

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel
Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos



Tese

**Obtenção de óleo de abacate por diferentes processos: avaliação da
qualidade, perfil de biocompostos e incorporação em fibras ultrafinas de zeína**

Fernanda Döring Krumreich

Pelotas, 2018.

Fernanda Döring Krumreich

Obtenção de óleo de abacate por diferentes processos: avaliação da qualidade, perfil de biocompostos e incorporação em fibras ultrafinas de zeína

Tese apresentada à Universidade Federal de Pelotas, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Faculdade de Agronomia “Eliseu Maciel”, como requisito parcial à obtenção do título de Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Prof. PhD Rui Carlos Zambiasi

Coorientador (as): Prof. Dra Caroline Dellinghausen Borges

Prof.^a Dra. Carla Rosane Barboza Mendonça

Pelotas, 2018.

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

K94o Krumreich, Fernanda Döring

Obtenção de óleo de abacate por diferentes processos: avaliação da qualidade, perfil de biocompostos e incorporação em fibras ultrafinas de zeína / Fernanda Döring Krumreich ; Rui Carlos Zambiasi, orientador ; Caroline Dellinghausen Borges, Carla Rosane Barboza Mendonça, coorientadoras. — Pelotas, 2018.

115 f.

Tese (Doutorado) — Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2018.

1. Persea americana M. 2. Perfil de ácidos graxos. 3. Bioativos. 4. Pigmentos. 5. Encapsulação. I. Zambiasi, Rui Carlos, orient. II. Borges, Caroline Dellinghausen, coorient. III. Mendonça, Carla Rosane Barboza, coorient. IV. Título.

CDD : 664

Fernanda Döring Krumreich

Obtenção de óleo de abacate por diferentes processos: avaliação da qualidade,
perfil de biocompostos e incorporação em fibras ultrafinas de zeína

Tese aprovada, como requisito parcial, para obtenção do grau de Doutora em
Ciência e Tecnologia de Alimentos, Programa de Pós-Graduação em Ciência e
Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade
Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 01 de março de 2018.

Banca examinadora:

.....

Prof. Dr. Rui Carlos Zambiasi (Orientador)

Doutor em Food and Nutricional Science pela University of Manitoba.

.....

Prof^a. Dra. Carla Rosane Barboza Mendonça

Doutora em Química pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

.....

Prof^a. Dra. Tatiana Valesca Rodriguez Alicieo

Doutora em Engenharia Química pela Universidade Estadual de Maringá.

.....

Dra. Luciana Prietto Prietsch

Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal de
Pelotas.

.....

Dra. Deborah Murowaniecki Otero

Doutora em Engenharia e Ciência de Alimentos pela Universidade Federal do Rio
Grande.

.....

**Dedico este trabalho as pessoas
mais importantes da minha vida,
minha família.**

Agradecimentos

Primeiramente a Deus, pela minha vida, e força dada para que este trabalho chegasse ao seu final.

Ao meu esposo, Gerson Buss, pelo amor e companheirismo durante todos esses anos.

Aos meus pais, Gislaine Döring Krumreich e Silvio Rutz Krumreich, irmã Marilene, cunhado Jeverson e minha amada sobrinha Gabriela, pelo amor, carinho, orações, palavras de apoio e principalmente compreensão pela ausência durante esses últimos anos. Amo muito vocês!

Ao professor Rui Carlos Zambiasi pela orientação e ensinamentos repassados, bem como as orientadoras Caroline Dellinghausen Borges e Carla Rosane Barboza Mendonça pela valiosa orientação, por todo apoio, disponibilidade, paciência e principalmente amizade. Vocês são pessoas muito especiais na minha vida.

Ao CEME-SUL (FURG) pela realização de algumas análises.

À querida Luciana Prietto Prietsch por transferir todo o seu conhecimento do *electrospinning* e pela incansável ajuda e amizade.

Às colegas do laboratório de cromatografia pela amizade, companheirismo, auxílio e pelos momentos de descontração. Adoro vocês!!!

Aos amigos que mesmo não fazendo parte do laboratório sempre me ajudaram no que precisei, em especial, a Mariana Antunes, Francine Tavares, Shanise El Halal, Helen Hackbart e Marco dos Santos.

À todos os amigos que embora não citados aqui contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho e para o meu crescimento profissional.

À todos os colegas, professores e funcionários do DCTA, em especial aos professores Elessandra e Alvaro Renato pela contribuição no desenvolvimento do trabalho.

Aos participantes da banca pela disposição de participarem.

À UFPEL e ao DCTA pela oportunidade para a realização deste trabalho.

À CAPES pela concessão da bolsa.

Em especial ao Sr. José Carlos Gonçalves, produtor de abacates, pela disponibilização dos frutos utilizados neste estudo, o nosso muito obrigada.

***"A coisa mais indispensável a um homem é reconhecer o
uso que deve fazer do seu próprio conhecimento."
(Platão)***

Resumo

KRUMREICH, Fernanda Döring. **Obtenção de óleo de abacate por diferentes processos: avaliação da qualidade, perfil de biocompostos e incorporação em fibras ultrafinas de zeína**. 2018. 115f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2018.

O abacate (*Persea americana* Mill), pertencente à família *Lauraceae* é uma frutífera subtropical que possui grande importância econômica devido a qualidade nutritiva dos seus frutos e do óleo extraído da polpa, o qual possui grande similaridade de composição de ácidos graxos com o azeite de oliva. Assim, o objetivo desse trabalho foi obter óleo da polpa de abacate da variedade Breda através de diferentes processos caracterizar e utilizar o óleo para a inclusão em fibras ultrafinas de zeína por meio da técnica de *electrospinning*. Para realizar a extração dos óleos de abacate, a polpa foi submetida tanto à secagem em estufa sob ventilação (40 °C e 60 °C) quanto em estufa a vácuo (60 °C) e a extração foi realizada por prensagem mecânica ou por Soxhlet utilizando éter de petróleo como solvente. Os abacates da variedade Breda são frutos de porte grande contendo cerca de 72% de polpa em relação ao peso total do fruto, destacando-se pelo expressivo conteúdo de umidade, proteínas e alta atividade antioxidante. Em relação ao teor de óleo obtido em função dos diferentes processos, ficou na faixa entre 25 a 43% com a prensagem mecânica e, entre 43 a 55% com a extração por solvente. Após a avaliação dos índices de qualidade, de compostos bioativos e do perfil de ácidos graxos, constatou-se, que o teor de compostos bioativos foi superior quando a polpa de abacate foi seca a 60 °C (estufa sob ventilação ou vácuo) e utilizado prensagem mecânica para a extração do óleo. Com intuito de desenvolver fibras ultrafinas de zeína pela técnica de *electrospinning*, o óleo de abacate que apresentou o maior teor de compostos bioativos, dentre os quais, carotenoides, foi incorporado nas concentrações de 15 e 30% (p/p) nas soluções poliméricas de zeína a 20, 25 e 30% (p/v). Análises das soluções poliméricas indicaram um aumento na viscosidade aparente com o aumento da concentração de zeína, mas o mesmo não ocorreu com a condutividade elétrica. Em meio as diferentes concentrações de zeína utilizadas e de óleo de abacate incorporado nas fibras, observou-se eficiência de encapsulação superior a 77% para a maioria das fibras, tendo as concentrações de 30% de zeína independente do teor de óleo utilizado, apresentado a concentração ideal para a formação de fibras ultrafinas contínuas, sem a ocorrência de fragmentação e formação de *beads* e com superfícies lisas e distribuição de diâmetro variando entre 357 a 971 nm. Pela técnica de espectroscopia no infravermelho com Transformada de Fourier foi evidenciada a encapsulação do óleo nas fibras de zeína. E a de Difractometria de raio-X demonstrou a estrutura amorfa das fibras. Em relação a liberação dos carotenoides, observou-se que em pHs próximos a neutralidade (6 e 8), temperaturas de 60 e 90 °C e agitações de 18 rpm por até 1 min, reduziram a liberação dos carotenoides da fibra composta de 30% de zeína e 30% de óleo. Essa mesma fibra apresentou perfil próximo ao ideal de liberação dos carotenoides em condições gastrointestinais simuladas.

Palavras-chaves: *Persea americana* M.; perfil de ácidos graxos; bioativos; pigmentos; encapsulação.

Abstract

KRUMREICH, Fernanda Döring. **Obtention of avocado oil by different processes: quality evaluation, profile of bioactive compounds and incorporation in ultrafine zein fibers.** 2018. 115f. Thesis (doctorate degree in Food Science and Technology) - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2018.

The avocado (*Persea americana* Mill), belonging to the family *Lauraceae*, is a subtropical fruit that has great economic importance due to the nutritive quality of its fruits and its oil extracted from the pulp, which has great similarity of composition of fatty acids with the olive oil. Thus, the objective of this work was to obtain oil from the avocado pulp through different processes and to use the oil for inclusion in ultrafine zein fibers by means of the electrospinning technique. In order to extract the avocado oils, the pulp was submitted to drying in an oven under ventilation (40 °C and 60 °C) or in a vacuum oven (60 °C), and the oil extraction was performed by mechanical pressing or by Soxhlet using solvent. The avocados of the Breda variety are large-sized fruits containing about 72% of pulp in relation to the total weight of the fruit, being distinguished by the expressive content of moisture, proteins and high antioxidant activity. The oil content obtained in function of the different processes was in the range between 25 to 43% with the mechanical pressing and, between 43 to 55% with the solvent extraction. After evaluating the quality indexes, bioactive compounds and the fatty acid profile, it was verified that the bioactive compounds were superior when the avocado pulp was dried at 60 °C (oven under ventilation or vacuum) and the oil extracted by mechanical pressing. In order to develop ultrafine zein fibers by the electrospinning technique, the avocado oil with the highest content of bioactive compounds, among which, carotenoids, that was obtained by the vacuum drying process of the pulp followed by mechanical pressing, it was incorporated in the concentrations of 15 and 30% (w / w) in 20, 25 and 30% (w / v) zein polymer solutions. Analyzes of the polymer solutions indicated an increase in the apparent viscosity with the increase of the zein concentration, but the same did not occur with the electrical conductivity. Among the different concentrations of zein and avocado oil incorporated in the fibers, encapsulation efficiency was higher than 77% for most of the fibers, with the concentrations of 30% zein independent of the oil concentration used, presented to ideal concentration for the formation of continuous ultrafine fibers without the occurrence of fragmentation and formation of beads and with smooth surfaces with a diameter distribution ranging from 357 to 971 nm. The Fourier Transform Infrared Spectroscopy technique evidenced the encapsulation of the oil in zein fibers. The X-ray diffraction showed the amorphous structure of the fibers. Regarding the release of carotenoids at different conditions, it was verified that at pHs close to neutrality (6 and 8), temperatures of 60 and 90 °C and shaking at 18 rpm for up to 1 min, reduced the carotenoid release of the composite fiber of 30% zein and 30% oil. The same fiber composition presented an ideal profile of carotenoid release in simulated gastrointestinal conditions.

Keywords: *Persea americana* M.; fatty acid profile; bioactive; pigments; encapsulation.

Lista de Figuras

Figura 1	Abacateiro (A); abacates (B).....	20
Figura 2	Endocarpo, mesocarpo e epicarpo de abacate.....	20
Figura 3	Estrutura química dos carotenoides mais encontrados em frutos.....	25
Figura 4	Modelo de uma estação de <i>electrospinning</i> para a formação de fibras ultrafinas. A - placa fixa; B - cilindro rotativo.....	28
Figura 5	Representação do funcionamento da técnica de <i>electrospinning</i>	29
Capítulo 1.	Compostos bioativos e índices de qualidade do óleo de abacate obtido por diferentes processos	
Figura 1	Porcentagem de óleo extraído da polpa de abacates da variedade Breda, em função do processo de secagem da polpa a 40 °C e 60 °C (40P, 40S, 60P e 60S) e a vácuo a 60 °C (60 VP e 60 VS) e do método de extração do óleo por presagem mecânica (40P, 60P e 60VP) ou Soxhlet (40S, 60S e 60VS).....	40
Figura 2	Figura 2 - Cromatograma típico de GC/MS do óleo de abacate variedade Breda obtido por diferentes processos de secagem da polpa e método de extração do óleo.....	52
Capítulo 2.	Encapsulação de óleo de abacate em fibras ultrafinas de zeína por <i>electrospinning</i>	
Figura 1	Morfologia das fibras ultrafinas e respectiva distribuição de tamanho.....	73

Figura 2	Espectros de FTIR-ATR para zeína pó, óleo de abacate e fibras ultrafinas de zeína.....	74
Figura 3	Difração de raio-X para zeína pó e fibras ultrafinas de zeína.....	76
Figura 4	Liberação dos carotenoides da fibra contendo 30% de zeína e 30% de óleo de abacate em pHs de 2, 4, 6, 8 e 10.....	78
Figura 5	Liberação dos carotenoides em temperaturas de 20, 60 e 90 °C para a fibra contendo 30% de zeína e 30% de óleo de abacate.....	79
Figura 6	Liberação dos carotenoides em diferentes rotações e tempos de agitação para a fibra contendo 30% de zeína e 30% de óleo de abacate.....	80
Figura 7	Perfil de liberação de carotenoides das fibras ultrafinas de zeína, em condições gastrointestinais in vitro simuladas.....	81

Lista de Tabelas

Tabela 1	Estudos relativos ao método de extração do óleo de abacate.....	22
Capítulo 1.	Compostos bioativos e índices de qualidade do óleo de abacate obtido por diferentes processos	
Tabela 1	Características físico-químicas e compostos bioativos na polpa de abacate da variedade Breda.....	37
Tabela 2	Índices de qualidade do óleo de abacate da variedade Breda obtido por diferentes formas de secagem da polpa e de métodos de extração do óleo.....	41
Tabela 3	Coeficiente de extinção específica a 232 nm (K_{232}) e 270 nm (K_{270}) do óleo de abacate obtido por diferentes formas de secagem da polpa e método de extração do óleo.....	44
Tabela 4	Compostos bioativos do óleo de abacate da variedade Breda obtido por diferentes formas de secagem da polpa e de métodos de extração do óleo.....	47
Tabela 5	Composição (% relativo) de ácidos graxos no óleo de abacate da variedade Breda obtido por diferentes formas de secagem e de métodos de extração do óleo da polpa.....	50
Tabela 6	Fitoesteróis do óleo de abacate da variedade Breda obtido por diferentes formas de secagem da polpa e métodos de extração do óleo.....	51

Capítulo 2. Encapsulação de óleo de abacate em fibras ultrafinas de zeína por *electrospinning*

Tabela 1	Viscosidade aparente e condutividade elétrica das soluções poliméricas de zeína incorporadas com óleo de abacate.....	67
Tabela 2	Eficiência de encapsulação dos carotenoides presentes no óleo de abacate.....	69

Sumário

1 Introdução.....	14
1.1 Hipóteses.....	16
1.2 Objetivos.....	16
1.2.1 Objetivo geral.....	16
1.2.2 Objetivos específicos.....	16
2 Revisão da literatura.....	18
2.1 Abacate.....	18
2.2 Óleo de abacate	20
2.3 Métodos de extração de óleo de abacate	21
2.4 Carotenoides.....	24
2.5 Encapsulação.....	26
2.6 <i>Electrospinning</i>	28
2.7 Zeína.....	30
2.8 Aplicação em matrizes alimentares.....	31
3 Capítulo 1- Compostos bioativos e índices de qualidade do óleo de abacate obtido por diferentes processos.....	33
Resumo.....	33
3.1 Introdução	33
3.2 Material e métodos.....	34
3.2.1 Materiais.....	34
3.2.1.1 Amostra.....	35
3.2.1.2 Métodos.....	35
3.3 Análise estatística.....	36
3.4 Resultados e Discussão.....	36
3.5 Conclusão.....	53
3.6 Referências.....	53
4 Capítulo 2 - Encapsulação de óleo de abacate em fibras ultrafinas de zeína por <i>electrospinning</i>	60
Resumo.....	60
4.1 Introdução.....	60

4.2 Material e métodos.....	62
4.2.1 Materiais.....	62
4.2.2 Métodos.....	62
4.2.2.1 Extração do óleo de abacate.....	62
4.2.2.2 Preparo das soluções de zeína e óleo de abacate.....	63
4.2.2.3 Produção de fibras ultrafinas pela técnica de <i>electrospinning</i>	63
4.2.2.4 Avaliação das soluções poliméricas.....	63
4.2.2.5 Avaliação das fibras ultrafinas de zeína e óleo de abacate.....	64
4.2.2.5.1 Eficiência de encapsulação.....	64
4.2.2.5.2 Morfologia e distribuição de diâmetro das fibras ultrafinas.....	65
4.2.2.5.3 FTIR-ATR.....	65
4.2.2.5.4 Difração de raio-X.....	65
4.2.2.6 Liberação de carotenoides.....	65
4.2.2.6.1 Liberação de carotenoides em diferentes pHs, temperatura e condições de agitação.....	65
4.2.2.6.2 Liberação de carotenoides gastrointestinal <i>in vitro</i>	66
4.3 Análise estatística.....	66
4.4 Resultados e discussão.....	67
4.4.1 Caracterização das soluções poliméricas.....	67
4.4.2 Caracterização das fibras ultrafinas de zeína e óleo de abacate.....	68
4.4.2.1 Eficiência de encapsulação.....	68
4.4.2.2 Morfologia e distribuição de diâmetro.....	70
4.4.2.3 FTIR-ATR.....	73
4.4.2.4 Difração de raio-X.....	76
4.4.3 Liberação de carotenoides.....	77
4.4.3.1 Liberação de carotenoides em diferentes pHs, temperatura condições de agitação.....	77
4.4.3.2 Simulação gastrointestinal <i>in vitro</i>	81
4.5 Conclusões.....	83
4.6 Referências.....	83
5. Considerações finais.....	90
6. Sugestão para trabalho futuro.....	91
7. Referências.....	91

1 Introdução

O abacate (*Persea americana* Mill.) é um fruto originário da América Central, é cultivado em diversos países, dentre os quais o Brasil, que ocupa a oitava posição entre os maiores produtores mundiais (FAO, 2017), tendo atingido uma produção de mais de 180 mil toneladas no ano de 2015 (IBGE/PAM, 2016). A variedade Breda é uma das mais consumidas, a qual se destaca pelo sabor mais doce, atendendo as características do hábito alimentar do consumidor brasileiro (HOLBACH, 2012).

O fruto do abacateiro se distingue dentre os demais, por ser um dos mais completos em relação a sua qualidade nutricional, com teores de proteína na polpa variando de 1 a 2%, de açúcares de 3 a 8% e de óleo de 5 a 35%, o qual apresenta elevado teor de ácidos graxos insaturados. Além disso, contém também diversos sais minerais e vitaminas, principalmente a C e E (α -tocoferol e γ -tocoferol) (TANGO; TURATTI, 1992; JACOBO-VELÁSQUEZ; HERNÁNDEZ-BRENES, 2012; BERASATEGI et al., 2012).

O abacate é consumido principalmente, de forma *in natura*, contudo, industrialmente, entre os principais produtos utilizados, destaca-se o óleo, que contém compostos lipofílicos benéficos para a saúde (DING; CHIN; KINGHORN, 2007), dentre os quais podem ser citados os carotenoides, que apresentam propriedades antioxidantes. Além dos carotenoides, outros constituintes são encontrados na fração lipídica dos abacates, como: ácidos graxos, fitoesteróis, alcoóis alifáticos, alcoóis terpênicos, tocoferóis e esqualeno (SANTOS et al., 2014). No entanto, os carotenoides, devido à estrutura altamente insaturada, apresentam elevada instabilidade mediante luz, calor e oxigênio (PETITO et al., 2016), podendo se degradar em função de diversas variáveis ao longo da cadeia produtiva, principalmente nas etapas de processamento, o que leva a perda de suas propriedades fisiológicas. Assim, a influência de diferentes operações unitárias sobre os carotenoides tem sido pesquisada (JACOBO-VELÁSQUEZ; HERNÁNDEZ-BRENES, 2012).

Dentre os processos de extração do óleo de abacate, a secagem da polpa pode ser uma etapa crítica em relação à ocorrência de alterações, a qual tem como função reduzir a umidade a níveis que propiciem propriedades mecânicas e físico-químicas para a extração de óleo (SANTANA et al., 2011). A secagem convencional de matérias-primas alimentícias ocorre pela exposição do material ao binômio

tempo-temperatura, cuja intensidade pode possibilitar a ocorrência de reações de oxidação e de degradação de compostos bioativos.

Ultimamente, vários processos têm sido sugeridos para extrair óleo da polpa de abacate, como: centrifugação, extração a quente com hexano (ORTEGA et al., 2011), extração com metanol, extração com etanol (GALVÃO; NARAIN; NIGAM, 2014), prensagem a frio, extração com éter de petróleo (SANTOS et al., 2014), por micro-ondas associado a prensagem, prensagem com polpa seca em estufa a 45 °C ou a 60 °C associada a enzimas, extração com éter de petróleo com polpa seca em estufa a 45 °C ou a 60 °C associada a enzima, extração com etanol e polpa seca em estufa a 60 °C (SANTANA et al., 2015), por processos sono-físicos (MARTÍNEZ-PADILLA et al., 2018), por CO₂ supercrítico, pela mistura de CO₂ e etanol como solvente (CORZZINI et al., 2017), pelo processo supercrítico simultâneo (BARROS; GRIMALDI; CABRAL, 2017) e por CO₂ subcrítico e extração aquosa assistida por ultra-som (TAN et al., 2018).

A obtenção de produtos alimentícios que proporcionem a manutenção dos compostos naturais e bioativos tem sido motivada, principalmente, pela demanda dos consumidores por uma alimentação mais saudável. Nesse contexto, tem sido crescente o interesse pelos benefícios evidenciados por carotenoides, pois além de poderem ser adicionados à alimentos e produtos industrializados, como corante, aromatizante e suplemento nutricional, os carotenoides estão envolvidos na prevenção de diversas doenças, como o câncer, doenças cardiovasculares e outras doenças relacionadas à baixa função imune (ZAGHDOUDI et al., 2015). Com esse intuito, as tecnologias de encapsulação vêm atraindo a atenção dos fabricantes de alimentos, os quais em busca de inovação por alimentos com aumentado valor nutricional encontram nessa tecnologia uma forma de enriquecer alimentos com compostos bioativos (LOPEZ-RUBIO et al., 2006).

A técnica de *electrospinning* é uma das várias técnicas para a encapsulação de compostos bioativos, a qual pode produzir fibras. As fibras apresentam elevada relação entre superfície e volume, alta porosidade e maleabilidade, grande variação de tamanho e formas, o que possibilita a incorporação de compostos com diversas funções e elevada resistência mecânica (BHUSHANI; ANANDHARAMAKRISHNAN, 2014).

Considerando que o óleo de abacate é rico em biocompostos, em especial em carotenoides, deseja-se avaliar o impacto dos processos aplicados no conteúdo destes compostos, perfil de ácidos graxos e em parâmetros de qualidade do óleo, bem como incorporá-lo em fibras ultrafinas de zeína produzidas pela técnica de *electrospinning*.

1.1 Hipóteses

As condições de secagem da polpa do abacate e o método de extração do óleo influenciam nos índices de qualidade, no conteúdo de compostos bioativos e no perfil de ácidos graxos do óleo.

É possível obter nanofibras com óleo de abacate utilizando como material de parede a zeína, pela técnica de *electrospinning*.

Nanofibras de zeína contendo óleo de abacate rico em compostos bioativos propiciam proteção contra a liberação destes compostos durante condições de processamento, bem como apresentam liberação nos fluidos gastrointestinais simulados.

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo geral

Extrair e caracterizar os índices de qualidade e os compostos fitoquímicos do óleo da polpa de abacate obtido por diferentes métodos de secagem e de extração do óleo, bem como produzir fibras ultrafinas de zeína incorporadas com o óleo pela técnica de *electrospinning*.

1.2.2 Objetivos específicos

Determinar o peso total dos abacates e a representatividade percentual das cascas, polpas e caroços.

Caracterizar a polpa do abacate quanto a umidade, extrato seco total, açúcares totais, açúcares redutores, lipídeos, proteínas, fibra bruta, cinzas, sólidos solúveis totais, acidez total titulável e pH, além dos compostos bioativos, como carotenoides, clorofilas, compostos fenólicos e atividade antioxidante.

Avaliar diferentes condições de secagem da polpa de abacate (40 e 60°C em estufa convencional e 60°C em estufa a vácuo) e métodos de extração do óleo (solvente ou prensagem a frio).

Caracterizar os óleos de abacate obtidos pelos diferentes processos, quanto aos índices de peróxido, iodo, acidez, refração e condutividade, bem como quanto ao teor de carotenoides, clorofilas, compostos fenólicos, tocoferóis, fitoesteróis, além de determinar o perfil de ácidos graxos e a atividade antioxidante.

Obter fibras ultrafinas de zeína incorporadas com óleo de abacate, através da técnica de *electrospinning*.

Caracterizar as fibras ultrafinas de zeína contendo o óleo de abacate quanto à eficiência de encapsulação, morfologia, diâmetro, espectroscopia na região do infravermelho por transformada de Fourier acoplada à técnica de refletância total atenuada (FTIR-ATR), difratometria de raio-X, liberação em diferentes condições de processamento variando: pH, temperatura, condições de agitação e simulação gastrointestinal *in vitro*.

2 Revisão da literatura

2.1 Abacate

O abacate (*Persea americana*), pertence à família Lauraceae e ao gênero *Persea*, é um fruto tropical e subtropical, originário da América Central, mais especificamente da Guatemala, Antilhas e México (DAIUTO et al., 2010).

O maior produtor mundial de abacate em 2016, segundo a FAO (2017), foi o México, seguido pela Indonésia, República Dominicana, Estados Unidos, Colômbia, Peru, Chile, Brasil, Ruanda e Quênia, tendo esses países sido responsáveis por 81% da produção mundial. Nesse período, o Brasil ocupou a oitava colocação, produzindo mais de 180 mil toneladas desse fruto (IBGE/PAM, 2016), principalmente nas regiões Sudeste, Sul e Centro-Oeste. Os estados de São Paulo, Minas Gerais, Paraná e Rio Grande do Sul foram os maiores produtores (IBGE, 2016), com produção de 90,3; 50,4; 16,8 e 4,9 mil toneladas, respectivamente.

A variedade de abacate que se destaca no mercado externo é a Hass, a qual tem se expandido no Estado de São Paulo, tendo sido a décima variedade em volume exportado no ano de 2010, segundo o Instituto Brasileiro de Fruticultura – IBRAF (2017). No mercado interno, por sua vez, predomina o cultivo das variedades brasileiras: Geada, Quintal, Fortuna, Margarida e Breda.

No Brasil, há um grande potencial para a expansão do cultivo de abacate, o qual é dependente do desenvolvimento de campanhas internas de *marketing* para divulgação de novas maneiras de consumo deste fruto, como o seu uso em saladas, pratos salgados, sanduíches, patês, guacamole e na forma de óleo, além da divulgação dos benefícios que o consumo deste fruto propicia à saúde (ROBERTO et al., 2010).

A produção agrícola do abacate quando comparada com as demais oleaginosas comumente empregadas na produção de óleos comestíveis, apresenta inúmeras vantagens, dentre elas: maior produção de óleo por unidade de área plantada; aproveitamento de terrenos que por sua topografia mais acidentada não se prestam à mecanização; perenidade da planta e versatilidade agrícola, podendo ser produzido, praticamente, em todas as regiões do país (DANIELLE, 2006).

O consumo brasileiro *per capita* de abacate em 2013 foi em torno de 301 gramas/hab, enquanto que no México foi de 9,0 kg/hab. Segundo dados de 2011, o consumo *per capita* da fruta em Israel foi de 5,0 kg/hab, no Chile de 4,5 kg/hab e nos

Estados Unidos de 2,0 kg/hab por ano (NAAMANI, 2011). Em regiões como Espanha e alguns países da América do Sul o consumo do abacate processado vem crescendo, sendo o fruto utilizado como ingrediente no preparo de sorvetes, sopas ou em saladas (GONZÁLEZ-FERNANDES et al., 2015). Estudos visando o aproveitamento industrial do abacate para a extração de óleo e álcool para a geração de biocombustível e na fabricação de tintas, cosméticos, medicamentos e alimentos, também tem sido conduzidos (TANGO; CARVALHO; SOARES, 2004; MENEZES; LOPES; PASSARETTI FILHO, 2010).

O abacate apresenta elevado valor nutricional, com conteúdo significativo de fibras, proteínas, sais minerais e vitaminas, principalmente A, B (NIETO-ANGEL et al., 2006) C e E (α -tocoferol e γ -tocoferol) (BERASATEGI et al., 2012). Possui também significativa quantidade de carotenoides, fitoesteróis e ácidos graxos monoinsaturados (FULGONI; DREHER; DAVENPORT, 2013; DING; CHIN; KINGHORN, 2007; LU et al., 2005; Rocha, 2008).

A variedade Breda é uma das variedades de abacate mais consumidas no Brasil, por apresentar sabor mais doce, atende mais as características do hábito alimentar do consumidor brasileiro, que utilizam esta fruta, principalmente para o preparo de pratos doces (HOLBACH, 2012). Essa variedade surgiu na década de 30, e é uma das principais variedades tardias de abacate, sendo o pico de produção nos meses de setembro, outubro e novembro. Por serem mais resistentes ao manuseio, abacates da variedade Breda apresentam bom potencial de comercialização (OLIVEIRA et al., 2003).

A variedade Breda é um híbrido das raças Antilhana e Guatemalense, cuja árvore é perenifólia, ou seja, não perde suas folhas e chega a atingir 20 metros de altura (Figura 1A), quando adulta e desenvolvida. Os frutos dessa variedade apresentam formato piriforme, com formação de “pescoço”, coloração de casca verde e de polpa amarelada, casca de textura lisa e de espessura fina (HORTIESCOLHA, 2015) (Figura 1B).



Figura 1: Abacateiro (A); abacates (B).

Fonte: Figura (A) – Equipa know.net (2013); Figura (B) – autor (2017).

2.2 Óleo de abacate

O abacate é reconhecido como um fruto que possui alto conteúdo de lipídeos em sua polpa, podendo alcançar até 32% dependendo da variedade (OZDEMIR; TOPUZ, 2004).

Os lipídeos presentes no mesocarpo do abacate (Figura 2) são ricos em ácidos graxos monoinsaturados, principalmente ácido oleico (em torno de 60%), além deste, possui quantidades significativas dos ácidos graxos: palmítico (20%), linoleico (10%), palmitoleico (5%) e esteárico (0,5%). O teor de ácidos graxos, poli-insaturados (PUFA) no óleo de abacate, de acordo com Santos et al. (2014), é de aproximadamente 12%.

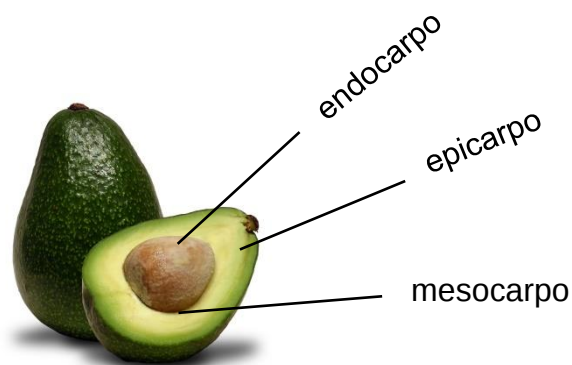


Figura 2: Endocarpo, mesocarpo e epicarpo do abacate.

Fonte: Avocado Slices-internet (2017).

O óleo de abacate apresenta além dos ácidos graxos, outros constituintes, como os fosfolipídeos, fitoesteróis e outros compostos bioativos, incluindo

carotenoides, álcoois alifáticos, álcoois terpênicos, tocoferóis e esqualeno (SANTOS et al., 2014).

O óleo bruto de abacate é utilizado, principalmente, na indústria de cosméticos, mas também pode ser utilizado na indústria de alimentos, tanto na elaboração de produtos quanto para o consumo direto. A indústria de fármacos também utiliza a fração lipídica, ou seja, incluindo o óleo, os insaponificáveis, entre outros, na elaboração de produtos farmacêuticos (WERMAN; NEEMAN, 1987; BAE; LEE, 2008).

A quantidade de lipídeos varia em relação às cultivares de abacate, diferenças geográficas, condições climáticas, tempo de colheita, método de extração, dentre outros (GÓMEZ-LÓPEZ, 2002; OZDEMIR; TOPUZ, 2004).

Uma possibilidade para aproveitar os benefícios do abacate seria a introdução do óleo de abacate puro para uso comestível ou utilizar em misturas com o azeite de oliva em substituição às misturas de azeite de oliva com óleos vegetais, normalmente oferecidas pelo mercado interno com a finalidade de diminuir os custos de importação do azeite de oliva no Brasil (CREDIDIO, 2010).

