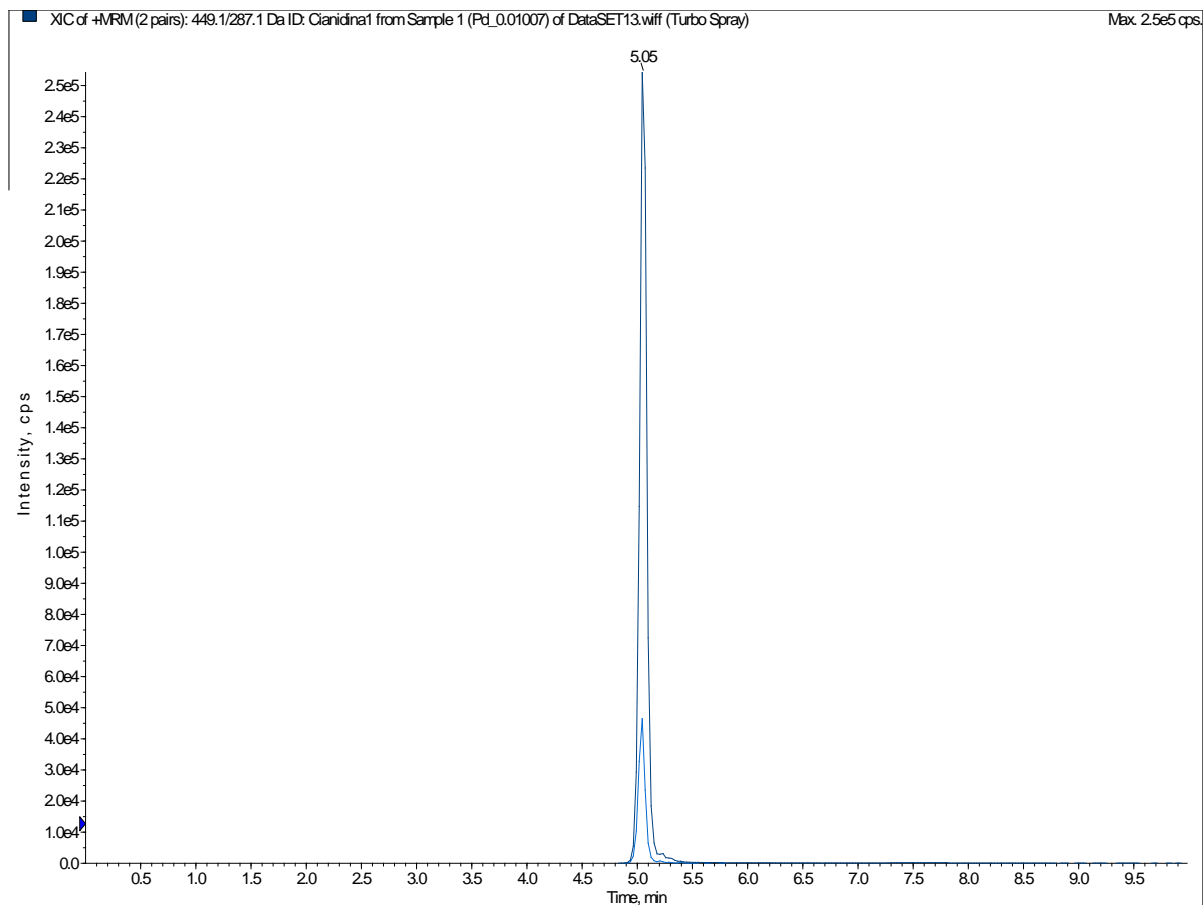


Fig 4. Cromatograma obtido em HPLC LC-MS/MS com a injeção de uma solução preparada com o padrão cianidina 3 – glicosídeo adicionado à solução polpa juçara.

