



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRO-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

ROSELY DE JESUS NASCIMENTO

ELABORAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE
MICROCÁPSULAS OBTIDAS A PARTIR DE EXTRATOS DE
FOLHAS DE MORINGA FERMENTADA E NÃO
FERMENTADA

SÃO CRISTÓVÃO/SE

2022

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRO-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

ROSELY DE JESUS NASCIMENTO

**ELABORAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE
MICROCÁPSULAS OBTIDAS A PARTIR DE EXTRATOS DE
FOLHAS DE MORINGA FERMENTADA E NÃO
FERMENTADA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Luciana Cristina Lins de Aquino Santana

Coorientadora: Prof^ª. Dr^ª. Paula Ribeiro Buarque

São Cristóvão/SE

2022

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE

N244e Nascimento, Rosely de Jesus.
Elaboração e caracterização de microcápsulas obtidas a partir de extratos de folhas de moringa fermentada e não fermentada / Rosely de Jesus Nascimento; orientadora Luciana Cristina Lins de Aquino Santana. – São Cristóvão, SE, 2022.
56 f.; il.

Dissertação (mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos)
– Universidade Federal de Sergipe, 2022.

1. Plantas tropicais. 2. Fenóis. 3. Fitoquímicos. 4. Fermentação. 5. Antioxidantes. I. Santana, Luciana Cristina Lins de Aquino, orient. II. Título.

CDU 582.683.4

ROSELY DE JESUS NASCIMENTO

**ELABORAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE MICROCÁPSULAS
OBTIDAS A PARTIR DE EXTRATOS DE FOLHAS DE MORINGA
FERMENTADA E NÃO FERMENTADA**

Dissertação de mestrado aprovada no Programa de
Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de
Alimentos em 30 de maio de 2022.

BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente



LUCIANA CRISTINA LINS DE AQUINO SANTANA

Data: 03/06/2022 09:32:15-0300

Verifique em <https://verificador.itl.br>

Prof.^a Dr.^a . Luciana Cristina Lins de Aquino Santana

Orientadora/ PROCTA – UFS

Documento assinado digitalmente



MARIA TEREZINHA SANTOS LEITE NETA

Data: 03/06/2022 11:15:13-0300

Verifique em <https://verificador.itl.br>

Prof.^a Dr.^a Maria Terezinha Leite Neta

Examinador Interno/PROCTA – UFS

Documento assinado digitalmente



RAQUEL ANNE RIBEIRO DOS SANTOS

Data: 04/06/2022 12:56:13-0300

Verifique em <https://verificador.itl.br>

Prof.^a. Dr.^a. Raquel Anne Ribeiro dos Santos

Examinador Externo/ IFS

São Cristóvão/SE

2022

Dedico este trabalho a Deus, que me presenteia todos os dias com a energia da vida, e me dar forças e coragem para atingir os meus objetivos.

AGRADECIMENTOS

Aqui venho deixar meus sinceros agradecimentos a todos e a todas que direta ou indiretamente contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.

Primeiramente, agradeço a Deus, sempre presente, por todo amor, e me conceder força e coragem para enfrentar os obstáculos e alcançar meus objetivos.

A minha orientadora e professora Luciana, pela oportunidade, acolhimento e auxílio durante o mestrado, pelas correções valiosas e conhecimento transmitido. Foi um prazer poder trabalhar com a senhora.

A minha coorientadora Paula e professora Terezinha, pela disponibilidade para tirar minhas dúvidas, pelos ensinamentos e contribuição para realização deste trabalho.

As técnicas do DTA e LAF, pelo apoio nas análises. Patrícia e Aline, pelo acolhimento no laboratório, auxílio e conhecimento transmitido. Hanna, pelo auxílio nesta pesquisa.

Aos amigos de laboratório, Jéssica e Daniela, pela amizade, parceria, troca de experiências, e por tornar alguns momentos mais leves em meio à exaustão. Aos colegas, Simone, Luana e Carlos, por todo apoio e troca de experiências. Tacila e Larissa, por sempre auxiliar nas minhas dúvidas, e transmitir tanto conhecimento, aprendi muito com vocês.

A minha família, que sempre esteve do meu lado, me apoiando e me ajudando na realização dos meus sonhos. Ao meu esposo, por sempre me apoiar, acreditar e me incentivar nos meus objetivos. A madrinha Rosenilda, que sempre acreditou no meu potencial e, mesmo distante, sempre está do meu lado.

Agradeço a todos os envolvidos do programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Sergipe, que direta o indiretamente contribuíram para minha formação.

À CAPES, o presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001

NASCIMENTO, R. J. Elaboração e caracterização de microcápsulas obtidas a partir de extratos de folhas de moringa fermentada e não fermentada [Dissertação]. São Cristóvão: Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Sergipe; 2022.

RESUMO

A *Moringa oleifera*, também conhecida como “árvore milagrosa” ou “árvore da vida”, é uma planta rica em nutrientes, e compostos fitoquímicos, presentes em quase todas as partes, como folhas, flores, sementes e vagens. Suas folhas merecem destaque, por conterem alto teor de proteínas e compostos fenólicos. A Fermentação em Estado Sólido (FES) tem se destacado como uma ferramenta promissora para auxiliar na extração de compostos fenólicos de partes de plantas. No entanto, estes extratos podem sofrer alterações devido a exposição às condições estressantes, como, água, luz, calor, pH, enzimas e oxigênio. Neste contexto, a microencapsulação surge como uma alternativa para evitar a degradação dos compostos contidos nestes extratos. Desta forma, o presente estudo teve como objetivo avaliar o teor de fenólicos totais, potencial antioxidante e características físico-químicas de microcápsulas de extratos obtidos a partir de folhas de moringa fermentada (EFF) e não fermentada (EFNF). As folhas foram secas e trituradas e submetidas a FES utilizando *Aspergillus niger*. Os extratos de folhas fermentada e não fermentada foram obtidos em solução aquosa de etanol a 80%. As microcápsulas foram obtidas por liofilização utilizando diferentes proporções de extrato: goma arábica (1:10, 1:6 e 1:4). As microcápsulas com EFNF elaboradas na proporção 1:4 demonstraram maior teor de fenólicos totais (4,91 mg EAG/g de microcápsulas) e características morfológicas de aspecto vítreo, e as elaboradas com EFNF e EFF na proporção 1:10, apresentaram maior atividade antioxidante (300,84 e 299,13 $\mu\text{mol Trolox/g}$, pelo método ABTS, respectivamente). Todas as microcápsulas obtiveram boa eficiência de encapsulação (91,76 e 95,70%), alta solubilidade (92,27 a 95,91%), condições favoráveis de higroscopicidade (14,50 a 19,8%) e baixa atividade de água (0,13 a 0,29). Portanto, os resultados indicaram que as microcápsulas elaboradas na proporção 1:4 (extrato:goma arábica) apresentaram os menores valores de atividade de água e umidade, maior concentração de compostos fenólicos e atividade antioxidante pelo método FRAP. No entanto são necessários mais estudos para avaliar a toxicidade das microcápsulas visando aplicações futuras nos setores farmacêutico, cosmético e alimentício.

Palavras-chave: *Moringa Oleifera*; Compostos antioxidantes; Extratos vegetais; Fermentação; Microencapsulação.

NASCIMENTO, R. J. Elaboration and characterization of microcapsules obtained from extracts of fermented and non-fermented moringa leaves [Dissertation] São Cristóvão: Postgraduate Program in Food Science and Technology, Federal University of Sergipe; 2022

ABSTRACT

Moringa oleifera, also known as the “miracle tree” or “tree of life”, is a plant rich in nutrients, and phytochemicals, present in almost all parts, such as leaves, flowers, seeds and pods. Its leaves are worth mentioning, as they contain a high content of proteins and phenolic compounds. Solid-State Fermentation (SSF) has emerged as a promising tool to aid in the extraction of phenolic compounds from plant parts. However, these extracts may change due to exposure to stressful conditions, such as water, light, heat, pH, enzymes and oxygen. In this context, microencapsulation appears as an alternative to avoid the degradation of the compounds contained in these extracts. Thus, the present study aimed to evaluate the total phenolic content, antioxidant potential and physicochemical characteristics of microcapsules of extracts obtained from fermented (EFF) and non-fermented (EFNF) moringa leaves. The leaves were dried and ground and subjected to FES using *Aspergillus niger*. The fermented and non-fermented leaf extracts were obtained in an aqueous solution of 80% ethanol. The microcapsules were obtained by lyophilization using different proportions of extract: arabic gum (1:10, 1:6 and 1:4). The microcapsules with EFNF prepared in the proportion 1:4 showed a higher content of total phenolics (4.91 mg GAE/g of microcapsules) and morphological characteristics of glassy aspect, and the ones prepared with EFNF and EFF in the proportion 1:10, showed greater antioxidant activity (300.84 and 299.13 $\mu\text{mol Trolox/g}$, by the ABTS method, respectively). All microcapsules had good encapsulation efficiency (91.76 and 95.70%), high solubility (92.27 to 95.91%), favorable conditions of hygroscopicity (14.50 to 19.8%) and low activity of water (0.13 to 0.29). Therefore, the results indicated that the microcapsules elaborated with 1:4 (extract: Arabic gum) ratio showed the lower values of water activity and humidity, higher concentration of phenolic compounds and antioxidant activity by the FRAP method. However, further studies are needed to evaluate the toxicity of microcapsules for future applications in the pharmaceutical, cosmetic and food sectors.

Keywords: *Moringa oleifera*; Antioxidant compounds; plant extracts; Fermentation; Microencapsulation.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Países onde a *Moringa Oleifera* cresce.

Figura 2 - Partes de *Moringa oleifera*, Folha (A), (B) Flores, (C) Vagens e (D) sementes

Figura 3 - Estrutura química dos compostos fenólicos encontrados em folhas de *Moringa Oleifera*.

Figura 4 - Tipos e diferença entre as micropartículas

Figura 5 - Ilustração do processo de liofilização.

Figura 6 - Microscopia eletrônica por varredura (MEV) com ampliação de 100x e 1.000x das microcápsulas. Microcápsulas de goma arábica sem extrato (amostra de controle) (A) e (B). Microcápsulas elaboradas nas proporções EFF: goma arábica 1:10 (C) e (F); 1:6 (D) e (G); 1:4 (E) e (H). Microcápsulas elaboradas nas proporções EFNF:goma arábica 1:10 (I), e (L); 1:6 (J) e (M); 1:4 (K) e (N).

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Macronutrientes de folhas, flores, sementes e vagens de *Moringa oleífera*

Tabela 2 - Métodos de extração usados para obter compostos bioativos de partes de moringa.

Tabela 3 - Encapsulação de extratos obtidos a partir de partes de moringa.

Tabela 4. Teores de fenólicos, flavonoides e atividade antioxidante de extrato de folhas de moringa por meio da FES, rotaevaporado e não rotaevaporado.

Tabela 5 -. Teor de fenólicos totais, eficiência de encapsulação, ABTS, DPPH e FRAP das microcápsulas de moringa de EFF e EFNF secas por liofilização e encapsulada com goma arábica em diferentes proporções de material de núcleo: parede (1:10, 1:6 e 1:4)

Tabela 6 - umidade, atividade de água, solubilidade e higroscopicidade, das microcápsulas de extratos de folhas de moringa fermentado e não fermentada.

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	13
2.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	15
2.1	<i>Moringa oleifera</i> - definições e composição.....	15
2.2	Métodos de extração de compostos bioativos de partes de moringa	19
2.3	Técnicas de microencapsulação	24
3.	OBJETIVOS.....	31
3.1	Objetivo Geral.....	31
3.2	Objetivos específicos	31
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	32
4.1	Materiais.....	32
4.2	Microrganismo.....	32
4.3	Métodos	32
4.3.1	Obtenção da farinha de folhas de moringa	32
4.3.2	Preparo do inóculo do fungo <i>Aspergillus niger</i>	33
4.3.3	Experimento fermentativo.....	33
4.3.4	Obtenção dos extratos	33
4.3.5	Determinação do teor de compostos fenólicos totais.....	33
4.3.6	Determinação do teor de compostos flavonoides totais	34
4.3.6	Atividade antioxidante <i>in vitro</i> dos extratos.....	34
4.3.7	Obtenção de microcápsulas dos extratos de moringa fermentada e não fermentado.	35
4.3.8	Quantificação de fenólicos totais e eficiência de encapsulação.....	36
4.3.9	Atividade antioxidante das microcápsulas.....	37
4.3.10	Análises físico- químicas das microcápsulas	37
4.3.10.1	Umidade	37
4.3.10.2	Atividade de água	37

4.3.11	Análise estatística	38
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
4.1	Teores de fenólicos totais, flavonoides totais e atividade antioxidante do extrato de folhas de moringa obtido por FES.	39
4.2	Teor de fenólicos totais, atividade antioxidante e eficiência de encapsulação	40
4.3	Propriedades físicas das microcápsulas	43
4.4	Morfologia das microcápsulas	45
5.	CONCLUSÕES.....	48
6.	PERSPECTIVAS PARA TRABALHOS FUTUROS	48
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	49

1 INTRODUÇÃO

A *Moringa oleifera* é uma árvore de origem indiana, mais especificamente do himalaia, compondo o único gênero da família Moringaceae, a qual possui 13 espécies, entre elas, a moringa é a mais conhecida, e alvo de muitas pesquisas, devido seu alto potencial nutricional e medicinal, e por isso é chamada universalmente como árvore da vida ou planta milagrosa (BENNOUR et al., 2020; GÓMEZ-MARTÍNEZ et al., 2020).

Esta característica se deve a sua múltipla funcionalidade, encontrada em, quase todas as partes da planta, incluindo folhas, raízes, flores, vagens, cascas e gomas, pois são ricos em nutrientes e compostos fenólicos, os quais podem proporcionar um efeito terapêutico, como potencial anticâncer, antioxidante, antidiabético, e antibacteriano (EDOGA et al., 2013; ARORA; ONSARE, 2014; COZ-BOLAÑOS et al., 2018; GUPTA et al., 2018; TILOKE et al., 2018; BENNOUR et al., 2020). Ao comparar todas as partes da planta, destacam-se as folhas por serem ricas em proteínas e possuírem o maior conteúdo de compostos fenólicos e terpenos, além de alto poder antioxidante (LEONE et al., 2015; ZIANE et al., 2019; GOMEZ-MARTINEZ et al., 2020).

Ao longo dos anos, os compostos bioativos presentes em partes de moringa têm sido avaliados por vários métodos de extração tais como, a maceração, um método convencional bastante utilizado (PRABAKARAN et al., 2018; TAI et al., 2018; OLDONI et al., 2019; ROCCHETTI et al., 2019; ZIANE et al., 2019; SHARMA; WICHAPHON; KLANGPETCH, 2020), e métodos não convencionais, como Extração assistida por ultrassom (EAU) (GOMEZ-MARTINEZ et al., 2020), Extração Soxhlet (GHAFAR et al., 2017), Extração assistida por micro-ondas (EAM), Extração líquida pressurizada (ELP) (RODRIGUEZ-PEREZ et al., 2016) e Extração Assistida por Homogeneizador (HAE) (ROCCHETTI et al., 2020).