2.3 Métodos de extração de óleo de abacate

Dentre os diversos métodos já reportados para a extração do óleo de abacate, podem ser mencionados a extração por centrifugação da polpa úmida, extração do óleo por solventes, extração por prensagem hidráulica contínua ou descontínua, com a adição de material auxiliar de prensagem, por tratamento da polpa fresca com produtos químicos, por processos enzimáticos ou ainda por processos convencionais de extração de óleos utilizados para sementes oleaginosas (TURATTI et al., 1985; TANGO; TURATTI, 1992; BIZIMANA; BREENE; CSALLANY, 1993; BORA et al., 2001; SALGADO et al., 2008; SANTANA et al., 2011; ORTEGA; LÓPEZ; TORRE, 2013). Segundo esses autores, o óleo de abacate deve ser extraído quando os frutos estiverem maduros, pois é quando apresentam teores mais elevados de óleo.

O método mais comumente empregado para extração do óleo é com solventes, entretanto, os riscos ambientais ocasionados por solventes derivados do petróleo, servem de estímulo à busca por alternativas mais sustentáveis e que preservem os compostos bioativos, como é o caso da prensagem a frio, a qual utiliza

meios mecânicos ou físicos a temperaturas inferiores a 50 °C, de forma semelhante à aplicada para extração de azeite de oliva extra virgem (EYRES; SHERPA; HENDRIKS, 2001; WOOLF et al., 2009). Nova Zelândia, México, Chile, Estados Unidos e África do Sul estão entre os principais produtores de óleo de abacate prensado a frio, com uma produção de cerca de 2.000 ton/ano (WOOLF et al., 2009).

As características do óleo são amplamente influenciadas pelo processo de extração, pois, compostos voláteis, índice de acidez, teor de fosfolipídeos e de insaponificáveis, perfil de ácidos graxos, teor de compostos bioativos, bem como outras características, são dependentes da interação e da afinidade do solvente com o óleo e demais compostos lipossolúveis. Na tabela abaixo (Tabela 1) são relatados diversos estudos sobre processos que envolvem a extração do óleo de abacate.

Tabela 1 - Estudos relativos ao método de extração do óleo de abacate

Método/Solvente	Referência
- Extração com solvente (metanol: clorofórmio)	GUTIERREZ (1976)
- Extração com solvente (éter de petróleo)	
- Extração com solvente (acetona)	CURIEL; NEVE e PETACH (1985)
- Extração enzimática	BUENROSTRO; LOPEZ-MUNIZAGA (1986)
- Centrifugação	WERMAN e NEEMAN (1987)
- Calor e centrifugação	BIZIMANA et al. (1993)
- Extração por micro-ondas	ORTIZ-MORENO et al. (2003)
- Extração com solvente	
- Extração por micro-ondas	ORTIZ-MORENO et al. (2004)
- Extração com solvente	
- Centrifugação	ORTEGA et al. (2011)
- Extração com solvente (hexano-extração a frio)	
- Extração com solvente (hexano-extração a quente)	
- Extração com solvente (metanol)	GALVÃO; NARAIN e NIGAM
- Extração com solvente (etanol)	(2014)

	continuação
- Prensagem a frio e extração com solvente (polpa liofilizada)	SANTOS et al. (2014)
- Prensagem a frio (polpa liofilizada e seca a 40 °C e 70 °C)	
- Extração com solvente (éter de petróleo e polpa seca a 40 °C e 70 °C)	
- Micro-ondas + prensagem	SANTANA et al. (2015)
- Prensagem (polpa seca em estufa 60 °C ou a 45 °C + enzima)	
- Extração com solvente – éter de petróleo (polpa seca em estufa a 60 °C ou a 45 °C + enzima)	
- Extração com solvente – etanol (polpa seca em estufa a 60 °C)	
CO ₂ supercrítico e mistura de CO ₂ /etanol	CORZZINI et al. (2017)
Supercrítico simultâneo	BARROS; GRIMALDI; CABRAL (2017)
Processos sono-físicos	MARTÍNEZ-PADILLA et al. (2018)
CO ₂ subcrítico	TAM et al. (2018)
Extração aquosa assistida por ultra-som	

Segundo Santos et al. (2014), há uma constante busca por metodologias de extração que forneçam um óleo de qualidade com relação às suas propriedades físico-químicas e com menor perda de nutrientes. Neste contexto, surge o pré-processamento, o qual utiliza polpa *in natura*, polpa seca em estufa ou polpa liofilizada.

O método de secagem a vácuo, dentre os diversos métodos de secagem, é utilizado por ser um método intermediário entre a secagem tradicional e a liofilização, através do qual se obtém maiores taxas de evaporação da umidade e um produto final com melhores características quando comparado com a secagem tradicional com ar quente. Além disso, ainda permite trabalhar a pressões baixas com temperaturas moderadas (menores que 100 °C) (ARÉVALO-PINEDO; MURR, 2005).

A evaporação da água ocorre a baixas pressões sem, necessariamente utilizar altas temperaturas, sendo uma forma de secar materiais pela atenuação da pressão de vapor da água e fornecimento de um maior gradiente de temperatura entre o meio de aquecimento e o material.

2.4 Carotenoides

O óleo de abacate destaca-se pela quantidade e proporção relativa de ácidos graxos, no entanto, também apresenta conteúdo significativo em compostos bioativos, dentre os quais os carotenoides, que são um dos grupos de pigmentos mais difundidos na natureza, sendo responsáveis pela coloração amarela, laranja e vermelha de grande número de frutas, óleos, folhas e algumas flores (BOBBIO; BOBBIO, 1992).

Os carotenoides são substâncias insolúveis em água, derivados da união de unidades pentacarbonadas denominadas de isoprenos, os quais pertencem ao grupo dos terpenos. Esses são classificados como monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, triterpenos, tetraterpenos e politerpenos (TAIZ; ZEIGER, 2004). Os carotenoides estão localizados nos cromoplastos e também nos cloroplastos e estão associados à clorofila (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Os carotenoides dividem-se em dois grupos: carotenos (constituídos por hidrocarbonetos) e xantofilas (possuem oxigênio em sua molécula) (RODRIGUEZ-AMAYA, 1999; GONG; BASSI, 2016). Apesar do grande número de carotenoides encontrados em plantas, cerca de 700 estruturas foram identificadas, mas apenas 40 são encontrados em alimentos, e destes apenas 14 são biodisponíveis (BELITZ; GROSCH; SCHIEBERLE, 2009). Na Figura 3 encontram-se representadas algumas estruturas químicas de carotenoides comumente encontrados em frutos.

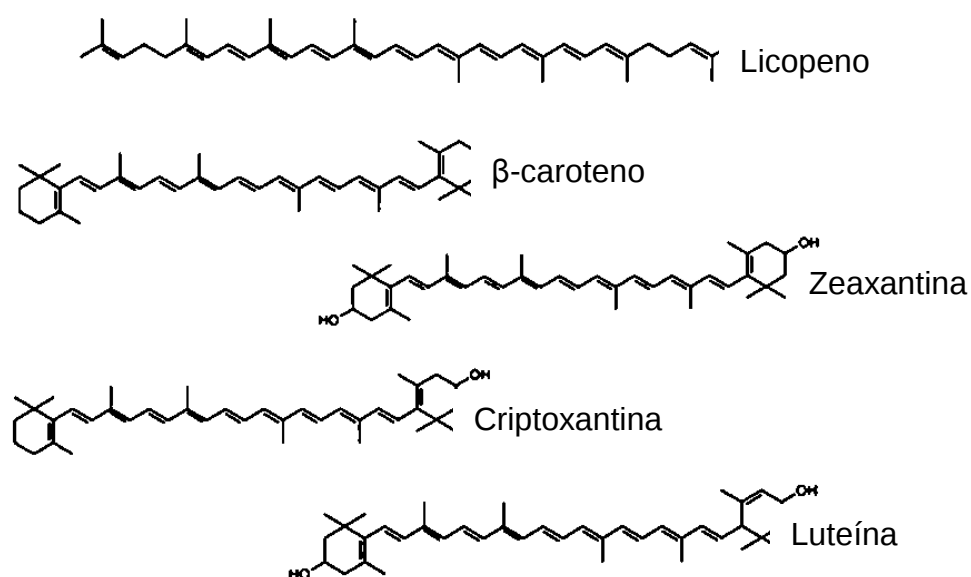


Figura 3. Estrutura química dos carotenoides mais encontrados em frutos.

Fonte: RODRIGUEZ-AMAYA; KIMURA; AMAYA-FARFAN (2008).

Segundo Limón et al. (2015), os carotenoides podem atuar como antioxidantes naturais, protegendo as células contra espécies reativas de oxigênio e radicais livres, devido ao sistema de duplas ligações conjugadas presente em sua estrutura, as quais influenciam nas suas propriedades químicas, bioquímicas e físicas.

Os carotenoides pró-vitâmicos contêm no mínimo um anel β -ionona em sua estrutura, os quais são convertidos em retinol, esses incluem o β -caroteno, α -caroteno, γ -caroteno, β -criptoxantina e α -criptoxantina (SAINI; NILE; PARK, 2015). O β -caroteno possui grande importância por ser abundante em plantas e frutas, sendo o carotenoide majoritário presente na dieta humana. Esse carotenoide é o principal precursor da vitamina A, e o único com potencial para produzir duas moléculas de retinol.

Por serem altamente insaturados, os carotenoides são facilmente suscetíveis à oxidação, bem como à isomerização, o que os converte da sua forma trans, configuração habitual e mais estável na natureza, para o isômero cis. Essa reação é promovida pela ação de ácidos, luz e altas temperaturas, resultando na alteração da cor e perda da atividade pró-vitamina A de alguns carotenoides (RODRIGUEZ-AMAYA, RODRIGUEZ; AMAYA-FARFAN, 2006). Nessa conjuntura, a tecnologia de encapsulação pode ser uma alternativa para minimizar as perdas de carotenoides.

Estudos vêm relatando a encapsulação de carotenoides de diversas fontes, como resíduo do processamento de camarão rosa (MEZZOMO et al., 2012), suco de espinheiro-marítimo (*Hippophae rhamnoides* L.) (LAOS et al., 2007), urucum (PARIZE; SOUZA; BRIGHENTE, 2008), suco de pitanga roxa (*Eugenia uniflora* L.) (RUTZ et al., 2013), oleoresina de tomate (XUE et al., 2013), resíduos de polpa de tomate (CHIU et al., 2007) e de algas castanhas e pardas (*Phaeophyceae*) (INDRAWATI et al., 2015) e também de carotenoides isolados como o licopeno (ROCHA; FÁVARO-TRINDADE; GROSSO, 2012) e β -caroteno (CORONEL-AGUILERA; MARTÍN-GONZÁLEZ, 2015; JARUNGLUMLERT; NAKAGAWA; ADACHI, 2015).

2.5 Encapsulação

A encapsulação é uma técnica nas quais partículas sólidas, líquidas ou gasosas, denominadas de núcleo são envolvidas por um revestimento o qual é referido como material de parede, formando no conjunto uma partícula (NESTERENKO et al., 2013). O material de parede pode levar várias denominações, dentre as quais: invólucro, membrana, parede, revestimento, matriz e agente encapsulante. Do mesmo modo, o conteúdo também apresenta várias designações, dentre elas, recheio, carga, agente ativo, composto ativo, ou “core” do inglês.

A encapsulação, segundo Beirão-da-Costa et al. (2012) é um processo que permite que compostos sensíveis possam ser fisicamente retidos numa matriz homogênea ou heterogênea que lhes confere proteção. Alguns outros propósitos da encapsulação incluem: a transformação de um líquido em sólido de modo a facilitar sua manipulação, o transporte e a adição em formulações; a separação de materiais reativos; a redução da toxicidade do material ativo; a promoção da liberação controlada do ativo encapsulado; a redução da volatilidade ou inflamabilidade de líquidos; o mascaramento de sabores e odores de determinados componentes; o aumento da vida de prateleira e a proteção contra a luz, umidade e calor (JACKSON; LEE, 1991).

As tecnologias de encapsulação vêm atraindo a atenção dos fabricantes de alimentos, os quais em busca de inovação encontram nessa tecnologia uma forma de enriquecer os alimentos com compostos bioativos (LOPEZ-RUBIO, et al., 2006). Para o encapsulamento de um composto ativo em particular, segundo Sanguansri e

Augustin (2010), é necessário o conhecimento do composto bioativo; dos materiais encapsulantes apropriados; das interações entre o composto bioativo, a matriz e o ambiente; a estabilidade do composto microencapsulado em armazenamento e quando incorporado no produto alimentar e os mecanismos de liberação controlada do composto bioativo.

O material encapsulado pode estar distribuído ou incrustado numa massa mais ou menos contínua referente ao agente encapsulante ou fazer parte de um complexo molecular.

Uma série de biopolímeros tem sido utilizada na encapsulação de ingredientes alimentícios. Geralmente, esses materiais de parede consistem em polímeros naturais, como: gomas (goma arábica, alginatos, carragenas, etc.), proteínas (do soro ou do leite, gelatinas, etc.) e maltodextrinas com diferentes dextroses equivalentes, ceras, dentre outros, pois apresentam menor custo em relação aos polímeros sintéticos (LIU et al., 2008).

A encapsulação de ingredientes alimentares pode ser alcançada mediante vários processos e a escolha do processo baseia-se em vários parâmetros tais como: tamanho médio desejado das partículas, propriedades físico-químicas do núcleo e do revestimento, aplicações do material microencapsulado, mecanismos de liberação desejados, escala de fabricação industrial e os custos de processo (SANTOS, 2005). Dentre os vários processos de encapsulação existentes, tanto mecânicos quanto químicos, podem ser citados atomização, *spray chilling/cooling*, leite fluidizante, extrusão, coacervação e inclusão molecular. Neste estudo será abordado apenas o processo de encapsulação via a técnica de *electrospinning*, considerada mundialmente uma das melhores alternativas para a produção de nanofibras (RAMAKRISHNA et al., 2005), o que motivou sua utilização para a encapsulação do óleo de abacate, descrita no Capítulo 2.

Vários estudos com encapsulação de óleos já foram realizados, como: óleo de girassol (BARRETO, 2008), óleo de linhaça (QUISPE-CONDORI; SALDAÑA; TEMELLI, 2011; CARNEIRO et al. 2013), óleo da semente de romã (GOULA; ADAMOPOULOS, 2012), óleo de girassol (GALLARDO et al., 2013; PIACENTINI et al., 2013), óleo de atum (WANG; ADHIKARI; BARROW, 2014), óleo de baunilha (YANG et al., 2014), semente de papoula (YANG et al., 2015), óleo de semente de

urucum (SILVA; ANGELA; MEIRELES, 2015; SILVA et al., 2015) e com óleo de peixe (CHATTERJEE; JUDEH 2016).

2.6 Electrospinning

O *electrospinning* é uma técnica que vem chamando a atenção de diversos pesquisadores (COSTA; RIBEIRO; MATTOSO, 2010), pois é utilizada para o preparo de micro e ultrafinas fibras poliméricas, a qual emprega campo elétrico para sua formação (WANG; FU; LI, 2009).

A técnica de *electrospinning* segundo Bhushani e Anandharamakrishnan (2014), consiste na utilização de um equipamento constituído de quatro componentes principais: uma fonte de alta tensão, uma bomba de infusão, uma seringa com agulha de aço inoxidável e um coletor que pode ser uma placa fixa (Figura 4 A) ou um cilindro rotativo (Figura 4 B).

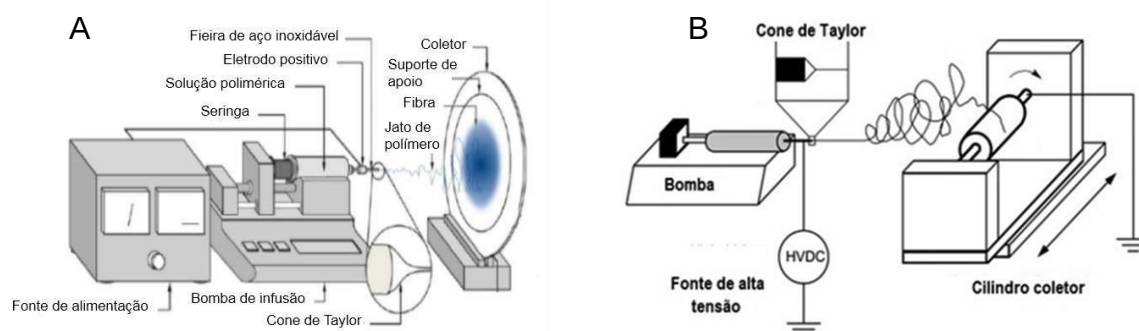


Figura 4 - Modelo de uma estação de *electrospinning* para a formação de fibras ultrafinas. A - placa fixa; B - cilindro rotativo

Fonte: LEINDECKER; ALVES; BERGMANN (2013).

A formação de fibras pela técnica de *electrospinning* ocorre pelo escoamento de uma solução polimérica contida na seringa através de uma agulha fina ou bico injetor, por ação da gravidade ou com o auxílio de uma bomba de infusão, na presença de um campo elétrico externo até atingir o coletor. Quando o campo elétrico é suficientemente intenso para superar a tensão superficial de uma dada solução polimérica, um jato de solução é formado e acelerado pelo campo elétrico na direção do coletor. As fibras são formadas enquanto o jato está sendo acelerado, ou seja, durante o tempo no qual o jato da solução é formado a partir do bico injetor

até chegar ao coletor (Figura 5). Isso acontece porque ocorre o alongamento do jato e a evaporação do solvente, fazendo com que as cadeias fiquem cada vez mais juntas, levando assim à deposição da fibra seca no coletor (NIETO, 2006).

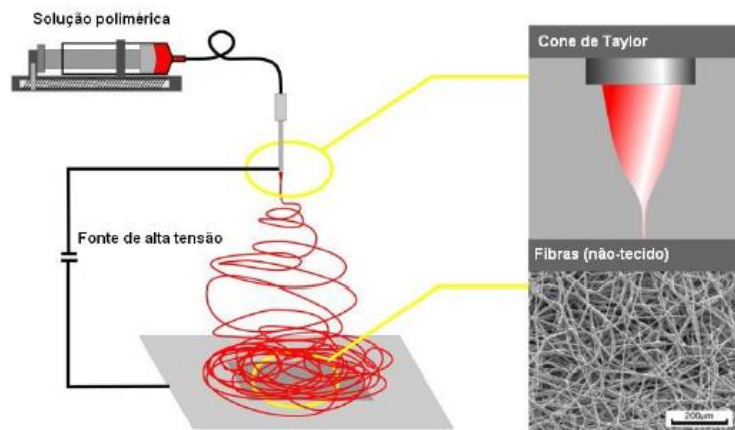


Figura 5. Representação do funcionamento da técnica de *electrospinning*
Fonte: SOARES (2013).

Uma variedade de fibras com formas e tamanhos de seção transversal pode ser obtida com o uso do *electrospinning*, geralmente, as fibras preparadas por esta técnica apresentam seções transversais cilíndricas, entretanto, sob algumas condições específicas outras formas podem ser observadas.

Alguns autores como Koombhongse, Liu e Reneker (2001) e Frenot e Chronakis (2003) relataram a obtenção de fibras com morfologias ramificadas, fitas planas e dobradas, bem como fibras com cilindro oco. O tipo de polímero e tipo de solvente empregado para o preparo das soluções poliméricas influenciam no tipo de fibra formada. Existem dois grupos de parâmetros que podem ser controlados e que também afetam o processo de eletrofiação e a arquitetura morfológica das fibras: a) parâmetros da solução polimérica, como viscosidade, tensão superficial, condutividade e constante dielétrica, e b) parâmetros do equipamento, como a tensão aplicada, vazão da seringa, distância da ponta da agulha ao anteparo e o efeito do material do coletor. Todas essas variáveis são interdependentes; assim, a combinação e a otimização para determinadas condições é essencial para alcançar a morfologia e tamanho de fibra desejadas.

O uso da tecnologia, envolvendo o *electrospinning* é flexível, versátil e viável do ponto de vista do custo-benefício, de equipamento e de produção, se destacando por ser a técnica mais difundida mundialmente para a obtenção de fibras (JI et al.,

2011). Essa tecnologia tem como vantagem produzir nanofibras diretamente a partir da solução polimérica e ser aplicada a uma ampla variedade de polímeros, tanto sintéticos, quanto naturais, como proteínas biogênicas estruturais e polissacarídeos; além da possibilidade de copolimerização através da mistura de diferentes polímeros a outros materiais solúveis, como óleos essenciais, fármacos, fatores de crescimento celulares e de resinas. Além disso, é uma tecnologia de fácil manipulação para controle da arquitetura fibrilar, como diâmetro, morfologia e topografia superficial (PAPENBURG et al., 2009) e porosidade (RAMAKRISHNA et al., 2005).

A aplicação das fibras em diversas áreas é facilitada pela possibilidade de utilização de grande variedade de polímeros. As proteínas são comumente utilizadas como materiais de parede, como os concentrados de proteína de soro de leite (O'SULLIVAN et al., 2014), isolados de proteína de soja (VEGA-LUGO; LIM, 2009), gelatina (OKUTAN; TERZI; ALTAY, 2014), colágeno (BOCCAFOSCHI et al., 2005) e zeína (NEO et al., 2012).

Várias aplicações do uso dessa técnica já foram relatadas, a exemplo da encapsulação de enzimas imobilizadas, revestimentos alimentares, bem como desenvolvimento de materiais para filtração e embalagem de alimentos ativos (JAYAKUMAR et al., 2010; BHUSHANI; ANANDHARAMAKRISHNAN, 2014). No entanto, para o setor agroalimentar, essas aplicações são relativamente recentes (DROSOU; KROKIDA; BILIADERIS, 2017). Segundo Burger; Hsiao e Chu (2006) todas as aplicações utilizando fibras obtidas via *electrospinning*, aproximadamente, dois terços do número de patentes estão relacionadas ao campo médico e das restantes, metade estão relacionadas a aplicações em processos de filtração.

2.7 Zeína

A zeína é uma prolamina do milho, rica nos aminoácidos prolina, leucina, glutamina e alanina, e devido ao caráter hidrofóbico destes aminoácidos, a zeína é solúvel em etanol em concentrações acima de 70 % (ELZOGHBY; SAMY; ELGINDY, 2012). Segundo a *Food and Drug Administration* (FDA), a zeína é considerada um ingrediente alimentar, reconhecido como seguro (GRAS) (PRASANNA et al., 2001).

De acordo com a solubilidade, as proteínas do milho são constituídas de, aproximadamente, 20% de globulinas (solúveis em solução salina) e albuminas (solúveis em água), 40% de prolaminas (insolúveis em água e solúveis em álcool

70%) e 40% de glutelinas (insolúveis em água e álcool) (NELSON, 1969; SHUKLA; CHERYAN, 2001).

A zeína consiste de uma mistura de polipeptídeos que podem ser divididos em: δ -zeína (10 kDa), β -zeína (16 kDa e 14 kDa), α -zeína (19 kDa e 22 kDa) e γ -zeína (27 kDa). A α -zeína representa a classe mais abundante, perfazendo 60-70% do total, seguido γ -zeína (10-20%), β -zeína (10%) e δ -zeína (1-5%) (SHUKLA; CHERYAN, 2001; PRASANNA et al., 2001; MOMANY et al., 2006). Todas as frações de zeína são consideradas anfifílicas, pois contêm resíduos de aminoácidos hidrofílicos (25%) e hidrofóbicos (75%) (NONTHANUM; LEE; PADUA, 2012). Na composição de aminoácidos da zeína, ocorre a predominância de grupos residuais fortemente apolares, como leucina (20%), prolina (10%) e alanina (10%) e baixo conteúdo de resíduos de lisina e triptofano (PRASANNA et al., 2001; SHUKLA; CHERYAN, 2001).

A zeína tem sido muito investigada pela sua capacidade de formar nanopartículas por auto-associação para encapsulação de compostos bioativos em alimentos. Alguns estudos que demonstram seu emprego na encapsulação, utilizaram óleos essenciais (PARRIS; COOKE; HICKS, 2005), β -caroteno (FERNANDEZ; TORRES-GINER; LAGARON, 2009), polifenóis de chá verde (LI; LIM; KAKUDA, 2009), compostos de selenito (LUO et al., 2010), α -tocoferol (LUO et al., 2011), ácido gálico (NEO et al., 2013), óleo de peixe (MOOMAND; LIM, 2014) e taninos (MORI et al., 2014). O desenvolvimento de nanopartículas de zeína tem demonstrado um bom potencial de liberação do composto bioativo tanto *in vitro* como *in vivo*.

2.8 Aplicação em matrizes alimentares

Para a finalização de um processo de encapsulação, a aplicação das partículas torna-se indispensável, mas para isso, o conhecimento prévio das condições de processamento, tais como: congelamento, arrefecimento, aquecimento, agitação, pH, mistura, corte e desidratação em que as partículas serão expostas, permite uma melhor formulação, visto que é possível definir as propriedades das partículas, evitando assim sua degradação ou ainda a liberação precoce durante o processamento, facilitando com isso a identificação do estágio

mais adequado para sua adição sem necessariamente qualquer alteração no processo (SHI, 2015).

Várias matrizes alimentares já foram adicionadas de partículas, com diferentes finalidades. Jimenez, Garcia e Beristain (2008) e Roman; Burri e Singh (2012) fortificaram produtos lácteos; Davidov-Pardo et al. (2012) aumentaram a estabilidade de compostos bioativos durante o cozimento de biscoitos; Malmo; Stora e Mauriello (2013) aplicaram cápsulas probióticas em suflê de chocolate; Pérez-Chabela et al. (2013) aumentaram a estabilidade de bactérias ácido lácticas aplicadas a produtos cárneos cozidos; Çam; İçyer e Erdogan (2014) melhoraram propriedades antioxidantes em sorvete; Petreska-Ivanovska et al. (2014) enriqueceram suco de cenoura com células probióticas e Rutz et al. (2016) enriqueceram pão e sorvete com carotenoides.

Diante da infinidade de aplicações em alimentos, o presente trabalho visou estudar a liberação dos carotenoides incorporados nas fibras ultrafinas de zeína em diferentes condições de pH, temperatura e agitação normalmente utilizados no processamento de alimentos, bem como fazer a simulação gastrointestinal *in vitro* dessas fibras.

3 Capítulo 1 - Compostos bioativos e índices de qualidade do óleo de abacate obtido por diferentes processos

Resumo

Objetivou-se no presente estudo, avaliar os índices de qualidade, os compostos bioativos e o perfil de ácidos graxos do óleo de abacate da variedade Breda cuja polpa foi submetida a diferentes métodos de secagem e de extração do óleo. Foram determinadas as características físicas e químicas dos abacates, para posteriormente submeter à polpa à secagem em estufa sob ventilação (40 °C e 60 °C) e em estufa a vácuo (60 °C), sendo em seguida o óleo extraído por prensagem mecânica ou por Soxhlet com éter de petróleo. No óleo foram determinados os índices de qualidade os teores de carotenoides, clorofilas, tocoferóis, compostos fenólicos, fitoesteróis, a atividade antioxidante e o percentual de ácidos graxos. O fruto apresentou aproximadamente 72% de polpa, da qual 16% são lipídeos. Os melhores resultados para índices de qualidade foram obtidos no óleo de abacate oriundo da secagem da polpa a 60 °C sob vácuo com extração por Soxhlet, enquanto, que os compostos bioativos foram melhor preservados quando a polpa de abacate foi seca a 60 °C sob ventilação e utilizado prensagem mecânica para a extração do óleo. O ácido oleico foi o ácido graxo majoritário no óleo. Observou-se que as características de qualidade e a composição de bioativos desejadas no óleo de abacate foram dependentes do processo de extração. O óleo obtido por prensagem mecânica da polpa seca a 60 °C em estufa a vácuo apresentou-se como boa opção para obtenção de óleo de abacate com parâmetros de qualidade adequados e manutenção de compostos bioativos. No entanto, os fitoesteróis, apresentaram maior retenção nos óleos obtidos pela extração com solvente.

Palavras-chave: variedade Breda, pigmentos, compostos fenólicos, atividade antioxidante, fitoesteróis, ácidos graxos.

3.1. Introdução

O abacateiro (*Persea americana* Mill.) pertence à família Lauraceae, é uma planta frutífera com alta produtividade por unidade de área plantada (SCHAFFER; WOLSTENHOLME; WHILEY, 2013) e cultivada em quase todos os estados brasileiros. O estado de São Paulo é o maior produtor (47,5%), seguido de Minas Gerais (19,0%) e Paraná (11,2%) (ALMEIDA; SAMPAIO, 2013). Segundo o IBGE (2016), a região sudeste atingiu 145.017 toneladas de abacate no ano de 2015. Dentre as variedades de abacate mais consumidas no Brasil está a Breda, que possui um sabor mais doce, atendendo as características do hábito alimentar do consumidor brasileiro (HOLBACH, 2012). No entanto, os abacates, de distintas variedades, encontrados nas diversas regiões do território brasileiro possuem composição química muito variável. Entretanto, independente desta variabilidade, são considerados fontes de ácidos graxos insaturados, fibras, potássio, vitamina B3

e de compostos bioativos, como a vitamina E, carotenoides e esteróis. Aos frutos são relacionadas propriedades antioxidantes e ações anti-inflamatória, antitumoral e antimicrobiana (PLAZA et al., 2009; DAIUTO et al., 2010). Devido ao elevado valor nutritivo e comprovados efeitos benéficos para a saúde humana, o abacate é classificado como um alimento funcional, segundo a American Dietetic Association-ADA (1999).

O óleo de abacate, por sua vez, assemelha-se muito ao azeite de oliva, por ser extraído da polpa de frutos e pela similaridade na proporção relativa de ácidos graxos, predominando em ambos o ácido oleico (TANGO; CARVALHO; SOARES, 2004). O óleo de abacate é rico em ácidos graxos ômega, contendo aqueles que são associados a efeitos benéficos à saúde humana, especialmente em relação à prevenção de doenças cardiovasculares (SALGADO et al., 2008). Neste sentido, parece favorável introduzir na alimentação humana o óleo de abacate, no entanto, o pequeno volume de óleo de abacate produzido no Brasil, vem sendo utilizado na forma bruta, pelas indústrias farmacêuticas e de cosméticos, notadamente pela composição da fração insaponificável, a qual é responsável por propriedades regenerativas da epiderme (TANGO; CARVALHO; SOARES, 2004).

Diversos processos extrativos do óleo da polpa do abacate têm sido estudados, entretanto, as características químicas do óleo obtido pelos diferentes processos, especialmente em relação aos compostos da fração insaponificável, praticamente não têm sido investigada (SANTOS et al., 2014). Sabe-se que há um crescente interesse em técnicas de extração que produzam óleos com elevados teores de compostos bioativos, que preservem no óleo as propriedades e o valor nutricional próximos aos do fruto (KMIECIK et al., 2011).

Assim sendo, objetivou-se com este estudo, determinar as características físicas e químicas de abacates da variedade Breda e avaliar a influência do método de secagem da polpa e da extração do óleo nos índices de qualidade e no perfil de ácidos graxos e de compostos bioativos.

3.2 Materiais e métodos

3.2.1 Materiais

3.2.1.1 Amostra

Os abacates da variedade Breda foram doados por um produtor de São Sebastião do Paraíso/MG, em setembro de 2015, totalizando 23 frutos em estágio de maturação incompleto. Os frutos foram envoltos em papel, acondicionados em caixa de papelão e mantidos à temperatura ambiente ($28\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$) até atingir o grau ideal de maturação, determinado em função da textura da polpa e teor de sólidos solúveis ($7\text{-}8\text{ }^{\circ}\text{Brix}$).

3.2.1.2 Métodos

Os parâmetros físicos analisados foram o peso total do fruto (balança Urano US 20/2), peso da casca, da polpa e do caroço em 23 frutos de abacate.

Na polpa foram avaliados, em triplicata, a umidade, extrato seco total, açúcares totais, açúcares redutores, lipídeos, proteína, fibra bruta, cinzas, sólidos solúveis totais, acidez total titulável e pH (AOAC, 1990), além dos compostos bioativos, os quais foram determinados segundo a metodologia descrita a seguir para os óleos de abacate.

Inicialmente os frutos foram sanitizados em água clorada a 200 mgL^{-1} por 15 min, lavados em água corrente e posteriormente cortados. A polpa foi separada e imersa em solução de ácido cítrico a 1% durante 15 min para evitar o escurecimento enzimático e em seguida fracionada em três porções. Cada porção foi submetida a um método de secagem: secagem em estufa com ventilação de ar a $40\text{ }^{\circ}\text{C}$; secagem em estufa com ventilação de ar a $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ (ambas modelo MA035, Marconi) e em estufa a vácuo a $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ (modelo Vacuoterm 6030A). As temperaturas usadas no presente estudo foram definidas com base em estudos de SANTOS et al. (2014). Independente do método, a secagem foi realizada até obter um produto com umidade final em torno de 5-6 %.