ANEXOS

Norma de submissão de manuscrito na Revista : Food and Bioprocess Technology

Instructions for Authors

GENERAL INFORMATION Authors MUST submit their articles to Food and Bioprocess Technology online at <http://editorialmanager.com/fabt>. Manuscripts for FABT must have a strong food focus and contain elements of engineering/technology. In principle, manuscripts, which are on food science, food chemistry, food microbiology, food nutrition or food biotechnology, and without any engineering/technology component, will not be considered. In addition, MANUSCRIPTS FOR FABT MUST CONTAIN SUFFICIENT NOVELTIES. MANUSCRIPT SUBMISSION Search Home Subjects My Springer Services Products Springer Shop About us Login / Register Brazil 5/4/2015 Food and Bioprocess Technology incl. option to publish open access http://www.springer.com/food+science/journal/11947?print_view=true&detailsPage=pltdci_2429491 2/15 Manuscript Submission of a manuscript implies: that the work described has not been published before; that it is not under consideration for publication anywhere else; that its publication has been approved by all coauthors, if any, as well as by the responsible authorities – tacitly or explicitly – at the institute where the work has been carried out. The publisher will not be held legally responsible should there be any claims for compensation. Permissions Authors wishing to include figures, tables, or text passages that have already been published elsewhere are required to obtain permission from the copyright owner(s) for both the print and online format and to include evidence that such permission has been granted when submitting their papers. Any material received without such evidence will be assumed to originate from the authors. Online Submission Authors should submit their manuscripts online. Electronic submission substantially reduces the editorial processing and reviewing times and shortens overall publication times. Please follow the hyperlink “Submit online” on the right and upload all of your manuscript files following the instructions given on the screen.

TYPES OF PAPERS Original Paper, Review, Editorial, Communication

TITLE PAGE Title Page The title page should include: The name(s) of the author(s) A concise and informative title The affiliation(s) and address (es) of the author(s) The email address, telephone and fax numbers of the corresponding author **Abstract** Please provide an abstract of 150 to 250 words. The abstract should not contain any undefined abbreviations or unspecified references. **Keywords** Please provide 4 to 6 keywords which can be used for indexing purposes.

TEXT Text Formatting Manuscripts should be submitted in Word. Use a normal, plain font (e.g., 10point Times Roman) for text. 5/4/2015 Food and Bioprocess Technology incl. option to publish open access http://www.springer.com/food+science/journal/11947?print_view=true&detailsPage=pltdci_2429491 3/15 LaTeX macro package (zip, 182 kB) Use italics for emphasis. Use the automatic page numbering function to number the pages. Do not use field functions. Use tab stops or other commands for indents, not the space bar. Use the table function, not spreadsheets, to make tables. Use the equation editor or MathType for equations. Save your file in docx format (Word 2007 or higher) or doc format (older Word versions). Manuscripts with mathematical content can also be submitted in LaTeX. **Headings** Please use no more than three levels of displayed headings. **Abbreviations** should be defined at first mention and used consistently thereafter. **Footnotes** can be used to give additional information, which may include the citation of a reference included in the reference list. They should not consist solely of a reference citation, and they should never include the bibliographic details of a reference. They should also not contain any figures or tables. Footnotes to the text are numbered consecutively; those to tables should be indicated by superscript lowercase letters (or asterisks for significance values and other statistical data). Footnotes to the title or the authors of the article are not given reference symbols. Always use footnotes instead of endnotes. **Acknowledgments** Acknowledgments of people, grants, funds, etc. should be placed in a separate section before the reference list. The names of funding organizations should be written in full.

SPECIAL INSTRUCTION ON TEXT, arranged in the order:

1) **INTRODUCTION** clearly state the purpose of the article. Summarize the rationale for the study or observation. Give only strictly pertinent references,

and do not review the subject extensively. Each manuscript must contain an INTRODUCTION section,

2) MATERIALS AND METHODS describe your selection of the observational or experimental subjects clearly. Identify the methods, apparatus (manufacturer's name and address in parenthesis), and procedures in sufficient detail to allow others to reproduce the results. Give references to established methods, including statistical methods; provide references and brief descriptions of methods that have been published but are not well known, describe substantially modified methods, including statistical methods, give reasons for using them, and evaluate their limitations, 5/4/2015 Food and Bioprocess Technology incl. option to publish open access http://www.springer.com/food+science/journal/11947?print_view=true&detailsPage=pltcj_2429491 4/15