Nos últimos anos, a FES tem se destacado como uma ferramenta para facilitar a extração de compostos fenólicos em partes de plantas e resíduos agroindustriais não extraídos por métodos convencionais, uma vez que durante o processo fermentativo, são produzidas enzimas que podem remover compostos da parede celular do material sólido, assim como catalisar reações resultando na formação de novos compostos (DEY; KUHAD, 2014; ARORA; RANI; GHOSH, 2018).

Alguns pesquisadores têm eficientemente empregado a FES para aumentar o teor de proteínas, aminoácidos essenciais, ácidos graxos poli-insaturados e melhorar o conteúdo de compostos fenólicos e potencial antioxidante em folhas ou em sementes de moringa (FEITOSA et al., 2020a e FEITOSA et al., 2020b; WANG et al., 2018; SHI et al., 2020; SHI et al., 2021; REYES-SÁNCHEZ et al., 2018; ZHANG et al., 2017). No entanto, estes compostos bioativos geralmente são instáveis e suscetíveis à degradação oxidativa, principalmente quando em contato com umidade, luz, calor e oxigênio, limitando assim sua biodisponibilidade (SHISHIR et al., 2018). Porém, esta limitação pode ser reduzida a partir do uso da técnica de encapsulamento, que consiste no aprisionamento e proteção do composto ativo afim de preservar e aumentar a sua biodisponibilidade e estabilidade (COELHO; ESTEVINHO; ROCHA, 2021).

Desta forma, várias técnicas de encapsulamento são comumente utilizadas, tais como, extrusão, emulsificação, eletrofiação, coacervação, *spray dryer* e liofilização. A liofilização também conhecida por secagem por congelamento, é uma técnica de encapsulamento, bastante utilizada, por preservar substâncias sensíveis ao calor, melhorar a estabilidade das microcápsulas e eficiência de encapsulamento (SHISHIR et al., 2018). Assim a liofilização tem sido amplamente utilizada para microencapsulação de compostos bioativos naturais, exemplo, extrato de cebola roxa (*Allium cepa*) (ELSEBAIE; ESSA, 2018), polpa de amora Cherokee (*Rubus* spp) (ORO et al., 2021), borra de café (BALLESTEROS et al., 2017), folhas de *Moringa stenopetala* (DADI et al., 2020). Quanto a utilização da técnica para microencapsular extratos de partes de *moringa oleífera*, foi encontrado, apenas um estudo, utilizando extrato de folhas de moringa. (GEORGE et al., 2021).

Portanto, considerando que não há trabalhos referente a microencapsulação de extratos de folhas de moringa fermentada, o objetivo do presente estudo foi microencapsular extratos de folhas de moringa fermentada e não fermentada e avaliar o teor de fenólicos totais, atividade antioxidante e características físico-químicas das microcápsulas.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 *Moringa oleifera*- definições e composição

Moringa oleifera Lam. constitui uma das treze espécies de moringa, pertencente à família monogênica Moringaceae, uma planta nativa do norte da Índia, mais especificamente das montanhas do Himalaia, entretanto, atualmente se encontra distribuída pelo mundo, principalmente em regiões de clima tropical e subtropical, como na África, Ásia, América Latina, e Caribe, pois, é apta para sobreviver em regiões que exigem pouco do solo e de água, sendo assim, uma planta ótima para cultivar em localidades mais secas, (Figura 1), (ALEGBELEYE, 2018; GUPTA et al., 2018; LIU et al., 2018).

Figura 1- Países onde a *Moringa Oleifera* cresce.



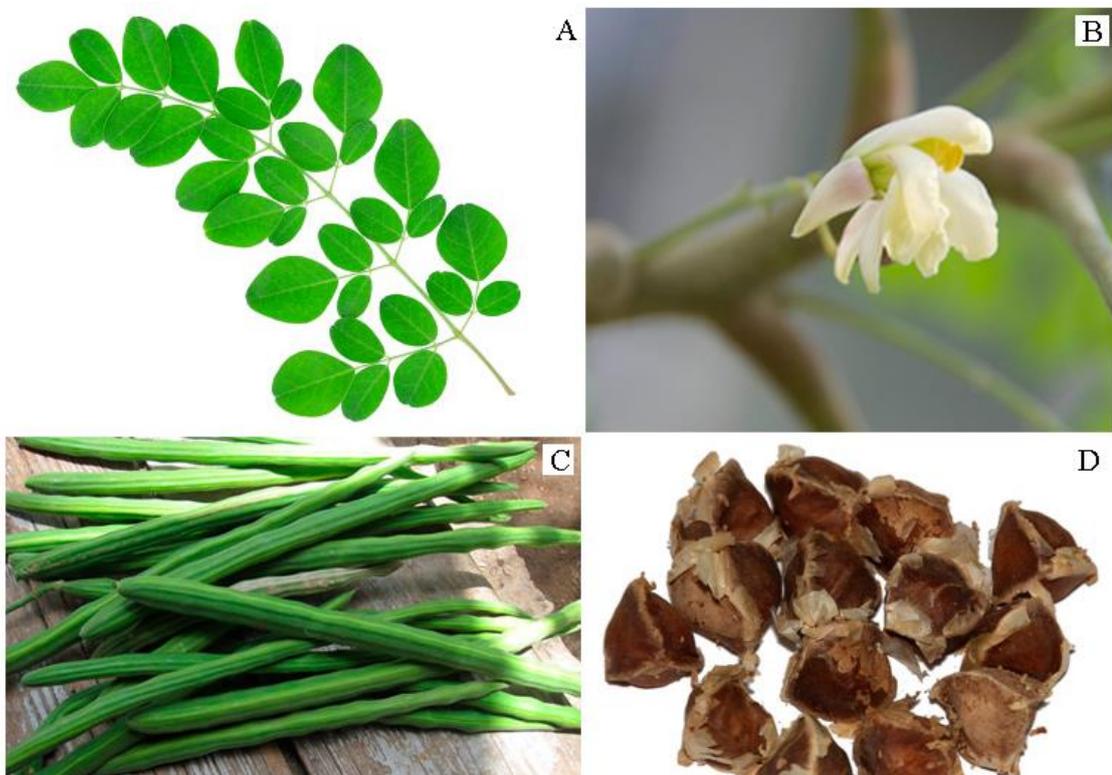
Fonte: Adaptado de Kuput et al. (2015)

No Brasil, o primeiro plantio da *Moringa* foi no Jardim Botânico no Rio de Janeiro, sendo posteriormente disseminada para outras regiões do país, principalmente no Nordeste, onde encontra-se em maior parte, em especial nos estados do Maranhão, Piauí e Ceará, sendo popularmente conhecida como Lírio Branco ou Acácia-Branca. São regiões de clima árido e semiáridos, propício para o cultivo desta espécie, visto que, conseguem crescer e se adaptar facilmente, mesmo em clima com pouca umidade (PEDRAL et al., 2016; RODRIGUES et al., 2016). No estado de Sergipe, a *moringa* encontra-se disseminada, sendo possível encontrar espécimes, no município de Itabaiana e São Cristóvão, mais precisamente no Campus da

Universidade Federal de Sergipe, para fins de pesquisa. (PASSOS et al., 2013; SANTOS; FABRICANTE; OLIVEIRA, 2016).

A moringa é caracterizada por possuir crescimento rápido, podendo chegar entre 5 a 10 metros de altura, suas folhas são de cor verde clara, tripinadas com pecíolos amarelados, constituída de muitos pecíolos, as flores são axilares bissexuais, compostas por cinco pétalas desiguais caídas de cor branca, as vagens são de casca de cortiça, pendentes de três lados de cor cinza e suas sementes são circulares compostas por uma cápsula envolta de nervuras pendulares, conforme a Figura 2 (GUPTA et al., 2018; LIU et al., 2018).

Figura 2 – Partes de *Moringa Oleifera*, Folha (A), (B) Flores, (C) Vagens e (D) sementes



Fonte: <https://loveachild.com/2016/03/miracle-moringa-tree/> . Acesso em: 13 de novembro de 2020.

Suas folhas e sementes geralmente são consumidas frescas, em pó ou cozidas, apresentam vários nutrientes, principalmente proteínas e aminoácidos essenciais, ácidos graxos poli-insaturados, vitaminas, minerais e compostos fenólicos. As vagens são utilizadas para tratar problemas digestivos e inibir a proliferação de câncer de colón. Suas flores são comumente utilizadas na culinária para realçar o sabor e a cor dos pratos (MOYO et al., 2011; ZIANE et al., 2019; FERNANDES et al., 2021).

A moringa é uma planta muito rica em nutrientes e compostos bioativos, independentemente do tecido vegetal e da localidade onde seja cultivada, no entanto, os compostos químicos e atividade antioxidante podem diferir, pela influência de fatores, como condições do solo, época de colheita, condições de armazenamento, idade e desenvolvimento do tecido vegetal (GÓMEZ-MARTÍNEZ et al., 2020).

É uma árvore reconhecida por suas múltiplas funcionalidades, visto que, quase todas as partes da planta, incluindo folhas, raízes, flores, vagens, cascas e gomas, tem valor por serem ricos em nutrientes e compostos fenólicos, e por isso é comumente utilizada como alimento, assim como para tratamento de doenças, devido as suas múltiplas propriedades nutricionais, medicinais (GUPTA et al., 2018; TILOKE et al., 2018).

Em relação a composição nutricional, o carboidrato é o macronutriente encontrado em maior quantidade, em todas as partes da planta (folhas, flores, sementes e vagens), principalmente nas vagens, seguido das folhas e flores e em menor quantidade nas sementes (Tabela 1). Entre os seus açúcares simples, em alguns estudos foi relatado a presença de frutose, glicose, sacarose e trealose em vagens e flores; glicose e frutose em sementes; e frutose, glicose e sacarose em folhas (ZIANE et al., 2019; FERNANDES et al., 2021).

Embora o carboidrato seja o constituinte presente em maior quantidade em todas as partes da moringa, as folhas são caracterizadas por serem fonte rica em proteína, podendo serem utilizadas como suplemento dietético, pois atende as necessidades humanas (OYEYINHA; OYEYINHA, 2018; FERNANDES et al., 2021).

Tabela 1 - Macronutrientes de folhas, flores, sementes e vagens de *Moringa oleifera*

Nutrientes	Composição de partes de moringa (g/100g da planta)			
	Folhas	Flores	Sementes	Vagens
Carboidrato	44,36 - 65	65,5 – 67,2	41,2 - 38,85	79,6 - 71,91
Proteína	13,1- 28,65	21,3 – 19,83	30,0 – 31,88	19,79 – 19,49
Lipídeo	7,1 – 11,1	5,8 – 5,0	26,0 – 26,6	4,3 – 2,7

Fonte: Fernandes et al., (2021), Ziani et al., (2019), Teixeira et al., (2014)

As sementes são fontes de gordura, principalmente ácidos graxos monoinsaturados, com predominância do ácido oleico, podendo ser uma opção de substituição pelo azeite de oliva devido a semelhança encontrada em sua composição, também o seu óleo pode ser utilizado para

acelerar a cicatrização de feridas (LIANG et al., 2019; SINGH et al., 2020; FERNANDES et al., 2021).

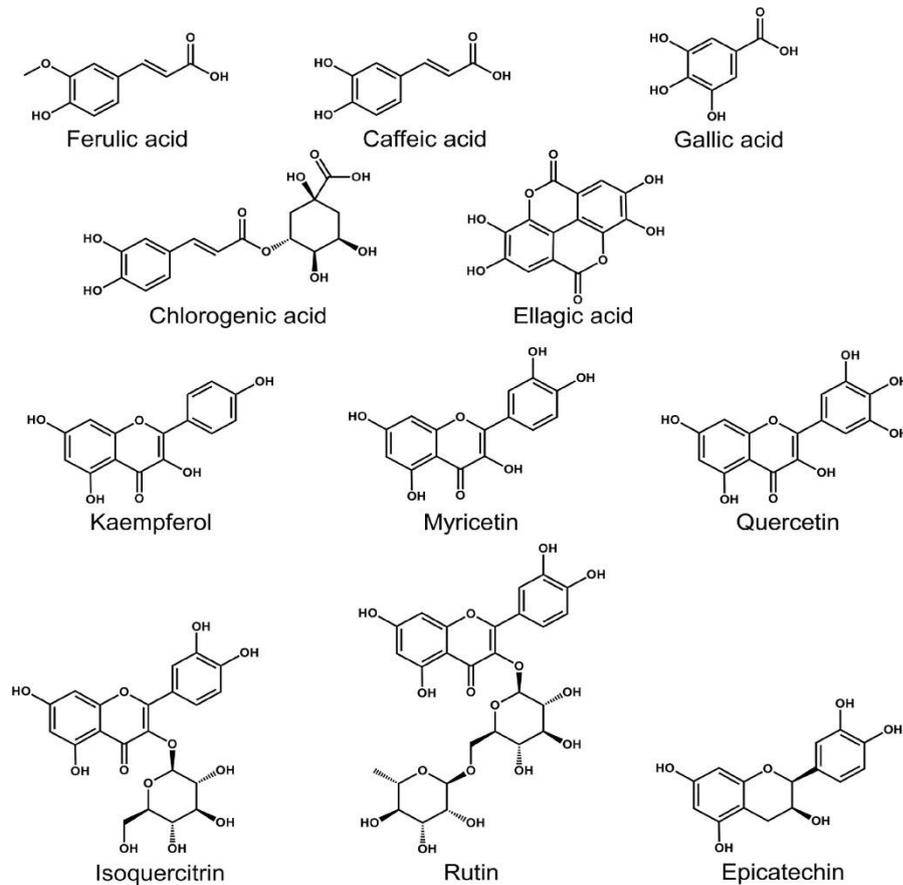
As partes de moringa também são conhecidas por conter grande quantidade de compostos polifenóis. Estes são um grupo de substâncias, provenientes do metabolismo secundário das plantas, afim de proteger e garantir a sobrevivência da mesma, e por isso são amplamente conhecido pelas suas funcionalidades fisiológicas, como, antioxidante, anti-inflamatória, antibacteriana e antidiabética (TOUDERT et al., 2017; BENNOUR et al., 2020).

Vários estudos tem relatado a moringa como uma planta medicinal, devido a presença de vários compostos bioativos, ácidos gálico, cafeico, vanílico, ferúlico, apigenina e naringenina em sementes e ácido gálico, ácido clorogênico, luteolina, rutina, quercetina, kaempferol e apigenina presente nas suas folhas (VALDEZ-SOLANA et al., 2015; GHARSALLAH et al., 2021), os quais podem justificar o uso e auxiliar no tratamento terapêutico de várias doenças como anemia, diarreia, dor de cabeça e de garganta, asma e infecção na pele (AJIBADE; AROWOLO; OLAYEMI, 2013; PADAYACHEE; BAIJNATH, 2020; FERNANDES et al., 2021).