As amostras secas foram embaladas em sacos de polietileno, protegidas da luz e estocadas em freezer ($-18\text{ }^{\circ}\text{C}$) até o momento da extração do óleo, o qual se procedeu por dois processos distintos: prensagem mecânica e extração por Soxhlet com éter de petróleo (SANTOS et al., 2014).

As amostras de polpa seca foram prensadas com uma força de 9 ton, em prensa mecânica (Marconi), à temperatura ambiente.

Para extração por Soxhlet foram pesadas, aproximadamente, 15 g de amostra, acondicionadas em cartucho de papel filtro, previamente desengordurado. O processo foi conduzido por um período de 6 h e após, o solvente remanescente foi eliminado com borbulhamento de nitrogênio gasoso. Os óleos obtidos foram armazenados em vidro âmbar sob congelamento a -18 °C.

Determinaram-se nos óleos, em triplicata, os índices de acidez (A), de peróxido (I.P), de iodo (I.I), de refração (I.R) e condutividade elétrica (C), segundo as normas da American Oil Chemists' Society (1992) e o coeficiente de extinção específica K_{232} e K_{270} (IOC, 2010). Determinou-se também o conteúdo de compostos fenólicos (MONTEDORO et al., 1992), carotenoides, clorofilas (RODRIGUES-AMAYA, 2001), tocoferóis (ZAMBIAZI, 1997), atividade antioxidante (BRAND-WILLIAMS; CUVELIER; BERSET, 1995), o perfil de ácidos graxos (HARTMAN; LAGO, 1973) e o conteúdo de fitoesteróis (JIMÉNEZ-ESCRIG et al., 2006). Foram realizadas pequenas modificações na técnica de determinação dos fitoesteróis, com substituição do KOH em água por KOH 4M em etanol; na separação de fases, colocou-se o material na centrífuga por 5 minutos e na etapa de silalização acrescentou-se 200 µL de clorofórmio. O rendimento em óleo foi calculado a partir do conteúdo de gordura em base seca.

3.3 Análise estatística

Os resultados foram expressos através das médias e desvio padrão, referentes às determinações realizadas em triplicata por meio de análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey ($p < 0,05$), utilizando o programa Statistix 10.

3.4 Resultados e Discussão

Os abacates apresentaram em média peso de 754,36 g, sendo 71,89% de polpa, 21,22 % de caroço e 6,89 % de casca. Na literatura para outras variedades de abacate (Ouro Verde, Wagner, Campinas, Paulistinha, Fuerte, Pedroso, Margarida, Hass, Fortuna, Quintal e Reis) encontraram-se pesos variando entre 129,3 g e 750,18 g, sendo, 52,9% a 82,6% de polpa; 6,9% a 28% de casca e de 10,1% a 27,9% de caroço (DAIUTO et al., 2010; OLIVEIRA et al., 2013).

Os resultados das avaliações físico-químicas e os teores dos compostos bioativos da polpa de abacate da variedade Breda estão apresentados na Tabela 1 seguir.

Tabela 1 - Características físico-químicas e compostos bioativos na polpa de abacate da variedade Breda

Determinações	Valores
Umidade (%)	78,18 ± 0,21
Extrato seco total (%)	21,81 ± 0,21
Açúcares totais (%)	6,36±0,28
Açúcares redutores (%)	2,37±0,19
Lipídeos (%)	15,81 ± 0,56
Proteínas (%)	1,73 ± 0,18
Fibra bruta (%)	1,55 ± 0,38
Cinzas (%)	0,58 ± 0,00
Acidez total (%)	0,53 ± 0,06
Sólidos solúveis (°Brix)	8,12 ± 0,09
pH	6,46 ± 0,08
Carotenoides (mg β-Caroteno.kg ⁻¹)	4,63 ± 1,59
Clorofila (mg.kg ⁻¹)	0,18 ± 0,04
Compostos fenólicos (mg ácido gálico.kg ⁻¹)	97,27 ± 6,53
Atividade antioxidante (% de inibição)	78,90 ± 1,02

Resultados expressos como média ± desvio-padrão.

O valor de lipídeos (Tabela 1), do abacate da variedade Breda, pode ser considerado entre médio e alto e a umidade alta em relação a outras variedades. Conforme Tango, Carvalho e Soares (2004) e Oliveira et al. (2013), o conteúdo de lipídeos da polpa de diferentes variedades de abacate altera entre 5,3 a 31,1% e o teor de umidade da polpa de 57,2 a 87,9%. Borges e Melo (2016) também relataram teores de lipídios entre 5 e 35%, em abacates das variedades Hass, Fuerte, Glória, Collinson, Anaheim, Itzamna, Wagner, Ouro verde, Carlsbad, Mayapan, Winslow, Quintal, Monte d'Este, Mac Donald, Barker, Westin, Winslowson, Sinaloa, Vitória, Waldin, Linda, Simmonds, Fortuna e Pollock.

Alto teor de proteínas foi observado na polpa dos abacates da variedade Breda (1,73%), ao comparar com os resultados de Oliveira et al. (2013), que obtiveram resultados entre 0,74 a 1,9% de proteínas em onze variedades de abacates (Ouro Verde, Wagner, Campinas, Paulistinha, Fuerte, Pedroso, Margarida, Hass, Fortuna, Quintal e Reis).

O teor de açúcares totais encontrado pode ser considerado baixo, em relação aos valores relatados na literatura (4,17 a 13,2%) (ORTEGA, LÓPEZ; TORRE, 2013). E altos para os açúcares redutores, quando observado os valores obtidos por outros autores (0,26 a 1,17%) (DAIUTO et al., 2014). Os abacates apresentaram teores de sólidos solúveis de 7 a 8 °Brix, indicativo de condição ideal de maturação (SANTOS et al., 2014).

Os teores de fibras e cinzas também foram baixos, o que corrobora com os estudos realizados por Daiuto et al. (2010), os quais obtiveram para o abacate da variedade Hass, 1,62% de fibras. Oliveira et al. (2013) observaram grande diferença no teor de fibras em função da variedade do abacate (Ouro Verde, Wagner, Campinas, Paulistinha, Fuerte, Pedroso, Margarida, Hass, Fortuna, Quintal e Reis), com oscilação de 2,95 a 8,15%, e em relação às cinzas, os autores relataram variação de 0,83 a 2,4%.

O valor de pH do abacate (6,46) foi próximo a neutralidade e o baixo teor de acidez (0,53%) evidenciam que é um fruto bastante adequado ao uso em preparações doces ou salgadas. No estudo realizado por Chaves et al. (2013), foram relatados para a polpa de abacate variedade Margarida, pH de 7,52 e acidez de 0,93%, ambos superiores aos encontrados no presente estudo para a variedade Breda.

O teor de clorofila na polpa dos abacates da variedade Breda (0,18 mg kg⁻¹), apresenta-se fora dos limites relatados por Wang; Bostic e Gu (2010) para sete variedades de abacate (Slimcado, Simmonds, Loretta, Choquette, Booth 7, Booth 8, Tonnage e Hass), cujos valores variaram de 2,7 a 28,7 mg kg⁻¹. Já o teor de carotenoides obtido neste estudo (4,63mg kg⁻¹), está condizente com aquele relatado pelos autores (1,5 a 7,1 mg kg⁻¹).

Em relação ao teor de compostos fenólicos, obteve-se baixos valores para os abacates da variedade Breda (97,27 mg ácido gálico kg⁻¹), em relação a valores relatados na literatura (600 a 4900 mg kg⁻¹) (WANG, BOSTIC; GU, 2010). No

entanto, a atividade antioxidante obtida para os abacates da variedade Breda (78,90%) foi superior ao relatado por Wang et al. (2012), (60,29%), em abacate da variedade Hass. Além dos compostos fenólicos, a vitamina C, a vitamina E e os carotenoides também podem influenciar nos valores de atividade antioxidante (CHINA et al., 2011).

Quanto ao rendimento dos óleos de abacate, observa-se que independente das condições de secagem, a extração utilizando o Soxhlet (solvente) produziu maior rendimento em óleo quando comparada com a prensagem a frio (Figura 1).

Além da maior eficiência na remoção da gordura quando se utilizam solventes orgânicos, segundo Mostert et al. (2007), a maior proporção de óleo removida, parcialmente se explica pela baixa seletividade da extração com hidrocarbonetos, que carregam maior quantidade de fosfolipídeos, ceras, pigmentos e outras substâncias solúveis no sistema de solvente utilizado.

O rendimento na prensagem a frio pode ser melhorado quando grandes quantidades de polpa são prensadas, pois tornam as perdas menos significativas, uma vez que parte do óleo é retida na massa quando pequenas quantidades de polpa são mecanicamente prensadas.

Comparando-se o rendimento em óleo da polpa seca a 40 e a 60 °C, verificou-se um efeito positivo com o aumento da temperatura. Os valores obtidos neste estudo foram similares aos descritos por Santos et al. (2014), os quais avaliaram o rendimento de extração de óleo de abacate da variedade Fortuna em função do processo de secagem (secagem por liofilização ou fluxo de ar: 40 a 70 °C), e relataram rendimento entre 25 e 33% por prensagem a frio e entre 45 e 57% por extração com solvente.

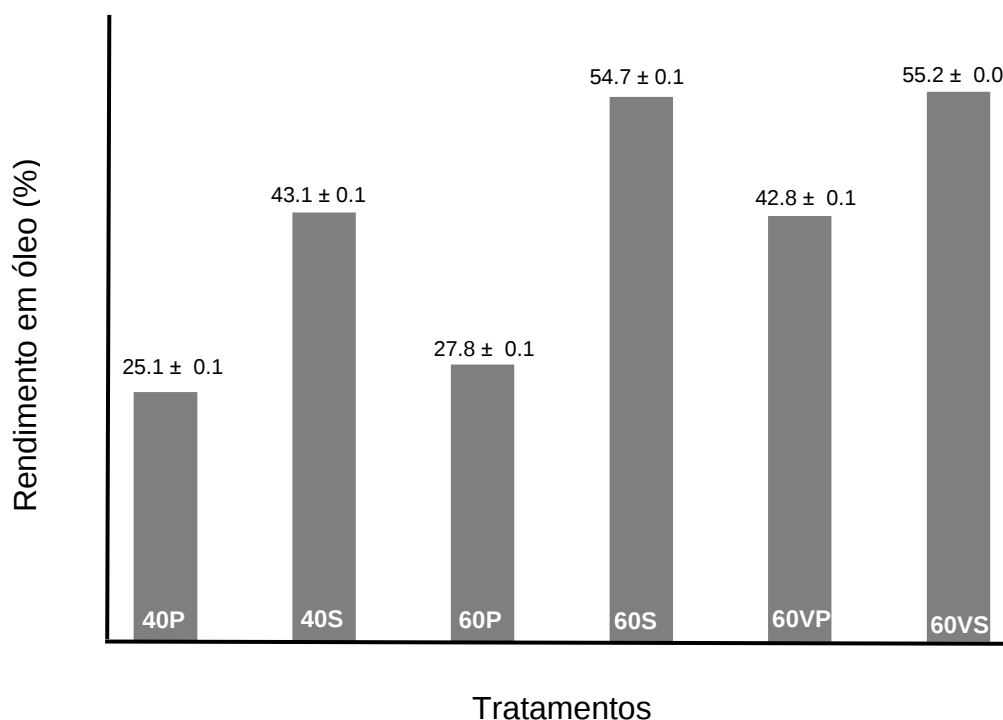


Figura 1 - Porcentagem de óleo extraído da polpa de abacates da variedade Breda, em função do processo de secagem da polpa a 40 °C e 60 °C (40P, 40S, 60P e 60S) e a vácuo a 60 °C (60 VP e 60 VS) e do método de extração do óleo por presagem mecânica (40P, 60P e 60VP) ou Soxhlet (40S, 60S e 60VS).

De acordo com os dados da Tabela 2, observa-se que houve influência tanto do processo de secagem da polpa quanto do método de extração do óleo nos índices de peróxido (I.P.). O maior índice foi observado no óleo em que a polpa passou pela secagem a 40 °C e extração por prensagem; e o menor índice foi obtido da polpa seca a 60 °C em estufa a vácuo e extração por solvente. Diferentes valores têm sido relatados na literatura para o I.P. de óleos de abacate. No estudo de Bora et al. (2001), com o óleo extraído por solventes a partir da polpa seca de abacates da variedade Fuerte a 50 °C foi obtido um I.P. de 1,4 mEq-g O₂ kg⁻¹. No estudo de Ortega; López e Torre (2013), com abacate da variedade Hass, o óleo extraído por solvente apresentou valor de 3,79 mEq-g O₂ kg⁻¹. Salgado et al. (2008), trabalhando com abacates da variedade Margarida, cuja polpa foi seca a 50 °C e a extração do óleo obtida por solvente, obtiveram I.P. de 20,58 mEq-g O₂ kg⁻¹.

Tabela 2 - Índices de qualidade do óleo de abacate da variedade Breda obtido por diferentes formas de secagem da polpa e de métodos de extração do óleo

Processo de Secagem	Parâmetros avaliados				
	I.P.	I.I.	A	I.R.	C
Prensagem mecânica					
40 °C	7,43±0,20 ^a	90,12±1,62 ^{ab}	5,08±0,01 ^a	1,465±0,001 ^a	0,515±0,00 ^a
60 °C	4,89±0,19 ^c	90,27±0,04 ^{ab}	1,56±0,06 ^{cd}	1,466±0,001 ^a	0,325±0,00 ^f
60 °C Vácuo	4,49±0,38 ^c	91,39±0,66 ^a	1,64±0,11 ^c	1,465±0,001 ^a	0,375±0,00 ^e
Extração com solvente					
40 °C	6,15±0,09 ^b	87,68±1,36 ^b	4,67±0,09 ^b	1,465±0,001 ^a	0,465±0,00 ^b
60 °C	5,89±0,22 ^b	88,26±1,24 ^b	1,37±0,01 ^d	1,465±0,001 ^a	0,455±0,00 ^c
60 °C Vácuo	3,32±0,00 ^d	88,20±0,00 ^b	1,17±0,07 ^e	1,465±0,001 ^a	0,405±0,00 ^d

I.P. = índice de peróxidos, em mEq-g O₂ kg⁻¹ de óleo; I.I. = índice de iodo, em g de I₂ 100 g⁻¹ de óleo; A= índice de acidez, em g de ácido oleico 100g⁻¹ de óleo; I.R.= índice de refração, valor adimensional; C = condutividade elétrica, em µs cm⁻¹. Valores seguidos de letras diferentes, na mesma coluna, diferem estatisticamente a 5% pelo teste de Tukey.

De uma forma geral, os maiores valores para o índice de iodo foram observados nos óleos obtidos por prensagem; contudo, sem que houvesse diferença significativa nos valores dos óleos obtidos das polpas submetidas às diferentes condições de secagem. O fato do índice de iodo ter sido menor para o óleo obtido por solvente indica um óleo mais saturado, e, conseqüentemente, menor capacidade em incorporar iodo ou outros halogêneos às duplas ligações da cadeia, o que acarreta em uma menor susceptibilidade à rancidez oxidativa. Os valores obtidos estão condizentes com os relatados por Bora et al. (2001), que encontraram para a variedade Fuerte valores inferiores para índice de iodo ($77,6 \text{ gI}_2 \cdot 100 \text{ g}^{-1}$). No estudo de Salgado et al. (2008), com a variedade Margarida e de Ortega; López e Torre (2013), com a variedade Hass, os valores do índice de iodo foram superiores ao do presente estudo, de $96 \text{ gI}_2 \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ e $85,65 \text{ g de I}_2 \cdot 100 \text{ g}^{-1}$, respectivamente.

A secagem da polpa a 60°C sob vácuo produziu óleos com baixos valores para o índice de acidez. O método de extração do óleo também influenciou nos valores, sendo que a extração por solvente produziu menores valores. Por outro lado, a secagem da polpa a 40°C proporcionou elevação nos valores de acidez, possivelmente em função da maior atividade das enzimas lipases, que nesta temperatura ainda permanecem ativas, enquanto que a 60°C estas enzimas são praticamente inativadas.

Além da influência da temperatura de secagem da polpa, o aquecimento aplicado durante a extração do óleo por Soxhlet, possivelmente, tenha contribuído para a inativação de enzimas lipases e lipoxigenases, o que reverteu em valores de I.P. e índice de acidez mais baixos. A inativação dessas enzimas em aquecimento foi demonstrada por Jacobo-Velázquez et al. (2010). A temperatura de processamento pode interferir na acidez de óleos vegetais de duas maneiras: sendo fonte de calor à catálise da hidrólise química de triacilgliceróis (RODRIGUES et al., 2012) ou conferindo condições ideais à atuação de lipases endógenas (MRAICHA et al., 2010). Ciafardini et al. (2006), em estudos realizados com azeite de oliva demonstraram que a atividade dessas enzimas no azeite é intensa na faixa de temperatura entre 20 e 30°C , sendo totalmente inibida em temperaturas acima de 60°C . Com base nisso, é provável que a secagem a 40°C tenha conferido condições à ação de lipases presentes na polpa, resultando em um óleo com acidez

maior que o extraído da polpa seca a 60 °C, em que estas enzimas podem ter sido totalmente inativadas.

Bora et al. (2001) relataram para o óleo de abacate da variedade Fuerte, extraído por solvente, a partir da polpa seca a 50 °C, valores semelhantes para o índice de acidez (1,23%) aos obtidos com o óleo cuja polpa foi seca a 60 °C sob ventilação ou a vácuo. No estudo de Santana et al. (2011), em que a polpa foi seca a 60 °C com subsequente extração por solvente ou por prensagem, baixos valores para o índice de acidez foram obtidos, variando de 0,42 a 0,70%.

Não há legislação nacional ou internacional específica para óleo de abacate, assim, os valores obtidos foram comparados com aqueles preconizados para o azeite de oliva, que é o que mais se assemelha ao abacate. Os valores obtidos estão condizentes com a legislação brasileira (2005) e com o Codex Alimentarius (2015), com exceção para os valores do índice de acidez das amostras obtidas a 40 °C, independente do método de extração.

Em relação aos valores do índice de refração (I.R.), não houve diferença estatística para as diferentes amostras, independente do método de secagem da polpa e de extração do óleo. O I.R. é característico de cada tipo de óleo, estando relacionado com o número de insaturações, além do grau de oxidação, teor de ácidos graxos livres e tratamento térmico (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985). Esse valor demonstra que as alterações ocasionadas pelo processo de secagem, em função dos diferentes tratamentos, não foram suficientes para modificar o comportamento óptico das amostras. No entanto, Bora et al. (2001) no seu estudo com a variedade Fuerte extraído por solvente a partir da polpa seca a 50 °C encontraram um valor inferior para o I.R. (1,4608).

Quanto aos valores de condutividade elétrica dos óleos, houve variação significativa, independente do método de secagem ou de extração aplicados. A condutividade elétrica pode ser afetada pela presença de produtos primários da oxidação lipídica, mas principalmente pelos produtos da hidrólise dos glicerídeos. Os maiores valores de condutividade elétrica foram obtidos para as amostras secas a 40 °C, justamente os óleos que apresentaram maiores valores para o I.P. e índice de acidez. Por outro lado, também a presença de compostos minoritários, com potencial dissociável, pode ter influenciado na condutividade (ATKINS; PAULA, 2012).

A degradação do óleo ocorre, primeiramente, com a formação de compostos primários de oxidação, medidos através do K_{232} , os quais são muito instáveis e podem ser degradados sequencialmente em produtos secundários de oxidação, cujos compostos formados são voláteis e causam alterações de odor e sabor nos óleos, além de serem prejudiciais à saúde dos consumidores, os quais podem ser medidos através do K_{270} (RODRIGUES et al., 2012).

Os maiores valores de absorção encontrados foram em 232 nm em comparação com o comprimento de onda de 270 nm (Tabela 3). Segundo a legislação (INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 1, DE 30 DE JANEIRO DE 2012), para o azeite de oliva receber a denominação de “extra virgem”, deve encontrar-se dentro dos limites de absorção estipulados, que são de $K_{232} \leq 2,50$ e de $K_{270} \leq 0,22$. De acordo com a legislação, não há parâmetros de absorção para os demais tipos de óleos. Os valores de absorção dos óleos, em ambos os métodos de secagem e processos de extração do óleo de abacate, foram entre 2,07 a 2,60 nm para o K_{232} e de 0,34 a 0,98 para o K_{270} .

Tabela 3 - Coeficiente de extinção específica a 232 nm (K_{232}) e 270 nm (K_{270}) do óleo de abacate obtido por diferentes formas de secagem da polpa e método de extração do óleo

Processo de Extração	Coeficiente de extinção específica	
Prensagem mecânica	K_{232}	K_{270}
40 °C	$2,59 \pm 0,02^a$	$0,72 \pm 0,02^c$
60 °C	$2,60 \pm 0,04^a$	$0,98 \pm 0,04^a$
60 °C Vácuo	$2,59 \pm 0,05^a$	$0,93 \pm 0,01^b$
Extração com solvente		
40 °C	$2,07 \pm 0,03^c$	$0,34 \pm 0,02^e$
60 °C	$2,35 \pm 0,05^b$	$0,45 \pm 0,02^d$
60 °C Vácuo	$2,31 \pm 0,07^b$	$0,46 \pm 0,02^d$

Valores seguidos de letras diferentes, na mesma coluna, diferem estatisticamente a 5 % de significância pelo teste de Tukey.

Os maiores valores de absorção medidos em 232 e 270 nm foram encontrados para os óleos extraídos por prensagem mecânica. No K_{232} não se

verificou diferença estatística entre as diferentes formas de secagem da polpa do abacate na extração do óleo por prensagem mecânica, enquanto que no K₂₇₀ observou-se diferença em todas as amostras realizadas. Lima et al. (2006) ao estudarem a estabilidade térmica do óleo de soja extraído por solvente e prensagem também concluíram que o óleo obtido por solvente foi termicamente mais estável do que o óleo por prensagem. Nas análises de índice de qualidade avaliados neste estudo (peróxidos e acidez) também observou-se este mesmo comportamento, ou seja, valores superiores nos óleos prensados em relação aos óleos extraídos por solvente.

De acordo com a Tabela 4, observa-se que o conteúdo de carotenoides, clorofilas, compostos fenólicos, tocoferóis e a atividade antioxidante dos óleos de abacate da variedade Breda foram fortemente afetados pelo processo de secagem da polpa e pelo método de extração dos óleos.

De uma forma geral, para os compostos bioativos, possivelmente a inativação enzimática obtida a 60 °C e a extração por prensagem auxiliou na preservação dos compostos e, conseqüentemente, maiores valores de atividade antioxidante foram obtidos, porém o aquecimento adicional ocasionado pela extração por Soxhlet pode ter sido responsável pela degradação de parte dos bioativos avaliados. Diferentemente do que foi observado para os índices de qualidade, em que os melhores resultados foram obtidos pela extração dos óleos com solventes, provavelmente, devido a inativação enzimática auxiliar na preservação do óleo.

A aplicação do aquecimento da polpa em estufa a vácuo resultou em maior preservação dos compostos bioativos no óleo do que o aquecimento a 40 °C, mas resultou em menor preservação do que o aquecimento em estufa sob ventilação a 60 °C, tanto no óleo obtido por prensagem quanto por extração com solvente. Isso pode ser parcialmente explicado em função de que no processo a vácuo ter-se um produto com maior expansão, que mostra uma estrutura porosa e inflada, com maior área de contato, portanto, ficando mais susceptível às alterações pelo aquecimento. Essa estrutura expandida, por sua vez, corrobora com uma alta razão área/volume, que resulta em altas taxas de secagem (JAYA; DAS, 2003). Esse efeito, entretanto, pode também ter contribuído para a intensificação na degradação de compostos bioativos, em função da maior área de contato da matéria-prima com o calor, já que na secagem em estufa a vácuo houve pequenos prejuízos na preservação dos

compostos, quando comparada com a secagem sob ventilação na mesma temperatura. Ainda assim, observou-se que na maior temperatura de secagem (60 °C), independentemente do tipo de estufa usada, houve maior preservação dos compostos bioativos do que na secagem a 40 °C, reforçando a teoria de uma provável inativação enzimática ser favorecida pela elevação da temperatura e consequente manutenção dos compostos bioativos.

Tabela 4 - Compostos bioativos do óleo de abacate da variedade Breda obtido por diferentes formas de secagem da polpa e de métodos de extração do óleo

Processo de Secagem	Parâmetros avaliados				
	Carotenoides	Clorofilas	Compostos fenólicos	α -Tocoferol	Atividade antioxidante
Prensagem mecânica					
40 °C	74.99±3.39 ^c	1.23±0.03 ^b	460.65±3.52 ^b	5,01±0,08 ^c	88,94±5,29 ^{ab}
60 °C	103.70±1.55 ^a	1.36±0.02 ^a	773.55±57.23 ^a	6,53±0,10 ^a	92,54±1,09 ^a
60 °C Vácuo	104.62±0.39 ^a	1.27±0.04 ^b	720.65±11.99 ^a	5,82±0,12 ^b	86,51±4,07 ^{ab}
Extração por solvente					
40 °C	71.95±1.46 ^c	1.00±0.03 ^c	108.66±31.94 ^c	4,05±0,13 ^d	73,66±1,87 ^c
60 °C	88.72±2.72 ^b	1.19±0.01 ^b	395.27±35.23 ^b	5,94±0,33 ^b	90,30±0,60 ^a
60 °C Vácuo	85.32±0.52 ^b	1.04±0.02 ^c	374.88±48.13 ^b	4,92±0,16 ^c	81,69±1,07 ^b

Carotenoides = mg β -Caroteno kg⁻¹; Clorofilas = mg kg⁻¹; Compostos fenólicos = mg ácido gálico kg⁻¹; α Tocoferois = mg 100g⁻¹; Atividade antioxidante = % de inibição. Valores seguidos de letras diferentes, na mesma coluna, diferem estatisticamente a 5 % pelo teste de Tukey.

O comportamento observado no conteúdo de compostos fenólicos pode ser explicado, possivelmente, pela inativação da enzima polifenol-oxidase a 60 °C, uma vez que a atividade dessa enzima está diretamente relacionada à degradação de compostos fenólicos (LUÍZ; HIRATA; CLEMENTE, 2007), pois promove a hidroxilação de monofenóis a o-difenóis e a oxidação dessas substâncias para suas quinonas correspondentes (CHISARI; BARBAGALLO; SPAGNA, 2007).

Atribui-se também a maior preservação dos compostos minoritários presentes na fração lipídica (carotenoides, tocoferóis e clorofilas) da polpa do abacate seca a 60 °C à inativação enzimática, principalmente em função da ação das lipoxigenases e peroxidases. Enzimas como as lipoxigenases catalisam a degradação oxidativa dos carotenoides por mecanismos indiretos. Inicialmente, a enzima catalisa a oxidação dos ácidos graxos insaturados para a produção de peróxidos, e estes, por sua vez reagem com os carotenos. A peroxidase por sua vez, pode levar a destruição da vitamina C e descoloração de carotenoides e antocianinas, além de catalisar (grupo heme) a degradação não-enzimática de ácidos graxos insaturados, com a consequente formação de compostos voláteis, gerando um sabor a oxidado. Além disso, a peroxidase é capaz de oxidar compostos fenólicos na presença de H_2O_2 (PAULA, 2007).

O α -tocoferol foi a forma majoritária dos tocoferóis encontrada no óleo de abacate, e segundo Baccouri et al. (2008) é o tocoferol que apresenta a maior ação biológica no organismo humano. Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária a Ingestão Diária Recomendada (IDR) para a vitamina E é de 10 mg de α -tocoferol (BRASIL, 2005). Diante disso, o óleo de abacate demonstra ser uma boa fonte dessa vitamina, sendo que 30 mL deste óleo atendem a 29% das necessidades diárias de um adulto.

Ao se comparar os resultados de compostos bioativos do óleo de abacate, com óleo de oliva de diferentes variedades, pode-se observar alto teor de carotenoides e fenóis, dependendo da secagem e extração do óleo e baixo teor de clorofila e tocoferol, conforme resultados de Condelli et al. (2015), os quais encontraram valores de carotenoides de 10,3 a 14,4 mg kg⁻¹, fenóis totais de 350 a 408 mg L⁻¹, clorofila de 7,80 a 20 mg kg⁻¹ e α -tocoferol de 151 a 223 mg L⁻¹.

Em relação a atividade antioxidante, todos os óleos de abacate, independentemente do processo de secagem e de extração do óleo, apresentaram

mais de 70% de inibição. Hassimotto; Genovese; Lajolo (2005) classificaram a atividade antioxidante como boa, intermediária e baixa, para valores de inibição > 70%, entre 40 a 70%, e < 40%, respectivamente. Segundo esses parâmetros, os óleos de abacate apresentaram boa atividade antioxidante.

Assim como os compostos fenólicos e carotenoides, os tocoferóis e os fitoesteróis, também atuam como componentes que contribuem com a estabilidade oxidativa durante o armazenamento (LAZZEZ et al., 2008), sendo também responsáveis pela atividade antioxidante dos óleos (YOUSSEF et al., 2010). Uma relação direta entre o conteúdo de compostos fenólicos e a capacidade antioxidante de óleos tem sido vastamente reportada (BARTOSZEK; POLAK, 2012; NOUR et al., 2013).

Na Tabela 5 são apresentados os percentuais relativos de ácidos graxos no óleo de abacate da variedade Breda, tendo expressivo destaque em todas as amostras de óleos investigadas o ácido oleico (58%).

Segundo Ghanbari et al. (2012) no azeite de oliva, o ácido graxo oleico também é responsável por 60,0 – 80,0% do total de ácidos graxos e por cerca de 90,0% dos ácidos graxos monoinsaturados. Além do ácido oleico, foram identificados no óleo de abacate os ácidos palmítico (~ 21,0%), palmitoleico (~ 7,0%), linoleico (~ 11,0%) e tricosanoico (~ 2,5%) e em menores proporções relativas, o ácido linolênico (~ 0,6%) e o docosadienoico (~ 0,76%). Segundo Menendez et al. (2005), o ácido oleico é o ácido graxo majoritário na maioria dos óleos, e atua na redução do colesterol total e lipoproteínas de baixa densidade (LDL), sem reduzir as lipoproteínas de alta densidade (HDL), também age na inibição da agregação plaquetária e apresenta ação trombótica.

Tango e Turatti (1992) relataram em óleos de diferentes variedades de abacate (Quintal, Ouro verde, Wagner, Pollock, Simmonds, Waldin, Linda, Prince e Collinson) proporções de ácidos graxos similares aos encontrados no presente estudo (palmítico 15,4 – 32,4%; palmitoleico 2,8 – 9,1%; esteárico 0,2 – 1,5%; oleico 44,0 – 69,6%; linoleico 6,1 – 14,9%). Borges e Melo (2016) também relataram que entre 60 e 84% dos ácidos graxos encontrados em abacate das variedades Hass, Fuerte, Glória, Collinson, Anaheim, Itzamna, Wagner, Ouro verde, Carlsbad, Mayapan, Winslow, Quintal, Monte d'Este, Mac Donald, Barker, Westin, Winslowson, Sinaloa, Vitória, Waldin, Linda, Simmonds, Fortuna, Pollock, são insaturados.

Tabela 5 - Composição (% relativo) de ácidos graxos no óleo de abacate da variedade Breda obtido por diferentes formas de secagem e de métodos de extração do óleo da polpa

	Processo de secagem da polpa		
	40 °C em estufa	60 °C em estufa	60 °C vácuo em estufa a vácuo
C16:0 (Ácido palmítico)			
Prensagem	19,89±0,21 ^{bB}	21,22±0,60 ^{aA}	20,73±1,08 ^{aAB}
Solvente	20,97±0,21 ^{aA}	21,33±0,62 ^{aA}	21,28±0,18 ^{aA}
C16:1 (Ácido palmitoleico)			
Prensagem	6,51±0,17 ^{bA}	6,51±0,34 ^{aA}	2,71±3,50 ^{aB}
Solvente	6,90±0,20 ^{aA}	6,49±0,21 ^{aB}	6,65±0,21 ^{aAB}
C18:1 (Ácido oleico)			
Prensagem	59,26±0,05 ^{aB}	58,58±0,68 ^{aB}	64,47±0,33 ^{aA}
Solvente	57,12±0,18 ^{bA}	57,69±0,20 ^{bA}	57,70±0,87 ^{bA}
C18:2 (Ácido linoleico)			
Prensagem	10,57±0,03 ^{bA}	10,72±0,15 ^{aA}	10,65±1,01 ^{aA}
Solvente	10,90±0,12 ^{aA}	10,58±0,31 ^{aAB}	10,50±0,10 ^{aB}
C18:3 (Ácido linolênico)			
Prensagem	0,50±0,05 ^{bA}	0,57±0,01 ^{aA}	0,41±0,44 ^{aA}
Solvente	0,61±0,03 ^{aA}	0,56±0,00 ^{bB}	0,59±0,00 ^{aA}
C22:2 (Ácido docosadienoico)			
Prensagem	0,75±0,02 ^{aA}	0,57±0,04 ^{aB}	0,19±0,27 ^{aB}
Solvente	0,76±0,09 ^{aA}	0,73±0,19 ^{aA}	0,76±0,30 ^{bA}
C23:0 (Ácido tricosanoico)			
Prensagem	2,41±0,16 ^{aA}	1,83±0,08 ^{aB}	0,94±0,37 ^{bC}
Solvente	2,74±0,36 ^{aA}	2,63±0,75 ^{aA}	2,52±1,05 ^{aA}

*Médias seguidas por letras minúsculas iguais, na coluna, não diferem entre si pelo teste t (p<0,05).