3) RESULTS AND DISCUSSION present your results in a logical sequence in the text, tables, and figures. Do not repeat in the text all the data in the tables and/or illustrations; emphasize or summarize only important observations. Indicate clearly number of replicates used and statistical analysis employed in experiments. Discuss the implications of the findings and their limitations and relate the observations to other relevant studies,

4) CONCLUSIONS summarize the new findings of the study. Do not repeat in detail data given in the Results and Discussion section. Link the conclusions with the goals of the study but avoid unqualified statements and conclusions not completely supported by your data. Avoid claiming priority and alluding to work that has not been completed. State new hypotheses when warranted, but clearly label them as such. Recommendations, when appropriate, may be included. Each Manuscript must contain a CONCLUSION section, and

5) ACKNOWLEDGMENTS acknowledge only persons who have made substantive contributions to the study. Authors are responsible for obtaining written permission from everyone acknowledged by name because readers may infer their endorsement of the data and conclusions.

REFERENCES Citation Cite references in the text by name and year in parentheses. Some examples: Negotiation research spans many disciplines (Thompson 1990). This result was later contradicted by Becker and Seligman (1996). This effect has been widely studied (Abbott 1991; Barakat et al. 1995;

Kelso and Smith 1998; Medvec et al. 1999). Reference list The list of references should only include works that are cited in the text and that have been published or accepted for publication. Personal communications and unpublished works should only be mentioned in the text. Do not use footnotes or endnotes as a substitute for a reference list. Reference list entries should be alphabetized by the last names of the first author of each work. Journal article Harris, M., Karper, E., Stacks, G., Hoffman, D., De Niro, R., Cruz, P., et al. (2001). Writing labs and the Hollywood connection. *Journal of Film Writing*, 44(3), 213– 245. Article by DOI Slifka, M. K., & Whitton, J. L. (2000) Clinical implications of dysregulated cytokine production. *Journal of Molecular Medicine*, doi:10.1007/s001090000086 Book Calfee, R. C., & Valencia, R. R. (1991). *APA guide to preparing manuscripts for journal publication*. Washington, DC: American Psychological Association. Book chapter O'Neil, J. M., & Egan, J. (1992). Men's and women's gender role journeys: Metaphor for healing, transition, and transformation. In B. R. Wainrib (Ed.), *Gender* 5/4/2015 Food and Bioprocess Technology incl. option to publish open access http://www.springer.com/food+science/journal/11947?print_view=true&detailsPage=pltc_i_2429491 5/15 EndNote style (zip, 3 kB) issues across the life cycle (pp. 107–123). New York: Springer. Online document: AbouAllaban, Y., Dell, M. L., Greenberg, W., Lomax, J., Peteet, J., Torres, M., & Cowell, V. (2006). Religious/spiritual commitments and psychiatric practice. Resource document. American Psychiatric Association. http://www.psych.org/edu/other_res/lib_archives/archives/200604.pdf.

Accessed 25 June 2007. Journal names and book titles should be italicized. For authors using EndNote, Springer provides an output style that supports the formatting of in text citations and reference list.

TABLES All tables are to be numbered using Arabic numerals. Tables should always be cited in text in consecutive numerical order. For each table, please supply a table caption (title) explaining the components of the table. Identify any previously published material by giving the original source in the form of a reference at the end of the table caption. Footnotes to tables should be indicated by superscript lowercase letters (or asterisks for significance values and other statistical data) and included beneath the table body.

ARTWORK AND ILLUSTRATIONS GUIDELINES Electronic Figure Submission

Supply all figures electronically. Indicate what graphics program was used to create the artwork. For vector graphics, the preferred format is EPS; for halftones, please use TIFF format. MSOffice files are also acceptable. Vector graphics containing fonts must have the fonts embedded in the files. Name your figure files with "Fig" and the figure number, e.g., Fig1.eps.