As folhas são as partes da planta mais utilizadas, e por isso, vários estudos já evidenciaram a presença de muitos compostos fenólicos, entre eles, flavonóides, alcaloides, taninos, ácidos fenólicos e seus glicosídeos, saponinas, glucosinolato e isotiocianato (HASSAN et al., 2021). De acordo com Prabakaran et al., (2018), em seu estudo, ao analisar a diferença entre os constituintes fenólicos em cada parte (folhas, raízes, flores, cascas e sementes) de *M. oleifera.*, observou que as folhas apresentaram o maior conteúdo de compostos fenólicos e flavonoides, entre os fenólicos, destacou-se a miricetina, quercetina e kaempferol.

Ziane et al., (2019) ao analisar o perfil fenólico de folhas de moringa, observou a presença de 12 compostos, dos quais, 3 eram derivados do ácido fenólico e 9 eram flavonoides, em especial, os flavonóis (Quercetina, Kaempferol e derivados de isorhamnetina) e flavonas (derivados de apigenina). Por outro lado Valdez-Solana, et al., (2015), encontraram apenas 7 compostos fenólicos como, ácido gálico, ácido clorogênico, luteolina, rutina, quercetina, kaempferol e apigenina, isolados de folhas de moringa cultivada no México, sendo ácido clorogênico e a rutina encontrados com maior abundância. A figura x, apresenta a estrutura química dos principais compostos fenólicos encontrados em extratos de folhas de moringa.

Figura 3 - Estrutura química dos compostos fenólicos encontrados em folhas de *Moringa Oleifera*.



Fonte: Hassan et al. (2021)

As pesquisas com plantas medicinais têm como princípio básico a extração de compostos bioativos, visto que, este processo, desempenha um papel crucial para a descoberta e obtenção de concentrações consideráveis de substâncias bioativas, e propriedade terapêuticas, tais como, antioxidante, anti-inflamatória, e anticancerígena, antibacteriana e antifúngica (TOUDERT et al., 2017; PADAYACHEE; BAIJNATH, 2020). Sendo assim, a extração de compostos fenólicos, requer uma escolha criteriosa do método de extração, pois, a técnica e a preparação do extrato influenciam diretamente na qualidade e estabilidade destes compostos (BOURGOU et al., 2016).

2.2 Métodos de extração de compostos bioativos de partes de moringa

Atualmente, muitas técnicas tem sido empregada para a extração de compostos fenólicos de partes de moringa, através de procedimentos convencionais como maceração e

extração Soxhlet, como também procedimentos não convencionais, como Extração assistida por ultrassom (EAU), Extração assistida por micro-ondas (EAM), Extração líquida pressurizada (ELP) e Extração Assistida por Homogeneizador (HAE), os quais tem ganhado destaque ao longo do tempo (ROCCHETTI et al., 2019). A Tabela 2 apresenta alguns estudos encontrados na literatura, que relataram a presença de compostos fenólicos em partes de moringa, assim como, os métodos de extração e solventes utilizados.

Tabela 2. Métodos de extração usados para obter compostos bioativos de partes de moringa.

Método	Solvente	Partes de moringa	Teor de fenólicos totais	Referência
Maceração	Metanol (80%)	Folhas	310,25µg EAG / g extrato seco	Ali et al. (2020)
	Etanol (70%)	Folhas secas	13,23g/ 100g do extrato seco	Vongsak et al. (2013)
	Acetato de etila	Folhas	200 mg EAG / g extrato seco	Prabakaran et al. (2018)
	Acetato de etila	Raízes	112 mg EAG/g extrato seco	
	Água	Flores	89 mg EAG/g extrato seco	
	Acetato de etila	Casca	69 mg EAG/g extrato seco	
	Acetato de etila	Semente	55 mg EAG/g extrato seco	
	Metanol 50%	Folhas	27 (mg EAG/g folha seca	
	Metanol	Semente	780mg/100 g de extrato de farinha de semente	Singh, Negi, Radha (2013)
	80% de etanol	Folhas	74,87 mg EAG/g de seca	Tai et al. (2018)
	Etanol 80%	Folhas	43,5 mg/g de extrato	Ziane et al. (2019)
	Metanol 100%	Folhas	10,27 mg EAG/g	Rocchett et al. (2019)
	Etanol 60%	Semente	101,81 mg EAG/g	Sharma et al. (2020)
	Etanol 80% e Acetona	Folhas	101 mg EAG/g	Oldoni et al. (2020)
	Etanol 80%	Folhas	91,72 mg EAG/g	

EAG : Equivalente em ácido gálico. Fonte: próprio autor

Tabela 2 (Continuação). Métodos de extração usados para obter compostos bioativos de partes de moringa.

Método	Solvente	Partes de moringa	Teor de fenólicos totais	Referência
Extração Assistida por Ultrassom	Etanol 50%	Folhas	4,49 mg EAG/ g extrato seco	Gómez-Martínez et al. (2020)
	Etanol 80%	Folhas	59,91 mg EAG/g de peso seco	Tai et al. (2018)
	Etanol 50%	Folhas	47 mg EAG/g folha seca	Rodríguez-Pérez et al. (2015)
	Metanol 100%	Folhas	26,36 mg EAG/g seca	Rocchetti et al. (2019)
	Etanol 60%	Semente	460,86 mg EAG/g	Sharma et al. (2020)
	Etanol 70%	Folhas	28,79 mg EAG/g de peso seco	Zhang et al. (2020a)
	Etanol 70%	Folhas	22,34 mg EAG/g de peso seco	Zhang et al. (2020b)
Extração assistida por micro-ondas	42% de etanol	Folhas	86 mg EAG/g folha seca)	Rodríguez - Pérez et al. (2016b)
	Metanol 100%	Folhas	22,40 mg EAG/g	Rocchetti et al., (2019)
Extração líquida pressurizada (ELP)	Etanol (35%)	Folhas	59 mg EAG/g folha seca)	Rodríguez-Pérez et al. (2016a)
	Água quente pressurizada 150°C	Folhas	1984 mg/kg	Matshediso, Cukrowska, Chimuka (2015)
	Água quente pressurizada 200°C	Folhas	62,4 mg EAG /g de folhas secas	Rodríguez-Pérez et al. (2016b)
	Água quente 125°C	Folhas	56,0 mg EAG/g de peso seco	Tai et al. (2018)
Extração Soxhlet	Metanol 100%	Semente	2.027,07 (mg EAG/g de peso do extrato)	Ghafar et al. (2017)
Extração Assistida por Homogeneizador (EAH)	Metanol 100%	Folhas	35,19 mg EAG/g	Rocchetti et al. (2019)
	Metanol 100%	Folhas	31,84 mg EAG/g	Rocchetti et al. (2020)

EAG : Equivalente em ácido gálico. Fonte: próprio auto

Muitos estudos utilizaram a maceração para obtenção de extratos de diferentes partes de moringa, como método principal ou como forma de comparação com outras técnicas não convencionais (RODRIGUEZ-PEREZ et al., 2015; PRABAKARAN et al., 2018; TAI et al., 2018; ROCCHETTI et al., 2019). A maceração consiste na mistura do material vegetal, na maioria das vezes moído ou cortado para aumentar a área de superfície, com o solvente por um determinado tempo e em temperatura, podendo ser agitada ou não, sendo posteriormente filtrado, e obtido o extrato (JHA; SIT 2021). Quando aplicada para extração de compostos de várias partes de moringa, demonstrou grande potencial de extração, principalmente nas folhas (PRABAKARAN et al., 2018).

Nos últimos anos, a fermentação microbiana, tem demonstrado grande potencial como ferramenta para a extração e/ou produção de compostos fenólicos, pois é considerada uma técnica de baixo custo, biodegradável e eficiente, visto que as técnicas convencionais sozinhas, como a maceração, não proporcionam a liberação completa destes compostos, pois, “fenólicos ligados insolúveis”, estão presos na matriz celular, por meio de ligações éster, éter ou glicosídica, dificultando a liberação do mesmo. Por sua vez, estas ligações, podem ser rompidas através da extração enzimática, em que enzimas hidrolíticas específicas podem degradar a parede celular, e proporcionar a liberação destes compostos. (DEY et al., 2016).

Particularmente a fermentação em estado sólido (FES) é uma técnica, que compreende a capacidade de crescimento e desenvolvimento de microrganismos em material sólido, com quase ausência de água, ou seja, apenas umidade suficiente para a ocorrência da fermentação (THOMAS; LARROCHE; PANDEY, 2013). Esta, acontece basicamente em 5 etapas, inicialmente o substrato é selecionado, em seguida é feito o pré-tratamento que pode ser mecânico, químico ou bioquímico, com o objetivo de melhorar a disponibilidade dos nutrientes, após este processo, pode haver uma etapa de hidrólise. Na etapa de fermentação, o microrganismo produz enzimas hidrolíticas, tais como proteases, pectinases, esterases, celulases, α -amilases, xilanases, β -glucosidases, etc., que conseqüentemente são utilizadas para a extração ou liberação de compostos fenólicos, assim como a produção de novos compostos, posteriormente ocorre a extração, quantificação e purificação dos produtos finais (BHANJA et al., 2009; DEY et al., 2016; SADH; DUHAN; DUHAN, 2018). No entanto, é preciso levar em consideração outros fatores, como, tipo de microrganismo, material sólido utilizado, atividade de água, temperatura, aeração e tipo de fermentador (SADH; DUHAN; DUHAN, 2018).

Neste sentido, a escolha do microrganismo é fundamental para o desenvolvimento da FES, pois, embora possam ser utilizados leveduras, bactérias e fungos, os fungos filamentosos, geralmente são mais utilizados neste processo, e considerados adaptados para tal, pois o ambiente é bem característico do seu habitat natural, além do que as hifas do fungos são capazes de penetrar melhor na superfície do substrato. (SOCCOL et al., 2017; CHEN, 2013). Entre os principais fungos utilizados, podemos citar *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus terreus*, *Streptomyces spp*, *Rhizopus arrhizus* e *Mucor subtilissimus* (SADH; DUHAN; DUHAN, 2018).

Alguns estudos utilizando partes de moringa (semente e folhas) fermentada, revelaram aumento no teor de fenólicos em comparação ao extrato não fermentado. Em relação as folhas de moringa, foram encontrados aumento no teor de fenólicos totais de 186,72 µg EAG/g (folha não fermentada) para 310,25 µg EAG/g após 48h de fermentação utilizando *Bacillus subtilis* KCTC (ALI et al., 2019). Outros pesquisadores, observaram aumentos ainda maiores, de 1.663,35 (folha não fermentada) para 3.931,28 mg de EAG/100g após 24h de fermentação utilizando o *A. niger* (FEITOSA et al., 2020b). Outros estudos revelaram que folhas de moringa fermentada por *Bacillus pumilus* CICC 10440 demonstraram aumento de 2 vezes no teor de proteínas solúveis (de 124 para 265mg/g) (ZHANG et al., 2017). Em relação as sementes, foi observado aumento de 124,7 para 502,5 mg EAG/100 g de compostos fenólicos após 72h de fermentação também utilizando o *A. niger*. (FEITOSA et al., 2020a). Também sementes de moringa cozidas e fermentadas naturalmente demonstraram aumento no teor de proteínas (de 18,86 mg/100g para 21,15mg/100g) e ácido linoleico (de 58,79 g/100 g para 62,05g/100g) (IJAROTIMI; ADEOTI; ARIYO, 2013).

Entretanto, os compostos bioativos obtidos por diferentes métodos de extração estão sucessíveis a degradação bioquímica e térmica, e conseqüente redução da biodisponibilidade. Uma das alternativas seria o emprego da técnica de encapsulação como forma de preservação e proteção destes compostos (SAIFULLAH et al., 2019; GEORGE et al., 2021).

2.3 Técnicas de microencapsulação

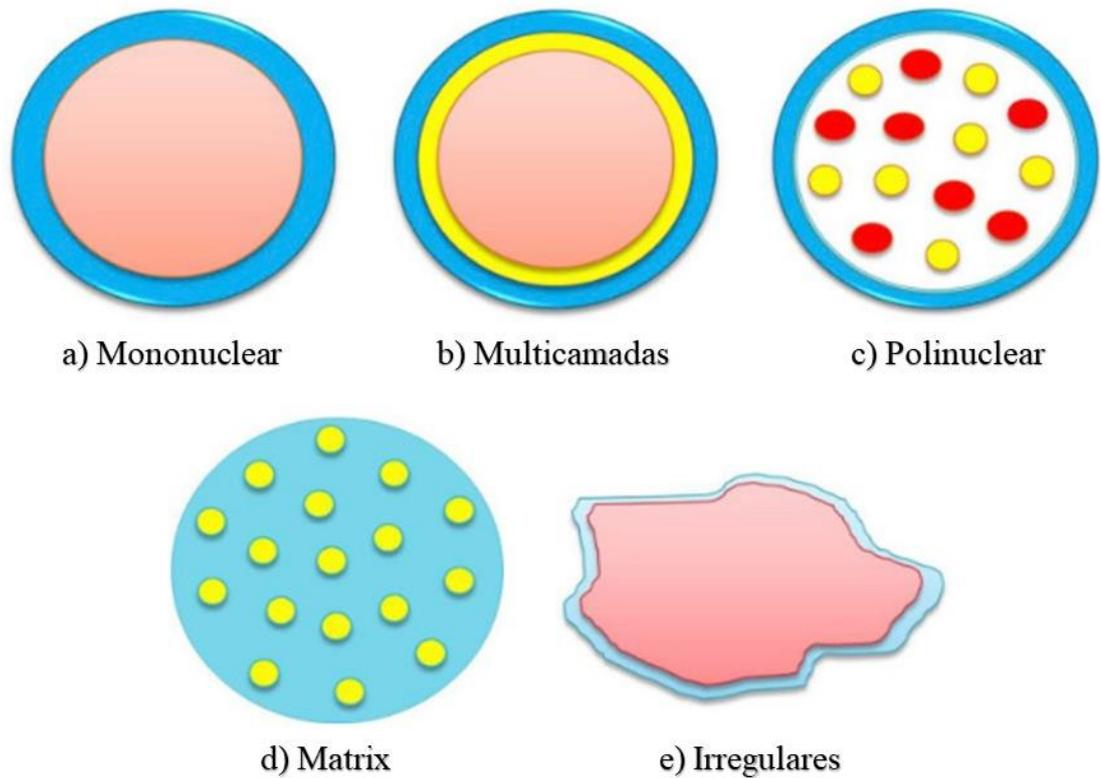
O encapsulamento é uma ferramenta utilizada para revestir e aprisionar algum composto ativo, afim de proteger e preservar, contra a degradação oxidativa e térmica (SAIFULLAH et al., 2019). Assim, este método necessita de um núcleo ou fase interna que comporta o componente ativo, um material transportador conhecido também como material de

revestimento, parede, membrana, cápsula ou fase externa, que irá funcionar como um material de transporte capaz de proteger o componente encapsulado. Além de uma técnica de encapsulamento para estabilizar as partículas formadas (PEANPARKDEE; IWAMOTO; YAMAUCHI, 2016; SHISHIR et al., 2018b).

O encapsulamento pode ser classificado quanto a morfologia e o tamanho das partículas, as quais podem variar, conforme as características do núcleo (composto ativo), do material de revestimento e da técnica de encapsulamento empregada. O tamanho das partículas pode variar desde nano a micropartículas, correspondendo de 1–1000 nm e 1–1000 µm respectivamente. Por sua vez, a microencapsulação, é a forma mais comumente utilizada no ramo alimentício e farmacêutico (PEANPARKDEE; IWAMOTO; YAMAUCHI, 2016; SAIFULLAH et al., 2019).