*Médias seguidas por letras maiúsculas iguais, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05);

O conteúdo de ácidos graxos obtidos foi dependente do processo de secagem e extração do óleo. Para a maioria dos ácidos graxos, os maiores valores foram obtidos utilizando secagem a 40 °C e extração por solvente, com exceção do ácido oleico, em que os maiores valores foram obtidos com secagem a 60 °C sob vácuo e extração do óleo por prensagem a frio, e o ácido palmítico em que não se observou diferenças entre os métodos, porém com secagem a 60 °C.

Na Tabela 6 encontram-se os dados relativos aos teores de fitoesteróis do óleo de abacate.

Tabela 6 - Fitoesteróis do óleo de abacate da variedade Breda obtido por diferentes formas de secagem da polpa e métodos de extração do óleo

Fitoesteróis (mg.100g ⁻¹)				
Óleo de abacate variedade Breda				
Processo de secagem	Campesterol	Estigmasterol	β-Sitosterol	Total
Prensagem mecânica				
40 °C	9,11±0,41 ^{bB}	1,11±0,05 ^{bcC}	52,91±3,05 ^{bA}	63,12
60 °C	9,29±3,21 ^{bB}	0,98±0,37 ^{bcC}	55,71±15,56 ^{bA}	65,98
60 °C Vácuo	6,82±0,86 ^{bB}	0,61±0,12 ^{cC}	39,53±3,56 ^{bA}	46,96
Extração por solvente				
40 °C	8,18±1,28 ^{bB}	0,81±0,14 ^{bcC}	48,96±10,63 ^{bA}	57,95
60 °C	7,80±1,75 ^{bB}	1,12±0,32 ^{bc}	44,63±9,48 ^{bA}	53,55
60 °C Vácuo	16,37±0,28 ^{aB}	2,09±0,04 ^{aC}	93,17±2,10 ^{aA}	111,63

Valores seguidos de letras minúsculas diferentes, na mesma coluna, diferem estatisticamente a 5 % pelo teste de Tukey;

Valores seguidos de letras maiúsculas diferentes, na mesma linha, diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

Independente do método de secagem e da extração do óleo, o β-sitosterol foi o fitoesterol encontrado significativamente em maior concentração nos óleos de abacate da variedade analisada, seguido do campesterol e do estigmasterol (Tabela

5). Piironen et al. (2003), Berastegi et al. (2012) e Plaza et al. (2009) também encontraram o β -sitosterol (89-93%) como os fitoesteróis majoritários em seus estudos com óleos de abacate, azeite de oliva, frutas, legumes e bagas, seguido do campesterol (6-10%) e estigmasterol (0,4-1%).

O método de secagem e extração do óleo influenciou significativamente no conteúdo de fitoesteróis. A secagem da polpa a 60 °C sob vácuo em conjunto com a extração do óleo por solvente, possibilitou a obtenção de maior concentração dos fitoesteróis. Santos et al. (2014) para óleo de abacate da variedade Fortuna, encontraram conteúdos próximos ao do presente estudo, com aproximadamente 88% de β -sitosterol, cuja polpa de abacate foi submetida a secagem em estufa á vácuo (40 e 70 °C) e extraída por prensagem a frio e de aproximadamente 87% de β -sitosterol, cuja polpa de abacate também foi primeiramente submetida a secagem nas mesmas temperaturas e extraída por solvente. Possivelmente o maior conteúdo de fitoesteróis na extração por solvente deva-se ao fato do solvente ser mais seletivo na extração desses compostos, o que não ocorre na extração por prensagem, que arrasta com o óleo inúmeros compostos, mas muitos ainda permanecem no material sólido resultante da prensagem.

Na Figura 2 encontra-se um cromatograma típico dos fitoesteróis encontrados no óleo de abacate da variedade Breda obtido por diferentes processos de secagem da polpa e método de extração do óleo.

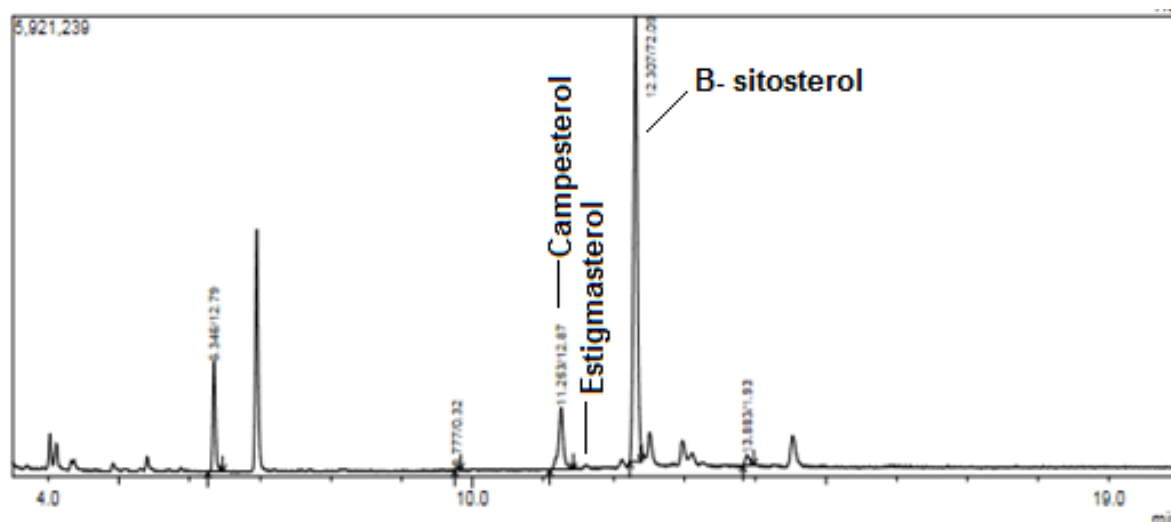


Figura 2 - Cromatograma típico de GC/MS do óleo de abacate variedade Breda obtido por diferentes processos de secagem da polpa e método de extração do óleo

3.5 Conclusão

Abacates da variedade Breda são frutos de porte grande contendo cerca de 72% de polpa em relação ao peso total do fruto. A polpa destaca-se pelo expressivo conteúdo de umidade, proteínas e pela alta atividade antioxidante.

Os teores de óleo obtidos variaram entre 25 a 43% utilizando-se prensagem a frio e, entre 43 a 55% com extração por solvente. De uma forma geral, a secagem da polpa a 60 °C sob vácuo com subsequente extração do óleo por solvente resultou nos melhores índices de qualidade.

O conteúdo de compostos bioativos foi influenciado tanto pelo método de secagem da polpa quanto pelo processo de extração do óleo. A secagem da polpa a 60 °C e a utilização da prensagem mecânica resultaram na maior preservação da maioria dos compostos bioativos, exceto para os fitoesteróis.

O processo de secagem a vácuo a 60 °C e subsequente extração por prensagem a frio reverteram no maior percentual de ácido oleico no óleo.

O óleo obtido por prensagem mecânica, cuja polpa foi seca a 60 °C em estufa a vácuo apresentou-se como opção para obtenção de óleo de abacate com excelentes propriedades bioativas e dentro dos parâmetros de qualidade preconizados pela legislação, no entanto, em relação aos fitoesteróis, o processo de extração por soxhlet, resultou em teores mais elevados.

Os dados obtidos neste estudo contribuem para ampliar o conhecimento sobre o efeito do processo de secagem da polpa e do método de extração do óleo de abacate sobre os parâmetros de qualidade, no conteúdo de compostos bioativos e na composição de ácidos graxos.

3.6 Referências

ADA REPORTS. Position of the American Dietetic Association: Functional Foods. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 99, p. 1278-1285, 1999.

ALMEIDA, G. V. B.; SAMPAIO, A. C. O Abacate no mundo, no Brasil e na CEAGESP. **Sociedade Brasileira de Fruticultura**. 2013. Disponível em: <<http://www.todafruta.com.br/noticia/28119/O+ABACATE+NO+MUNDO,+NO+BRASIL+E+NA+CEAGESP>>. Acesso 26 novembro de 2016.

AMERICAN OIL CHEMISTS' SOCIETY. **Official and tentative methods of the American Oils Chemists' Society**. Champaign: American Oils Chemists' Society, 1992.

AOAC. Official Methods of Analysis. 15th ed. **Association of Official Analytical Chemists**, Washington, DC. 1990.

ATKINS, P.; DE PAULA, J. **Físico-Química**. Vol. 2. 9ª ed. Rio de Janeiro: LTC. 2012.

BACCOURI, O.; GUERFEL, M.; BACCOURI, B.; CERRETANI, L.; BENDINI, A.; LERCKER, G.; ZARROUK, M.; BEN MILED, D. D. Chemical composition and oxidative stability of Tunisian monovarietal virgin olive oils with regard to fruit ripening. **Food Chemistry**, v. 109, p. 743-754, 2008.

BARTOSZEK, M.; POLAK, J. An electron paramagnetic resonance study of antioxidant properties of alcoholic beverages. **Food Chemistry**, v. 132, p. 2089-2093, 2012.

BERASTEGI, I.; BARRIUSO, B.; ANSORENA, D.; ASTIASARÁN, I. Stability of avocado oil during heating: comparative study to olive oil. **Food Chemistry**, n. 132, p. 439-446, 2012.

BORA, S. P.; NARAIN, N.; ROCHA, R. V. M.; PAULO, M.Q. Characterization of the oils from the pulp and seeds of avocado (cultivar: Fuerte) fruits. **Grasas y Aceites**, v. 52 (3-4), p. 171-174, 2001.

BORGES, M. H. C.; MELO, B. **A cultura do abacateiro**. Disponível em: <<http://www.fruticultura.iciag.ufu.br/abacate.html>>. Acesso 24 novembro 2016.
BRAND-WILIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Science and Technology**, v. 28, p. 25-30, 1995.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 270, de 22 de setembro de 2005. **Aprova o Regulamento técnico para óleos vegetais, gorduras vegetais e creme vegetal**. Diário Oficial da União; Poder Executivo, de 23 de setembro de 2005.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 1, de 30 de janeiro de 2012. **Regulamento Técnico que define o padrão oficial de classificação do azeite de oliva e do óleo de bagaço de oliva**. Brasil, 2012.

CHAVES, M. A.; MENDONÇA, C. R. B.; BORGES, C. D.; PORCU, O. M. Elaboração de biscoito integral utilizando óleo e farinha da polpa de abacate. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, v. 31, n. 2, p. 215-226, 2013.

CHINA, R.; DUTTA, S.; SEM, S.; CHAKRABARTI, R.; BHOWMIK, D.; GHOSH, S.; DHAR, P. *In vitro* antioxidant activity of different cultivars of banana flower (*Musa paradisiacus* L.) extracts available in India. **Journal of Food Science**, v. 76, n. 9, p. 1292-1299, 2011.

CHISARI, M.; BARBAGALLO, R. N.; SPAGNA, G. Characterization of polyphenol oxidase and peroxidase and influence on browning of cold stored strawberry fruit. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.55, n.9, p. 3469-3476, 2007.

CIAFARDINI, G.; ZULLO, B. A.; CIOCCIA, G.; IRIDE, A. Lipolytic activity of *Williopsis californica* and *Saccharomyces cerevisiae* in extra virgin olive oil. **International Journal of Food Microbiology**, v. 107, p. 27-32, 2006.

CODEX ALIMENTARIUS. **Standard for olive oils and olive pomace oils**. Codex Stan 33-1981, 2015.

CONDELLI, N.; CARUSO, M. C.; GALGANO, F.; RUSSO, D.; MILELLA, L.; FAVATI, F. Prediction of the antioxidant activity of extra virgin olive oils produced in the Mediterranean area. **Food Chemistry**, v.177, p. 233-239, 2015.

DAIUTO, E. R.; TREMOCOLDI, M. A.; ALENCAR, S. M.; VIEITES, R. L.; MINARELLI, P. H. Composição química e atividade antioxidante da polpa e resíduos de abacate 'Hass'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, n. 2, p. 417-424, 2014.

DAIUTO, E. R.; VIEITES, R. L.; TREMOCOLDI, M. A.; VILEIGAS, D. F. Estabilidade físico-química de um produto de abacate acondicionado em diferentes embalagens e conservado pelo frio. **Alimentos e Nutrição**, v. 21, n.1, p. 99-107, 2010.

GHANBARI, R.; ANWAR, F.; ALKHARFY, K. M.; GILANI, A. H.; SAARI, N. Valuable nutrients and functional bioactives in different parts of olive (*Olea europaea* L.) - A Review. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 13, p. 3291-3340, 2012.

HARTMAN, L.; LAGO, B. C. A rapid preparation of fatty methyl esters from lipids. **Laboratory Practice**, v. 22, p. 475-476, 1973.

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

HOLBACH, J. M. **Obtenção de corante natural a partir de caroço de abacate (*Persea americana*)**. Rio Grande do Sul, 2012. Disponível em: <<http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/72784/000871919.pdf?sequence=1>>. Acesso 24 de maio de 2017.

IBGE. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/protabl.asp?c=1613&z=t&o=1&i=P>. Acesso 26 de novembro de 2016.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, v. 1, 1985.

IOC. International Olive Council. **Method of analysis spectrophotometric investigation in the ultraviolet**, n. 19, 2010.

JACOBO-VELÁZQUEZ, D. A.; HERNÁNDEZ-BRENES, C.; CISNEROS-ZEVALLOS, L.; BENAVIDES J. Partial purification and enzymatic characterization of avocado (*Persea americana* Mill, cv. Hass) lipoxygenase. **Food Research International**, v.43, n.1, p. 1079-1085, 2010.

JAYA, S.; DAS, H. A vacuum drying model for mango pulp. **Drying Technology**, v. 21, n. 7, p. 1215-1234, 2003.

JIMÉNEZ-ESCRIG, A.; SANTOS-HIDALGO, A. B.; SAURA-CALIXTO, F. Common sources and estimated intake of plant sterols in the Spanish diet. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 54, n. 9, p. 3462-3471, 2006.

KMIECIK, D.; KORCZAK, J.; RUDZINSKA, M.; CISOWSKA, J. K.; MICHALOWSKA, A. G.; HÉS, M. β -Sitosterol and campesterol stabilisation by natural and synthetic antioxidants during heating. **Food Chemistry**, v.128, p. 937–942, 2011.

LAZZEZ, A.; PERRI, E.; CARAVITA, M.A.; KHLIF, M.; COSSENTIN, M. Influence of olive maturity stage and geographical origin on some minor components in virgin

olive oil of the chemlali variety. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, v. 56, p. 982-988, 2008.

LIMA, M. S.; ROCHA, L.A.; MOLINA, E. F.; CAETANO, B. O uso da análise térmica no estudo da estabilidade do óleo de soja obtido por diferentes tipos de extração. **Associação Brasileira de Análise Térmica e Calorimetria (V ABRATEC)**, 2006.

LUÍZ, R. C.; HIRATA, T. A. M.; CLEMENTE, E. Cinética de inativação da polifenoloxidase e peroxidase de abacate (*Persea americana* Mill.). **Ciência Agrotecnológica**, v. 31, n. 6, p. 1766-1773, 2007.

MENENDEZ, J. A.; VELLON, L.; COLOMER, R.; LUPU, R. Oleic Acid, the main monounsaturated fatty acid of olive oil, suppresses Her-2/neu (erb B-2) expression and synergistically enhances the growth inhibitory effects of trastuzumab (Herceptin) in breast cancer cells with Her-2/neu oncogene amplification. **Annals of Oncology**, v. 16, n. 3, p. 359-371, 2005.

MONTEDORO, G.; SERVILI, M.; BALDIOLI, M.; MINIATI, E. Simple and Hydrolyzable Phenolic Compounds in Virgin Olive Oil. 1. Their Extraction, Separation, and Quantitative and Semiquantitative Evaluation by HPLC. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 40, p. 1571-1576, 1992.

MOSTERT, M. E.; BOTHA, B. M.; DU PLESSIS, L. M.; DUODU, K. G. Effect of fruit ripeness and method of fruit drying on the extractability of avocado oil with hexane and supercritical carbon dioxide. **Journal of Science Food and Agriculture**, v. 87, p. 2880-2885, 2007.

MRAICHA, F.; KSANTINI, M.; ZOUCHEB, O.; AYADI, M.; SAYADI, S.; BOUAZIZ, M. Effect of olive fruit fly infestation on the quality of olive oil from Chemlali cultivar during ripening. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, n. 11, p. 3235-3241, 2010.

NOUR, V.; STAMPAR, F.; VEBERIC, R.; JAKOPIC, J. Anthocyanins profile, total phenolics and antioxidant activity of black currant ethanolic extracts as influenced by genotype and ethanol concentration. **Food Chemistry**, v.141, p. 961-966, 2013.

OLIVEIRA, M. C.; PIO, R.; RAMOS, J. D.; LIMA, L. C. O.; PASQUAL, M. P.; SANTOS, V. A. Fenologia e características físico-químicas de frutos de abacateiros visando à extração de óleo. **Ciência Rural**, v. 43, p. 411-418, 2013.

ORTEGA, J.A.A.; LÓPEZ, M.R.; TORRE, R.R.R. Effect of electric field treatment on avocado oil. *International Journal of Research in Agriculture and Food Sciences*, v.1, p. 13-22, 2013.

PAULA, G. A. **Caracterização físico-química e estudo do escurecimento enzimático em produtos derivados de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.)**. 2007. 91f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2007.

PIIRONEN, V.; TOIVO, J.; PUUPPONEN-PIMIA, R.; LAMPI, A. M. Plant sterols in vegetables, fruits and berries. *Journal Science Food Agricultural*, v. 83, p. 330-337, 2003.

PLAZA, L.; SÁNCHEZ-MORENO, C.; DE PASCUAL-TERESA, S.; DE ANCOS, B.; CANO, M. P. Fatty acids, sterols, and antioxidant activity in minimally processed avocados during refrigerated storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 57, p. 3204-3209, 2009.

RODRIGUES, N.; MALHEIROA, R.; CASAL, S.; ASENSIO-S.-MANZANERAC, M. C.; BENTOA, A.; PEREIRA, J.A. Influence of spike lavender (*Lavandula latifolia* Med.) essential oil in the quality, stability and composition of soybean oil during microwave heating. *Food and Chemical Toxicology*, v. 50, p. 2894–2901, 2012.

RODRIGUES-AMAYA, D.B. **A guide to carotenoid analysis in foods**. Washington: ILSI Press, 64 p, 2001.

SALGADO, J. M.; DANIELI, F.; REGITANO-D'ARCE, M. A. B.; FRIAS, A.; MANSI, D. N. O óleo de abacate (*Persea americana* Mill) como matéria-prima para a indústria alimentícia. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 28, p. 20-26, 2008.

SANTANA, I.; CABRAL, L. M. C.; FREITAS, S. P.; TORRES, A. G. **Efeito do pré-tratamento na extração do óleo da polpa de abacate Hass (*Persea americana*)**. In Congresso Brasileiro de Processamento de Frutas e Hortaliças, Rio de Janeiro, Brasil, 2011.

SANTOS, M. A. Z.; ALICIEO, T. V. R.; PEREIRA, C. M. P.; RAMOS, G. R.; MENDONÇA, C. R. B. Profile of Bioactive Compounds in Avocado Pulp Oil: Influence of the Drying Processes and Extraction Methods. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, v. 9, p. 19–27, 2014.

SCHAFFER, B. A.; WOLSTENHOLME, B. N.; WHILEY, A. W. **The Avocado: Botany, Production and Uses**. CABI, 540 p, 2013.

TANGO, J. S.; CARVALHO, C. R. L.; SOARES, N. B. Caracterização física e química de frutos de abacate visando a seu potencial para extração de óleo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.6, p. 17-23, 2004.

TANGO, J. S.; TURATTI, J. M. **Óleo de abacate**. In: ABACATE – cultura, matéria-prima, processamento e aspectos econômicos. Campinas: ITAL, p. 156-192, 1992.

WANG, M.; ZHENG, Y.; KHUONG, T.; LOVATT, C.J. Effect of harvest date on the nutritional quality and antioxidant capacity in 'Hass' avocado during storage. **Food Chemistry**, v.135, p. 694-698, 2012.

WANG, W.; BOSTIC, T. R.; GU, L. Antioxidant capacities, procyanidins and pigments in avocados of different strains and cultivars. **Food Chemistry**, v. 122, p. 1193-1198, 2010.

YOUSSEF, N. B.; ZARROUK, W.; CARRASCO-PANCORBO, A.; OUNI, Y.; SEGURA CARRETERO, A.; FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ, A.; DAOUDA, D.; ZARROUKA, M. Effect of olive ripeness on chemical properties and phenolic composition of chétoui virgin olive oil. **Journal Science and Food Chemistry**, v. 90, p. 199-204, 2010.

ZAMBLIAZI, R. C. **The role of endogenous lipid components on vegetables oil stability**. Manitoba: University of Manitoba Winnipeg, 304 p, 1997.

4 Capítulo 2 - Encapsulação de óleo de abacate em fibras ultrafinas de zeína por *electrospinning*

Resumo

O objetivo deste estudo foi encapsular o óleo de abacate em fibras ultrafinas de zeína pela técnica de *electrospinning* e avaliar sua liberação em diferentes condições de pH, temperatura e agitação, bem como no fluido gastrointestinal simulado. O óleo de abacate foi extraído pelo processo de prensagem mecânica para a maior preservação dos compostos bioativos. O óleo de abacate, nas concentrações de 15 e 30% (p/p), foi incorporado nas soluções poliméricas de zeína de 20, 25 e 30% (p/v). As soluções poliméricas foram avaliadas quanto à viscosidade e a condutividade elétrica. As fibras de zeína contendo o óleo de abacate foram desenvolvidas pela técnica de *electrospinning* e avaliadas pela eficiência de encapsulação, morfologia e distribuição de tamanho de diâmetro, espectroscopia na região do infravermelho por transformada de Fourier acoplada à técnica de refletância total atenuada (FTIR-ATR) e difração de raio-X. Também foi avaliada a liberação dos carotenoides em diferentes condições de pH, temperatura e agitação, bem como, sua liberação gastrointestinal *in vitro*. Na concentração de 30% de zeína, independente da concentração de óleo de abacate, foram obtidas fibras ultrafinas, contínuas, sem fragmentação, sem formação de *beads*, com superfícies lisas e com distribuição de diâmetro variando entre 357 a 971 nm, enquanto que na concentração de 20% de zeína não ocorreu a formação de fibras contínuas, independente da concentração de óleo de abacate. A eficiência de encapsulação do óleo de abacate nas fibras de zeína variou de 57,5% a 80,6%, dependendo da concentração de zeína e de óleo. A análise de FTIR-ATR evidenciou a encapsulação do óleo e a difratometria de raio-X demonstrou a estrutura amorfa das fibras. Verificou-se que pHs próximos a neutralidade (6 e 8), temperaturas de 60 e 90 °C e agitação de 18 rotações por minuto (rpm) por até um min, reduzem a liberação dos carotenoides da fibra composta de 30% de zeína e 30% de óleo. Observou-se também que o perfil de liberação dos carotenoides foi próximo ao ideal em condições gastrointestinais simuladas.

Palavras-chave: morfologia, eficiência de encapsulação, solução polimérica, simulação gastrointestinal.

4.1 Introdução

O abacate (*Persea americana*) é um fruto muito produzido mundialmente, inclusive no Brasil e reconhecido pela alta concentração de lipídeos em sua polpa, os quais podem alcançar até 35% deste componente, dependendo da variedade, o que o torna fonte para extração de óleo. O óleo, por sua vez, destaca-se pelo teor de ácidos graxos monoinsaturados, fosfolipídeos, fitoesteróis, carotenoides, álcoois alifáticos, álcoois terpênicos, tocoferóis e esqualeno (SANTOS et al., 2014). Essa infinidade de compostos bioativos, o torna um composto com potencial a ser encapsulado, uma vez que as tecnologias de encapsulação têm atraído à atenção

dos fabricantes de alimentos que buscam por inovação, visando sempre manter ou aumentar o valor nutricional dos alimentos, com compostos bioativos (LOPEZ-RUBIO; GAVARA; LAGARON. 2006).

Existem, atualmente, diversas técnicas para este fim, dentre as quais, a de *electrospinning* é amplamente utilizada pela sua simplicidade, versatilidade e baixo custo (NEO et al., 2013). Além disso, essa técnica não necessita aumento de temperatura durante o processo, o que a torna ideal para a encapsulação de compostos bioativos que apresentam baixa estabilidade térmica.

A técnica de *electrospinning* tem a finalidade de produzir fibras, dependendo das condições do processo. As fibras produzidas apresentam elevada relação entre superfície e volume, elevada porosidade, maleabilidade, ampla variação de tamanho e formas, e elevada resistência mecânica. As fibras produzidas por *electrospinning* podem apresentar tamanhos nanométricos, o que permite a liberação controlada de compostos bioativos encapsulados. Essa tecnologia tem sido muito utilizada na área biomédica, em processos de filtração e imobilização de enzimas, na biotecnologia, na engenharia ambiental, na elaboração de embalagens, em alimentos e na armazenagem e geração de energia, dentre outras (RENEKER et al., 2000; STITZEL et al., 2001; SMITH; MA, 2004; RAMAKRISHNA et al., 2006).

Os polímeros usualmente utilizados no processo de *electrospinning* incluem o colágeno, quitosana, gelatina, caseína, acetato de celulose, quitina, fibrinogênio, poli (ácido-L-lático), náilon, acetato de polivinila, zeína, entre outros (BHARDWAJ; KUNDU, 2010). Dentre estes, a zeína, que é uma proteína hidrofóbica extraída do milho, tem sido utilizada para diversas aplicações, apresentando como principais características alta resistência térmica, grande barreira ao oxigênio, baixo custo e ser atóxica (SHUKLA; CHERYAN, 2001).

Dentre os compostos bioativos, presentes no óleo de abacate, os carotenoides, podem atuar como antioxidantes naturais, os quais tem a função de proteger as células contra espécies reativas de oxigênio e radicais livres, devido ao sistema de duplas ligações conjugadas presentes em sua estrutura, as quais influenciam nas suas propriedades químicas, bioquímicas e físicas (LIMÓN et al., 2015). No entanto, a presença dessas duplas ligações, tornam esses compostos facilmente suscetíveis à oxidação, devido à ação de ácidos, luz ou altas temperaturas, e assim podendo haver alteração da cor, sabor e perda da atividade pró-vitamina A de alguns

carotenoides (RODRIGUEZ-AMAYA; RODRIGUEZ; AMAYA-FARFAN, 2006). Uma alternativa de proteger os compostos bioativos e aumentar suas aplicações em alimentos é a encapsulação.

Diversas pesquisas têm sido realizadas sobre encapsulação de compostos bioativos, utilizando diferentes técnicas, como *spray-dryer* para encapsular extrato de pimenta vermelha (*Capsicum annum* L.), rico em pró-vitamina A e vitamina E (ROMO-HUALDE et al., 2012), liofilização e processo de extração em fluido supercrítico para encapsular licopeno (BLANCH et al., 2007), extrusão para encapsular óleo essencial D-limoneno (LEVI, 2015), no entanto, não existem trabalhos sobre encapsulação de óleo de abacate em fibras ultrafinas de zeína pela técnica de *electrospinning*. Assim, o objetivo deste estudo foi encapsular óleo de abacate em fibras ultrafinas de zeína pela técnica de *electrospinning* e avaliar as fibras por meio das técnicas de eficiência de encapsulação, morfologia e diâmetro, espectroscopia na região do infravermelho por transformada de Fourier acoplada à técnica de refletância total atenuada (FTIR-ATR), difração de raio-X além de determinar a liberação de carotenoides em diferentes condições de pH, temperatura, e agitação, bem como simulação gastrointestinal *in vitro*.

4.2 Material e métodos

4.2.1 Materiais

Os frutos de abacate da variedade Breda foram obtidos por doação de um produtor de Sebastião do Paraíso/MG, durante a safra de 2015. Para a produção das fibras, foi utilizada a proteína zeína (99%), adquirida da Sigma Aldrich (Brasil), sendo todos os demais reagentes utilizados de alta pureza (PA).

4.2.2 Métodos

4.2.2.1 Extração do óleo de abacate

Os frutos do abacateiro foram sanitizados em água clorada a 200 mg L⁻¹ por 15 min, lavados em água corrente e posteriormente cortados manualmente para obtenção da polpa. A polpa foi imersa em solução de ácido cítrico a 1% (m/v) durante 15 min, para evitar o escurecimento enzimático e após foi seca em estufa a vácuo a 60 °C (Vacuoterm 6030 A, Brasil) até, aproximadamente, 5-6% de umidade

final. O óleo foi extraído pelo processo de prensagem mecânica (MA035, Marconi, Brasil), utilizando uma força de 9 ton a 23 ± 2 °C. O óleo foi armazenado em vidro âmbar sob congelamento a -18 °C até a sua utilização.

4.2.2.2 Preparo das soluções poliméricas de zeína e óleo de abacate

As soluções poliméricas foram preparadas dissolvendo 2,0, 2,5 e 3,0 g de zeína em 10 mL de etanol aquoso 70% (v/v), para a obtenção de soluções com concentrações de 20, 25 e 30% (p/v), respectivamente e homogeneizadas em agitador magnético (Biomixer QL-901, Brasil) por 2 h. O óleo de abacate foi adicionado nas soluções poliméricas nas concentrações de 0, 15 e 30% (p/p), em relação ao peso da zeína, cujas soluções foram homogeneizadas em agitador magnético (Biomixer QL-901, Brasil) por 15 minutos.

4.2.2.3 Produção de fibras ultrafinas pela técnica de *electrospinning*

Os parâmetros utilizados para a produção de fibras ultrafinas com diferentes concentrações de zeína e óleo de abacate, foram: taxa de alimentação de 1 mL h^{-1} , distância da agulha até o coletor de 16 cm, diâmetro de agulha de 0,7 mm e a tensão em torno de 20 kV. As soluções poliméricas foram adicionadas em seringas de 1 mL e a taxa de fluxo da solução polimérica foi controlada por uma bomba de infusão de seringa (KD Scientific, Modelo 200, Inglaterra). O processo de *electrospinning* foi realizado através da utilização de um eletrodo positivo, conectado a uma fonte de alta tensão com corrente contínua (-30/+30kV, Instor, Inglaterra), acoplado diretamente na ponta da agulha metálica na saída da seringa e um eletrodo negativo conectado a um alvo metálico coberto com folha de alumínio posicionado no sentido horizontal à bomba de infusão, para a deposição das fibras. No decorrer do processo, a temperatura ambiente foi controlada a 23 ± 2 °C por condicionador de ar e a umidade relativa a $45 \pm 2\%$, controlada por um desumidificador. As fibras ultrafinas foram formadas em função da atração e transporte da solução polimérica ao coletor.

4.2.2.4 Avaliação das soluções poliméricas

A condutividade elétrica das soluções foi determinada através de um condutivímetro (Medidor CON500, Benchtop Meter, USA), e os resultados expressos em $\mu\text{S cm}^{-1}$. A viscosidade aparente das soluções foi medida em um viscosímetro digital Brookfield (Model DV – II, USA), utilizando um *spindle* n°18 e 100 rpm. Todas as medidas foram realizadas a temperatura ambiente ($23 \pm 2^\circ\text{C}$) e os resultados expressos em mPas.

4.2.2.5 Avaliação das fibras ultrafinas de zeína e óleo de abacate

4.2.2.5.1 Eficiência de encapsulação

Uma vez que o óleo de abacate possui compostos bioativos lipossolúveis, a eficiência de encapsulação foi determinada pelo teor de carotenoides. O conteúdo de carotenoides na superfície das fibras foi determinado através da homogeneização de 0,05 g de amostra com 5 mL de hexano em vórtex (Biomixer QL-901, Brasil) durante 1 min e centrifugação (206 Fanem-BL, Alemanha) a 1057 g por 3 min. A fase apolar foi coletada e analisada em espectrofotômetro (Jenway 6705, Inglaterra) a 450 nm, segundo a metodologia de Sutter, Buera e Elizalde (2007). Enquanto o conteúdo de carotenoides do óleo de abacate foi determinado pela dissolução de 0,1g do óleo em 25 mL de hexano, segundo metodologia de Rodriguez-Amaya (2001), cuja absorbância foi medida em espectrofotômetro a 450 nm (Jenway 6705, Inglaterra), sendo o conteúdo de carotenoides expressos em μg de β -caroteno por g de amostra (Equação 1).

$$\text{Carotenoides totais } (\mu\text{g.g}^{-1}) = \frac{\text{Abs} \times V \text{ (mL)} \times 10^6}{A_{1\text{cm}}^{1\%} \times 100 \times P \text{ (g)}} \times 100$$

Abs consiste na absorbância; V no volume da solução (10 mL); $A_{1\text{cm}}^{1\%}$ o coeficiente de absorção (2500, equivalente ao carotenoide majoritário β -caroteno no solvente etanol) e; P o peso da amostra diluído no volume V.