Line Art 5/4/2015 Food and Bioprocess Technology incl. option to publish open access http://www.springer.com/food+science/journal/11947?print_view=true&detailsPage=pltc_i_2429491 6/15 Definition: Black and white graphic with no shading. Do not use faint lines and/or lettering and check that all lines and lettering within the figures are legible at final size. All lines should be at least 0.1 mm (0.3 pt) wide. Scanned line drawings and line drawings in bitmap format should have a minimum resolution of 1200 dpi. Vector graphics containing fonts must have the fonts embedded in the files.

Halftone Art Definition: Photographs, drawings, or paintings with fine shading, etc. If any magnification is used in the photographs, indicate this by using scale bars within the figures themselves. Halftones should have a minimum resolution of 300 dpi.

5/4/2015 Food and Bioprocess Technology incl. option to publish open access http://www.springer.com/food+science/journal/11947?print_view=true&detailsPage=pltc_i_2429491 7/15 Combination Art Definition: a combination of halftone and line art, e.g., halftones containing line drawing, extensive lettering, color diagrams, etc. Combination artwork should have a minimum resolution of 600 dpi.

Color Art Color art is free of charge for online publication. If black and white will be shown in the print version, make sure that the main information will still be visible. Many colors are not distinguishable from one another when converted to black and white. A simple way to check this is to make a xerographic copy to see if the necessary distinctions between the different colors are still apparent. If the figures will be printed in black and white, do not refer to color in the captions. Color illustrations should be submitted as RGB (8 bits per channel).

Figure Lettering To add lettering, it is best to use Helvetica or Arial (sans serif fonts). Keep lettering consistently sized throughout your finalized artwork, usually about 2–3 mm (8–12 pt). Variance of type size within an illustration should be minimal, e.g., do not use 8pt type on an axis and 20pt type for the axis label. Avoid effects such as shading, outline letters, etc. Do not

include titles or captions within your illustrations. Figure Numbering All figures are to be numbered using Arabic numerals. 5/4/2015 Food and Bioprocess Technology incl. option to publish open access http://www.springer.com/food+science/journal/11947?print_view=true&detailsPage=pltc_i_2429491 8/15 Figures should always be cited in text in consecutive numerical order. Figure parts should be denoted by lowercase letters (a, b, c, etc.). If an appendix appears in your article and it contains one or more figures, continue the consecutive numbering of the main text. Do not number the appendix figures, "A1, A2, A3, etc." Figures in online appendices (Electronic Supplementary Material) should, however, be numbered separately. Figure Captions Each figure should have a concise caption describing accurately what the figure depicts. Include the captions in the text file of the manuscript, not in the figure file. Figure captions begin with the term Fig. in bold type, followed by the figure number, also in bold type. No punctuation is to be included after the number, nor is any punctuation to be placed at the end of the caption. Identify all elements found in the figure in the figure caption; and use boxes, circles, etc., as coordinate points in graphs. Identify previously published material by giving the original source in the form of a reference citation at the end of the figure caption. Figure Placement and Size When preparing your figures, size figures to fit in the column width. For most journals the figures should be 39 mm, 84 mm, 129 mm, or 174 mm wide and not higher than 234 mm. For books and booksized journals, the figures should be 80 mm or 122 mm wide and not higher than 198 mm. Permissions If you include figures that have already been published elsewhere, you must obtain permission from the copyright owner(s) for both the print and online format. Please be aware that some publishers do not grant electronic rights for free and that Springer will not be able to refund any costs that may have occurred to receive these permissions. In such cases, material from other sources should be used. Accessibility In order to give people of all abilities and disabilities access to the content of your figures, please make sure that All figures have descriptive captions (blind users could then use a text to speech software or a text to Braille hardware) Patterns are used instead of or in addition to colors for conveying information (colorblind users would then be able to distinguish the visual elements) Any figure lettering has a contrast ratio of at least 4.5:1