Em relação a morfologia, não existe uma estrutura única, pois fatores como, material do núcleo, do revestimento e a técnica de encapsulação podem influenciar sua conformação. Desta forma as microcápsulas podem ser classificadas em mononuclear, polinuclear, matriz, multicamada e irregulares (Figura 3). As microcápsulas mononucleares, são caracterizadas pelo revestimento do composto ativo, formando uma cápsula (revestimento) ao redor de um núcleo (composto bioativo). Também, esta pode se apresentar com várias camadas de revestimento para o mesmo núcleo, conhecida como microcápsulas multicamadas. Por outro lado, as microcápsulas polinucleares, também possuem um envoltório, porém contém vários núcleos. Já a microcápsula matriz, o composto ativo se encontra disperso e preso entre os polímeros, e em virtude de não possuir um envoltório, o composto ativo pode ser encontrado na superfície. Ainda, também podem não apresentar formato esférico, como as microcápsulas irregulares, morfologia comumente observada, no caso de microcápsulas elaboradas por liofilização (RAY CHAUDHURI; CHAKRABORTY, 2016; PAULO; SANTOS, 2017; SAIFULLAH, et al., 2019; RIBEIRO; VELOSO, 2021).

Figura 4 – Tipos e diferença entre as micropartículas



Fonte: Saifullah, et al., (2019)

Através da técnica de encapsulamento, é possível assegurar e proteger compostos ativos, de fatores estressantes, como luz, pH, água, calor, enzimas e oxigênio que comprometem a sua estabilidade, e assim disponibilizá-lo em local específico (WEN et al., 2017; CASTRO COELHO; ESTEVINHO; ROCHA, 2021). Contudo, a produção de micropartículas com qualidade e eficiência, demanda técnicas de encapsulamento e material encapsulante adequados, capazes de proporcionar eficiência de encapsulamento, estabilidade do material encapsulado, aumento da vida útil e biodisponibilidade do composto bioativo no local exato. Além disso, os procedimentos da técnica selecionada, precisam ser otimizados, e adaptados conforme o objetivo da encapsulação (CARVALHO; ESTEVINHO; SANTOS, 2016; SHISHIR et al., 2018b).

Em relação ao uso da técnica de encapsulação de extratos obtidos a partir de partes de moringa alguns materiais e técnicas utilizados estão demonstrados na Tabela 3.

Tabela 3. Encapsulação de extratos obtidos a partir de partes de moringa.

Extratos de moringa	Material encapsulante	Técnica de encapsulação	Referência
Folhas	Isolado de proteína de soja	<i>Spray-dryer</i>	Osamede Airouyuwa, e kaewmanee (2019)
Folhas	Isolado de proteína de ervilha		
Folhas	Goma de tragacanto	<i>Spray-dryer</i>	Castro-López et al. (2020)
Folhas	Goma de tragacanto, goma de alfarroba e carboximetilcelulose	<i>Spray-dryer</i>	Castro-López et al. (2021)
Folhas	Nanofibra de gelatina	Eletrofiliação	Hani et al. (2017)
Folhas	Maltodextrina, Goma arábica e maltodextrina:goma arábica	<i>Liofilização</i>	George et al. (2021)
Folhas	Maltodextrina	<i>Spray-dryer</i>	Vonghirundecha et al. (2022)
Óleo das sementes	Maltodextrina:Goma arábica	<i>Spray-dryer</i>	Premi e Sharma (2017)
	Maltodextrina: concentrado de proteína de soro de leite		

Fonte: Próprio autor (2022)

Osamede Airouyuwa et al. (2019) utilizaram diferentes materiais para encapsular extratos em 80% etanol de folhas de moringa por *spray-dryer* e obtiveram que a proteína isolada de soja foi mais eficiente como carreador de compostos bioativos além de melhorar as características organolépticas do encapsulado, mascarando a cor esverdeada característica. Castro-lópez et al. (2021b), ao utilizarem diferentes formulações de materiais de revestimento (goma tragacanto, goma alfarroba e carboximetilcelulose) para microencapsular extrato de folhas de moringa por *spray-dryer*, observaram que o tipo de material de revestimento pode influenciar significativamente nas características das microcápsulas. Neste estudo, os extratos encapsulados com goma tragacanto e carboximetilcelulose, apresentaram as melhores propriedades, e retenção de compostos bioativos e antioxidantes. Castro-López et al. (2020a) verificaram que microcápsulas de extrato de folhas de moringa elaboradas com goma de tragacanto foram consideradas como boa fonte de polifenóis.

Hani et al. (2017) observaram que microcápsulas de nanofibras de gelatina contendo extrato em 80% de etanol de folhas de moringa obtidas via eletrofiliação, demonstraram a manutenção da capacidade antioxidante do extrato. George et al. (2021) ao encapsular extratos de folhas de moringa utilizando uma formulação de goma arábica e maltodextrina por meio de liofilização, observaram que a encapsulação manteve protegidos os compostos bioativos e nutricionais, após o processamento e armazenamento. Vonghirundecha et al. (2022) demonstraram que microcápsulas de maltodextrina com extratos de folhas de moringa obtidas por spray dryer também apresentaram boa estabilidade de armazenamento, além de maior retenção de fenólicos e antioxidantes.

Premi e Sharma (2017) ao avaliarem o efeito de diferentes combinações de material de revestimento (maltodextrina, goma arábica e concentrado de proteína de soro de leite), na microencapsulação de óleo de sementes de moringa, observaram que a combinação de maltodextrina com goma arábica resultaram em maior eficiência de encapsulamento, menor teor de umidade e atividade de água, contribuindo para maior proteção dos compostos bioativos.

As técnicas de microencapsulação, são classificadas em métodos físicos (*spray dryer*, liofilização, precipitação de fluido supercrítico e evaporação de solvente), métodos físico-químicos (coacervação, lipossomas e gelificação iônica) e métodos químicos (polimerização interfacial e complexação de inclusão molécula) (OZKAN et al., 2019).

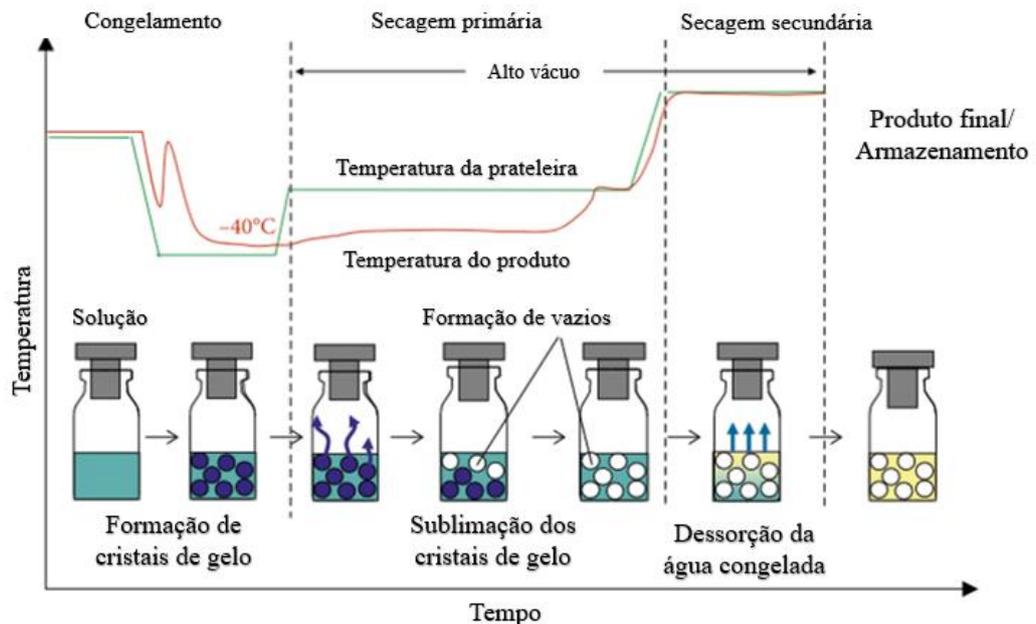
Entre estas técnicas, a liofilização é um processo de secagem comumente utilizado e aplicado em vários campos tecnológicos, em especial na farmacêutica e alimentícia (VISHALI et al., 2019). Devido ao seu mecanismo de dessecação, este método se destaca, pelo alto rendimento, eficiência na preservação de substâncias sensíveis ao calor, visto que, envolve a utilização de temperaturas mais baixas no processo, preservação da aparência e das características do produto seco e redução do processo de deterioração, mantendo assim a qualidade do produto. (BORA et al., 2018). Por outro lado, assim como qual quer outro método possuem suas limitações, no processo de liofilização, devido a utilização de pressões e temperaturas mais baixas, acarretam em maior tempo de secagem e alto custo (DEGOBERT; AYDIN, 2021)

Vale destacar que a técnica de liofilização sozinha, não produz microcápsulas, visto que é uma técnica de secagem que consiste apenas na remoção de água. Assim, para a obtenção das características finais de microcápsulas, é necessário um método de encapsulação adequado, como o processo de emulsificação para obtenção do tamanho em micro ou nano (SAIFULLAH

et al., 2019). Existem vários tipos de emulsificação, entre elas, emulsões de água em água, água em óleo, água- água—óleo e água-em-óleo-em-água. A emulsificação água em água são formadas a partir de soluções constituídas de biopolímeros, como proteínas e polissacarídeos (JOYE; MCCLEMENTS, 2014).

Desta forma, a primeira etapa para preparação das microcápsulas, se dá pela homogeneização e dispersão da solução líquida (material do núcleo e material encapsulante) em gotículas (WANNING et al., 2015). Em seguida, é iniciado a liofilização. O mecanismo da liofilização consiste no processo de dessecação, por meio do congelamento do solvente e posterior remoção por sublimação à vácuo, e compreende três etapas principais, o congelamento (solidificação da amostra), secagem primária (sublimação do gelo) e secagem secundária (dessorção da água congelada), e por fim, gerando o produto final pronto para o armazenamento (DEGOBERT; AYDIN, 2021). A Figura 4 apresenta o desenvolvimento dos estados e conformação do produto durante as etapas do processo de liofilização.

Figura 5 - Ilustração do processo de liofilização.



Fonte: Kawasaki et al. (2019)

Assim, como observado, a liofilização inicia-se pelo processo de congelamento, o qual é introduzido baixas temperaturas de forma constante, resultando no “superresfriamento”, a fim de solidificar a amostra, alterando a conformação da água para o gelo e separando-a dos demais constituintes do soluto. Após este processo, a segunda etapa chamada de secagem primária é um pouco mais demorada em comparação as demais etapas, esta, é iniciada pela entrada de

vácuo na câmara, concomitante a redução da pressão da câmara e aumento da temperatura da prateleira, resultando na transferência de calor para produto e induzindo a sublimação do gelo. A sublimação do gelo é direcionada para um condensador, e responsável pela característica porosa do produto seco (KAWASAKI et al., 2019).

A terceira etapa, a secagem secundária, tem como finalidade, remover a água restante, por meio da dessorção da água congelada. Desta forma, há o aumento da temperatura do produto, maior em comparação a temperatura da secagem primária, ocasionando a difusão e dessorção das sobras da água ainda presente no produto. Por isso, esta etapa é considerada relevante, pois a água excedente pode influenciar e causar deterioração na qualidade do produto seco final. Por fim, é obtido um produto seco e poroso, pronto para ser armazenado (KAWASAKI et al., 2019; MERIVAARA et al., 2021). As microcápsulas obtidas por liofilização são formadas durante o processo de homogeneização do material do núcleo com o material de revestimento seguido do processo de secagem conforme as etapas descritas acima (WANNING et al., 2015).

Alguns estudos têm relatado a encapsulação de compostos bioativos por liofilização como eficiente. Elsebaie e Essas (2018) demonstraram alta eficiência de encapsulação por liofilização independente do material de parede aplicado, em microcápsulas de polifenóis de cebola roxa. Assim a liofilização tem sido amplamente utilizado para microencapsulação de compostos bioativos naturais, como cebola roxa (*Allium cepa*) (ELSEBAIE E ESSA, 2018), polpa de amora Cherokee (*Rubus* spp) (ORO et al., 2021), borra de café (BALLESTEROS et al., 2017) folhas de *Moringa stenopetala* (DADI et al., 2020) e folhas de *Moringa oleifera* (GEORGE et al., 2021).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Elaborar e caracterizar microcápsulas de extratos obtidos a partir de folhas de moringa fermentada e não fermentada.

3.2 Objetivos específicos

- Realizar a fermentação em estado sólido de folhas de moringa;
- Determinar compostos fenólicos totais, flavonóides totais e atividade antioxidante dos extratos de folhas de moringa fermentada e não fermentada;
- Elaborar microcápsulas de extratos de folhas de moringa fermentada e não fermentada;
- Determinar o teor de fenólicos totais e atividade antioxidante das microcápsulas, e eficiência de encapsulação;
- Realizar a caracterização física das microcápsulas (umidade, atividade de água, solubilidade, higroscopicidade e morfologia).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Materiais

As folhas da moringa foram coletadas de árvores localizadas na Universidade Federal de Sergipe Campus São Cristóvão, Aracaju/SE, entre os meses de fevereiro a outubro de 2021. O ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-carboxílico (Trolox), radical 2,2- difenil-1-picril-hidrazil (DPPH), ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolona) ácido 6-sulfônico (ABTS) e 2,4,6-tri(2-piridil)-1,3,5-triazina (TPTZ) foram adquiridos da Sigma-Aldrich (Saint Louis, MO, EUA). A glicose monohidratada e o acetato de sódio foram obtidos da Neon (São Paulo, SP, BR). O reagente Folin-Ciocalteu, carbonato de sódio, persulfato de potássio, ácido acético foram obtidos da Dinâmica (Indaiatuba, SP, BR). O extrato de levedura foi da marca Kasvi (São José do Pinhais, PR, BR). O ágar batata dextrose da marca HIMEDIA (Mumbai, Índia). O Álcool etílico e a goma arábica, foram adquiridos da Perfyl Tech (São Bernardo dos Campos, SP, BR). Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico.

4.2 Microrganismo

O fungo *A. niger* (IOC 3677) foi adquirido da coleção de culturas do instituto Oswaldo Cruz (Rio de Janeiro, Brasil).

4.3 Métodos

4.3.1 Obtenção da farinha de folhas de moringa

Primeiramente as folhas foram retiradas do caule, espalhadas em uma bandeja e submetidas à secagem a 50°C em estufa com circulação de ar por 24 h, posteriormente as folhas foram trituradas em um liquidificador, obtendo-se farinhas de folhas. Em seguida a farinha de folhas foi esterilizada em autoclave a 121°C durante 15 min, e armazenada em potes hermeticamente fechados no escuro em temperatura ambiente, para uso posterior (FEITOSA et al., (2020b).