O resultado da eficiência de encapsulação (EE) foi calculado pela porcentagem de carotenoides encapsulados (Equação 2).

$$\% \text{ EE} = \frac{\text{Ca}-\text{Cs}}{\text{Ca}} \times 100 \quad \text{eq. 2}$$

“Ca” representa o conteúdo de carotenoides do óleo de abacate adicionado às fibras, “Cs” o conteúdo de carotenoides na superfície.

4.2.2.5.2 Morfologia e distribuição de diâmetro das fibras ultrafinas

A morfologia das fibras ultrafinas foi analisada utilizando um microscópio eletrônico de varredura (MEV) (Jeol, JSM-6610LV, USA), em que uma pequena porção das fibras foi colocada na superfície de um *stub* e, subsequentemente, revestida com ouro através de um revestidor por crepitação (Deston Vacuum Desk V; Moorestown, USA). As imagens foram analisadas utilizando uma voltagem de aceleração de 15 kV e uma ampliação de 1000 x e 3000 x. O diâmetro médio e a distribuição do diâmetro das fibras ultrafinas foram avaliados a partir das imagens do MEV, sendo medidas cerca de 50 fibras, através do programa ImageJ.

4.2.2.5.3 Espectroscopia na Região do Infravermelho por Transformada de Fourier acoplada à Técnica de Refletância Total Atenuada (FTIR-ATR)

Os grupamentos funcionais da zeína e do óleo de abacate, assim como das fibras foram investigados utilizando espectrômetro com transformada de Fourier (FTIR-ATR) (IRPrestige21, Shimadzu, Japão). A análise dos espectros foi realizada na região do infravermelho médio com intervalo de número de onda de 1000-3500 cm^{-1} e resolução espectral de 4 cm^{-1} . Os sinais foram processados utilizando o software GRAMS (Galactic Industries Corp., EUA).

4.2.2.5.4 Difração de raio-X

A caracterização das fibras ultrafinas foi realizada em difratômetro de raios-X (D8 ADVANCE BRUKER, EUA), em que a fonte de raios-X foi de radiação Cu K α (λ = 1,5418 Å), alimentado a 40 kV e 40 mA. A medida foi realizada sob o ângulo 2 θ variando de 10 a 100 °.

4.2.2.6 Liberação de carotenoides

4.2.2.6.1 Liberação de carotenoides em diferentes pHs, temperatura e condições de agitação

Das fibras obtidas, a que apresentou, de uma forma geral os melhores resultados, foi avaliada quanto à liberação dos carotenoides.

A liberação de carotenoides em diferentes pHs foi avaliada submetendo-se as fibras em pHs de 2, 4, 6, 8 e 10, através de soluções contendo ácido cítrico e hidróxido de sódio.

Na avaliação da liberação em diferentes temperaturas, utilizaram-se as temperaturas de 20, 60 e 90 °C.

Na avaliação frente a agitação, utilizou-se diferentes rotações (3, 6, 9, 12, 15 e 18 rpm), a qual foi realizada com auxílio de um ultra turrax (IKA T8 digital, Alemanha) em diferentes tempos de agitação (1 e 3 min).

A reação de carotenoides, por sua vez seguiu a metodologia descrita na seção 4.2.2.5.1.

4.2.2.6.2 Liberação de carotenoides gastrointestinal *in vitro*

O perfil de liberação *in vitro* simulando os fluídos: gástrico e intestinal foi avaliado segundo metodologia descrita por Chiu et al. (2007); Paramera; Konteles e Karathanos (2011) e Zheng et al. (2011). Soluções de ácido cítrico 0,1M e fosfato dissódico, foram misturadas em proporções adequadas, a fim de se obter soluções com pH final de 2,00 e 8,00 (CHIU et al., 2007). A solução com pH 2,00 (simulação de fluído gástrico) continha 0,3% de enzima pepsina; e a solução com pH 8,00 (simulação de fluído intestinal) continha 0,1% de enzima pancreatina (PARAMERA; KONTELES; KARATHANOS, 2011). Foram pesadas 0,02 g das fibras, adicionadas a 10 mL das soluções e incubadas a 37°C sob agitação, sendo retiradas nos tempos 0, 30, 60, 120, 180, 240, 300 e 360 minutos. A cada tempo, as amostras foram retidas e submetidas a centrifugação (206 Fanem-BL, Alemanha) a 1057g por 5min, separado o sobrenadante, sendo posteriormente avolumadas para 10 mL com os fluídos. A reação de carotenoides foi realizada com 5 mL dos fluídos e adicionada de 5 mL de hexano, agitadas no vórtex (1min) e centrifugadas. A reação de liberação de carotenoides, por sua vez seguiu a metodologia descrita na seção 4.2.2.5.1.

4.3 Análise estatística

Os resultados foram expressos através das médias e desvio padrão, referentes às determinações realizadas em triplicata por meio de análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey ($p < 0,05$), utilizando o programa Statistix 10.

4.4 Resultados e discussão

4.4.1 Caracterização das soluções poliméricas

O aumento da concentração de zeína ocasionou aumento significativo na viscosidade da solução polimérica (Tabela 1). No entanto, o aumento na concentração do óleo de abacate somente foi significativo para as soluções poliméricas contendo 25% de zeína.

Tabela 1 - Viscosidade aparente e condutividade elétrica das soluções poliméricas de zeína incorporadas com óleo de abacate

Solução polimérica ¹		Viscosidade aparente (mPas)	Condutividade elétrica ($\mu\text{S cm}^{-1}$)
Zeína (% p/v)	Óleo de abacate (% p/p)		
20	0	$38,70 \pm 0,3^g$	$757,93 \pm 2,9^a$
20	15	$45,90 \pm 0,2^f$	$844,20 \pm 13,1^a$
20	30	$45,10 \pm 0,0^f$	$763,07 \pm 4,8^a$
25	0	$63,80 \pm 0,2^e$	$760,23 \pm 30,2^a$
25	15	$71,03 \pm 0,4^d$	$744,43 \pm 9,9^a$
25	30	$79,50 \pm 0,2^c$	$691,67 \pm 5,0^a$
30	0	$117,63 \pm 0,4^b$	$804,00 \pm 1,5^a$
30	15	$146,80 \pm 0,3^a$	$747,67 \pm 4,0^a$
30	30	$149,43 \pm 5,6^a$	$697,30 \pm 8,3^a$

¹Letras distintas na mesma coluna, representam diferença significativa entre as médias submetidas ao teste de Tukey a 5% de significância.

Neo et al. (2012) também observaram que o aumento na concentração de zeína (1-35%), proporcionou maior viscosidade a solução polimérica, entretanto maiores valores foram observados. Por outro lado, Antunes et al. (2017) ao avaliarem a viscosidade de soluções de zeína de 20, 30 e 40% encontraram valores semelhantes aos encontrados no presente estudo.

Em relação a influência do óleo, Moomand e Lim (2015) em estudo com adição de óleo de peixe em fibras de zeína observaram um aumento da viscosidade quando adicionaram maior concentração de óleo à fibra, de 17 a 30%, o que não se percebeu no presente estudo, nas concentrações de 20 e 30% de zeína.

Segundo Bhardwaj e Kundu (2010), existe uma viscosidade ótima para uma solução ser submetida ao processo de *electrospinning*, que está relacionado as características da solução polimérica, que permite a formação de fibras contínuas, uniformes e sem a presença de *beads*. Assim, para a obtenção de fibras as soluções poliméricas devem ser viscosas para garantir a estabilidade do jato durante o processo de *electrospinning*, uma vez que baixa viscosidade tende a produzir cápsulas (DHANALAKSHMI; LELE; JOG, 2015).

Não foi observada diferença significativa entre os valores de condutividade elétrica das soluções poliméricas com diferentes concentrações de zeína e óleo de abacate (Tabela 1). Geralmente, as proteínas dissolvidas em solução aquosa produzem íons, que são responsáveis pela condutividade elétrica da solução (RAMAKRISHNA et al., 2005). Assim, o aumento na concentração de proteína poderia aumentar a condutividade elétrica da solução, comportamento este, não observado no presente estudo. De acordo com Bhardwaj e Kundu (2010), além do tipo e da concentração de polímero, a condutividade da solução também pode ser influenciada pelo solvente e pela disponibilidade de compostos ionizáveis. Ramakrishna et al. (2005) relataram que para iniciar o processo de *electrospinning*, a solução polimérica deve ter carga estática suficiente para estabelecer a força de repulsão que deve exceder a tensão superficial da solução polimérica. Além disso, o subsequente alongamento do jato do *electrospinning* também é dependente da capacidade da solução em transportar cargas. Drosou; Krokida e Biliaderis (2017) reportaram que a solução com maior condutividade elétrica promove alongamento do jato ao longo de seu eixo, produzindo fibras de menor diâmetro. Assim, parâmetros como viscosidade e condutividade elétrica da solução polimérica são fatores que influenciam diretamente no diâmetro e morfologia das fibras.

4.4.2 Caracterização das fibras ultrafinas de zeína e óleo de abacate

4.4.2.1 Eficiência de encapsulação

A eficiência de encapsulação dos carotenoides do óleo de abacate, nas fibras ultrafinas de zeína, variou de 61,7 a 80,6% (Tabela 2). Não foi possível observar influência significativa no aumento na concentração de zeína e óleo de abacate nos valores de eficiência de encapsulação. Entretanto, houve redução significativa dos valores de eficiência com a utilização de 25% de zeína e 15% de óleo.

Tabela 2 - Eficiência de encapsulação dos carotenoides nas fibras de zeína com óleo de abacate

Solução polimérica ¹		Eficiência de encapsulação (%)
Zeína (% p/v)	Óleo de abacate (% p/p)	
20	15	75,3 ± 6,6 ^a
20	30	77,5 ± 11,6 ^a
25	15	61,7 ± 6,1 ^b
25	30	71,3 ± 6,7 ^{ab}
30	15	77,7 ± 7,6 ^a
30	30	80,6 ± 1,5 ^a

¹Letras distintas na mesma coluna, representam diferença significativa entre as médias submetidas ao teste de Tukey a 5% de significância.

As proteínas, por apresentarem natureza anfifílica, tornam-se agentes de encapsulação ideais para óleos, devido a sua capacidade emulsionante, sendo assim amplamente utilizadas para a encapsulação de compostos ativos presentes em matrizes lipofílicas (NESTERENKO et al., 2013). Dessa forma, possivelmente, a presença de aminoácidos apolares nessas proteínas tenha possibilitado interações hidrofóbicas com os constituintes do óleo, refletindo em altos valores de eficiência de encapsulação, mesmo em baixas concentrações de zeína utilizadas.

Moomand e Lim (2014) e Yang et al. (2017) ao encapsularem óleo de peixe em fibras de zeína, encontraram uma eficiência de encapsulação superior, de aproximadamente, 96% e 95%, respectivamente. Bae e Lee (2008) ao encapsularem óleo de abacate com isolados de proteína de soro de leite (WPI) isolado ou em combinação com maltodextrina (MD) DE, encontraram uma eficiência de encapsulação variando de 45 a 66%, ou seja, menor do que a encontrada no presente estudo para fibras ultrafinas de zeína. De acordo com os resultados encontrados no presente estudo e os relatados na literatura para diferentes óleos, as

fibras de zeína produzidas via *electrospinning* foram eficientes para encapsulação de óleo de abacate.

4.4.2.2 Morfologia e distribuição de diâmetro

As fibras obtidas com solução de zeína 30% (Figuras 1n, 1p e 1r) apresentaram morfologia ultrafina, com superfícies lisas e sem fragmentação ou formação de *beads*. No entanto, as fibras produzidas com 20% de zeína (Figuras 1a, 1c e 1e), independente da concentração de óleo de abacate, apresentaram morfologia descontínua e com presença de *beads*. O surgimento dos *beads* na estrutura das fibras se deve a variações no processo de *electrospinning*, principalmente ao desnivelamento desigual da fibra durante o processo de estiramento, sendo que os principais fatores que influenciam a formação destes são a viscosidade da solução, a qual em baixa concentração tende a formar cápsulas ao invés de fibras, a tensão superficial e a densidade da carga líquida transportada pelo jato.

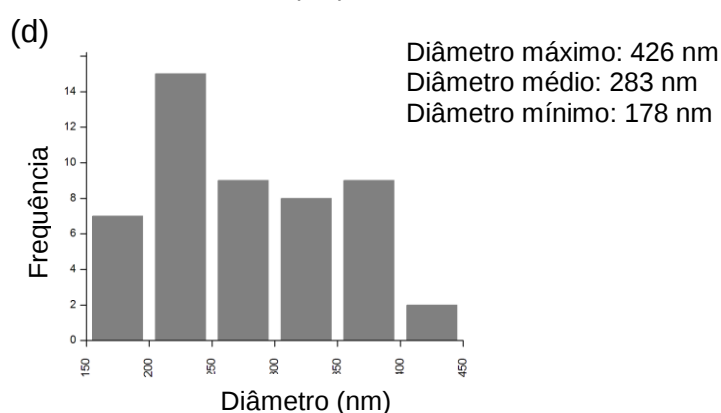
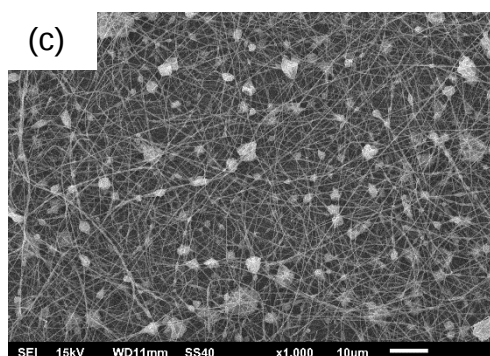
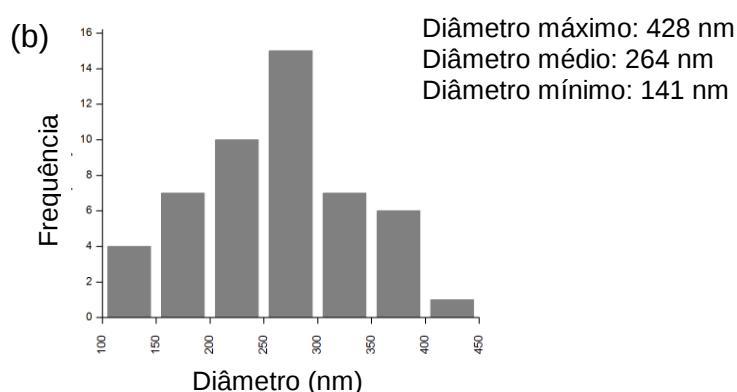
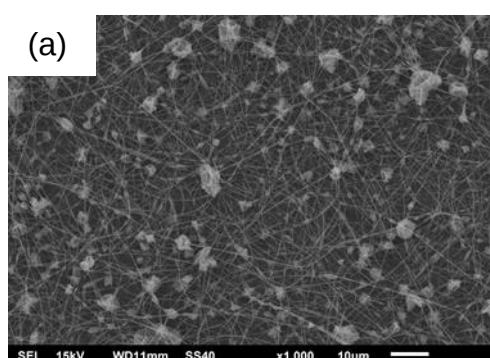
O campo eletrostático submetido e a condutividade da solução polimérica controlam a densidade de carga desse líquido transportado durante o processo. Uma alternativa para reduzir a tensão superficial e eliminar o número de fibras com *beads* é adicionar surfactante à solução (TORRES-GINER; GIMENEZ; LAGARON, 2008). Imagens morfológicas semelhantes às encontradas no presente estudo para as fibras contendo 20% de zeína, também foram relatadas por Moomand e Lim (2014), os quais nesta mesma concentração obtiveram tanto morfologias lisas com formação de *beads*, cuja morfologia foi dependente do solvente utilizado (etanol ou isopropanol). Deng et al. (2018) ao produzirem fibras de zeína na concentração de 30%, utilizando 80% de ácido acético para dissolução também obtiveram fibras com aparecimento de *beads*, cuja morfologia adquiriu superfície lisa na presença de gelatina combinada a zeína. Um dos fatores que mais influencia na morfologia das fibras, de acordo com Okutan; Terzi e Altay (2014) é a viscosidade da solução, a qual em baixas concentrações tende a formar cápsulas ao invés de fibras.

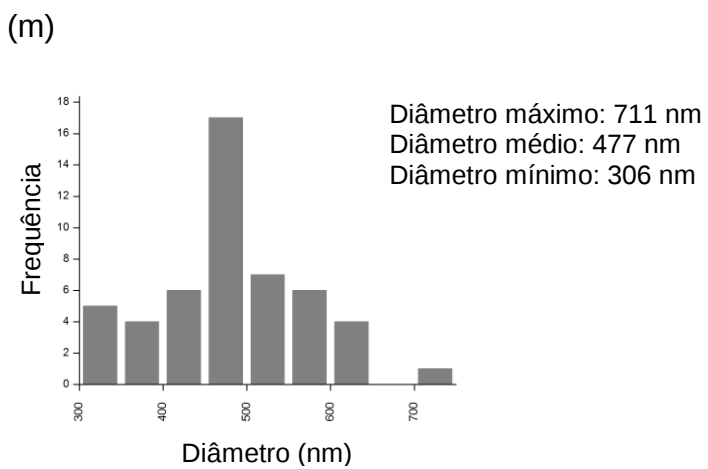
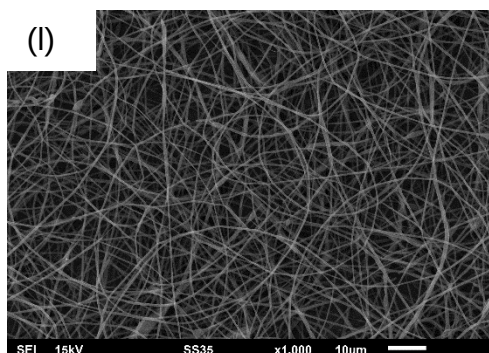
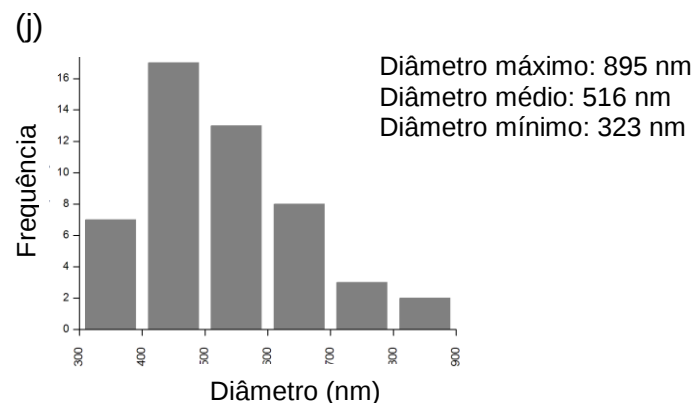
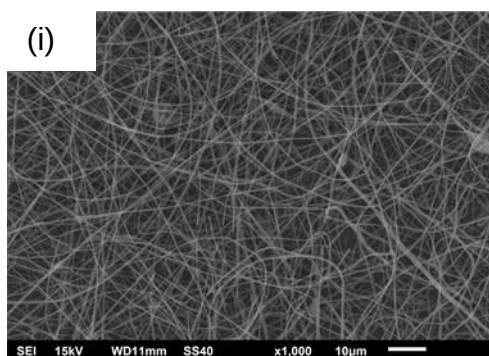
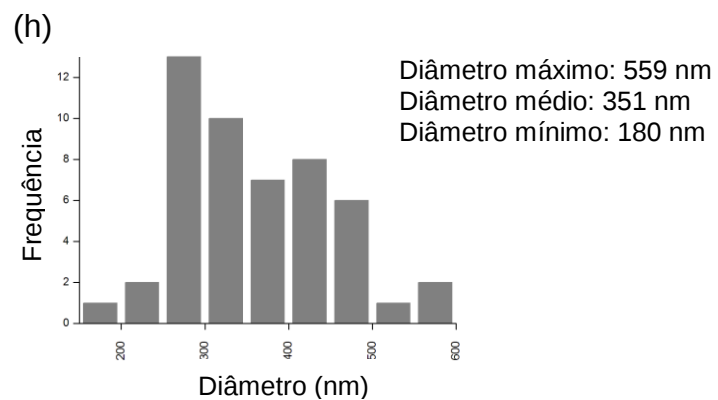
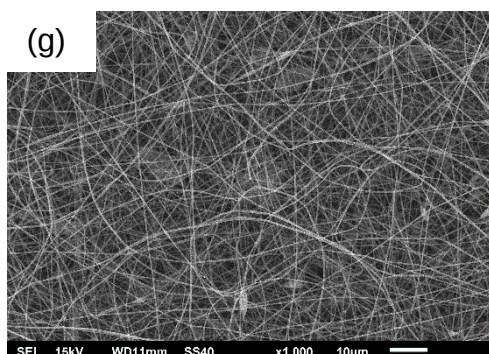
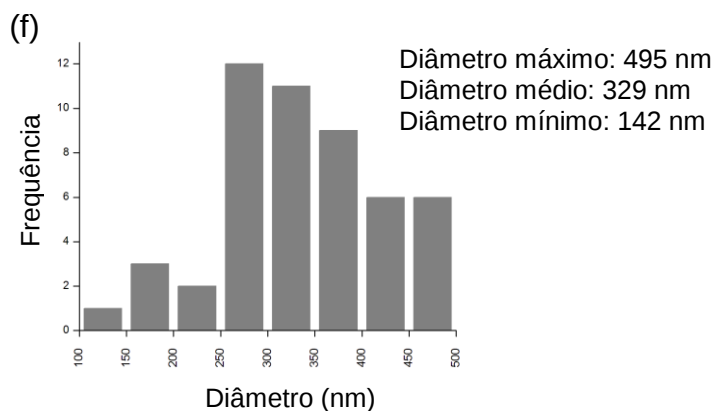
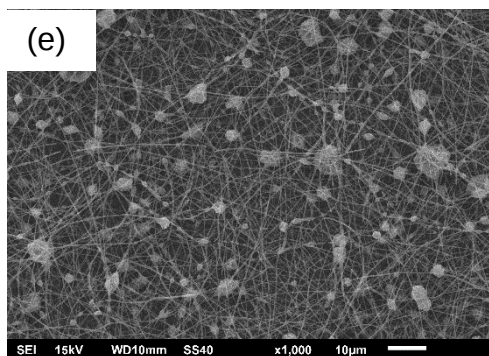
Como relatado anteriormente na Tabela 1, a viscosidade aparente das soluções de zeína aumentou com o aumento da concentração. De acordo com Huang et al. (2003), a viscosidade da solução do polímero é um dos parâmetros de

maior influência no diâmetro das fibras, uma vez que relatos indicam que uma maior viscosidade resulta num maior diâmetro médio da fibra.

O diâmetro médio das fibras variou de 428 a 900 nm, sendo obtidos valores maiores para as fibras de zeína com adição de óleo de abacate, em relação às fibras constituídas somente de zeína, devido à espessura das fibras ser proporcional a concentração de sólidos presentes na solução. O mesmo comportamento foi observado por Yao et al. (2016), em estudo de encapsulação de óleo de semente de rosa.

Yilmaz et al. (2016) obtiveram valores de diâmetro superiores, com variação entre 600 a 1400 nm, para fibras ultrafinas de zeína e cumarina obtidas por *electrospinning*. A distinção entre os valores pode ser decorrente das variações nas condições de operação do *electrospinning*, como a taxa de alimentação, a tensão e a distância do coletor, bem como as características das soluções (viscosidade e condutividade elétrica), entre outros (BHARDWAJ; KUNDU, 2010).





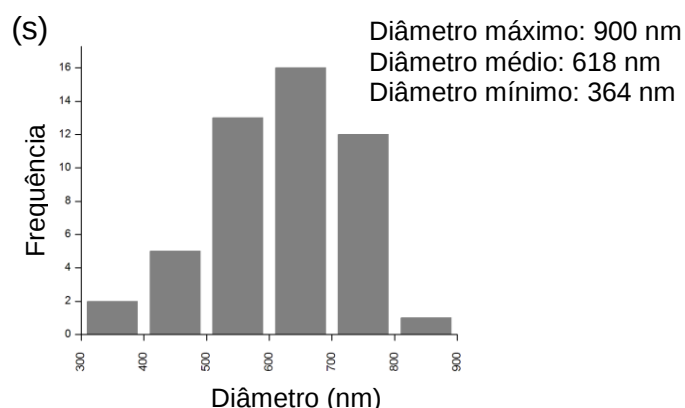
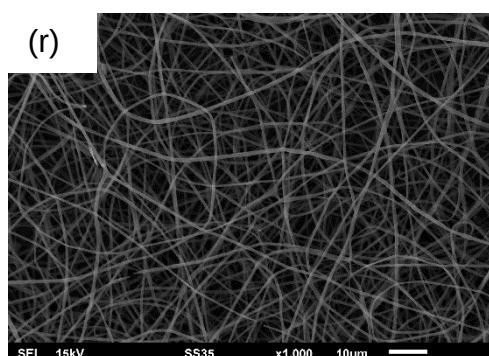
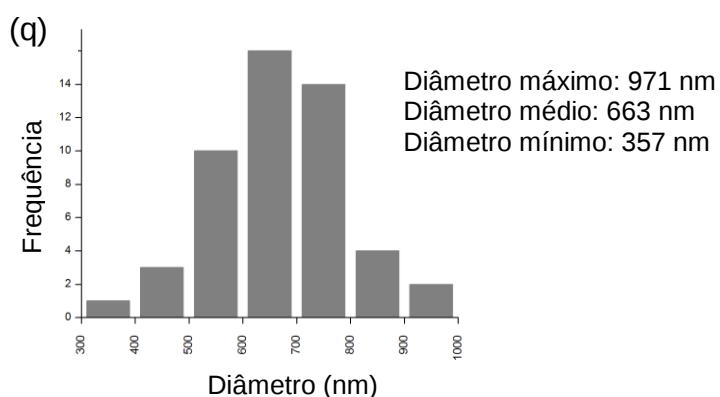
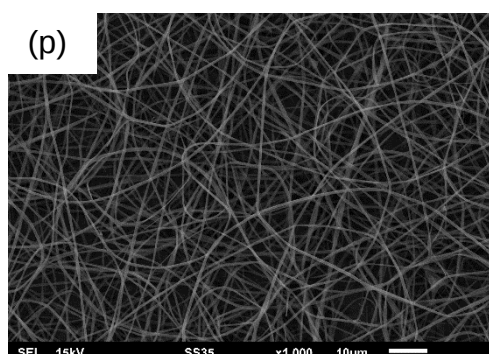
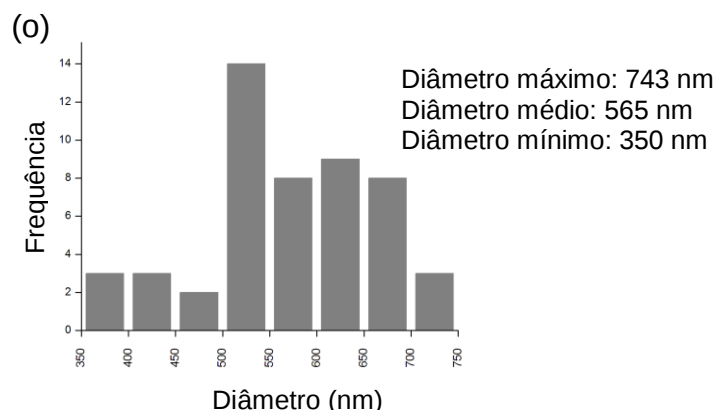
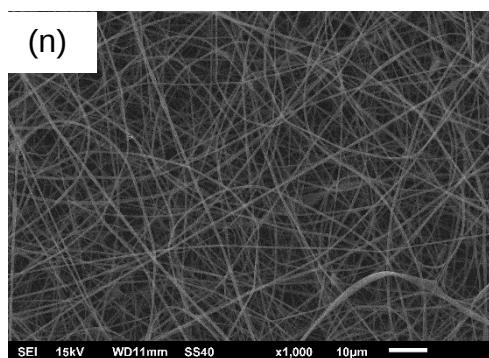


Figura 1 - Morfologia das fibras ultrafinas e respectiva distribuição de tamanho: zeína 20% (p/v) (a), zeína 20% (p/v) e óleo de abacate 15% (p/p) (c), zeína 20% (p/v) e óleo de abacate 30% (p/p) (e), zeína 25% (p/v) (g), zeína 25% (p/v) e óleo de abacate 15% (p/p) (i), zeína 25% (p/v) e óleo de abacate 30% (p/p) (l), zeína 30% (p/v) (n), zeína 30% (p/v) e óleo de abacate 15% (p/p) (p), zeína 30% (p/v) e óleo de abacate 30% (p/p) (r).

4.4.2.3 Espectroscopia na Região do Infravermelho por Transformada de Fourier acoplada à Técnica de Refletância Total Atenuada (FTIR-ATR)

Os espectros da análise FTIR do óleo de abacate e das fibras estão demonstrados na Figura 2.

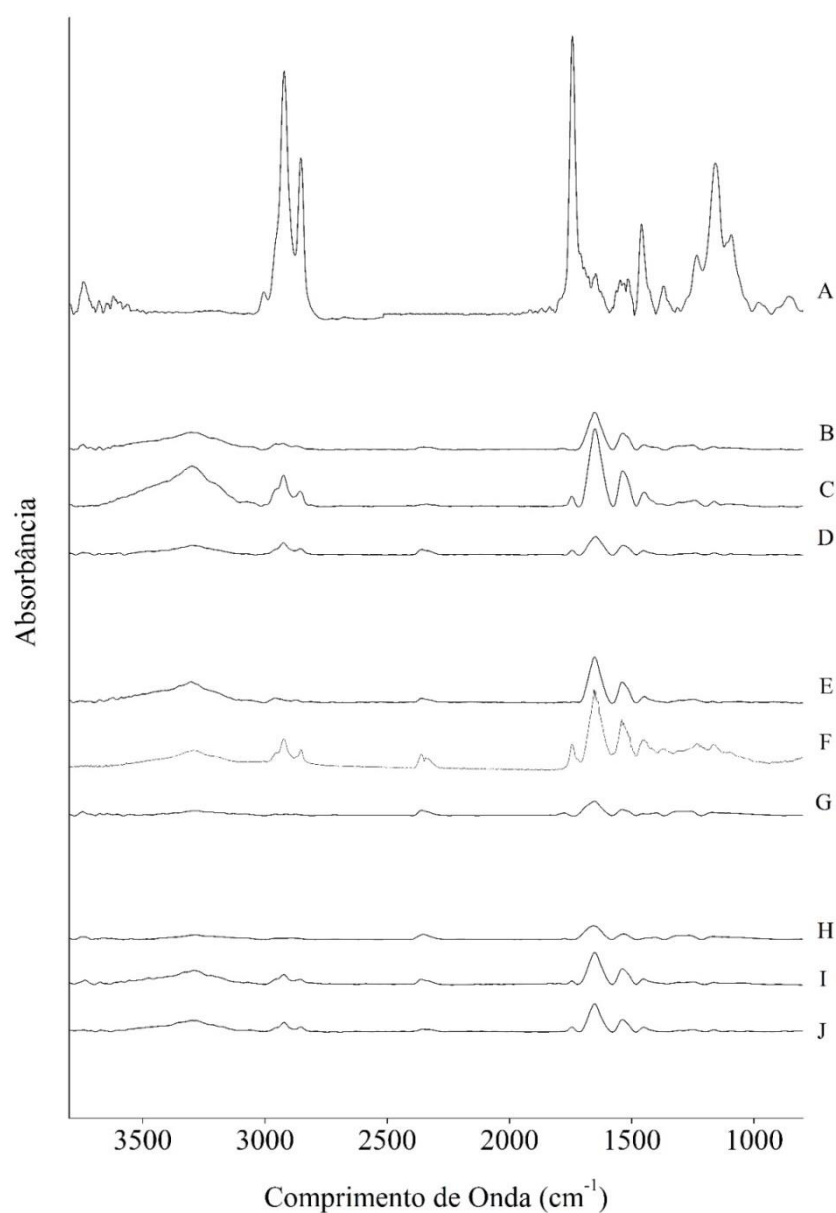


Figura 2 - Espectros de FTIR-ATR para óleo de abacate (A), fibras ultrafinas de zeína 20% (p/v) (B), zeína 20% (p/v) e óleo de abacate 15% (p/p) (C), zeína 20% (p/v) e óleo de abacate 30% (p/p) (D), zeína 25% (p/v) (E), zeína 25% (p/v) e óleo de abacate 15% (p/p) (F), zeína 25% (p/v) e óleo de abacate 30% (p/p) (G), zeína 30% (p/v) (H), zeína 30% (p/v) e óleo de abacate 15% (p/p) (I), zeína 30% (p/v) e óleo de abacate 30% (p/p) (J).