ELECTRONIC SUPPLEMENTARY MATERIAL Springer accepts electronic multimedia files (animations, movies, audio, etc.) and other supplementary files to be published online along with an article or a book chapter. This feature can add dimension to the author's article, as certain information cannot be printed or is more 5/4/2015 Food and Bioprocess Technology incl. option to publish open access

http://www.springer.com/food+science/journal/11947?print_view=true&detailsPage=pltc_i_2429491 9/15 convenient in electronic form. Submission Supply all supplementary material in standard file formats. Please include in each file the following information: article title, journal name, author names; affiliation and e-mail address of the corresponding author. To accommodate user downloads, please keep in mind that larger sized files may require very long download times and that some users may experience other problems during downloading. Audio, Video, and Animations Always use MPEG1 (.mpg) format. Text and Presentations Submit your material in PDF format; .doc or .ppt files are not suitable for long term viability. A collection of figures may also be combined in a PDF file. Spreadsheets Spread sheets should be converted to PDF if no interaction with the data is intended. If the readers should be encouraged to make their own calculations, spreadsheets should be submitted as .xls files (MS Excel). Specialized Formats Specialized format such as .pdb (chemical), .wrl (VRML), .nb (Mathematica notebook), and .tex can also be supplied. Collecting Multiple Files It is possible to collect multiple files in a .zip or .gz file. Numbering If supplying any supplementary material, the text must make specific mention of the material as a citation, similar to that of figures and tables. Refer to the supplementary files as "Online Resource", e.g., "... as shown in the animation (Online Resource 3)", "... additional data are given in Online Resource 4". Name the files consecutively, e.g. "ESM_3.mpg", "ESM_4.pdf". Captions For each supplementary material, please supply a concise caption describing the content of the file. Processing of supplementary files Electronic supplementary material will be published as received from the author 5/4/2015 Food and Bioprocess Technology incl. option to publish open access http://www.springer.com/food+science/journal/11947?print_view=true&detailsPage=pltc_i_2429491 10/15 without any conversion, editing, or reformatting. Accessibility In order to give people of all abilities and disabilities access to the

content of your supplementary files, please make sure that The manuscript contains a descriptive caption for each supplementary material Video files do not contain anything that flashes more than three times per second (so that users prone to seizures caused by such effects are not put at risk)

COMPLIANCE WITH ETHICAL STANDARDS To ensure objectivity and transparency in research and to ensure that accepted principles of ethical and professional conduct have been followed, authors should include information regarding sources of funding, potential conflicts of interest (financial or non-financial), informed consent if the research involved human participants, and a statement on welfare of animals if the research involved animals. Authors should include the following statements (if applicable) in a separate section entitled “Compliance with Ethical Standards” before the References when submitting a paper: Disclosure of potential conflicts of interest Research involving Human Participants and/or Animals Informed consent Please note that standards could vary slightly per journal dependent on their peer review policies (i.e. double blind peer review) as well as per journal subject discipline. Before submitting your article check the Instructions for Authors carefully. The corresponding author should be prepared to collect documentation of compliance with ethical standards and send if requested during peer review or after publication. The Editors reserve the right to reject manuscripts that do not comply with the abovementioned guidelines. The author will be held responsible for false statements or failure to fulfill the abovementioned guidelines.

LANGUAGE Manuscripts that are accepted for publication will be checked by our copyeditors for spelling and formal style. This may not be sufficient if English is not your native language and substantial editing would be required. In that case, you may want to ask a native speaker to help you or arrange for your manuscript to be checked by a professional language editor prior to submission. A clear and concise language will help editors and reviewers concentrate on the scientific content of your paper and thus smooth the peer review process. The following editing service provides language editing for scientific articles in medicine, biomedical and life sciences, chemistry, physics, engineering, business/economics, and humanities Edanz Editing Global Please contact the

editing service directly to make arrangements for editing and payment. Use of an editing service is neither a requirement nor a guarantee of acceptance for publication.