4.3.2 Preparo do inóculo do fungo *Aspergillus niger*

O fungo foi inicialmente distribuído em placas de Petri em meio ágar batata dextrose e incubado a 30°C por 5 a 7 dias. Posteriormente, esporos do fungo foram adicionados ao meio de cultivo contendo glicose (50g/L) e extrato de levedura (20g/L) até a obtenção da concentração de 2×10^8 esporos/mL determinada através de contagens em câmara de Neubauer. (FEITOSA et al., (2020b).

4.3.3 Experimento fermentativo

A fermentação em estado sólido foi realizada em frascos Erlenmeyers (em duplicata) contendo 5 g de farinha de folhas de moringa com umidade inicial ajustada para 50% utilizando uma suspensão de esporos preparada em solução aquosa de glicose (50 g/L) e extrato de levedura (20 g/L) na concentração da ordem de 1×10^7 esporos/g de sólido. Em seguida os frascos foram incubados em estufa à temperatura de 30°C, por 24h visto que no estudo realizado previamente por Feitosa et al., (2020b), foi observado que o maior teor de fenólicos foi obtido em 24h de fermentação. Assim este tempo, o fermentado foi removido para a obtenção do extrato(Feitosa et al., 2020b).

4.3.4 Obtenção dos extratos

Para a obtenção dos extratos de folhas de moringa fermentada e não fermentada, utilizou-se solução aquosa de etanol à 80% conforme metodologia descrita por Feitosa et al. (2020). Assim, para os extratos das folhas não fermentada e fermentada, utilizou-se 5g de farinha de folhas e 25mL do solvente. Em seguida, as extrações foram realizadas em agitador orbital (SOLAB/SL222) a 200 rpm por 1 hora a 30°C. Após este procedimento, as amostras foram filtradas em papel de filtro e os sobrenadantes obtidos foram analisados quanto aos teores de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante. Para os experimentos de microencapsulação os extratos da farinha fermentada e não fermentada, foram concentrados em um evaporador rotativo (Fisatom 802) à 40°C a 50 rpm até a remoção de aproximadamente 80% do solvente utilizado na extração. Posteriormente, os extratos foram pesados e armazenados em frasco âmbar, em freezer (-18°C) até sua análise.

4.3.5 Determinação do teor de compostos fenólicos totais

Os compostos fenólicos totais foram determinados nos extratos e nas microcápsulas de acordo com a metodologia de Folin-Ciocalteu, descrita por Shetty et al. (1995) com

modificações. Assim, Alíquotas de 0,5 mL dos extratos foram transferidos para tubos de ensaio e adicionou-se 0,5 mL de solução de etanol 95%, 2,5 mL de água destilada e 0,25 mL de reagente Folin-Ciocalteu 1N, e homogeneizado em vortex, após, adicionou-se 0,5 mL de solução de carbonato de sódio 5% (p/v), e homogeneizado novamente. Os tubos de ensaio seguiram mantidos em câmara escura por 60 min. As amostras tiveram suas absorbâncias medidas no comprimento de onda de 725 nm. O mesmo procedimento foi realizado substituindo a amostra pelo solvente para obtenção do branco. Para a quantificação destes extratos, realizou-se uma curva de calibração construída a partir de diferentes concentrações de ácido gálico (0-150 mg/L), a fim de converter as absorbâncias e os resultados foram expressos em miligramas equivalente de ácido gálico por 100g de material sólido em base seca (mg EAG/100 g de material sólido em base seca).

4.3.6 Determinação do teor de compostos flavonóides totais

O teor de flavonóides totais foi determinado nos extratos pelo método colorimétrico de cloreto de alumínio com algumas modificações (DEWANTO et al., 2002). Assim, alíquotas de 2,0 mL de extrato foram transferidas para tubos de ensaio, adicionou-se 2,0mL de cloreto de alumínio e homogeneizou-se em vórtex. Os tubos foram mantidos em câmara escura por 30 min. As absorbâncias das amostras foram lidas à 415nm. O mesmo procedimento foi realizado substituindo a amostra pelo solvente para obtenção do branco. O teor de flavonóides totais foi determinado através de uma curva de calibração construída a partir de diferentes concentrações de ácido gálico (0-50 mg/L). Os resultados foram expressos em mg de quercetina por 100 g de material em base seca (mg QCE/100 g de material em base seca).

4.3.7 Atividade antioxidante *in vitro* dos extratos

Os extratos foram avaliados quanto a atividade antioxidante (AA) determinada pelos métodos Captura do Radical Livre 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH), Captura do Radical Livre 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina) 6-ácido sulfônico (ABTS) e Método de Redução do Ferro (FRAP).

4.3.7.1 Ensaio de eliminação de radicais DPPH

A análise pelo método DPPH foi elaborada de acordo com Andrade et al. (2017) com algumas modificações. Inicialmente, foi adicionado uma alíquota de 250µL de extrato com 1,25mL de DPPH, em triplicata. Após 5 min, foi realizado a leitura da absorbância a 517nm utilizando um espectrofotômetro. Diferentes concentrações de Trolox (entre 50 e 250 µmol Trolox/mL) foram utilizadas para construção da curva de calibração ($y = -0,0037x + 1.6425$ ($r^2 = 0,9984$)). Para o branco foi utilizado álcool etílico. Enfim, os resultados foram expressos em µmol Trolox/g de material sólido.

4.3.7.2 Ensaio de eliminação de ABTS

O método ABTS foi elaborado segundo a metodologia de Nenadis et al., (2004) com modificações. Uma alíquota de 30 µL de extrato foi adicionada teste tubos com 3,0 mL do reagente ABTS e homogeneizados em vortex. Após 6 min, foi realizada a leitura em espectrofotômetro a 734 nm. A curva de calibração foi construída utilizando diferentes concentrações de Trolox variando de 100 a 1600 µmol Trolox/mL (equação da curva: $y = -0,0004x + 0.6082$ ($r^2 = 0,9862$)). Os resultados foram expressos em µmol Trolox/g de material sólido.

4.3.7.3 Ensaio FRAP

A atividade antioxidante pelo método FRAP foi determinada de acordo com a metodologia proposta por Thaipong et al. (2006). Para a análise, uma alíquota de 90 µL do extrato foi transferida para tubos de ensaio, sem seguida foi adicionado 270 µL de água destilada e 2,7 mL do reagente FRAP, homogeneizado vórtex e mantido à 37°C em banho-maria. Após 30 min foi realizado a leitura em um espectrofotômetro a 595 nm. Diferentes concentrações de Trolox entre 100 e 1200 µmol Trolox/mL foram utilizadas para construção da curva de calibração ($y = 0,0016x - 0,0194$ ($r^2 = 0.9962$)). Os resultados foram expressos em µmol de Trolox/g de material sólido.

4.3.8 Obtenção de microcápsulas dos extratos de moringa fermentada e não fermentado.

Para preparar as dispersões, inicialmente foi preparado a solução do material encapsulante, assim foram dissolvidos 25g de goma arábica em 250 mL de água destilada, afim

de obter aproximadamente 10% de conteúdo sólido. A solução foi agitada em um agitador orbital (SOLAB/SL222) a 250 rpm por 30min a 35°C. Após dissolução, foram adicionados os extratos rotaevaporados da farinha de folhas fermentada (233 mg/mL) e da farinha não fermentada (211 mg/mL), na proporção 1:10, 1:6 e 1:4 (g extrato/mL de solução de goma arábica) respectivamente. Em seguida as soluções foram homogeneizadas em agitador a 250 rpm por 30min a 35°C. A solução contendo goma arábica a 10% foi usada como controle.

Enfim, para a liofilização, primeiramente as soluções homogeneizadas foram congeladas em freezer a -18°C por 48h. E posteriormente, as amostras foram colocadas em um liofilizador (Christ Alpha 1–2 LD Plus) e secas a -55°C, pressão de 0,021 mbar, vácuo de 0,42 mbar por 48 h. Após a liofilização, as amostras foram armazenadas em frascos de vidro hermeticamente fechados e acondicionados em dessecador contendo sílica, até as análises posteriores. Todas as análises foram realizadas em duplicata. Os extratos microencapsulados foram identificados como Extrato de Folhas Fermentadas (EFF) e Extrato de Folhas não Fermentado (EFNF).

4.3.9 Quantificação de fenólicos totais e eficiência de encapsulação

A determinação de compostos fenólicos totais e eficiência de encapsulação foi realizada conforme descrito por Dadi et al. (2020). Para determinar o conteúdo de fenólicos totais, 100mg do pós das microcápsulas foram dissolvidos em 1mL de água destilada. Após a dissolução, foram adicionados 9mL de etanol (100%) e misturados por 5min. Em seguida, a solução foi filtrada em filtro de membrana de 0,22µm.

Para determinar o conteúdo de fenólicos totais na superfície do material de parede, 100mg do pós das microcápsulas foram misturados com 10mL de etanol (100%). A dispersão foi agitada em vórtex por 10s e centrifugada a 1.100 rpm por 3min. Por fim, o sobrenadante claro foi coletado e filtrado em filtro de membrana de 0,22µm (DADI et al., 2020).

Em fim, os compostos fenólicos totais e de superfície foram quantificados conforme o item 4.3.3. A eficiência de encapsulação foi determinada utilizando a equação 1 (DADI et al., 2020).

$$\text{Eficiência (\%)} = \frac{\text{Compostos Fenólicos Totais} - \text{Compostos fenólicos na superfície}}{\text{Compostos Fenólicos Totais}} \times 100 \quad (1)$$

4.3.10 Atividade antioxidante das microcápsulas

Os extratos foram avaliados quanto a atividade antioxidante (AA) determinada pelos métodos Captura do Radical Livre 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH), Captura do Radical Livre 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina) 6-ácido sulfônico (ABTS) e Método de Redução do Ferro (FRAP). Assim, os mesmos filtrados preparados na análise dos compostos fenólicos totais, foram usados para análise de AA conforme descrito no item 4.3.6.1, 4.3.6.2 e 4.3.6.3.

4.3.11 Análises físico-químicas das microcápsulas

4.3.11.1 Umidade

O teor de umidade foi determinado utilizando estufa de secagem à 105°C, conforme a metodologia do Instituto Adolfo Lutz, (2008). Todas as análises foram realizadas em triplicata.

4.3.11.2 Atividade de água

A atividade de água das microcápsulas foi medida através da medida direta de um analisador modelo AquaLab® da marca BrasEq®. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

4.3.10.3 Solubilidade

A solubilidade das microcápsulas foi determinada de acordo com a metodologia proposta por Rezende, Nogueira e Narain et al. (2018). Inicialmente, 1g da amostra foi adicionado à 100mL de água destilada, e agitada em um agitador magnético (Tecnal, TE-0851) por 30 min. Em seguida, a solução foi centrifugada 1.100 rpm por 5 min. Posteriormente uma alíquota de 25mL do sobrenadante foi colocado em placa de petri previamente esterilizada e pesada, e secou-se em estufa a 105°C por 5 h. Enfim, a solubilidade foi calculada por diferença de pesos, e expressa em porcentagem (%), conforme a seguinte expressão matemática:

$$\text{Solubilidade (\%)} = \frac{(\text{Peso inicial} - \text{Peso final}) - V \times 100}{V} \times 100 \quad (2)$$

Onde:

Peso inicial = Peso da placa + sobrenadante (g)

Peso Final = Peso da placa + sobrenadante após secagem

V = volume do sobrenadante (mL)

4.3.10.4 Higroscopicidade

A higroscopicidade foi determinada de acordo com a metodologia estabelecida por (REZENDE, NOGUEIRA E NARAIN, 2018). Desta forma, foi pesado (peso inicial) 1g de amostra, e mantida em dessecador contendo solução saturada de cloreto de sódio (75,3%) a 25°C, por 1 semana. Após o período, as amostras foram pesadas (Peso final) e sua higroscopicidade foi expressa em porcentagem (%) de umidade adsorvida, conforme a equação a baixo.

$$\text{Higroscopicidade (\%)} = \frac{\text{Peso inicial} - \text{Peso final}}{\text{Peso inicial}} \times 100$$

4.3.10.5 Morfologia

As análises morfológicas foram realizadas no Centro de Laboratório de Química Multiusuários (CLQM), localizado no Departamento de Química – UFS. Assim, as microcápsulas elaboradas com EFF e EFNF em diferentes proporções extrato: goma arábica (1:10, 1:6 e 1:4), foram analisadas morfológicamente no Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV). Antes das análises, as amostras foram submetidas ao processo de recobrimento com camada de ouro 5 nm no equipamento *sputter coater* (VG Microtech, SC7620, Inglaterra). A análise foi realizada no MEV da marca Hitachi, modelo TM3000, operando com tensão de 5 kV e amplificação das imagens de 100x e 1.000x.

4.3.11 Análise estatística

Os resultados obtidos foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas entre si comparadas pelo teste de Tukey utilizando o Programa SISVAR 5.7.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Teores de fenólicos totais, flavonoides totais e atividade antioxidante do extrato de folhas de moringa obtido por FES.

Os teores de fenólicos totais, flavonoides totais e atividade antioxidante foram determinados nos extratos rotaevaporados e não rotaevaporados de folhas de moringa fermentada e não fermentada (Tabela 4). Os extratos rotaevaporados apresentaram maiores teores de compostos fenólicos, flavonoides e AA diferindo estatisticamente ($p < 0,05$), dos valores obtidos nos extratos não rotaevaporados. O extrato de EFNF rotaevaporado demonstrou maior teor de fenólicos totais (6.265 mg EAG/100g), flavonoides totais (5.683,95 mg QCE/100 g) e maior AA pelo método ABTS (1.244,63 $\mu\text{mol Trolox/g}$) e FRAP (5.006,35 $\mu\text{mol Trolox/g}$) diferindo dos demais extratos ($p < 0,05$). Por outro lado, maior AA para o EFF foi obtida pelo DPPH, diferindo significativamente dos demais extratos ($p < 0,05$). Este resultado pode ser provavelmente devido a presença de maior quantidade de compostos antioxidantes neste extrato.

Tabela 4. Teores de fenólicos, flavonoides e atividade antioxidante de extratos de folhas de moringa.

Parâmetros	Extrato Rotaevaporado		Extrato Não rotaevaporado	
	EFF	EFNF	EFF	EFNF
Fenólicos ¹	4.098,63±61,5 ^b	6.265±51,18 ^a	1.345,80±61,5 ^c	1.294,18±51,18 ^c
Flavonoides ²	3.288,42±27,22 ^b	5.683,95±36,66 ^a	1.293,89±27,22 ^c	1.508,96±36,66 ^d
ABTS ³	533,59±63,09 ^b	1.244,63±80,56 ^a	30,87±63,09 ^c	35,41±80,56 ^c
DPPH ³	3.540,51±3,39 ^a	3.479,81±10,04 ^b	172,18±106,10 ^c	179,43±78,19 ^c
FRAP ³	2.797,56±106,10 ^b	5.006,35±78,19 ^a	136,27±106,10 ^c	144,43±78,19 ^c

*Médias com letras em comum minúscula na linha, não diferem entre si a $p \leq 0,05$, entre o tempo, pelo teste Tukey.

¹Fenólicos = mg EAG/100g. ²Flavonoides = mg QCE/100 g. ³ABTS, FRAF e DPPH = $\mu\text{mol Trolox/g}$. EFNF (Extrato de folhas não fermentada); EFF (Extrato de folhas fermentada).