A Figura 2 ilustra o espectro do óleo de abacate puro, onde foram observadas bandas características de gorduras saturadas e insaturadas, presentes na composição do óleo, sendo estas observadas em $\sim 3000\text{ cm}^{-1}$ estiramento ($=\text{C-H}_{\text{cis}}$),

2900 – 2800 cm^{-1} estiramento ($-\text{C}-\text{H}_s$ e $-\text{C}-\text{H}_{as}$), 1770 – 1700 cm^{-1} estiramento ($-\text{C}=\text{O}$), 1660 – 1600 cm^{-1} estiramento ($\text{C}=\text{C}_{cis}$), 1470 – 1430 cm^{-1} deformação tesoura (*scissoring*) ($-\text{C}-\text{H}_{sp2}$), 1420 – 1360 cm^{-1} deformação ($=\text{C}-\text{H}_{cis}$ e $-\text{C}-\text{H}_{sp3}$), 1200 – 1100 cm^{-1} estiramento ($-\text{C}-\text{O}$) e 900 – 700 cm^{-1} deformação balanço (*rocking*) das estruturas poliméricas $-(\text{CH}_2)_n-$. Resultados semelhantes foram obtidos por Quiñones-Islas et al. (2013) ao avaliarem amostras de óleo de abacate.

Os espectros B, E e H ilustram a zeína pura nas concentrações de 20, 25 e 30 %, respectivamente, onde não foram observadas diferenças. Nestes três espectros são observadas bandas características da zeína em $\sim 3000 \text{ cm}^{-1}$ estiramento (N-H) sobreposta por (O-H) dos aminoácidos presentes na proteína, 2900 – 2800 cm^{-1} estiramentos ($-\text{C}-\text{H}$) 1700 – 1660 cm^{-1} estiramento ($\text{C}=\text{O}$) da amida I, 1650 – 1500 cm^{-1} estiramento (C-N) e deformação (N-H) da amida II e em 1200 – 1000 cm^{-1} estiramento (C-O-H). Resultados semelhantes foram encontrados para zeína em estudos de Forato; Bicudo e Colnago (2003).

Os espectros C e D correspondem à composição de 20% de zeína com 15% e 30 % de óleo; F e G correspondem à composição de 25% de zeína com 15% e 30 % de óleo; I e J correspondem à composição de 30% de zeína com 15% e 30 % de óleo, respectivamente, no entanto, mesmo com o aumento na composição da zeína e na concentração do óleo, não foram observadas diferenças entre os espectros, sendo observadas bandas nas mesmas regiões, que indicam uma interação entre o grupamento da amida II da zeína (1650 – 1500 cm^{-1} estiramento (C-N) e deformação (N-H) e o grupamento carboxílico do óleo (1770 – 1700 cm^{-1} estiramento ($-\text{C}=\text{O}$)), tal interação pode ser comprovada com o deslocamento, para uma região de menor comprimento de onda, das bandas características, em todos os espectros observados.

De uma forma geral, os espectros das fibras apresentaram bandas características da zeína, não sendo possível detectar o perfil característico do óleo, com exceção da banda em 2900 cm^{-1} , a qual apresenta-se mais intensa que na zeína, e de menor intensidade que no óleo. Esses resultados sugerem que tenha ocorrido a encapsulação do óleo de abacate nas fibras de zeína.

4.4.2.4 Difração de raio-X

A Figura 3 mostra os resultados dos difratogramas de raio-X das fibras com e sem a incorporação do óleo de abacate. Em todos os difratogramas obtidos foi observado um halo difuso, característico de substâncias amorfas. Estudos de difratometria, de uma forma geral apresentam somente os difratogramas dos encapsulados, demonstrando o perfil amorfo das partículas (SANSONE et al., 2011; BASTOS et al., 2012). As fibras ultrafinas não apresentaram picos cristalinos, uma vez que não houve a presença de picos acentuados nos difratogramas. Barbosa (2010) ressalta que a presença de picos difusos e largos para materiais amorfos é devida ao arranjo desordenado das moléculas produzindo bandas dispersas. Dentre os vários estudos que confirmam a encapsulação pela técnica de raio-X, citamos o de Sansone et al. (2011), os quais microencapsularam extratos de *Fadogia ancylantha*, *Melissa officinalis* e *Tussilago farfara*.

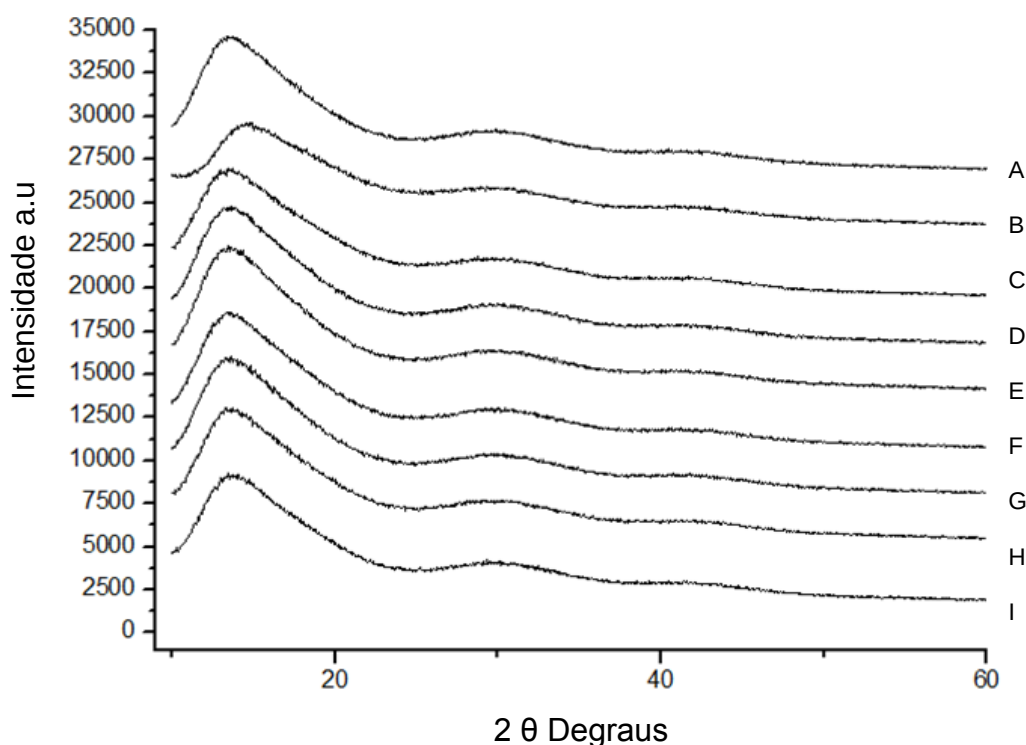


Figura 3 - Difração de raio-X das fibras ultrafinas de zeína 20% (A), zeína 20% e óleo de abacate 15% (B), zeína 20% e óleo de abacate 30% (C), zeína 25% (D), zeína 25% e óleo de abacate 15% (E), zeína 25% e óleo de abacate 30% (F), zeína 30% (G), zeína 30% e óleo de abacate 15% (H), zeína 30% e óleo de abacate 30% (I).

4.4.3 Liberação de carotenoides

O material de parede não só protege o material encapsulado da umidade, luz, oxigênio e de agentes externos adicionais, mas também permite/auxilia no controle da liberação das substâncias ativas, pois a qualidade das micropartículas produzidas por um determinado método de encapsulação deve ser avaliada de acordo com a retenção e a estabilidade do material encapsulado, bem como de acordo com sua liberação, que deve ocorrer apenas no local desejado (GONÇALVES, ESTEVINHO, ROCHA, 2016). Segundo Brannon-Peppas (1993), os mecanismos de liberação dos materiais ativos encapsulados variam de acordo com a natureza do agente encapsulante, sendo que normalmente ocorrem por: variação de temperatura e de pH; solubilidade do meio; biodegradação; difusão; ruptura mecânica; permeabilidade seletiva e gradiente de concentração existente em relação ao meio de liberação. Considerando-se a importância do estudo da liberação, as fibras obtidas no presente estudo, contendo 30% de zeína e 30% de óleo de abacate, foram testadas em diferentes pHs (2, 4, 6, 8 e 10), temperaturas (20, 60 e 90 °C) e condições de agitação (3, 6, 9, 12, 15 e 18 rpm) bem como simulações gastrointestinais *in vitro* para avaliação da liberação de carotenoides.

4.4.3.1 Liberação de carotenoides em diferentes pHs, temperatura e condições de agitação

Segundo o observado na Figura 4, a liberação dos carotenoides foi superior em pHs ácidos de 2 e 4, assim como em pH básico de 10. Em valores próximos a neutralidade (6 e 8) pode-se observar redução significativa, sendo que os melhores resultados foram obtidos em pH 8,0 (1,41%). De acordo com a solubilidade, as proteínas do milho, podem ser divididas nas frações de globulinas, albuminas, prolaminas e glutelinas (SHUKLA; CHERYAN, 2001). Desse modo, as alterações nas mudanças de pH resultam em alterações de solubilidade do material de parede em água, possibilitando assim a liberação de carotenoides. O pH, por sua vez, afeta a natureza e a distribuição de cargas de uma proteína. Em geral, as proteínas são mais solúveis em pHs baixos (ácidos) ou elevados (alcalinos), devido ao excesso de cargas do mesmo sinal, produzindo repulsão entre as moléculas e, conseqüentemente, contribuindo para sua maior solubilidade. De acordo com alguns

autores (VOJDANI, 1996; WONG; HERALD; HACHMEISTER, 1996; MANN; MALIK, 1996), quando uma solução protéica está no seu ponto isoelétrico, ou seja, quando a proteína num sistema aquoso apresenta carga líquida nula, as interações proteína-proteína aumentam, pois as forças eletrostáticas moleculares atingem um patamar mínimo; conseqüentemente, menos água interage com as moléculas de proteína, sendo assim uma condição favorável para que as moléculas de proteína se aproximem, se agreguem e precipitem. Ou seja, quanto mais próximo for o pH de uma solução protéica do seu ponto isoelétrico (pI), mais baixa será sua solubilidade. Em pH diferente do ponto isoelétrico ocorre um aumento da solubilidade protéica, devido ao aparecimento de cargas positivas ou negativas em excesso nas cadeias de proteínas, as quais favorecem a interação carga-momento do dipolo da água (CARNEIRO, 1997).

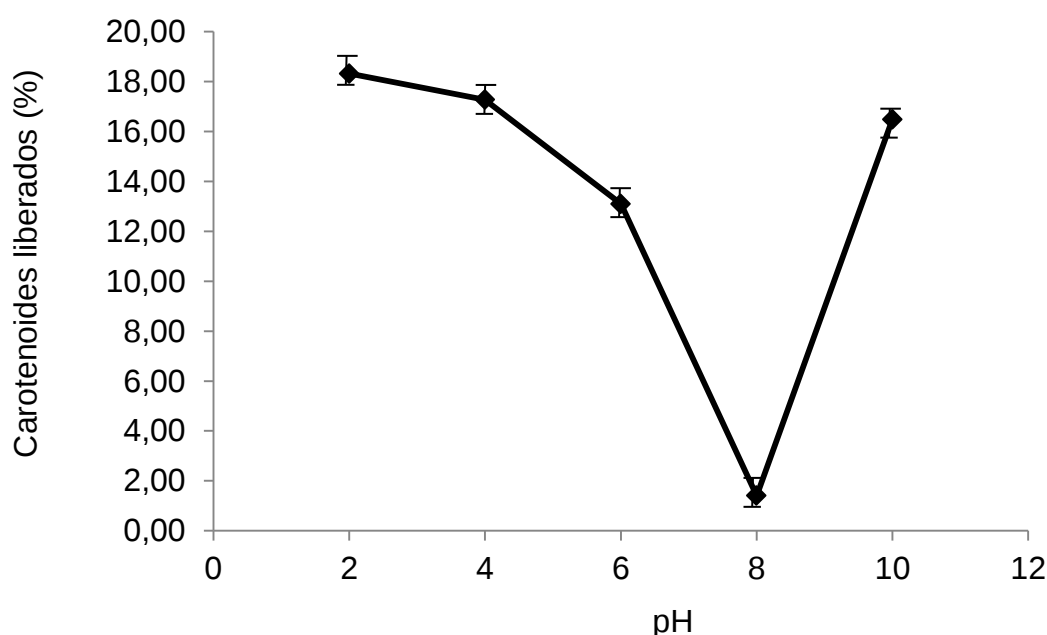


Figura 4 - Liberação dos carotenoides da fibra contendo 30% de zeína e 30% de óleo de abacate em pHs de 2, 4, 6, 8 e 10.

Assim como o pH, a temperatura também influencia na solubilidade protéica. Com o aumento da temperatura ocorre a desnaturação da proteína devido a exposição dos grupos sulfidríla (-SH), no interior das moléculas protéicas (LANGERDORF et al., 1999). Assim, em relação às temperaturas avaliadas no presente estudo (20, 60 e 90 °C) observou-se que o aumento da temperatura reduziu a liberação dos carotenoides (Figura 5).

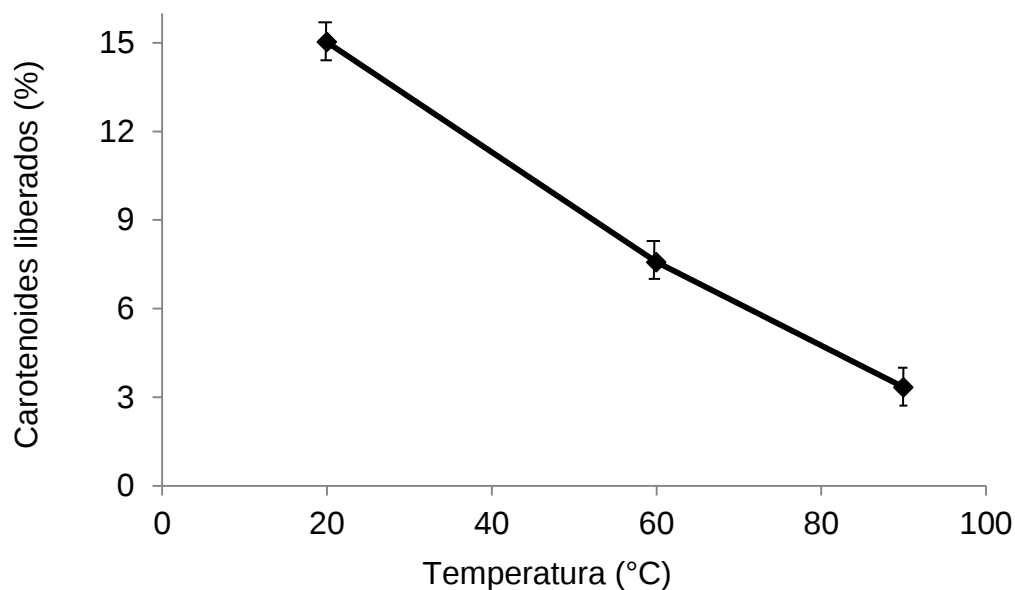


Figura 5 - Liberação dos carotenoides em temperaturas de 20, 60 e 90 °C para a fibra contendo 30% de zeína e 30% de óleo de abacate

Geralmente o processo de liberação do composto ativo ocorre pelo intumescimento da rede polimérica sendo que o meio aquoso penetra nessa rede, levando-a a uma expansão. Essa rede, por sua vez, torna-se cada vez mais ampla, permitindo assim a liberação do composto ativo para a fase externa até atingir o equilíbrio termodinâmico. Com a descrição anterior, o perfil de liberação dos carotenoides depende dos fenômenos de difusão em meio aquoso, do relaxamento da macromolécula e da difusão do composto ativo através da rede polimérica entumecida (DEL NOBILE et al., 2008; MASTROMATTEO et al., 2009).

Avaliações de liberação em relação ao pH e temperatura, são importantes para a indústria de alimentos, pois possibilitam o conhecimento das melhores condições para a aplicação dessas fibras. Assim, as fibras obtidas com 30% de zeína e 30% de óleo de abacate, podem ser utilizadas em alimentos de pH próximo a neutralidade submetidos a condições de pasteurização, a fim de prevenir a liberação dos seus compostos bioativos no alimento, e com isto preserva-los até os locais de absorção no organismo.

As principais reações que ocorrem com os carotenoides, devido a sua alta insaturação, durante o processamento e armazenamento de alimentos, consistem na

isomerização geométrica e na oxidação, que resultam na perda da cor e alteração da atividade biológica.

A liberação dos carotenoides em relação ao tempo (minutos) de agitação e a velocidade de rotação (rpm) podem ser visualizados na Figura 6.

As velocidades de agitação de 3, 6, 9, 15 e 18 rpm durante 1 minuto, praticamente não apresentaram liberação de carotenoides, enquanto que com a agitação de 3 minutos, em rotações de 3, 6, 9 e 12 rpm, ocorreu liberação total destes compostos presentes na fibra. Nas rotações de 15 e 18 rpm, durante a agitação de 3 minutos, a fibra apresentou uma retenção, de aproximadamente, 36% do conteúdo de carotenoides.

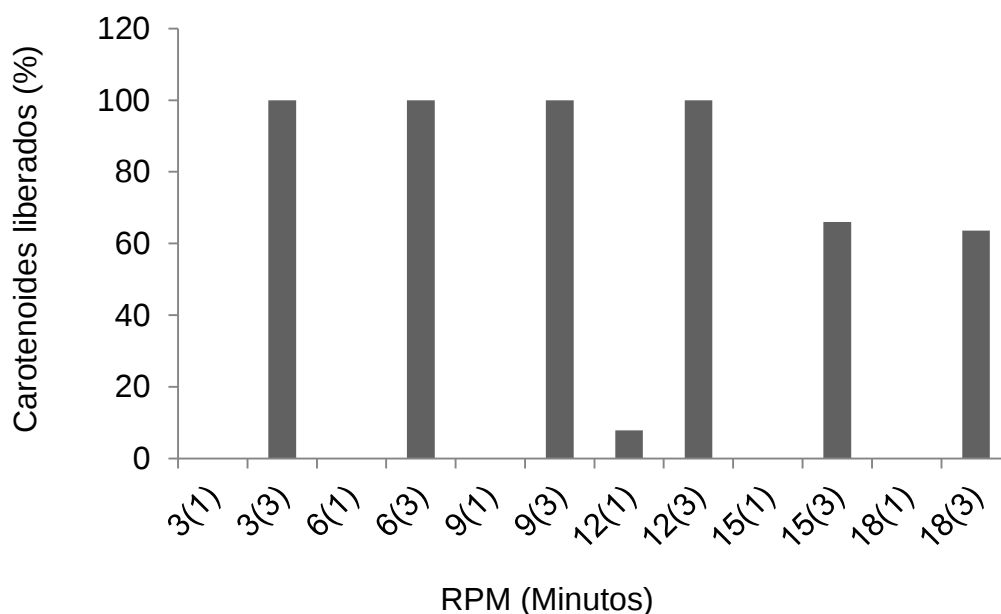


Figura 6 - Liberação dos carotenoides em diferentes rotações e tempos de agitação para a fibra contendo 30% de zeína e 30% de óleo de abacate

A simulação utilizando diferentes velocidades de agitação e tempos, se faz imprescindível, na industrialização de alimentos, bem como para o processamento doméstico. Alasalvar et al. (2005) relataram que cenouras roxas e laranjas embaladas em atmosfera modificada apresentaram perdas de carotenóides gradativas e significantes após 13 dias de estocagem. Muzhingiri et al. (2008) observaram que o cozimento de milho, por fervura a 100°C por 30 minutos, aumentou a concentração de carotenoides, enquanto que o cozimento em forno a 232 °C por 25 minutos induziu na degradação em torno de 70% dos carotenoides.

Djioua et al. (2009) perceberam que os carotenoides de manga, minimamente processada, permaneceram estáveis após 9 dias de estocagem quando submetidas à imersão em água a 46 °C por 30 minutos. Saxena; Bawa e Raju (2009) verificaram a degradação total dos carotenóides da jaca minimamente processada durante a estocagem a 6 °C por 35 dias.

4.4.3.2 Simulação gastrointestinal *in vitro*

Em geral, o que determina o perfil de liberação, são os tipos de materiais de parede que formam as fibras, a geometria das micropartículas e as interações parede/núcleo (ZUIDAM; SHIMONI, 2010). A previsão dos perfis de liberação continua sendo um desafio nos sistemas biológicos seja em alimentos ou no trato gastrointestinal. Os perfis de liberação controlada normalmente são investigados *in vitro* utilizando métodos de quantificação para medir a concentração de compostos liberados sob condições gastrointestinais simuladas (AGUIAR; ESTEVINHO; SANTOS, 2016). Neste sentido, avaliou-se a simulação gastrointestinal *in vitro* das fibras ultrafinas de zeína contendo 30% de zeína e 30% de óleo de abacate (Figura 7).

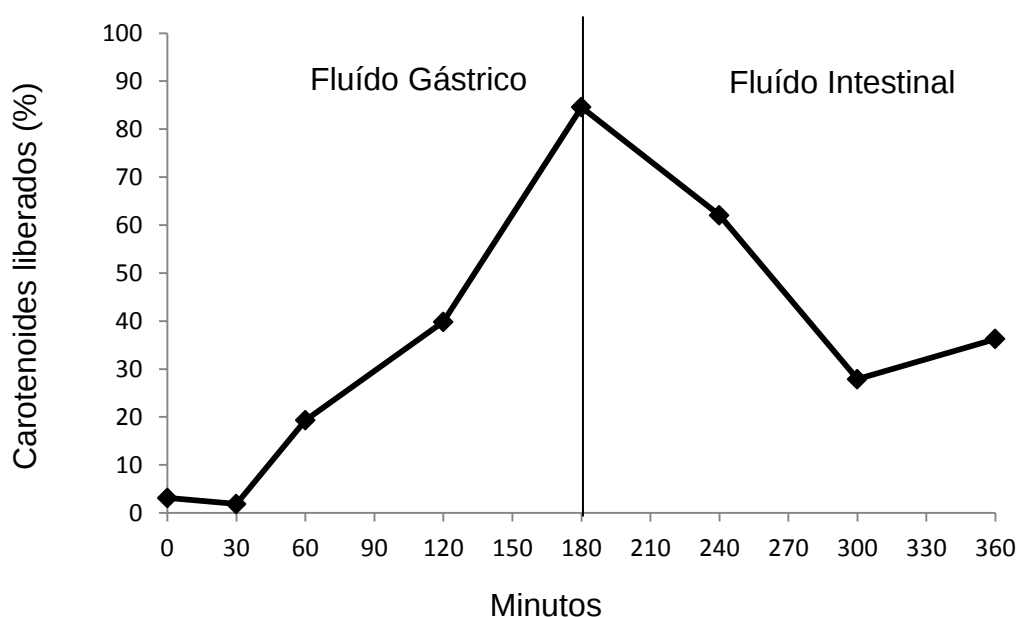


Figura 7 – Perfil de liberação de carotenoides das fibras ultrafinas de zeína, em condições gastrointestinais simuladas.

O perfil de liberação dos carotenoides em fluido gastrointestinal simulado foi aumentando gradualmente até 180 minutos, tendo após este tempo um decréscimo nos carotenoides liberados. A liberação ocorrida no tempo inicial de simulação pode estar relacionada com a liberação do composto bioativo presente na superfície das fibras ou com a perda da integridade da parede durante a elaboração destas partículas. Após os 30 min, as fibras apresentaram baixos percentuais de liberação no fluido gástrico de 19,3% aos 60 min, com posterior aumento para 39,84% aos 120 min, o que demonstra que o material de parede utilizado (zeína), foi capaz de proteger o composto encapsulado, liberando apenas pequenas quantidades do material do núcleo sob condições gástricas. Este tipo de comportamento é considerado ideal, uma vez que o maior percentual do composto encapsulado deve ser liberado nas condições do fluido intestinal (SAUVANT et al., 2012; YUN; CHUAN-HE, 2016).

Na transição entre os fluidos, aos 180 min, a fibra liberou o maior percentual de carotenoides (84,58%), tendo nos períodos posteriores avaliados (240, 300 e 360 min) apresentado um decréscimo nos percentuais de carotenoides liberados, de 62,04, 27,9, e 36,27%, respectivamente. Segundo Somchue et al. (2009), em condições intestinais, o composto encapsulado, deve ser completamente e gradualmente liberado, para que assim haja uma melhor absorção dos nutrientes no intestino. Rutz et al. (2013) ao avaliarem o perfil de liberação de carotenoides em suco de pitanga roxo que foram encapsulados usando um hidrogel formado de goma xantana e tara observaram uma liberação de carotenóides de, aproximadamente, 20% em condições gástricas simuladas (pH 2,0, enzima pepsina) e de 85% em condições intestinais simuladas (pH 8,00, enzima pancreática). Enquanto Chiu et al. (2007) não observaram liberação de licopeno (extraído de resíduos de pasta de tomate) encapsulado com gelatina e ácido poli-glutâmico em fluido gástrico (pH 2,0 a 3,5), mas observaram a liberação no fluido intestinal (pH 5,5 a 7,0) na faixa de 71-98%. De acordo com os resultados obtidos no presente estudo, pode-se constatar que a fibra contendo com o óleo de abacate apresentou um comportamento próximo ao ideal, uma vez que liberou maior quantidade de carotenoides no fluido intestinal, local onde o organismo absorve a maioria dos nutrientes consumidos.

4.5 Conclusões

Nesse trabalho a concentração ideal da solução polimérica para a formação de fibras ultrafinas contínuas sem formação de *beads* e com superfícies lisas foi de 30% de zeína (p/v), independente da concentração de óleo de abacate utilizada.

A fibra com 30% de zeína apresentou distribuição de diâmetro entre 357 a 971 nm e uma eficiência de encapsulação do óleo de abacate superior a 77%.

A encapsulação do óleo de abacate nas fibras de zeína foi evidenciada pela técnica de espectroscopia na região do infravermelho por transformada de Fourier acoplada à técnica de refletância total atenuada (FTIR-ATR), enquanto a difratometria de raio-X demonstrou a estrutura amorfa das fibras.

Verificou-se que em pH próximo a neutralidade (pH 6 e 8), temperatura de pasteurização (60 e 90 °C) e agitação de 18 rpm por até 01 min, reduziram a liberação dos carotenoides da fibra composta de 30% de zeína e 30% de óleo. Nas simulações gastrointestinais *in vitro*, observou-se um perfil próximo ao ideal de liberação dos carotenoides.

4.6 Referências

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

ALASALVAR, C.; AL-FARSI, M.; QUANTICK, P. C.; SHAHIDI, F.; WIKTOROWICZ, R. Effect of chill storage and modified atmosphere packaging (MAP) on antioxidant activity, anthocyanins, carotenoids, phenolics and sensory quality of ready-to-eat shredded orange and purple carrots. **Food Chemistry**, v. 89, p. 69-76, 2005.

ANTUNES, M. D.; DANNENBERG, G. da S.; FIORENTINI, A. M.; PINTO, V. Z.; LIM, L-T.; ZAVAREZE, E. da R.; DIAS, A. R. G. Antimicrobial electrospun ultrafine fibers from zein containing eucalyptus essential oil/cyclodextrin inclusion complex. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 104, parte A, p. 874-882, 2017.

BAE, E. K; LEE, S. J. Microencapsulation of avocado oil by spray drying using whey protein and maltodextrin. **Journal of Microencapsulation**, v. 25, p. 549-560, 2008.

BARBOSA, S. J. **Qualidade de suco de pó de mistura de frutas obtido por spray drying**. 2010. 107p. Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Montes Claros, Minas Gerais, 2010.

BASTOS, D. da S.; GONÇALVES, M. do P.; ANDRADE, C. T. de; ARAÚJO, K. G. de L.; LEÃO, M. H. M. da R. Microencapsulation of cashew apple (*Anacardium occidentale*, L.) juice using a new chitosan–commercial bovine whey protein isolate system in spray drying. **Food and Bioproducts Processing**, v.90, n.4, p.683-692, 2012.

BHARDWAJ, N.; KUNDU, S. C. *Electrospinning*: A fascinating fiber fabrication technique. **Biotechnology Advances**, v. 28, p. 325–347, 2010.

BLANCH, G. P.; DEL CASTILLO, M. L. R.; CAJA, M. D. M.; PÉREZ-MÉNDEZ, M.; SÁNCHEZ-CORTÉS, S. Stabilization of all-trans-lycopene from tomato by encapsulation using cyclodextrins. **Food Chemistry**, v. 105, p. 1335-1341, 2007.

BRANNON-PEPPAS, L. Controlled release in the food and cosmetics industries. In: EL-NOKALY, M. A.; PIATT, D. M.; CHARPENTIER, B. A. (Eds.). *Polymeric Delivery Systems: Properties and Applications*. Oxford: Oxford **University Press**, v. 3, p. 42-52, 1993.

CARNEIRO, J. G. M. **Características funcionais de concentrados protéicos de soro de leite de cabras**. 1997, 142f. Doutorado (Ciência de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1997.

CHIU, Y. T.; CHIU, C. P.; CHIEN, J. T.; HO, G. H.; YANG, J.; CHEN, B. H. Encapsulation of lycopene extract from tomato pulp waste with gelatin and poly(gamma-glutamic acid) as Carrier. **Journal and Agricultural and Food Chemistry**, v.55, p.5123-5130, 2007.

DEL NOBILE, M. A.; CONTE, A.; INCORONATO, A. L.; PANZA, O. Antimicrobial efficacy and release kinetics of thymol from zein films. *Journal of Food Engineering*, v. 89, n. 1, p. 57-63, 2008.

DENG, L.; ZHANG, X.; LI, Y.; QUE, F.; KANG, X.; LIU, Y.; FENG, F.; ZHANG, H. Characterization of gelatin/zein nanofibers by hybrid *electrospinning*. **Food Hydrocolloids**, v. 75, p. 72-80, 2018.

DHANALAKSHMI, M.; LELE, A. K.; JOG, J. P. *Electrospinning* of Nylon 11: Effect of processing parameters on morphology and microstructure. **Materials Today Communications**, v. 3, p. 141-148, 2015.

DJIOUA, T.; CHARLES, F.; LOPEZ-LAURI, F.; FILGUEIRAS, H.; COUDRET, A.; FREIRE, M.; DUCAMP-COLLIN, MN.; SALLANON, H. Improving the storage of minimally processed mangoes (*Mangifera indica* L.) by hot water treatments. **Postharvest Biology Technology**, v. 52, p. 221–226, 2009.

DROSOU, C.; KROKIDA, M.; BILIADERIS, C. G. Composite pullulan-whey protein nanofibers made by *electrospinning*: Impact of process parameters on fiber morphology and physical properties. **Food Hydrocolloids**, v. 77, p. 726-735, 2017.

FORATO, L. A.; BICUDO, T. C.; COLNAGO, L. A. Conformation of α zeins in solid state by Fourier transform IR. **Biopolymers**, v. 72, n. 6, p. 421-426, 2003.
GONÇALVES, A.; ESTEVINHO, B. N.; ROCHA, F. Microencapsulation of vitamin A: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v.51, p.76-87, 2016.

HUANG, Z. M.; ZHANG, Y. Z.; KOTAKI, M.; RAMAKRISHNA, S. A review on polymer nanofibers by *electrospinning* and their applications in nanocomposites. **Composites Science and Technology**, v.63, n.15, p. 2223-2253, 2003.

LANGENDORFF, V.; CUVELIER, G.; LAUNAY, B.; MICHIN, C.; PARKER, A.; KRUIF, C. G. Casein micelle/iota carragenan interactions in milk: influence of temperature. **Food Hydrocolloids**, v. 13, n.1, p. 211-218, 1999.

LEVI, S. Characterization of sodium alginate/D-limonene emulsions and respective calcium alginate/D-limonene beads produced by electrostatic extrusion. **Food Hydrocolloids**, v. 45, p. 111-123, 2015.

LIMÓN, P.; MALHEIRO, R.; CASAL, S.; ACIÉN-FERNÁNDEZ, F. G.; FERNÁNDEZSEVILLA, J. M.; RODRIGUES, N.; CRUZ, R.; BERMEJO, R.; PEREIRA, J. A. Improvement of stability and carotenoids fraction of virgin olive oils by addition of microalgae *Scenedesmus almeriensis* extracts. **Food Chemistry**, v.175, p. 203–211, 2015.