Fonte: Próprio autor (2022)

Feitosa et al. (2020b), previamente fermentou folhas de moringa e após 24 h obtiveram teor de fenólicos totais de 3.524,23 mg GAE/ 100g no extrato não rotaevaporado em etanol 80% e flavonoides totais de 1.400 mg QCE/100 g. Resultado este superior ao obtido no presente trabalho. Esta diferença pode ser atribuída ao período sazonal diferente em que as folhas foram coletadas. Segundo Ralepele et al. (2021), as concentrações de compostos bioativos de extrato de folhas de moringa variam ao longo das estações, sendo o outono a estação com maior teor de fenólicos e antioxidantes e o inverno a estação com menor concentração, salientando assim,

que o estresse ambiental, como temperatura, umidade, luz e precipitações de chuvas, podem afetar a biodisponibilidades destes metabólitos secundários. Por outro lado, Shi et al. (2021) obtiveram menores valores sendo o máximo de 20 mg EAG/g após a fermentação de folhas de moringa .

4.2 Teor de fenólicos totais, atividade antioxidante e eficiência de encapsulação

A eficiência de encapsulação, o teor de fenólicos totais e AA foram determinados para microcápsulas elaboradas com extratos de folhas de moringa fermentada e não fermentada e goma arábica em diferentes proporções (1:10, 1:6 e 1:4) (Tabela 5).

Os teores de fenólicos totais das microcápsulas de EFF variaram entre 2,36 e 3,82 mg EAG/g e do EFNF variaram entre 3,04 e 4,91 mg EAG/g, sendo o valor máximo (4,91 mg EAG/g) obtido quando utilizado o extrato da farinha não fermentada em menor proporção extrato:goma arábica (1:4), o qual não diferiu estatisticamente ($P>0,05$) das microcápsulas dos EFF na proporção 1:4 e dos EFNF na proporção 1:6.

George et al. (2021) obtiveram teores de fenólicos totais próximos aos obtidos no presente trabalho, aproximadamente 6 mg EAG/g de microcápsulas de extrato de folhas de moringa, também utilizando a liofilização e goma arábica como material de revestimento. Osamede et al. (2019) obtiveram valores entre 4,95 a 8,81 mg EAG/g de fenólicos em microcápsulas de extrato de folhas de moringa, utilizando proteínas de ervilha como material de revestimento por *spray dryer* e Vonghirundecha et al. (2022) obtiveram valores menores de 3,95 mg EAG/g em microcápsulas de moringa não fermentada elaboradas com por *spray dryer*.

Tabela 5. Teor de fenólicos totais, eficiência de encapsulação, ABTS, DPPH e FRAP das microcápsulas de moringa de EFF e EFNF secas por liofilização e encapsulada com goma arábica em diferentes proporções de material de núcleo: parede (1:10, 1:6 e 1:4)

Microcápsulas	Proporção Extrato: Goma arábica	FT (mg EAG/g de microcápsulas)	Eficiência de encapsulação (%)	ABTS	DPPH	FRAP
EFF	1:10	2,36±0,04 ^c	90,94±0,84 ^d	300,84±1,82 ^a	45,28±0,15 ^a	32,08±5,47 ^f
	1:6	1,97±0,15 ^c	89,18±0,81 ^d	292,92±1,47 ^{b,c}	45,43±0,05 ^a	55,33±0,44 ^c
	1:4	3,82±0,00 ^{a,b}	94,66±0,05 ^d	290,25±3,00 ^c	45,56±0,00 ^a	49,56±0,61 ^d
EFNF	1:10	3,04±0,07 ^{b,c}	89,75±0,08 ^d	299,13±1,88 ^{a,b}	45,45±0,15 ^a	47,75±0,45 ^e
	1:6	4,14±0,20 ^{a,b}	94,99±0,56 ^d	278,00±0,88 ^d	45,45±0,02 ^a	73,40±0,27 ^b
	1:4	4,91±0,00 ^a	95,70±0,00 ^d	273,13±0,11 ^d	45,64±0,00 ^a	83,94±0,17 ^a

Os resultados foram expressos como média ± desvio padrão (n = 2). a-d letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas (p <0,05) entre os valores médios de acordo com o teste de Tukey. FT = teor de Fenólicos Totais das microcápsulas. EFF: Microcápsulas de Extrato de folhas Fermentada; EFNF: Microcápsulas de Extratos de Folhas não Fermentada.

Fonte: Próprio autor (2022)

Em relação a eficiência de encapsulação, esta pode sofrer influência de vários fatores como, a técnica de encapsulamento, propriedades químicas, material de revestimento e pela razão núcleo: material de parede (DADI et al., 2020). De acordo com o presente estudo, a eficiência de encapsulação das EFF e EFNF variou entre 90,94 e 94,66% e entre 89,65 e 95,70%, respectivamente e não apresentaram diferença estatística ($p > 0,05$). Vonghirundecha et al. (2022) também obtiveram elevada eficiência de encapsulação (91,2%), em extratos de folhas de moringa microencapsulada por meio de *spray dryer* utilizando maltodextrina na proporção 0,05:10 (núcleo:material de parede). Já em estudos com encapsulação por liofilização, Saikia, Mahnot e Mahanta (2015) obtiveram valores entre 78–97% em microcápsulas de bagaço de carambola encapsulado com maltodextrina. A boa eficiência de encapsulação demonstrada no presente estudo pode estar relacionada a técnica, pois a liofilização utiliza vácuo e baixas temperaturas, que contribuem para redução das reações de degradação dos compostos (MOHAMMADALINEJHAD; KUREK, 2021).

Os maiores valores de AA foram obtidos pelo método ABTS (300,84 e 299,13 $\mu\text{mol Trolox/g}$, respectivamente) nas microcápsulas com EFF e EFNF quando utilizado proporção 1:10, diferindo estatisticamente dos demais valores ($p < 0,05$). A maior AA pelo ABTS, pode ser sugerida pela presença de alguns compostos fenólicos antioxidantes como ácido gálico, catequina e cumarina, podem estar presentes tanto em folhas de moringa não fermentada quanto fermentada. Além destes, outros compostos como ácido clorogênico, ácido cafeico e luteolina, podem ter sido produzidos durante a fermentação dos extratos de folhas de moringa fermentada (FEITOSA et al., 2020b). Apesar do maior teor de fenólicos totais ter sido para as microcápsulas preparadas nas proporções 1:4 (EFF ou EFNF:goma arábica) e 1:6 (EFNF:goma arábica), a maior AA foi obtida na proporção 1:10, podendo sugerir que esta proporção conseguiu encapsular mais compostos antioxidantes em comparação as demais proporções de núcleo:material de parede.

Pelo método DPPH, não houve diferença estatística entre as microcápsulas ($p > 0,05$). Já pelo método FRAP, a maior AA (83,94 $\mu\text{mol Trolox/g}$) foi obtida para as microcápsulas das EFNF utilizando proporção 1:4, diferindo ($p < 0,05$) dos demais valores, indicando que a presença de compostos antioxidantes com capacidade de redução do ferro, além do maior teor de fenólicos totais obtido nestas microcápsulas. Vale destacar que os resultados podem ser diferentes entre os métodos antioxidantes, devido as peculiaridades de cada ensaio e a complexibilidade dos extratos vegetais (NOREEN et al., 2017).

Os resultados obtidos neste trabalho foram superiores aos encontrados por JordánSuárez, Glorio-Paulet e Vidal et al. (2021) e González-Ortega et al. (2020), os quais obtiveram AA de 90,59 $\mu\text{mol TE/g}$ em microcápsulas de extratos de folhas de graviola encapsuladas com goma arábica e maltodextrina por *spray dryer* e valores entre 43,67 a 220,48 $\mu\text{mol Trolox/g}$, em microcápsulas de extratos de folhas de oliveira liofilizados encapsulados com maltodextrina e trealose, respectivamente.

4.3 Propriedades físicas das microcápsulas

A atividade de água das microcápsulas variou entre 0,11 a 0,29 (Tabela 6). As microcápsulas elaboradas nas proporções EFNF:goma arábica 1:4 e 1:6 e EFF:goma arábica 1:4 foram as demonstraram os menores valores de atividade de água não diferindo estatisticamente da amostra controle ($p > 0,05$). Valores altos de atividade de água, indica que existe água disponível para a ocorrência de reações bioquímicas, e portanto, menor vida útil do produto (NUNES et al, 2015). No entanto, todas as microcápsulas obtiveram valores dentro do limite recomendável ($< 0,30$) para garantia da estabilidade (TONON; BRABET; HUBINGER, 2010). Valores similares de A_w entre 0,22 e 0,29 foram encontrados em microcápsulas de extrato de folhas de moringa, encapsuladas com maltodextrina por *spray dryer* (VONGHIRUNDECHA et al., 2022) e em microcápsulas de folhas de chá de *Camellia sinensis* var. *assamica* fermentada, utilizando goma arábica e a técnica de liofilização ($A_w = 0,13\%$) (SILVA et al., 2018).

Tabela 6. Umidade, atividade de água, solubilidade e higroscopicidade, das microcápsulas de extratos de folhas de moringa fermentado e não fermentado.

Extrato	Extrato /Goma arábica	Atividade de água	Umidade (%)	Solubilidade (%)	Higroscopicidade (%)
Controle		0,09 \pm 0,00 ^b	6,57 \pm 0,06 ^c	95,91 \pm 0,02 ^a	20,66 \pm 0,99 ^a
EFF	1:10	0,29 \pm 0,08 ^a	9,01 \pm 0,18 ^a	94,38 \pm 0,00 ^a	18,33 \pm 0,57 ^{b,c}
	1:6	0,25 \pm 0,03 ^a	6,69 \pm 0,31 ^c	93,01 \pm 0,01 ^a	19,33 \pm 0,57 ^{a,b}
	1:4	0,22 \pm 0,00 ^{a,b}	7,36 \pm 0,12 ^b	92,27 \pm 0,01 ^a	17,17 \pm 0,70 ^c
EFNF	1:10	0,28 \pm 0,00 ^a	8,89 \pm 0,15 ^a	94,30 \pm 0,02 ^a	20,33 \pm 2,30 ^a
	1:6	0,22 \pm 0,00 ^{a,b}	6,69 \pm 0,09 ^c	95,02 \pm 0,01 ^a	14,66 \pm 1,52 ^d
	1:4	0,11 \pm 0,01 ^b	5,17 \pm 0,89 ^d	94,29 \pm 0,00 ^a	19,83 \pm 0,78 ^{a,b}

Os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão ($n = 2$). a-d letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os valores médios de acordo com o teste de Tukey.

Fonte: Próprio autor (2022)

O teor de umidade das microcápsulas variou entre 5,17 e 9,01%, sendo o valor menor obtido em microcápsulas elaboradas com proporção 1:4 de EFNF:goma arábica diferindo estatisticamente dos demais ($p < 0,05$). Estes valores, foram superiores aos obtidos por Dadi et al. (2020) e George et al. (2021), 1,77% em microcápsulas liofilizadas de extratos de *M. Oleifera* utilizando goma arábica e entre 2,29 e 2,48% em microcápsulas de *M. stenopetala* utilizando maltodextrina respectivamente. Por outro lado, valores semelhantes entre 5,21 e 7,05% de umidade foram obtidos em microcápsulas de extrato de polpa e resíduo de acerola, utilizando uma mistura de goma arábica e maltodextrina (REZENDE, NOGUEIRA E NARAIN, 2018). No entanto, de acordo com Tonon, Brabet e Hubinger (2010), a redução do teor de umidade de pós liofilizados para valores em torno de 5%, está associado a redução da precibibilidade do produto, desta forma as microcápsulas do ENFE preparadas na proporção 1:4, se encontram dentro do parâmetro recomendável.

Além da umidade outra característica importante para a qualidade das microcápsulas é higroscopicidade, pois durante o armazenamento podem prejudicar a viscosidade e aglomeração das partículas (YAMASHITA et al., 2017). A higroscopicidade das microcápsulas variou entre 14,50 a 20,66% (Tabela 3), sendo o menor valor observado para as EFNF na proporção 1:6, diferindo estatisticamente das demais ($p < 0,05$). De acordo com Tontul e Topuz (2017) valores de higroscopicidade $< 20\%$ está associado a produtos menos higroscópicos e portanto menos viscosos, portanto todas as microcápsulas com exceção do controle e as elaboradas na proporção 1:10, EFNF:goma arábica estariam dentro deste padrão. George et al. (2021) obtiveram menor valor de higroscopicidade de 14,35% em microcápsulas de extratos de moringa também utilizando a goma arábica. Os valores de umidade estão inversos aos valores de higroscopicidade, indicando uma provavelmente relação, pois quanto menor o teor de umidade maiores os valores de higroscopicidade, e conseqüentemente maior capacidade de absorver a umidade do ambiente. Esta situação também foi observado por Dadi et al. (2020) e Tonon, Brabet e Hubinger (2008), em microcápsulas de extratos de folhas de *M. stenopetala* obtidas pela técnica de liofilização e *spray dryer* e microcápsulas de polpa de açaí pela técnica de *spray dryer*.

O valor de solubilidade das microcápsulas variou entre 92,27 a 95,91%, indicando que todas as amostras possuem alta solubilidade em água, no entanto não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$). Dadi et al. (2020), em seu estudo também encontraram alta solubilidade (94,65%) em microcápsulas de extratos de folhas *M. stenopetala*, pela técnica de liofilização, utilizando maltodextrina como material de revestimento. Também foram obtidos por

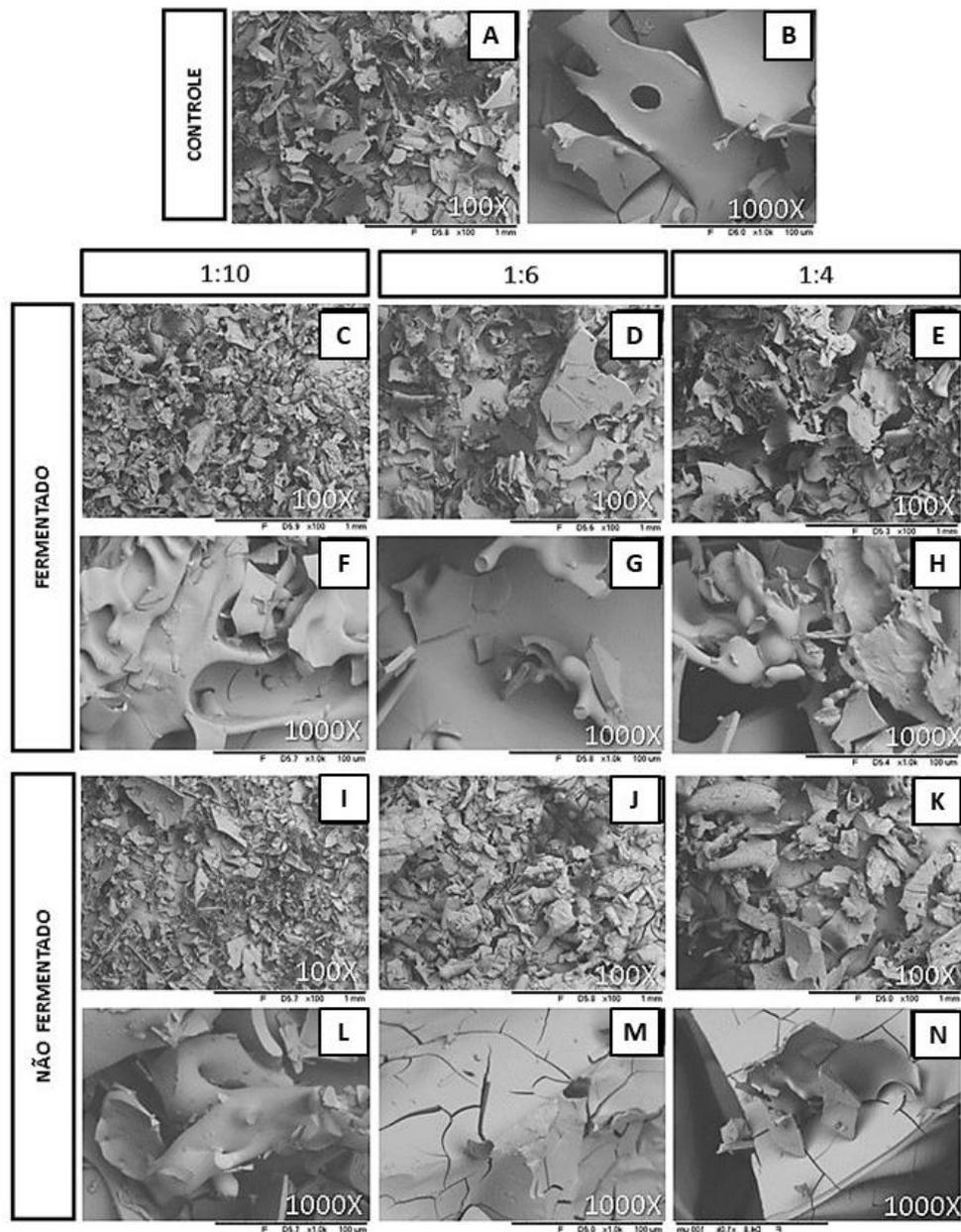
Vonghirundecha et al. (2022) e George et al. (2021), valores entre 91,2 e 92,2% em microcápsulas maltodextrina com extratos de folhas moringa obtidas pela técnica de *spray dryer* e entre 86,35 e 98,74% em microcápsulas de goma arábica e maltodextrina com extratos de folhas de moringa utilizando liofilização, respectivamente.

No presente trabalho a solubilidade não foi afetada pela razão núcleo:material de revestimento (extrato:goma arábica), resultado também observado por Lacerda et al. (2016) ao encapsular suco de jussara utilizando vários materiais de parede (amido, inulina e maltodextrina) por *spray dryer* e Rezende, Nogueira e Narain (2018), em microcápsulas de maltodextrina e goma arábica com extrato de acerola por *spray dryer* e liofilização. A goma arábica é um material de revestimento comumente utilizado para microencapsulação devido sua alta solubilidade e baixa viscosidade em meio aquoso, além de favorecer maior proteção dos compostos bioativos, e alta retenção de compostos voláteis (TIRGAR et al., 2015; LABUSCHAGNE ,2018).

4.4 Morfologia das microcápsulas

A estrutura morfológica das microcápsulas em diferentes concentrações de extrato (1:10, 1:6 e 1:4) utilizando goma arábica como material de revestimento, foram visualizadas através de um Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV), com ampliação para 100x e 1000x (Figura 4).

Figura 6 - Microscopia eletrônica por varredura (MEV) com ampliação de 100x e 1.000x das microcápsulas. Microcápsulas de goma arábica sem extrato (amostra de controle) (A) e (B). Microcápsulas elaboradas nas proporções EFF: goma arábica 1:10 (C) e (F); 1:6 (D) e (G); 1:4 (E) e (H). Microcápsulas elaboradas nas proporções EFNF:goma arábica 1:10 (I), e (L); 1:6 (J) e (M); 1:4 (K) e (N).



Fonte: Próprio autor (2022)

Foi observado que todas as microcápsulas apresentam um formato irregular, característicos das microcápsulas liofilizadas, conforme a morfologia relatada em outros estudos (SAIKIA; MAHNOT, MAHANTA, 2015; DADI, 2020; PASHAZADEH et al., 2021). A estrutura morfológica irregular é configurada pela maior exposição e degradação pela

oxidação, afetando assim estabilidade e armazenamento das microcápsulas, por outro lado, considera-se que esta característica melhora as propriedades de solubilidades e liberação (GEORGE et al., 2021; TELES et al., 2017).

No entanto, foi possível observar diferenças na conformação entre as microcápsulas dos diferentes extratos. As microcápsulas do controle (Figuras 4A e 4B), composto por 100% goma arábica, possui, além do formato irregular, estrutura porosa e espessura mais fina, possivelmente devido não haver nenhum material em seu núcleo, já os poros podem ser explicados, devido o processo de sublimação do gelo durante a liofilização (YADAV et al., 2020).

Referente as microcápsulas contendo EFF (Figuras 4C, 4F, 4D, 4G, 4E e 4H), foi possível observar estruturas irregulares, porosas e quebradiças, e a medida que a proporção EFF:goma arábica diminui de 1:10 para 1:4, visualizou-se aspecto com bordas arredondadas (YADAV et al., 2020). Aparência semelhante a esta, também foram relatadas em morfologia de microcápsulas de extratos de folhas de moringa não fermentada encapsuladas com goma arábica através da liofilização (GEORGE et al., 2021), como também em microcápsulas de extrato de borra de café, utilizando também, goma arábica e liofilização (BALLESTEROS et al., 2017).

Já as microcápsulas contendo EFNF (Figuras 4I, 4L, 4J, 4M, 4K e 4N), também apresentaram uma estrutura irregular, porém quebradiça, e a medida que a concentração de extrato aumentou, correspondente as proporções 1:6 e 1:4, a conformação demonstrou rachadura ou fratura, de aspecto vítreo e formato de grânulos (SAIKIA; MAHNOT; MAHANTA, 2015; GUO et al., 2020; KHAZAEI et al., 2014). Indicando que a concentração da razão núcleo:material de parede pode modificar a morfologia das microcápsulas, ou seja quanto maior a massa de extrato, maior semelhança ao aspecto vítreo. Além disso, essa mudança na conformação pode estar associado a presença de compostos fenólicos, observadas em maior concentração na razão 1:4. O aspecto vítreo, também foi observado em microcápsulas de extrato de folhas de *Moringa stenopetala*, encapsuladas com maltodextrina por liofilização (DADI et al., 2020) e microcápsulas de extrato de pétalas de açafrão obtidas com mistura de goma arábica usando liofilização (KHAZAEI et al., 2014). O aspecto vítreo está associado a proteção dos compostos encapsulados, contra a exposição ao calor e oxigênio (KHAZAEI et al., 2014).

5. CONCLUSÕES

- O extrato de folhas de moringa não fermentado rotaevaporado demonstrou maior teor de fenólicos totais (6.265 mg EAG/100g), flavonoides totais (5.683,95 mg QCE/100 g) e maior AA pelo método ABTS (1.244,63 μ mol Trolox/g) e FRAP (5.006,35 μ mol Trolox/g).
- As microcápsulas preparadas com extrato de folhas de moringa não fermentado, na proporção 1:4 (extrato:goma arábica) apresentou maior teor de fenólicos totais (4,91 mg EAG/g de microcápsulas).
- No entanto a maior atividade antioxidante entre as microcápsulas foi encontrada nos EFF e EFNF, preparadas na proporção 1:10 (extrato:goma arábica) (300,84 e 299,13 μ mol Trolox/g, respectivamente).
- Todas as microcápsulas obtiveram boa eficiência de encapsulação (91,76 e 95,70%), alta solubilidade (92,27 a 95,91%), condições favoráveis de higroscopicidade (14,50 a 19,8%) e baixa atividade de água (0,13 a 0,29).
- As microcápsulas elaboradas na proporção EFNF:goma arábica 1:4 demonstraram menor teor de umidade e na proporção 1:6 menor higroscopicidade, podendo serem menos susceptíveis a perecibilidade durante o armazenamento.
- Apesar da morfologia irregular das microcápsulas, as preparadas com EFNF (proporção 1:4, extrato:goma arábica) demonstraram melhores características aparentes, como conformação vítrea, que está associada a maior proteção dos compostos bioativos.

6. PERSPECTIVAS PARA TRABALHOS FUTUROS

- Avaliar a toxicidade das microcápsulas visando aplicações futuras nos setores farmacêutico, cosmético e alimentício;
- Avaliar a estabilidade das microcápsulas durante o armazenamento;
- Estudar métodos que possam melhorar as características morfológicas das microcápsulas;
- Utilizar outros materiais de revestimento, afim de avaliar o impacto deste na proteção dos compostos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AJIBADE, T. O.; AROWOLO, R.; OLAYEMI, F. O. Phytochemical screening and toxicity studies on the methanol extract of the seeds of moringa oleifera. **Journal of Complementary and Integrative Medicine**, v. 10, n. 1, p. 1–6, 2013.

ALEGBELEYE, O. O. How Functional Is Moringa oleifera? A Review of Its Nutritive, Medicinal, and Socioeconomic Potential. **Food and Nutrition Bulletin**, v. 39, n. 1, p. 149–170, 2018.

ALI, M. W.; ILAYS, M. Z.; SAEED, M. T.; SHIN, D. Comparative assessment regarding antioxidative and nutrition potential of Moringa oleifera leaves by bacterial fermentation. **Journal of Food Science and Technology**, v. 57, n. 3, p. 1110–1118, 2020.

ANDRADE, J. K. S., DENADAI, M., DE OLIVEIRA, C. S., NUNES, M. L., & NARAIN, N. Research, Society and Development, Evaluation of bioactive compounds potential and antioxidant activity of brown, green and red propolis from Brazilian northeast region. **Food Research International**, 101(July), 129–138.2017.

ARORA, D. S.; ONSARE, J. G. In vitro antimicrobial evaluation and phytoconstituents of Moringa oleifera pod husks. **Industrial Crops and Products**, v. 52, p. 125–135, 2014.

ARORA, S; RANI, R; GHOSH, S. Bioreactors in solid state fermentation technology: Design, applications and engineering aspects. **Journal of Biotechnology**, v. 269, p. 16-34, 2018.

BALLESTEROS, L. F.; RAMIREZ, M. J.; ORREGO, C. E.; TEIXEIRA, J. A.; MUSSATTO, S. I. Encapsulation of antioxidant phenolic compounds extracted from spent coffee grounds by freeze-drying and spray-drying using different coating materials. **Food chemistry**, v. 237, p. 623-631, 2017.

BENNOUR, N.; MIGHRI H.; ELJANI, H.; ZAMMOURI, T.; AKROUT, A. Effect of solvent evaporation method on phenolic compounds and the antioxidant activity of Moringa oleifera cultivated in Southern Tunisia. **South African Journal of Botany**, v. 129, p. 181–190, 2020.

DEY, T. B.; CHAKRABORTY, S.; JAIN, K. K.; SHARMA, A.; KUHAD, R. C. Antioxidant phenolics and their microbial production by submerged and solid state fermentation process: A review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 53, p. 60–74, 2016.

BHANJA, Tapati; KUMARI, Anjali; BANERJEE, Rintu. Enrichment of phenolics and free radical scavenging property of wheat koji prepared with two filamentous fungi. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 11, p. 2861-2866, 2009.

BORA, A. F. M., MA, S., LI, X., & LIU, L. Application of microencapsulation for the safe delivery of green tea polyphenols in food systems: Review and recent advances. **Food Research International**, v. 105, p. 241-249, 2018.

BOURGOU, S.; BEJI, R. S.; MEDINI, F.; KSOURI, R. Effet du solvant et de la méthode d'extraction sur la teneur en composés phénoliques et les potentialités antioxydantes d'Euphorbia helioscopia. **Journal of New Sciences**, v. 28, n. 12, p. 1649–1655, 2016.

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

COELHO, S. C.; ESTEVINHO, B. N.; ROCHA, F. Encapsulation in food industry with emerging electrohydrodynamic techniques: Electrospinning and electrospraying – A review. **Food Chemistry**, v. 339, n. August 2020, 2021.

CASTRO-LÓPEZ, C.; GONÇALVES, C.; VENTURA-SOBREVILLA, J. M.; PASTRANA, L. M.; AGUILAR-GONZÁLEZ, C. N.; MARTÍNEZ-ÁVILA, G. C. G. Moringa oleifera-storage stability, In vitro-simulated digestion and cytotoxicity assessment of microencapsulated extract. **Processes**, v. 8, n. 7, 2020.

CASTRO-LÓPEZ, Cecilia et al. Spray-drying encapsulation of microwave-assisted extracted polyphenols from Moringa oleifera: Influence of tragacanth, locust bean, and carboxymethyl-cellulose formulations. **Food Research International**, v. 144, p. 110291, 2021.

CHEN, Hongzhang. Modern solid state fermentation. **Netherlands: Springer**, 2013.

COZ-BOLAÑOS, X.; CAMPOS-VEGA, R.; REYNOSO-CAMACHO, R.; RAMOS-GÓMEZ, M.; LOARCA-PIÑA, G. F.; GUZMÁN-MALDONADO, S. H. Moringa infusion (Moringa oleifera) rich in phenolic compounds and high antioxidant capacity attenuate nitric oxide pro-inflammatory mediator in vitro. **Industrial Crops and Products**, v. 118, n. August 2017, p. 95–101, 2018.

DADI, D. W.; EMIRE, S. A.; HAGOS, A. D.; EUN, J. B. Physical and functional properties, digestibility, and storage stability of spray-and freeze-dried microencapsulated bioactive products from moringa stenopetala leaves extract. **Industrial Crops and Products**, v. 156, p. 112891, 2020.

DEGOBERT, G; AYDIN, D. Lyophilization of Nanocapsules: Instability Sources, Formulation and Process Parameters. **Pharmaceutics**, v. 13, n. 8, p. 1112, 2021.

DEWANTO, V., XIANZHONG, W., ADOM, K. K.; LIU, R. H. Thermal processing Research, Society and Development, enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 50(10), 3010–3014. 2002.

DEY, T. B.; CHAKRABORTY, S.; JAIN, K. K.; SHARMA, A.; KUHAD, R. C. Antioxidant phenolics and their microbial production by submerged and solid state fermentation process: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 53, p. 60-74, 2016.

DEY, T. B.; KUHAD, R. C.. Enhanced production and extraction of phenolic compounds from wheat by solid-state fermentation with *Rhizopus oryzae* RCK2012. **Biotechnology Reports**, v. 4, p. 120-127, 2014.

EDOGA C. O.; NJOKU O. O; AMADI E. N.; OKEKE J. J. Blood sugar lowering effect of Moringa oleifera lam in albino rats. **International Journal of Science and Technology**, v. 3, n. 1, p. 88–90, 2013.

ELSEBAIE, E. M.; ESSA, R. Y. Microencapsulation of red onion peel polyphenols fractions by freeze drying technicality and its application in cake. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 42, n. 7, p. e13654, 2018.