LOPEZ-RUBIO, A.; GAVARA, R.; LAGARON, J. M. Bioactive packaging: turning foods into healthier foods through biomaterials. **Trends in Food Science & Technology**, v. 17, n. 10, p. 567-575, 2006.

MANN, B.; MALIK, R. C. Studies on some functional characteristics of whey protein-polysaccharide complex. **Journal of Food Science and Technology**, v. 33, n. 3, p. 202-206, 1996.

MASTROMATTEO, M.; BARBUZZI, G.; CONTE, A.; DEL NOBILE, M. A. Controlled release of thymol from zein based film, **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v.10, p. 222-227, 2009.

MOOMAND, K.; LIM L.-T. Effects of solvent and n-3 rich fish oil on physicochemical properties of electrospun zein fibres. **Food Hydrocolloids**, v. 46, p. 191-200, 2015.

MOOMAND, K.; LIM L.-T. Oxidative stability of encapsulated fish oil in electrospun zein fibres. **Food Research International**, v. 62, p. 523–532, 2014.

MUZHINGI, T.; YEUM, K.; RUSSELL, R. M.; JOHNSON, E. J.; QIN, J.; TANG, G. Determination of carotenoids in yellow maize, the effects of saponification and food preparation. **International Journal for Vitamin and Nutrition Research**, v. 78, p. 112-120, 2008.

NEO, Y. P.; RAY, S.; EASTEAL, A. J.; NIKOLAIDIS, M. G.; QUECK, S. Y. Influence of solution and processing parameters towards the fabrication of electrospun zein fibers with sub-micron diameter. **Journal of Food Engineering**, v. 109, p. 645–651, 2012.

NEO, Y. P.; RAY, S.; JIN, J.; GIZDAVIC-NIKOLAIDIS, M.; NIEUWOUDT, M. K.; LIU, D.; QUECK, S. Y. Encapsulation of food grade antioxidant in natural biopolymer by *electrospinning* technique: A physicochemical study based on zein-gallic acid system. **Food Chemistry**, v. 136, p. 1013–1021, 2013.

NESTERENKO, A.; ALRIC, I.; SILVESTRE, F.; DURRIEU, V. Vegetable proteins in microencapsulation: A review of recent interventions and their effectiveness. **Industrial Crops and Products**, v. 42, p. 469-479, 2013.

OKUTAN, N.; TERZI, P.; ALTAY, F. Affecting parameters on *electrospinning* process and characterization of electrospun gelatin nanofibers. **Food Hydrocolloids**, v. 39, p. 19-26, 2014.

PARAMERA, E. I.; KONTELES, S. J.; KARATHANOS, V. T. Microencapsulation of curcumin in cells of *Saccharomyces cerevisiae*. **Food Chemistry**, v.125, p. 892-902, 2011.

QUIÑONES-ISLAS, N.; MEZA-MÁRQUEZ, O. G.; OSORIO-REVILLA, G.; GALLARDO-VELAZQUEZ, T. Detection of adulterants in avocado oil by Mid-FTIR spectroscopy and multivariate analysis. **Food Research International**, v. 51, p. 148-154, 2013.

RAMAKRISHNA, S.; FUJIHARA, K.; TEO, W. E.; YONG, T.; MA, Z.; RAMASESHAN, R. Electrospun nanofibers: solving global issues. **Materials Today**, v. 9, p. 40-50, 2006.

RAMAKRISHNA, S.; FUJIHARA, K.; TEO, W.-E.; LIM, T.-C.; MA, Z. **An Introduction to electrospinning and nanofibers** (5. ed.). Cingapura: World Scientific, 2005.

RENEKER, D. H.; YARIN, A. L.; FONG, H.; KOOMBHONGSE, S. Bending instability of electrically charged liquid jets of polymer solutions in *electrospinning*. **Journal of Applied Physics**, v. 87, n. 9, p. 4531-4547, 2000.

RODRIGUES-AMAYA, D. B. **A guide to carotenoid analysis in foods**. Washington: ILSI Press, 64 p, 2001.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; RODRIGUEZ, E. B.; AMAYA-FARFAN, J. Advances in food carotenoid research: chemical and technological aspects, implications in human health. **Malaysian Journal of Nutrition**, v. 12, n.1, p.101-121, 2006.

ROMO-HUALDE, A.; YETANO-CUNCHILLOS, A. I.; GONZÁLEZ-FERRERO, C.; SÁIZ-ABAJO, M. J.; GONZÁLEZ-NAVARRO, C. J. Supercritical fluid extraction and microencapsulation of bioactive compounds from red pepper (*Capsicum annum* L.) by-products. **Food Chemistry**, v.133, p. 1045-1049, 2012.

RUTZ, J. K.; ZAMBIAZI, R. C.; BORGES, C. D.; KRUMREICH, F. D.; DA LUZ, S. R.; HARTWIG, N.; DA ROSA, C. G. Microencapsulation of purple Brazilian cherry juice in xanthan, tara gums and xanthan-tara hydrogel matrixes. **Carbohydrate Polymers**, v. 98, p.1256-1265, 2013.

SANSONE, F.; MENCHERINI, T.; PICERNO, P.; D'AMORE, M.; AQUINO, R. P. LAURO, M. R. Maltodextrin/pectin microparticles by spray drying as carrier for nutraceutical extracts. **Journal of Food Engineering**, v.105, p. 468-476, 2011.

SANTOS, M. A. Z.; ALICIEO, T. V. R.; PEREIRA, C. M. P.; RAMOS, G. R.; MENDONÇA, C. R. B. Profile of Bioactive Compounds in Avocado Pulp Oil: Influence

of the Drying Processes and Extraction Methods. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 9, p. 19-27, 2014.

SAUVANT, P.; CANSELL, M.; SASSI, A. H.; ATGIÉ, C. Vitamin A enrichment: Caution with encapsulation strategies used for food applications. **Food Research International**, v.46, p.469-479, 2012.

SAXENA, A.; BAWA, A. S.; RAJU, P. S. Phytochemical changes in fresh-cut jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* L.) bulbs during modified atmosphere storage. **Food Chemistry**, v.115, p.1443-1449, 2009.

SHUKLA, R.; CHERYAN, M. Zein: The industrial protein from corn. **Industrial Crops and Products**, v. 13, n. 3, p. 171-192, 2001.

SMITH, L. A.; MA, P. X. Nano-fibrous scaffolds for tissue engineering. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 39, p. 125-131, 2004.

SOMCHUE, W.; SERMSRI, W.; SHIOWATANA, J.; SIRIPINYANOND, A. Encapsulation of α -tocopherol in protein-based delivery particles. **Food Research International**, v.42, p. 909-914, 2009.

STITZEL, J.; PAWLOWSKI, K.; WNEK, G.; SIMPSON, D.; BOWLIN, G. Arterial smooth muscle cell proliferation on a novel biomimicking, biodegradable vascular graft scaffold. **Journal Biomaterials Applications**, v. 16, p. 22-33, 2001.

SUTTER, S. C.; BUERA, M. P.; ELIZALDE, B. E. β -Carotene encapsulation in a man-nitol matrix as affected by divalent cations and phosphate anion. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 332, p. 45-54, 2007.

TORRES-GINER, S.; GIMENEZ, E.; LAGARON, J. M. Characterization of the morphology and thermal properties of zein prolamine nanostructures obtained by *electrospinning*. **Food Hydrocolloids**, v. 22, p. 601-614, 2008.

VOJDANI, F. Solubility. In: **Methods of testing protein functionality**, cap. 2, p. 11-60, London: Blackie Academic & Professional, 1996.

WONG, Y. C.; HERALD, T. J.; HACHMEISTER, K. A. Comparison between irradiated and thermally pasteurised liquid egg white on functional, physical and microbiological properties. **Poultry Science**, v. 75, n. 6, p. 803-808, 1996.

YANG, H.; FENG, K.; WEN, P.; ZONG, M-H.; LOU, W-Y.; WU, H. Enhancing oxidative stability of encapsulated fish oil by incorporation of ferulic acid into electrospun zein mat. **LWT - Food Science and Technology**, v. 84, p. 82-90, 2017.

YAO, Z. C.; CHAN, M. W.; AHMAD, Z.; LI, J. S. Encapsulation of rose hip seed oil into fibrous zein films for ambient and on demand food preservation via coaxial *electrospinning*. **Journal of Food Engineering**, v. 191, p. 115-123, 2016.

YILMAZ, A.; BOZKURT, F.; CICEK, P. K.; DERTLI, E.; DURAK, M. Z.; YILMAZ, M. T. A novel antifungal surface-coating application to limit postharvest decay on coated apples: Molecular, thermal and morphological properties of electrospun zein–nanofiber mats loaded with curcumin. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 37, p. 74-83, 2016.

YUN, S.; CHUAN-HE, T. Gel-like pea protein Pickering emulsions at pH 3.0 as a potential intestine-targeted and sustained-release delivery system for β -carotene. **Food Research International**, v. 79, p. 64-72, 2016.

ZUIDAM, N. J.; SHIMONI, E. **Overview of microencapsulation for use in food products and processes**. In Encapsulation technologies for active food ingredients and food processing, p.3-30, 2010.

5. Considerações finais

O abacate, assim como seu óleo apresentaram elevado valor nutricional, destacando-se as vitaminas A, B, C e E, os conteúdos de carotenoides, compostos fenólicos e fitoesteróis, a atividade antioxidante e a proporção relativa de ácidos graxos monoinsaturados.

O óleo de abacate apresenta uma composição de ácidos graxos muito semelhante à composição do azeite de oliva, em ambos, predominando o ácido oleico, e por isso poderia se substituir azeite de oliva em algumas aplicações ou ainda ser utilizado na mescla com o azeite de oliva.

No primeiro capítulo constatou-se que é possível obter óleos de abacate com bons índices de qualidade e conteúdos de compostos bioativos através de processos adequados de secagem da polpa e métodos de extração do óleo. O abacate contém aproximadamente 72% de polpa, da qual 16% são lipídeos. O rendimento de óleo obtido em relação aos diferentes processos de secagem da polpa e extração do óleo de abacate variou de 25 a 55%. Após avaliação dos índices de qualidade, conteúdos de compostos bioativos e perfil de ácidos graxos, constatou-se, que os compostos bioativos apresentaram-se em maiores quantidades quando a polpa de abacate foi seca a 60 °C (estufa sob ventilação ou vácuo) e utilizado a prensagem mecânica para a extração do óleo. No óleo de abacate houve predomínio de ácidos graxos insaturados, dentre os quais o ácido oleico foi o majoritário; o β -sitosterol foi o fitoesterol majoritário. Esses compostos estiveram presentes em maior quantidade no óleo obtido após secagem da polpa a 60 °C sob vácuo e extração com o uso de solvente.

No segundo capítulo avaliou-se a encapsulação do óleo de abacate em fibras ultrafinas de zeína pela técnica de *electrospinning*, cujo óleo foi obtido da polpa de abacate seca a 60 °C sob vácuo e a extração do óleo realizada por prensagem mecânica. A fibra que apresentou a maior eficiência de encapsulação foi a que continha 30% de zeína e 30% de óleo, na qual foram obtidas micropartículas com superfícies lisas e sem fragmentação ou formação de *beads* e cujas partículas atingiram um diâmetro de 350 a 971 nm. A encapsulação dos carotenoides foi confirmada pela técnica de espectroscopia na região do infravermelho por transformada de Fourier acoplada à técnica de refletância total atenuada (FTIR-ATR), enquanto a difratometria de raio-X demonstrou a estrutura amorfa das fibras.

As partículas apresentaram uma redução na liberação de carotenoides em pHs próximos a neutralidade (pH 6 - 8), temperaturas de 60 e 90 °C e agitação de 18 rpm por até um min. Na simulação gastrointestinal *in vitro*, o comportamento próximo ao ideal foi observado, com liberação dos carotenoides inferior no fluido gástrico em relação ao fluido intestinal.

6. Sugestão para trabalho futuro

Como a zeína oferece várias vantagens como matéria prima para a produção de filmes, coberturas e aplicações plásticas, além de ser biodegradável e renovável; e visto que sua associação com ácido oleico, ácido graxo encontrado em diferentes tipos de óleos vegetais, produz filmes plásticos flexíveis e transparentes, com propriedades que permitem seu uso tanto no setor agrícola quanto no de alimentos; sugere-se a obtenção de filmes de zeína utilizando o óleo de abacate, o qual por sua vez apresenta em torno de 65% de ácido oleico.

7. Referências Bibliográficas

ADA REPORTS. Position of the American Dietetic Association: Functional Foods. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 99, p. 1278-1285, 1999.

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

ALASALVAR, C.; AL-FARSI, M.; QUANTICK, P. C.; SHAHIDI, F.; WIKTOROWICZ, R. Effect of chill storage and modified atmosphere packaging (MAP) on antioxidant activity, anthocyanins, carotenoids, phenolics and sensory quality of ready-to-eat shredded orange and purple carrots. **Food Chemistry**, v. 89, p. 69-76, 2005.

ALMEIDA, G. V. B.; SAMPAIO, A. C. O Abacate no mundo, no Brasil e na CEAGESP. **Sociedade Brasileira de Fruticultura**. 2013. Disponível em: <<http://www.todafruta.com.br/noticia/28119/O+ABACATE+NO+MUNDO,+NO+BRASIL+E+NA+CEAGESP>>. Acesso 26 novembro de 2016.

AMERICAN OIL CHEMISTS' SOCIETY. **Official and tentative methods of the American Oils Chemists' Society**. Champaign: American Oils Chemists' Society, 1992.

ANTUNES, M. D.; DANNENBERG, G. da S.; FIORENTINI, A. M.; PINTO, V. Z.; LIM, L-T.; ZAVAREZE, E. da R.; DIAS, A. R. G. Antimicrobial electrospun ultrafine fibers from zein containing eucalyptus essential oil/cyclodextrin inclusion complex. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 104, parte A, p. 874-882, 2017.

AOAC. Official Methods of Analysis. 15th ed. **Association of Official Analytical Chemists**, Washington, DC. 1990.

ARÉVALO-PINEDO, A.; MURR, F. E. X. Influência da pressão, temperatura e pré-tratamentos na secagem a vácuo de cenoura e abóbora. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 4, p. 636-643, 2005.

ATKINS, P.; DE PAULA, J. **Físico-Química**. Vol. 2. 9ª ed. Rio de Janeiro: LTC. 2012.

BACCOURI, O.; GUERFEL, M.; BACCOURI, B.; CERRETANI, L.; BENDINI, A.; LERCKER, G.; ZARROUK, M.; BEN MILED, D. D. Chemical composition and oxidative stability of Tunisian monovarietal virgin olive oils with regard to fruit ripening. **Food Chemistry**, v. 109, p. 743-754, 2008.

BAE, E. K.; LEE, S. J. Microencapsulation of avocado oil by spray drying using whey protein and maltodextrin. **Journal of Microencapsulation**, v. 25, p. 549-560, 2008.

BARBOSA, S. J. **Qualidade de suco de pó de mistura de frutas obtido por spray drying**. 2010. 107p. Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Montes Claros, Minas Gerais, 2010.

BARRETO, B. N. **Obtenção e caracterização de microcápsulas de óleo vegetal por gelificação do sistema quitosana/tripolifosfato de sódio**. 2008.101f. Dissertação (Ciência e Tecnologia de Polímeros) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2008.

BARROS, H, D. F. Q.; GRIMALDI, R.; CABRAL, F. A. Lycopene-rich avocado oil obtained by simultaneous supercritical extraction from avocado pulp and tomato pomace. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 120, p. 1-6, 2017.

BARTOSZEK, M.; POLAK, J. An electron paramagnetic resonance study of antioxidant properties of alcoholic beverages. **Food Chemistry**, v. 132, p. 2089-2093, 2012.

BASTOS, D. da S.; GONÇALVES, M. do P.; ANDRADE, C. T. de; ARAÚJO, K. G. de L.; LEÃO, M. H. M. da R. Microencapsulation of cashew apple (*Anacardium occidentale*, L.) juice using a new chitosan–commercial bovine whey protein isolate system in spray drying. **Food and Bioproducts Processing**, v.90, n.4, p.683-692, 2012.

BEIRÃO-DA-COSTA, S.; DUARTE, C.; BOURBON, A. I.; PINHEIRO, A. C.; SERRA, T. A.; MOLDÃO-MARTINS, M.; JANUÁRIO, M. I. N.; VICENTE, A. A.; DUARTE, C. M. M.; BEIRÃO-DA-COSTA, M. L. Effect of the matrix system in the delivery and in vitro bioactivity of microencapsulated oregano essential oil. **Journal of Food Engineering**, v. 110, p. 190-199, 2012.

BELITZ, H.-D.; GROSCH, W.; SCHIEBERLE, P. **Food Chemistry**. Springer: Berlin, 4th revised and extend ed. p. 1070, 2009.

BERASATEGI, I.; BARRIUSO, B.; ANSONERA, D.; ASTIASARÁN, I. Stability of avocado oil during heating: Comparative study to olive oil. **Food Chemistry**, v.132, p. 439–446, 2012.

BHARDWAJ, N.; KUNDU, S. C. *Electrospinning: A fascinating fiber fabrication technique*. Biotechnology Advances, v. 28, p. 325–347, 2010.

BIZIMANA, V.; BREENE, W. M.; CSALLANY, A. S. Avocado oil extraction with appropriate technology for developing countries. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 70, n. 8, p. 821- 822, 1993.

BLANCH, G. P.; DEL CASTILLO, M. L. R.; CAJA, M. D. M.; PÉREZ-MÉNDEZ, M.; SÁNCHEZ-CORTÉS, S. Stabilization of all-trans-lycopene from tomato by encapsulation using cyclodextrins. **Food Chemistry**, v. 105, p. 1335-1341, 2007.

BOBBIO, F. O.; BOBBIO, P. A. **Química do processamento de alimentos**. 2 ed. São Paulo: Varela. 1992.151p.

BOCCAFOSCHI, F.; HABERMEHL, J.; VESENTINI, S.; MANTOVANI, D. Biological performances of collagen-based scaffolds for vascular tissue engineering. **Biomaterials**, v. 26, n. 35, p. 7410-7417, 2005.

BORA, S. P.; NARAIN, N.; ROCHA, R. V. M.; PAULO, M.Q. Characterization of the oils from the pulp and seeds of avocado (cultivar: Fuerte) fruits. **Grasas y Aceites**, v. 52 (3-4), p. 171-174, 2001.

BORGES, M. H. C.; MELO, B. **A cultura do abacateiro**. Disponível em: <<http://www.fruticultura.iciag.ufu.br/abacate.html>>. Acesso 24 novembro 2016.

BRAND-WILIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Science and Technology**, v. 28, p. 25-30, 1995.

BRANNON-PEPPAS, L. Controlled release in the food and cosmetics industries. In: EL-NOKALY, M. A.; PIATT, D. M.; CHARPENTIER, B. A. (Eds.). **Polymeric Delivery Systems: Properties and Applications**. Oxford: Oxford **University Press**, v. 3, p. 42-52, 1993.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 270, de 22 de setembro de 2005. **Aprova o Regulamento técnico para óleos vegetais, gorduras vegetais e creme vegetal**. Diário Oficial da União; Poder Executivo, de 23 de setembro de 2005.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 1, de 30 de janeiro de 2012. **Regulamento Técnico que define o padrão oficial de classificação do azeite de oliva e do óleo de bagaço de oliva**. Brasil, 2012.

BHUSHANI, J. A.; ANANDHARAMAKRISHNAN, C. Electrospinning and electrospraying techniques: Potential food based applications. **Food Science & Technology**, v. 38, n. 1, p. 1-13, 2014.

BUENROSTRO, M.; LOPEZ-MUNIZAGA, A. Enzymatic extraction of avocado oil. **Biotechnology Letters**, v. 8, p. 505-506, 1986.

BURGER, C.; HSIAO, B. S.; CHU, B. Nanofibrous marterials and their applications. **Annual Review Materials Research**, v. 36, p. 333–368, 2006.

ÇAM, M.; IÇYER, N. C.; ERDOGAN, F. Pomegranate peel phenolics: microencapsulation, storage stability and potential ingredient for functional food development. **LWT Food Science and Technology**, v. 55, p.117-123, 2014.

CARNEIRO, H. C. F.; TONON, R. V.; GROSSO, C. R. F.; HUBINGER, M. D. Encapsulation efficiency and oxidative stability of flaxseed oil microencapsulated by spray drying using different combinations of wall materials. **Journal of Food Engineering**, v.115, p. 443-451, 2013.

CARNEIRO, J. G. M. **Características funcionais de concentrados protéicos de soro de leite de cabras**. 1997, 142f. Doutorado (Ciência de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1997.

CHATTERJEE, S.; JUDEH, Z. M. A. Impact of encapsulation on the physicochemical properties and gastrointestinal stability of fish oil. **LWT - Food Science and Technology**, v. 65, p. 206-213, 2016.

CHAVES, M. A.; MENDONÇA, C. R. B.; BORGES, C. D.; PORCU, O. M. Elaboração de biscoito integral utilizando óleo e farinha da polpa de abacate. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, v. 31, n. 2, p. 215-226, 2013.

CHINA, R.; DUTTA, S.; SEM, S.; CHAKRABARTI, R.; BHOWMIK, D.; GHOSH, S.; DHAR, P. *In vitro* antioxidant activity of different cultivars of banana flower (*Musa paradisiacus* L.) extracts available in India. **Journal of Food Science**, v. 76, n. 9, p. 1292-1299, 2011.

CHISARI, M.; BARBAGALLO, R. N.; SPAGNA, G. Characterization of polyphenol oxidase and peroxidase and influence on browning of cold stored strawberry fruit. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.55, n.9, p. 3469-3476, 2007.

CHITARRA, M. A. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2.ed. rev. e ampl. Lavras: UFLA, 2005. 785p.

CHIU, Y. T.; CHIU, C. P.; CHIEN, J. T.; HO, G. H.; YANG, J.; CHEN, B. H. Encapsulation of lycopene extract from tomato pulp waste with gelatin and poly(gamma-glutamic acid) as Carrier. **Journal and Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 5123-5130, 2007.

CIAFARDINI, G.; ZULLO, B. A.; CIOCCIA, G.; IRIDE, A. Lipolytic activity of *Williopsis californica* and *Saccharomyces cerevisiae* in extra virgin olive oil. **International Journal of Food Microbiology**, v. 107, p. 27-32, 2006.

CODEx ALIMENTARIUS. **Standard for olive oils and olive pomace oils**. Codex Stan 33-1981, 2015.

CONDELLI, N.; CARUSO, M. C.; GALGANO, F.; RUSSO, D.; MILELLA, L.; FAVATI, F. Prediction of the antioxidante activity of extra virgin olive oils produced in the Mediterranean area. **Food Chemistry**, v.177, p. 233-239, 2015.

CORONEL-AGUILERA, C. P.; MARTÍN-GONZÁLEZ, M. F. Encapsulation of spray dried β -carotene emulsion by fluidized bed coating technology. **LWT - Food Science and Technology**, v. 62, p. 187-193, 2015.

CORZZINI, S. C. S.; BARROS, H. D. F. Q.; GRIMALDI, R.; CABRAL, F. A. Extraction of edible avocado oil using supercritical CO₂ and a CO₂/ethanol mixture as solvents. **Journal of Food Engineering**, v. 194, p. 40-45, 2017.

COSTA, R. G. F.; RIBEIRO, C.; MATTOSO, L. H. C. Morphological and Photocatalytic Properties of PVA/TiO₂ Nanocomposite Fibers Produced by *Electrospinning*. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, v. 10, n. 8, p. 5144-5152, 2010.

CREDIDIO, E. V. **Estudo do Efeito do Abacate nos Lipídeos sanguíneos em Humanos**. 2010. 155p. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2010.

CURIEL, M.; NEVE, O.; PETACH, T. **Process for the recovery of oil from avocados fruit**. US Patent 4560568, 1985.

DAIUTO, E. R.; TREMOCOLDI, M. A.; ALENCAR, S. M.; VIEITES, R. L.; MINARELLI, P. H. Composição química e atividade antioxidante da polpa e resíduos de abacate 'Hass'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, n. 2, p. 417-424, 2014.

DAIUTO, E. R.; VIEITES, R. L.; TREMOCOLDI, M. A.; VILEIGAS, D. F. Estabilidade físico-química de um produto de abacate acondicionado em diferentes embalagens e conservado pelo frio. **Alimentos e Nutrição**, v. 21, n.1, p. 99-107, 2010.

DANIELLE, F. Óleo de abacate (*Persea americana* Mill) como matéria-prima para a indústria alimentícia. 2006. 48 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

DAVIDOV-PARDO, G.; MORENO, M.; AROZARENA, I.; MARÍN-ARROYO, M. R.; BLEIBAUM, R. N.; BRUHN, C. M. Sensory and consumer perception of the addition

of grape seed extracts in cookies. **Journal of Food Science**, v. 77, p. 430–438, 2012.

DEL NOBILE, M. A.; CONTE, A.; INCORONATO, A. L.; PANZA, O. Antimicrobial efficacy and release kinetics of thymol from zein films. **Journal of Food Engineering**, v. 89, n. 1, p. 57-63, 2008.

DENG, L.; ZHANG, X.; LI, Y.; QUE, F.; KANG, X.; LIU, Y.; FENG, F.; ZHANG, H. Characterization of gelatin/zein nanofibers by hybrid *electrospinning*. **Food Hydrocolloids**, v. 75, p. 72-80, 2018.

DHANALAKSHMI, M.; LELE, A. K.; JOG, J. P. *Electrospinning* of Nylon 11: Effect of processing parameters on morphology and microstructure. **Materials Today Communications**, v. 3, p. 141-148, 2015.

DING, H.; CHIN, Y. W.; KINGHORN, A. D. Chemopreventive characteristics of avocado fruit. **Net, Columbus**, v. 17 n. 5, p. 386-394, 2007.

DJIOUA, T.; CHARLES, F.; LOPEZ-LAURI, F.; FILGUEIRAS, H.; COUDRET, A.; FREIRE, M.; DUCAMP-COLLIN, MN.; SALLANON, H. Improving the storage of minimally processed mangoes (*Mangifera indica* L.) by hot water treatments. **Postharvest Biology Technology**, v. 52, p. 221–226, 2009.

DROSOU, C.; KROKIDA, M.; BILIADERIS, C. G. Composite pullulan-whey protein nanofibers made by *electrospinning*: Impact of process parameters on fiber morphology and physical properties. **Food Hydrocolloids**, v. 77, p. 726-735, 2017.

ELZOGHBY, A. O.; SAMY, W, M.; ELGINDY, N. A. Protein-based nanocarriers as promising drug and gene delivery systems. **Journal of Controlled Release**, v. 161, p. 38–49, 2012.

EYRES, L.; SHERPA, N. L.; HENDRIKS, G. Avocado oil: a new edible oil from Australasia. **Journal Lipid Technology**, v. 13, p. 84-88, 2001.

FAO. FAOSTAT: **Food and Agricultural Commodities Production**. Disponível em: <http://faostat.fao.org/site/567/desktopdefault.aspx?pageid=567#ancor>>. Acesso 30 de maio de 2017.

FERNANDEZ, A.; TORRES-GINER, S.; LAGARON, J. M. Novel route to stabilization of bioactive antioxidants by encapsulation in electrospun fibres of zein prolamine. **Food Hydrocolloids**, v. 23, n. 5, 1427–1432, 2009.

FORATO, L. A.; BICUDO, T. C.; COLNAGO, L. A. Conformation of α zeins in solid state by Fourier transform IR. **Biopolymers**, v. 72, n. 6, p. 421-426, 2003.

FRENOT, A.; CHRONAKIS, I. S. Polymer nanofibers assembled by lectrospinning. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 8, n. 1, p. 64-75, 2003.

FULGONI, V. L.; DREHER, M.; DAVENPORT, A. J. Avocado consumption is associated with better diet quality and nutrient intake, and lower metabolic syndrome risk in US adults: results from the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 2001–2008. **Nutrition Journal**, v.12, p.1, 2013.

GALLARDO, G.; GUIDA, L.; MARTINEZ, V.; LÓPEZ, M. C.; BERNHARDT, D.; BLASCO, R.; PEDROZA-ISLAS, R.; HERMIDA, L. G. Microencapsulation of linseed oil by spray drying for functional food application. **Food Research International**, v. 52, p. 473–482, 2013.

GALVÃO, M. S.; NARAIN, N.; NIGAM, N. Influence of different cultivars on oil quality and chemical characteristics of avocado fruit. **Food Science and Technology**, v. 34, p. 539-546, 2014.

GHANBARI, R.; ANWAR, F.; ALKHARFY, K. M.; GILANI, A. H.; SAARI, N. Valuable nutrients and functional bioactives in different parts of olive (*Olea europaea* L.) - A Review. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 13, p. 3291-3340, 2012.

GÓMEZ-LÓPEZ, V. M. Fruit characterization of high oil content avocado varieties. **Scientia Agricola**, v. 59, p. 403-406, 2002.

GONÇALVES, A.; ESTEVINHO, B. N.; ROCHA, F. Microencapsulation of vitamin A: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v.51, p.76-87, 2016.

GONG, M.; BASSI, A. Carotenoids from microalgae: A review of recente developments. **Biotechnology Advances**, v. 34, p. 1396–1412, 2016.

GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ, J. J.; GALEA, Z.; ÁLVAREZ, J. M.; HORMAZA, J. I.; LÓPEZ, R. Evaluation of composition and performance of composts derived from guacamole production residues. **Journal of Environmental Management**, v. 147, p. 132-139, 2015.

GOULA, A. M.; ADAMOPOULOS, K. G. A method for pomegranate seed application in food industries: Seed oil encapsulation. **Food and Bioproducts Processing**, v. 90, p. 639-652, 2012.

GUTIERREZ, L. E. **Comparação de métodos de extração sobre o teor e composição de óleo de abacate (*Persea americana*)**. Anais da E. S. A., “Luiz de Queiroz”, v. 33, p. 85-90, 1976.

HARTMAN, L.; LAGO, B. C. A rapid preparation of fatty methyl esters from lipids. **Laboratory Practice**, v. 22, p. 475-476, 1973.

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

HOLBACH, J. M. **Obtenção de corante natural a partir de caroço de abacate (*Persea americana*)**. Rio Grande do Sul, 2012. Disponível em: <<http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/72784/000871919.pdf?sequence=1>>. Acesso 24 de maio de 2017.

HORTIESCOLHA- HORTIPEDIA. **Guia de informações sobre produtos. Abacate**. Disponível: <<http://www.hortiescolha.com.br/hortipedia/produto/abacate>> Acesso 08 de novembro de 2017.

HUANG, Z. M.; ZHANG, Y. Z.; KOTAKI, M.; RAMAKRISHNA, S. A review on polymer nanofibers by *electrospinning* and their applications in nanocomposites. **Composites Science and Technology**, v.63, n.15, p. 2223-2253, 2003.

IBGE. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/protabl.asp?c=1613&z=t&o=1&i=P>. Acesso 26 de novembro de 2016.

IBGE/PAM. **Secretaria de estado de agricultura, pecuária e abastecimento**. Disponível em www.agricultura.mg.gov.br. Acesso 20 de novembro de 2017.

INDRAWATI, R.; SUKOWIJOYO, H.; INDRIATMOKO.; WIJAYANTI, R. D. E.; LIMANTARA, L. Encapsulation of brown seaweed pigment by freeze drying: Characterization and its stability during storage. **Procedia Chemistry**, v.14, p. 353–360, 2015.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, v. 1, 1985.

INSTITUTO BRASILEIRO DE FRUTAS. **Estatística: frutas frescas**. São Paulo, 2014. Disponível em: <http://www.ibraf.org.br/estatisticas/est_frutas.asp>. Acesso 10 de novembro de 2017.

IOC. International Olive Council. **Method of analysis spectrophotometric investigation in the ultraviolet**, n. 19, 2010.

JACKSON, L. S.; LEE, K. Microencapsulation and the Food Industry. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie (LWT)**, v. 24(4), p. 289-297, 1991.

JACOBO-VELÁZQUEZ, A. D.; HERNÁNDEZ-BRENES, C. Stability of avocado paste carotenoids as affected by high hydrostatic pressure processing and storage. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 16, p. 121-128, 2012.

JACOBO-VELÁZQUEZ, D. A.; HERNÁNDEZ-BRENES, C.; CISNEROS-ZEVALLOS, L.; BENAVIDES J. Partial purification and enzymatic characterization of avocado (*Persea americana* Mill, cv. Hass) lipoxygenase. **Food Research International**, v.43, n.1, p. 1079-1085, 2010.

JARUNGLUMLERT, T.; NAKAGAWA, K.; ADACHI, S. Influence of aggregate structure of casein on the encapsulation efficiency of β -carotene entrapped via hydrophobic interaction. **Food Structure**, v. 5, p. 42-50, 2015.

JAYA, S.; DAS, H. A vacuum drying model for mango pulp. **Drying Technology**, v. 21, n. 7, p. 1215-1234, 2003.

JAYAKUMAR, R.; PRABAHARAN, M.; NAIR, S.V.; TAMURA, H. Novel chitin and chitosan nanofibers in biomedical applications. **Biotechnology Advances**, v. 28, p. 142-150, 2010.

JI, W.; SUN, Y.; YANG, F.; BEUCKEN, J. J. J. P.; FAN, M.; CHEN, Z. Bioactive electrospun scaffolds delivering growth factors and genes for tissue engineering applications. **Expert Review**, p.1261, 2011.

JIMENEZ, M.; GARCIA, H. S.; BERISTAIN, C. I. Sensory evaluation of dairy products supplemented with microencapsulated conjugated linoleic acid (CLA). **LWT Food Science and Technology**, v. 41, p. 1047-1052, 2008.

JIMÉNEZ-ESCRIG, A.; SANTOS-HIDALGO, A. B.; SAURA-CALIXTO, F. Common sources and estimated intake of plant sterols in the Spanish diet. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 9, p. 3462-3471, 2006.

KMIECIK, D.; KORCZAK, J.; RUDZINSKA, M.; CISOWSKA, J. K.; MICHALOWSKA, A. G.; HÉŠ, M. β -Sitosterol and campesterol stabilisation by natural and synthetic antioxidants during heating. **Food Chemistry**, v.128, p. 937–942, 2011.

KOOMBHONGSE, S.; LIU, W.; RENEKER, D. H. Flat polymer ribbons and other shapes by *electrospinning*. **Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics**, v. 39, n. 21, p. 2598-2606, 2001.

LANGENDORFF, V.; CUVELIER, G.; LAUNAY, B.; MICHIN, C.; PARKER, A.; KRUIF, C. G. Casein micelle/iota carragenan interactions in milk: influence of temperature. **Food Hydrocolloids**, v. 13, n.1, p. 211-218, 1999.

LAOS, K.; LÕUGAS, T.; MÄNDMETS, A.; VOKK, R. Encapsulation of β -carotene from sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides* L.) juice in furcellaran beads. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, n. 8, p. 395-398, 2007.

LAZZEZ, A.; PERRI, E.; CARAVITA, M.A.; KHLIF, M.; COSSENTIN, M. Influence of olive maturity stage and geographical origin on some minor components in virgin olive oil of the chemlali variety. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, v. 56, p. 982-988, 2008.

LEINDECKER, G. C.; ALVES, A. K.; BERGMANN, C. P. Obtenção por *electrospinning* e caracterização de fibras de pentóxido de nióbio (Nb₂O₅). **Estudos Tecnológicos em Engenharia**, v. 9, n. 2, p. 102-110, 2013.

LEVI, S. Characterization of sodium alginate/D-limonene emulsions and respective calcium alginate/D-limonene beads produced by electrostatic extrusion. **Food Hydrocolloids**, v. 45, p. 111-123, 2015.

LI, Y.; LIM, L. T.; KAKUDA, Y. Electrospun zein fibers as carriers to stabilize epigallocatechin gallate. *Journal of Food Science*, v. 74, n. 3, p. C233–C240, 2009.

LIMA, M. S; ROCHA, L.A; MOLINA, E. F; CAETANO, B. O uso da análise térmica no estudo da estabilidade do óleo de soja obtido por diferentes tipos de extração. **Associação Brasileira de Análise Térmica e Calorimetria (V ABRATEC)**, 2006.

LIMÓN, P.; MALHEIRO, R.; CASAL, S.; ACIÉN-FERNÁNDEZ, F. G.; FERNÁNDEZSEVILLA, J. M.; RODRIGUES, N.; CRUZ, R.; BERMEJO, R.; PEREIRA, J. A. Improvement of stability and carotenoids fraction of virgin olive oils by addition of microalgae *Scenedesmus almeriensis* extracts. **Food Chemistry**, v.175, p. 203–211, 2015.

LIU, Z.; JIAO, Y.; WANG, Y.; ZHOU, C.; ZHANG, Z. Polysaccharides-based nanoparticles as drug delivery systems. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 60, p.1650-1662, 2008.

LOPEZ-RUBIO, A.; GAVARA, R.; LAGARON, J. M. Bioactive packaging: turning foods into healthier foods through biomaterials. **Trends in Food Science & Technology**, v. 17, n. 10, p. 567-575, 2006.

LU, Q. Y.; ARTEAGA, J. R.; ZHANG, Q.; HUERTA, S.; GO, V. L.; HEBER, D. Inhibition of prostate cancer cell growth by an avocado extract: role of lipidsoluble bioactive substances. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 16, p. 23-30, 2005.

LUÍZ, R. C.; HIRATA, T. A. M.; CLEMENTE, E. Cinética de inativação da polifenoloxidase e peroxidase de abacate (*Persea americana* Mill.). **Ciência Agrotecnológica**, v. 31, n. 6, p. 1766-1773, 2007.

LUO, Y.; ZHANG, B.; CHENG, W. H.; WANG, Q. Preparation, characterization and evaluation of selenite-loaded chitosan/TPP nanoparticles with or without zein coating. **Carbohydrate Polymers**, v. 82, n. 3, p. 942-951, 2010.

LUO, Y.; ZHANG, B.; WHENT, M.; YU, L. L.; WANG, Q. Preparation and characterization of zein/chitosan complex for encapsulation of α -tocopherol, and its *in vitro* controlled release study. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 85, n. 2, p. 145-152, 2011.

MALMO, C.; STORIA, A. L.; MAURIELLO, G. Microencapsulation of *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 cells coated in alginate beads with chitosan by spray drying to use as a probiotic cell in a chocolate soufflé. **Food Bioprocess Technology**, v. 6, p. 795–805, 2013.

MANN, B.; MALIK, R. C. Studies on some functional characteristics of whey protein-polysaccharide complex. *Journal of Food Science and Technology*, v. 33, n. 3, p. 202-206, 1996.

MARTÍNEZ-PADILLA, L. P.; FRANKE, L.; XUA, X. Q.; JULIANO, P. Improved extraction of avocado oil by application of sono-physical processes, **Ultrasonics-Sonochemistry**, v. 40, p. 720-726, 2018.

MASTROMATTEO, M.; BARBUZZI, G.; CONTE, A.; DEL NOBILE, M. A. Controlled release of thymol from zein based film, **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v.10, p. 222-227, 2009.

MENENDEZ, J. A.; VELLON, L.; COLOMER, R.; LUPU, R. Oleic Acid, the main monounsaturated fatty acid of olive oil, suppresses Her-2/neu (erb B-2) expression and synergistically enhances the growth inhibitory effects of trastuzumab (Herceptin) in breast cancer cells with Her-2/neu oncogene amplification. **Annals of Oncology**, v. 16, n. 3, p. 359-371, 2005.

MENEZES, M. L.; LOPES, L. F. S.; PASSARETTI FILHO, J. Síntese de biodiesel empregando óleo de abacate. **Analytica**, v. 8, p. 68-78, 2010.

MEZZOMO, N.; DE PAZ, E.; MARASCHIN, M.; MARTÍN, A.; COCERO, M. J.; FERREIRA, S. R. S. Supercritical anti-solvent precipitation of carotenoid fraction from pink shrimp residue: Effect of operational conditions on encapsulation efficiency. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 66, p. 342-349, 2012.

MOMANY, F. A.; SESSA, D. J.; LAWTON, J.W.; SELLING, G. W.; HAMAKER, S.A.; WILLETT, J. L. Structural characterization of alpha-zein. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 2, p. 543-457, 2006.

MONTEDORO, G.; SERVILI, M.; BALDIOLI, M.; MINIATI, E. Simple and Hydrolyzable Phenolic Compounds in Virgin Olive Oil. 1. Their Extraction, Separation, and Quantitative and Semiquantitative Evaluation by HPLC. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 40, p. 1571-1576, 1992.

MOOMAND, K.; LIM L.-T. Effects of solvent and n-3 rich fish oil on physicochemical properties of electrospun zein fibres. **Food Hydrocolloids**, v. 46, p. 191-200, 2015.

MOOMAND, K.; LIM L.-T. Oxidative stability of encapsulated fish oil in electrospun zein fibres. **Food Research International**, v. 62, p. 523–532, 2014.

MORI, C. L. S. DE O.; PASSOS N. A.; OLIVEIRA, J. E.; MATTOSO, L. H. C.; MORI, F. A.; CARVALHO, A. G.; FONSECA, A. DE S.; TONOLI, G. H. D. *Electrospinning of zein/tannin bio-nanofibers*. **Industrial Crops and Products**, v. 52, p. 298-304, 2014.

MOSTERT, M. E.; BOTHA, B. M.; DU PLESSIS, L. M.; DUODU, K. G. Effect of fruit ripeness and method of fruit drying on the extractability of avocado oil with hexane and supercritical carbon dioxide. **Journal of Science Food and Agriculture**, v. 87, p. 2880-2885, 2007.

MRAICHA, F.; KSANTINI, M.; ZOUCHEB, O.; AYADI, M.; SAYADI, S.; BOUAZIZ, M. Effect of olive fruit fly infestation on the quality of olive oil from Chemlali cultivar during ripening. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, n. 11, p. 3235-3241, 2010.

MUZHINGI, T.; YEUM, K.; RUSSELL, R. M.; JOHNSON, E. J.; QIN, J.; TANG, G. Determination of carotenoids in yellow maize, the effects of saponification and food preparation. **International Journal for Vitamin and Nutrition Research**, v. 78, p. 112-120, 2008.

NAAMANI, G. **Global Trends in main Avocado Markets**. VII World Avocado Congress, Australia, 2011.

NELSON, E. O. **Genetic modification of protein quality implants**. v. 21, p. 171-194, 1969.

NEO, Y. P.; RAY, S.; EASTEAL, A. J.; NIKOLAIDIS, M. G.; QUECK, S. Y. Influence of solution and processing parameters towards the fabrication of electrospun zein fibers with sub-micron diameter. **Journal of Food Engineering**, v. 109, p. 645–651, 2012.

NEO, Y. P.; RAY, S.; JIN, J.; GIZDAVIC-NIKOLAIDIS, M.; NIEUWOUDT, M. K.; LIU, D.; QUECK, S. Y. Encapsulation of food grade antioxidant in natural biopolymer by *electrospinning* technique: A physicochemical study based on zein-gallic acid system. **Food Chemistry**, v. 136, p. 1013–1021, 2013.

NESTERENKO, A.; ALRIC, I.; SILVESTRE, F.; DURRIEU, V. Vegetable proteins in microencapsulation: A review of recent interventions and their effectiveness. **Industrial Crops and Products**, v. 42, p. 469-479, 2013.

NIETO, J. R. C. **Produção de Heterojunções de Polianilina/Silício e Nanofibras de Polianilina para aplicações em dispositivos híbridos**. 2006. 112 p.

Dissertação (Mestrado em Física) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2006.

NIETO-ANGEL, D.; ACOSTA-RAMOS, M.; ORTIZ, D. T.; SÃO JOSÉ, A. R. Enfermedades Del Aguacate. In: OLIVEIRA, S. M. A de.; TERAPO, D.; DANTAS, S. A. F.; TAVARES, S. C. C. de H. (Ed.). **Patologia pós-colheita: frutas, olerícolas e ornamentais tropicais**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, p. 473- 491, 2006.

NONTHANUM, P.; LEE, Y.; PADUA, G. W. Effect of γ -zein on the rheological behavior of concentrated zein solutions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 7, p. 1742-1747, 2012.

NOUR, V.; STAMPAR, F.; VEBERIC, R.; JAKOPIC, J. Anthocyanins profile, total phenolics and antioxidant activity of black currant ethanolic extracts as influenced by genotype and ethanol concentration. **Food Chemistry**, v.141, p. 961-966, 2013.

O'SULLIVAN, J.; ARELLANO, M.; PICHOT, R.; NORTON, I. The effect of ultrasound treatment on the structural, physical and emulsifying properties of dairy proteins. **Food Hydrocolloids**, v. 42, Parte 3, p. 386-396, 2014.

OKUTAN, N.; TERZI, P.; ALTAY, F. Affecting parameters on *electrospinning* process and characterization of electrospun gelatin nanofibers. **Food Hydrocolloids**, v. 39, p. 19-26, 2014.

OLIVEIRA, A. L. De.; BRUNINI, M. A.; VISICATO, M. L.; SIQUEIRA, A. M. F. de; VARANDA, D. B. Atributos físicos em abacates (*Persa americana* L.) provenientes da região de Ribeirão Preto – SP. **Revista Nucleus**, v.1, n.1, p. 1-8, 2003.

OLIVEIRA, M. C.; PIO, R.; RAMOS, J. D.; LIMA, L. C. O.; PASQUAL, M. P.; SANTOS, V. A. Fenologia e características físico-químicas de frutos de abacateiros visando à extração de óleo. **Ciência Rural**, v. 43, p. 411-418, 2013.

ORTEGA, J. A. A.; LÓPEZ, M. R.; TORRE, R. R. R. Effect of electric field treatment on avocado oil. **International Journal of Research in Agriculture and Food Sciences**, v.1, p. 13-22, 2013.

ORTEGA, J. A. A.; VALDEZ, F. L.; HUERTA, J. C.; CASSELLIS, M. E. R.; REYES, J. D.; ZAVALA, A. M. Efecto de diferentes métodos de extracción sobre el perfil de ácidos grasos en el aceite de aguacate (*Persea americana* Mill. var. Hass). **Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos**, v. 2, n. 2, p. 263-276, 2011.

ORTIZ-MORENO, A.; DORANTES, A. L.; GALLNDEZ, M. J.; CARDENAS, S. E. Effect of a novel oil extraction method on avocado (*Persea americana* Mill) pulp microstructure. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 59, p. 11-14, 2004.

ORTIZ-MORENO, A.; DORANTES, L.; GALÍNDEZ, J.; GUZMÁN, R. I. Effect of different extraction methods on fatty acids, volatile compounds, and physical and chemical properties of avocado (*Persea americana* Mill.) oil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 2216-2221, 2003.

OZDEMIR, F.; TOPUZ, A. Changes in dry matter, oil content and fatty acids composition of avocado during harvesting time and post-harvest in ripening period. **Food Chemistry**, v. 86, p. 79-83, 2004.

PAPENBURG, B. J.; SCHÜLLERRAVOO, S.; BOLHUISVERSTEEG, L. A. M.; HARTSUIKER, L.; GRIJPMA, D. W.; FEIJEN, J.; WESSLING, M.; STAMATIALIS, D. Designing porosity and topography of poly (1,3trimethylene carbonate) scaffolds. **Acta Biomaterialia**, v. 9, n. 9, p. 3281-3294, 2009.

PARAMERA, E. I.; KONTELES, S. J.; KARATHANOS, V. T. Microencapsulation of curcumin in cells of *Saccharomyces cerevisiae*. **Food Chemistry**, v.125, p. 892-902, 2011.

PARIZE, A. L.; SOUZA, T. C. R. de.; BRIGHENTE, I. M. da C. Obtenção e caracterização de microesferas de quitosana contendo o corante urucum. **Tecnologia e Ciência Agropecuária**, v.2, n.1, p.15-18, 2008.

PARRIS, N.; COOKE, P. H.; HICKS, K. B. Encapsulation of Essential Oils in Zein Nanospherical Particles. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 12, p. 4788-4792, 2005.

PAULA, G. A. **Caracterização físico-química e estudo do escurecimento enzimático em produtos derivados de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.)**. 2007. 91f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2007.

PÉREZ-CHABELA, M. L.; LARA-LABASTIDA, R.; RODRIGUEZ-HUEZO, E.; TOTOSAUS, A. Effect of spray drying encapsulation of thermotolerant lactic acid bacteria on meat batters properties. **Food Bioprocess Technology**, v.6, p.1505–1515, 2013.

PETITO, N. L.; DIAS, D. S.; COSTA, V. G.; FALCÃO, D. Q.; ARAUJO, K. G. L. Increasing solubility of red bell pepper carotenoids by complexation with 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin. **Food Chemistry**, v. 208, p.124-131, 2016.

PETRESKA-IVANOVSKA, T.; PETRUSHEVSKA-TOZI, L.; GROZDANOV, A.; PETKOVSKA, R.; HADJIEVA, J.; POPOVSKI, E.; STAFILOV, T.; MLADENOVSKA, K. From optimization of synbiotic microparticles prepared by *spray-drying* to development of new functional carrot juice. **Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly**, v. 20, n. 4, p. 549-564, 2014.

PIACENTINI, E.; GIORNO, L.; DRAGOSAVAC, M. M.; VLADISAVLJEVIĆ, G. T.; HOLDICH, R. G. Microencapsulation of oil droplets using cold water fish gelatine/gum arabic complex coacervation by membrane emulsification. **Food Research International**, v. 53, p. 362-372, 2013.

PIIRONEN, V.; TOIVO, J.; PUUPPONEN-PIMIA, R.; LAMPI, A. M. Plant sterols in vegetables, fruits and berries. **Journal Science Food Agricultural**, v. 83, p. 330-337, 2003.

PLAZA, L.; SÁNCHEZ-MORENO, C.; DE PASCUAL-TERESA, S.; DE ANCOS, B.; CANO, M. P. Fatty acids, sterols, and antioxidant activity in minimally processed avocados during refrigerated storage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, p. 3204-3209, 2009.

PRASANNA, B. M.; VASAL, S. K.; KASSAHUN, B.; SINGH, N. N. Quality protein maize. **Current Science**, v. 81, n. 10, p. 1308-1319, 2001.

QUIÑONES-ISLAS, N.; MEZA-MÁRQUEZ, O. G.; OSORIO-REVILLA, G.; GALLARDO-VELAZQUEZ, T. Detection of adulterants in avocado oil by Mid-FTIR spectroscopy and multivariate analysis. **Food Research International**, v. 51, p. 148-154, 2013.

QUISPE-CONDORI, S.; SALDAÑA, M. D. A.; TEMELLI, F. Microencapsulation of flax oil with zein using spray and freeze drying. **LWT - Food Science and Technology**, v. 44, p.1880-1887, 2011.

RAMAKRISHNA, S.; FUJIHARA, K.; TEO, W. E.; YONG, T.; MA, Z.; RAMASESHAN, R. Electrospun nanofibers: solving global issues. **Materials Today**, v. 9, p. 40-50, 2006.

RAMAKRISHNA, S.; FUJIHARA, K.; TEO, W.-E.; LIM, T.-C.; MA, Z. **An Introduction to electrospinning and nanofibers** (5. ed.). Cingapura: World Scientific, 2005.

RENEKER, D. H.; YARIN, A. L.; FONG, H.; KOOMBHONGSE, S. Bending instability of electrically charged liquid jets of polymer solutions in *electrospinning*. **Journal of Applied Physics**, v. 87, n. 9, p. 4531-4547, 2000.

ROBERTO, C. S. J.; MARQUES, D. R.; PINTO, F. P.; SILVA, C. P. S.; SARAIVA, P. C. **Evidencia do efeito hipolipemiante do abacate**. 2010. 18 p. Monografia (Trabalho de conclusão do curso de Biomedicina) – Faculdade de Ensino Superior da Amazonia Reunida, Redenção, 2010.

ROCHA, G. A.; FÁVARO-TRINDADE, C. S.; GROSSO, C. R. F. Microencapsulation of lycopene by *spray drying*: Characterization, stability and application of microcapsules. **Food and Bioproducts Processing**, v. 90, n. 1, p. 37-42, 2012.

ROCHA, T. E. S. Composição de ácidos graxos e fitoesteróis em frutos de quatro variedades de abacate *Persea americana* Mill. 2008. 85f. Dissertação (Mestrado em Nutrição Humana) – Universidade de Brasília, Brasília, 2008.

RODRIGUES, N.; MALHEIROA, R.; CASAL, S.; ASENSIO-S.-MANZANERAC, M. C.; BENTOA, A.; PEREIRA, J.A. Influence of spike lavender (*Lavandula latifolia* Med.) essential oil in the quality, stability and composition of soybean oil during microwave heating. **Food and Chemical Toxicology**, v. 50, p. 2894-2901, 2012.

RODRIGUES-AMAYA, D. B. **A guide to carotenoid analysis in foods**. Washington: ILSI Press, 64 p, 2001.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **A guide to carotenoids analysis in foods**. Washington: Ilsi, 1999. 119p

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; KIMURA, M.; AMAYA-FARFAN, J. **Fontes brasileiras de carotenoides: Tabela brasileira de composição de carotenoides em alimentos**. Brasília: MMA/SBF. 2008. 100p.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; RODRIGUEZ, E. B.; AMAYA-FARFAN, J. Advances in food carotenoid research: chemical and technological aspects, implications in human health. **Malaysian Journal of Nutrition**, v. 12, n.1, p.101-121, 2006.

ROMAN, M. J.; BURRI, B. J.; SINGH, R. P. Release and bioaccessibility of β -carotene from fortified almond butter during *in vitro* digestion. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, p. 9659-9666, 2012.

ROMO-HUALDE, A.; YETANO-CUNCHILLOS, A. I.; GONZÁLEZ-FERRERO, C.; SÁIZ-ABAJO, M. J.; GONZÁLEZ-NAVARRO, C. J. Supercritical fluid extraction and microencapsulation of bioactive compounds from red pepper (*Capsicum annum* L.) by-products. **Food Chemistry**, v.133, p. 1045-1049, 2012.

RUTZ, J. K.; BORGES, C. D.; ZAMBIAZI, R. C.; ROSA, C. G.; SILVA, M. M. Elaboration of microparticles of carotenoids from natural and synthetic sources for applications in food. **Food Chemistry**, v. 202, p. 324–333, 2016.

RUTZ, J. K.; ZAMBIAZI, R. C.; BORGES, C. D.; KRUMREICH, F. D.; DA LUZ, S. R.; HARTWIG, N.; DA ROSA, C. G. Microencapsulation of purple Brazilian cherry juice in xanthan, tara gums and xanthan-tara hydrogel matrixes. **Carbohydrate Polymers**, v. 98, p.1256-1265, 2013.

SAINI, R. K.; NILE, S. H.; PARK, S. W. Carotenoids from fruits and vegetables: Chemistry, analysis, occurrence, bioavailability and biological activities. **Food Research International**, v. 76, p. 735–750, 2015.

SALGADO, J. M.; DANIELI, F.; REGITANO-D'ARCE, M. A. B.; FRIAS, A.; MANSI, D. N. O óleo de abacate (*Persea americana* Mill) como matéria-prima para a indústria alimentícia. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, p. 20-26, 2008.

SANGUANSRI, L. E.; AUGUSTIN, M. A. Microencapsulation in functional food product development. In Smith, J. & Charter, E. (eds.), **Functional Food Product Development**. Blackwell Publishing Ltd, p. 3-19, 2010.

SANSONE, F.; MENCHERINI, T.; PICERNO, P.; D'AMORE, M.; AQUINO, R. P. LAURO, M. R. Maltodextrin/pectin microparticles by spray drying as carrier for nutraceutical extracts. **Journal of Food Engineering**, v.105, p. 468-476, 2011.

SANTANA, I.; CABRAL, L. M. C.; FREITAS, S. P.; TORRES, A. G. **Efeito do pré-tratamento na extração do óleo da polpa de abacate Hass (*Persea americana*)**. In Congresso Brasileiro de Processamento de Frutas e Hortaliças, Rio de Janeiro, Brasil, 2011.

SANTANA, I.; REIS, L. M. F. dos.; TORRES, A. G.; CABRAL, L. M. C.; FREITAS, S. P. Avocado (*Persea americana* Mill.) oil produced by microwave drying and expeller

pressing exhibits low acidity and high oxidative stability. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 117, p. 999-1007, 2015.

SANTOS, A. N. **Obtenção de corante natural de beterraba por microencapsulação em secador de spray**. Relatório do Trabalho de Fim de Curso de Engenharia Alimentar. Instituto Superior de Agronomia. Lisboa. 2005.12p.

SANTOS, M. A. Z.; ALICIEO, T. V. R.; PEREIRA, C. M. P.; RAMOS, G. R.; MENDONÇA, C. R. B. Profile of Bioactive Compounds in Avocado Pulp Oil: Influence of the Drying Processes and Extraction Methods. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 9, p. 19-27, 2014.

SAUVANT, P.; CANCELL, M.; SASSI, A. H.; ATGIÉ, C. Vitamin A enrichment: Caution with encapsulation strategies used for food applications. **Food Research International**, v.46, p.469-479, 2012.

SAXENA, A.; BAWA, A. S.; RAJU, P. S. Phytochemical changes in fresh-cut jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* L.) bulbs during modified atmosphere storage. **Food Chemistry**, v.115, p.1443-1449, 2009.

SCHAFFER, B. A.; WOLSTENHOLME, B. N.; WHILEY, A. W. **The Avocado: Botany, Production and Uses**. CABI, 540 p, 2013.

SHI, J. Functional food ingredients and nutraceuticals. **Processing Technologies**, 2ed., p. 639-660, 2015.

SHUKLA, R.; CHERYAN, M. Zein: The industrial protein from corn. **Industrial Crops and Products**, v. 13, n. 3, p. 171-192, 2001.

SILVA, E. K.; ANGELA, M.; MEIRELES, 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, E. K.; ZABOT, G. L.; ANGELA, M.; MEIRELES, A. Ultrasound-assisted encapsulation of annatto seed oil: Retention and release of a bioactive compound with functional activities. **Food Research International**, v. 78, p. 159-168, 2015.

SMITH, L. A.; MA, P. X. Nano-fibrous scaffolds for tissue engineering. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 39, p. 125-131, 2004.

SOARES, L. G. **Obtenção por *electrospinning* e caracterização de fibras nanoestruturadas de TiO₂ e sua aplicação fotocatalítica**. 2013. 82p. Dissertação (Mestrado em Engenharia, metalúrgica e de Materiais) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2013.

SOMCHUE, W.; SERMSRI, W.; SHIOWATANA, J.; SIRIPINYANOND, A. Encapsulation of α -tocopherol in protein-based delivery particles. **Food Research International**, v.42, p. 909-914, 2009.

STITZEL, J.; PAWLOWSKI, K.; WNEK, G.; SIMPSON, D.; BOWLIN, G. Arterial smooth muscle cell proliferation on a novel biomimicking, biodegradable vascular graft scaffold. **Journal Biomaterials Applications**, v. 16, p. 22-33, 2001.

SUTTER, S. C.; BUERA, M. P.; ELIZALDE, B. E. β -Carotene encapsulation in a man-nitol matrix as affected by divalent cations and phosphate anion. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 332, p. 45-54, 2007.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719p.

TAN, C. X.; CHONG, G. H.; HAMZAH, H.; GHAZALI, H. M. Comparison of subcritical CO₂ and ultrasound-assisted aqueous methods with the conventional solvent method in the extraction of avocado oil. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 135, p. 45-51, 2018.

TANGO, J. S.; CARVALHO, C. R. L.; SOARES, N. B. Caracterização física e química de frutos de abacate visando a seu potencial para extração de óleo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.6, p. 17-23, 2004.

TANGO, J. S.; TURATTI, J. M. **Óleo de abacate**. In: ABACATE – cultura, matéria-prima, processamento e aspectos econômicos. Campinas: ITAL, p. 156-192, 1992.

TORRES-GINER, S.; GIMENEZ, E.; LAGARON, J. M. Characterization of the morphology and thermal properties of zein prolamine nanostructures obtained by *electrospinning*. **Food Hydrocolloids**, v. 22, p. 601-614, 2008.

TURATTI, J. M.; SANTOS, L. C.; TANGO, J. S.; ARIMA, H. K. Caracterização do óleo de abacate obtido por diferentes processos de extração. **Boletim do ITAL**, v. 22, p. 267-284, 1985.

VEGA-LUGO, A. C.; LIM, L.T. Controlled release of allyl isothiocyanate using soy protein and poly (lactic acid) electrospun fibers. **Food Research**, v. 42, p. 933-940, 2009.

VOJDANI, F. Solubility. In: **Methods of testing protein functionality**, cap. 2, p. 11-60, London: Blackie Academic & Professional, 1996.

WANG, B.; ADHIKARI, B.; BARROW, C. J. Optimisation of the microencapsulation of tuna oil in gelatin–sodium hexametaphosphate using complex coacervation. **Food Chemistry**, v. 158, p. 358-365, 2014.

WANG, H. S.; FU, G. D.; LI, S. X. Functional polymeric nanofibers from *electrospinning*. **Recent Patents on Nanotechnology**, v. 3, p. 21-31, 2009.

WANG, M.; ZHENG, Y.; KHUONG, T.; LOVATT, C.J. Effect of harvest date on the nutritional quality and antioxidant capacity in ‘Hass’ avocado during storage. **Food Chemistry**, v.135, p. 694-698, 2012.

WANG, W.; BOSTIC, T. R.; GU, L. Antioxidant capacities, procyanidins and pigments in avocados of different strains and cultivars. **Food Chemistry**, v. 122, p. 1193-1198, 2010.

WERMAN, M. J.; NEEMAN, I. Avocado oil production and chemical characteristics. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 64, p. 229-232, 1987.

WONG, Y. C.; HERALD, T. J.; HACHMEISTER, K. A. Comparison between irradiated and thermally pasteurised liquid egg white on functional, physical and microbiological properties. *Poultry Science*, v. 75, n. 6, p. 803-808, 1996.

WOOLF, A.; WONG, M.; EYRES, L.; MCGHIE T.; LUND, C.; OLSSON, S.; WANG, Y.; BULLEY, C.; WANG, M.; FRIEL, E.; REQUEJO-JACKMAN, C. Avocado Oil. In: Kamel-Eldin A, Moreau R (eds) *Gourmet and health-promoting specialty oils*. **AOCS Press**, p. 73-126, 2009.

XUE, F.; LIB, C.; LIUC, Y.; ZHUC, X.; PANC, S.; WANG, L. Encapsulation of tomato oleoresin with zein prepared from corn gluten meal. **Journal of Food Engineering**, v. 119, p. 439-445, 2013.

YANG, H.; FENG, K.; WEN, P.; ZONG, M-H.; LOU, W-Y.; WU, H. Enhancing oxidative stability of encapsulated fish oil by incorporation of ferulic acid into electrospun zein mat. **LWT - Food Science and Technology**, v. 84, p. 82-90, 2017.

YANG, X.; GAO, N.; HU, L.; LI, J.; SUN, Y. Development and evaluation of novel microcapsules containing poppy-seed oil using complex coacervation. **Journal of Food Engineering**, v. 161, p. 87-93, 2015.

YANG, Z.; PENG, Z.; LI, J.; LIA, S.; KONG, L.; LI, P.; WANG, Q. Development and evaluation of novel flavour microcapsules containing vanilla oil using complex coacervation approach. **Food Chemistry**, v.145, p. 272-277, 2014.

YAO, Z. C.; CHAN, M. W.; AHMAD, Z.; LI, J. S. Encapsulation of rose hip seed oil into fibrous zein films for ambient and on demand food preservation via coaxial *electrospinning*. **Journal of Food Engineering**, v. 191, p. 115-123, 2016.

YILMAZ, A.; BOZKURT, F.; CICEK, P. K.; DERTLI, E.; DURAK, M. Z.; YILMAZ, M. T. A novel antifungal surface-coating application to limit postharvest decay on coated apples: Molecular, thermal and morphological properties of electrospun zein–nanofiber mats loaded with curcumin. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 37, p. 74-83, 2016.

YOUSSEF, N. B.; ZARROUK, W.; CARRASCO-PANCORBO, A.; OUNI, Y.; SEGURA CARRETERO, A.; FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ, A.; DAOUDA, D.; ZARROUKA, M. Effect of olive ripeness on chemical properties and phenolic composition of chétoui virgin olive oil. **Journal Science and Food Chemistry**, v. 90, p. 199-204, 2010.

YUN, S.; CHUAN-HE, T. Gel-like pea protein Pickering emulsions at pH 3.0 as a potential intestine-targeted and sustained-release delivery system for β -carotene. **Food Research International**, v. 79, p. 64-72, 2016.

ZAGHDOUDI, K.; PONTVIANNE, S.; FRAMBOISIER, X.; ACHARD, M.; KUDAIBERGENOVA, R.; AYADI-TRABELSI, M.; KALTHOUM-CHERIF, J.; VANDERESSE, R.; FRONCHOT, C.; GUIAVARC`H, Y. Accelerated solvent extraction of carotenoids from: Tunisian Kaki (*Diospyros kaki* L.), peach (*Prunus persica* L.) and apricot (*Prunus armeniaca* L.). **Food Chemistry**, v. 184. p. 131-139. 2015.

ZAMBLIAZI, R. C. **The role of endogenous lipid components on vegetables oil stability**. Manitoba: University of Manitoba Winnipeg, 304 p, 1997.

ZUIDAM, N. J.; SHIMONI, E. **Overview of microencapsulation for use in food products and processes**. In Encapsulation technologies for active food ingredients and food processing, p.3-30, 2010.