ESTEVINHO, B. N.; CARLAN, I.; BLAGA, A.; FERNANDO ROCHA, F. Soluble vitamins (vitamin B12 and vitamin C) microencapsulated with different biopolymers by a spray drying process. **Powder Technology**, v. 289, p. 71–78, 2016.

FEITOSA, P, R, B; SANTOS, T, R, J; GUALBERTO, N, C; NARAIN, N ; SANTANA, L, C, L, A; . Potencial bioactivo de las semillas de moringa (Moringa oleifera Lamarck) después del

proceso de fermentación en estado sólido. **Research, Society and Development**. v. 9, n. 6 p. 1-16, 2020a.

FEITOSA, P. R. B.; SANTOS, T. R. J.; GUALBERTO, N. C.; NARAIN, N.; SANTANA, L. C. L. A. Solid-state fermentation with *Aspergillus niger* for the bio-enrichment of bioactive compounds in *Moringa oleifera* (moringa) leaves. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 27, n. July, p. 101709, 2020b.

FERNANDES, A.; BANCESSI, A.; PINELA, J.; DIAS, M. I.; LIBERAL, A.; CALHELHA, R. C.; ĆIRIĆ, A.; SOKOVIĆ, M.; CATARINO, L.; FERREIRA, I. C. F. R.; BARROS, L. Nutritional and phytochemical profiles and biological activities of *Moringa oleifera* Lam. edible parts from Guinea-Bissau (West Africa). **Food Chemistry**, v. 341, n. August 2020, 2021.

GEORGE, T. T.; OYENIHI, A. B.; RAUTENBACH, F.; OBILANA, A. O. Characterization of *Moringa oleifera* Leaf Powder Extract Encapsulated in Maltodextrin and/or Gum Arabic Coatings. **Foods**, v. 10, n. 12, p. 3044, 2021.

GHAFFAR, F.; NAZRIN, T. N. N. T.; SALLEH, M. R. M.; HADI, N. N.; AHMAD, N.; HAMZAH, A. A.; YUSOF, Z. A. M.; AZMAN, I. N. Total Phenolic Content And Total Flavonoid Content In *Moringa Oleifera* Seed. **Science Heritage Journal**, v. 1, n. 1, p. 23–35, 2017.

GHARSALLAH, K.; REZIG, L.; MSAADA, K.; CHALH, A.; SOLTANI, T. Chemical composition and profile characterization of *Moringa oleifera* seed oil. **South African Journal of Botany**, v. 137, p. 475-482, 2021.

GÓMEZ-MARTÍNEZ, M.; ASCACIO-VALDÉS, J. A.; FLORES-GALLEGOS, A. C.; GONZÁLEZ-DOMÍNGUEZ, J.; GÓMEZ-MARTÍNEZ, S.; AGUILAR, C. N.; MORLETT-CHÁVEZ, J. A.; RODRÍGUEZ-HERRERA, R. Location and tissue effects on phytochemical composition and in vitro antioxidant activity of *Moringa oleifera*. **Industrial Crops and Products**, v. 151, n. April, 2020.

GONZÁLEZ-ORTEGA, R.; FAIETA, M.; DI MATTIA, C. D.; VALBONETTI, L.; PITTIA, P. Microencapsulation of olive leaf extract by freeze-drying: Effect of carrier composition on process efficiency and technological properties of the powders. **Journal of Food Engineering**, v. 285, p. 110089, 2020.

GUO, J.; LI, P.; KONG, L.; XU, B. Microencapsulation of curcumin by spray drying and freeze drying. **Lwt**, v. 132, p. 109892, 2020.

GUPTA, S.; JAIN, R.; KACHHWAHA, S.; KOTHARI, S. L. Nutritional and medicinal applications of *Moringa oleifera* Lam.—Review of current status and future possibilities. **Journal of Herbal Medicine**, v. 11, n. March 2017, p. 1–11, 2018.

HANI, N. M.; TORKAMANI, A. E.; AZARIAN, M. H.; MAHMOOD, K. W.; NGALIM, S. H. Characterisation of electrospun gelatine nanofibres encapsulated with *Moringa oleifera* bioactive extract. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 97, n. 10, p. 3348–3358, 2017.

HASSAN, M. A.; Xu, T.; Tian, Y.; Zhong, Y.; Ali, F. A. Z.; Yang, X.; Lu, B.. Health benefits and phenolic compounds of *Moringa oleifera* leaves: A comprehensive review. **Phytomedicine**, v. 93, p. 153771, 2021.

- IJAROTIMI, O. S.; ADEOTI, O. A.; ARIYO, O. Comparative study on nutrient composition, phytochemical, and functional characteristics of raw, germinated, and fermented *Moringa oleifera* seed flour. **Food Science & Nutrition**, v. 1, n. 6, p. 452–463, 2013.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ [2008]. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1020p. Disponível em: Acesso em: 23 nov. 2021.
- JHA, A. K.; SIT, N. Extraction of bioactive compounds from plant materials using combination of various novel methods: A review. **Trends in Food Science & Technology**, 2021.
- JORDÁNSUÁREZ, O; GLORIO-PAULET, P; VIDAL, L. Optimization of processing parameters for the microencapsulation of soursop (*Annona muricata* L.) leaves extract: Morphology, physicochemical and antioxidant properties. **Scientia Agropecuaria**, v. 12, n. 2, p. 161-168, 2021.
- JOYE, I. J.; MCCLEMENTS, D. J.. Biopolymer-based nanoparticles and microparticles: Fabrication, characterization, and application. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 19, n. 5, p. 417-427, 2014.
- KAWASAKI, H; SHIMANOUCI, T; KIMURA. Recent development of optimization of lyophilization process. **Journal of chemistry**, v. 2019, 2019.
- KHAZAEI, K. M.; JAFARI, S. M.; GHORBANI, M.; KAKHKI, A. H. Application of maltodextrin and gum Arabic in microencapsulation of saffron petal's anthocyanins and evaluating their storage stability and color. **Carbohydrate polymers**, v. 105, p. 57-62, 2014.
- KUPUT, C. Moringa: Export Market Potential for Smallholder Farmers in Haiti. Smallholder Farmers Alliance (SFA). 2015. Disponível em: <[http://www.greenearthappeal.org/images/SFA_Moringa_Study.pdf](http://www.greeneearthappeal.org/images/SFA_Moringa_Study.pdf)> Acesso em: 20 de nov. de 2020.
- LABUSCHAGNE, P. Impact of wall material physicochemical characteristics on the stability of encapsulated phytochemicals: A review. **Food Research International**, v. 107, p. 227-247, 2018.
- LACERDA, E. C. Q.; CALADO, V. M. A., MONTEIRO, M.; FINOTELLI, P. V.; TORRES, A. G.; PERRONE, D. Starch, inulin and maltodextrin as encapsulating agents affect the quality and stability of jussara pulp microparticles. **Carbohydrate polymers**, v. 151, p. 500-510, 2016.
- LEONE, A.; FIORILLO, G.; CRISCUOLI, F.; RAVASENGHI, S.; SANTAGOSTINI, L.; FICO, G.; SPADAFRANCA, A.; BATTEZZATI, A.; SCHIRALDI, A.; POZZI, F.; DI LELLO, S.; FILIPPINI, S.; SIMONA BERTOLI, S. Nutritional characterization and phenolic profiling of moringa oleifera leaves grown in chad, sahwari refugee camps, and Haiti. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, n. 8, p. 18923–18937, 2015.
- LIANG, L.; WANG, C.; LI, S.; CHU, X.; SUN, K. Nutritional compositions of Indian *Moringa oleifera* seed and antioxidant activity of its polypeptides. **Food Science and Nutrition**, v. 7, n. 5, p. 1754–1760, 2019.
- LIU, Y.; WANG, X.; WEI, X.; GAO, Z.; HAN, J. Values, properties and utility of different parts of *Moringa oleifera*: An overview. **Chinese Herbal Medicines**, v. 10, n. 4, p. 371–378, 2018.
- MATSHEDISO, P. G.; CUKROWSKA, E.; CHIMUKA, L. Development of pressurised hot water extraction (PHWE) for essential compounds from *Moringa oleifera* leaf extracts. **Food Chemistry**, v. 172, p. 423-427, 2015.

- MERIVAARA, A.; ZINI, J.; KOIVUNOTKO, E.; VALKONEN, S.; KORHONEN, O.; FERNANDES, F. M.; YLIPERTTULA, M. Preservation of biomaterials and cells by freeze-drying: Change of paradigm. **Journal of Controlled Release**, v. 336, p. 480-498, 2021.
- MOHAMMADALINEJHAD, S.; KUREK, M. A. Microencapsulation of Anthocyanins—Critical Review of Techniques and Wall Materials. **Applied Sciences**, v. 11, n. 9, p. 3936, 2021.
- MOYO, B.; MASIKA, P. J.; HUGO, A.; MUCHENJE, V. Nutritional characterization of Moringa (*Moringa oleifera* Lam.) leaves. **African Journal of Biotechnology**, v. 10, n. 60, p. 12925–12933, 2011.
- NENADIS, N.; WANG, L. F.; TSIMIDOU, M.; ZHANG, H. Y. Estimation of scavenging activity of phenolic compounds using the ABTS (*+) assay. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 52, 4669-4674, 2004.
- NOREEN, H.; SEMMAR, N.; FARMAN, M.; MCCULLAGH, J. S. Measurement of total phenolic content and antioxidant activity of aerial parts of medicinal plant *Coronopus didymus*. **Asian Pacific journal of tropical medicine**, v. 10, n. 8, p. 792-801, 2017.
- NUNES, G. L.; BOAVENTURA, B. C. B.; PINTO, S. S.; VERRUCK, S.; MURAKAMI, F. S.; PRUDÊNCIO, E. S.; AMBONI, R. D. D. M. C. Microencapsulation of freeze concentrated *Ilex paraguariensis* extract by spray drying. **Journal of Food Engineering**, v. 151, p. 60-68, 2015.
- OLDONI, T. L. C.; NATHALIE MERLIN, N.; KARLING, M.; CARPES, S. T.; ALENCAR, S. M.; MORALES, R. G. F.; SILVA, E. A.; PILAU, E. J. Bioguided extraction of phenolic compounds and UHPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS characterization of extracts of *Moringa oleifera* leaves collected in Brazil. **Food Research International**, v. 125, n. March, 2019.
- ORO, C. E. D.; PAROUL, N.; MIGNONI, M. L.; ZABOT, G. L.; BACKES, G. T.; DALLAGO, R. M.; TRES, M. V. Microencapsulation of Brazilian Cherokee blackberry extract by freeze-drying using maltodextrin, gum Arabic, and pectin as carrier materials: Encapsulation of Cherokee blackberry extract using different kinds of carrier materials. **Food Science and Technology International**, p. 10820132211068979, 2021.
- OSAMEDE AIROUYUWA, J.; KAEWMANEE, T. Microencapsulation of *Moringa oleifera* leaf extracts with vegetable protein as wall materials. **Food Science and Technology International**, v. 25, n. 6, p. 533–543, 2019.
- OYEYINKA, A. T.; OYEYINKA, S. A. *Moringa oleifera* as a food fortificant Recent trends and prospects. **Journal of the Saudi Society of Agriculture Science**, v. 17, n. 127-136, 2016.
- OZKAN, G.; FRANCO, P.; DE MARCO, I.; XIAO, J.; CAPANOGLU, E. A review of microencapsulation methods for food antioxidants: Principles, advantages, drawbacks and applications. **Food Chemistry**, v. 272, n. February 2018, p. 494–506, 2019.
- PADAYACHEE, B.; BAIJNATH, H. An updated comprehensive review of the medicinal, phytochemical and pharmacological properties of *Moringa oleifera*. **South African Journal of Botany**, v. 129, p. 304–316, 2020.
- PASHAZADEH, H.; ZANNOU, O.; GHELLAM, M.; KOCA, I.; GALANAKIS, C. M.; ALDAWOUD, T. Optimization and Encapsulation of Phenolic Compounds Extracted from Maize Waste by Freeze-Drying, Spray-Drying, and Microwave-Drying Using Maltodextrin. **Foods**, v. 10, n. 6, p. 1396, 2021.

PASSOS, R. M.; SANTOS, D. M.; SANTOS, B. S. ., SOUZA, D. C. L. ., SANTOS, A. B. ., & SILVA, G. F. Qualidade Pós-Colheita Da Moringa (*Moringa Oleifera* Lam) Utilizada Na Forma in Natura E Seca. **Revista Gestão, Inovação e Tecnologias**, v. 3, n. 1, p. 113–120, 2013.

PAULO, F.; SANTOS, L. Design of experiments for microencapsulation applications: A review. **Materials Science and Engineering** , v. 77, p. 1327–1340, 2017.

PEANPARKDEE, M; IWAMOTO, S; YAMAUCHI, R. Microencapsulation: a review of applications in the food and pharmaceutical industries. **Reviews in Agricultural Science**, v. 4, p. 56-65, 2016.

PEDRAL, A. L.; BARBOSA, J. S.; SANTOS, G. R.; XAVIER, A. C. R.; ARIMATÉA, C. C.; FONTES, A. S.; G. F.; BARRETTO, L. C. O. Caracterização físico-química de folhas da moringa oleífera desidratadas por secagem convectiva e liofilização. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.17, n.1, p.33-39, 2015.

PRABAKARAN, M.; KIM, S, H.; SASIREKA, A.; CHANDRASEKARAN, M.; CHUNG, I, M. Polyphenol composition and antimicrobial activity of various solvent extracts from different plant parts of *Moringa oleifera*. **Food Bioscience**, v. 26, n. February, p. 23–29, 2018.

PREMI, M.; SHARMA, H. K. Effect of different combinations of maltodextrin, gum arabic and whey protein concentrate on the encapsulation behavior and oxidative stability of spray dried drumstick (*Moringa oleifera*) oil. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 105, p. 1232–1240, 2017.

RALEPELE, F. M.; CHIMUKA, L.; NUAPIA, Y.; RISENGA, I. UPLC-DAD-QTOF-MS/MS analysis of targeted poly-phenolic compounds from *Moringa oleifera* leaves as function of seasonal responses. **South African Journal of Botany**, v. 143, p. 107-115, 2021.

RAY, S.; RAYCHAUDHURI, U.; CHAKRABORTY, R. An overview of encapsulation of active compounds used in food products by drying technology. **Food Bioscience**, v. 13, p. 76–83, 2016.

REYES-SÁNCHEZ, N.; VIVAS, J.; AGUILAR, J.; HERNÁNDEZ, J.; CALDERA, N. Suplementación de cobayos (*Cavia porcellus* L.) con follajes fresco de morera (*Morus alba*) y moringa (*Moringa oleifera*). **La calera**, v. 18, n. 30, p. 7-13, 2018.

REZENDE, Y. R. R. S.; NOGUEIRA, J. P.; NARAIN, N. Microencapsulation of extracts of bioactive compounds obtained from acerola (*Malpighia emarginata* DC) pulp and residue by spray and freeze drying: Chemical, morphological and chemometric characterization. **Food Chemistry**, v. 254, n. February, p. 281–291, 2018.

RIBEIRO, J. S.; VELOSO, C. M. Microencapsulation of natural dyes with biopolymers for application in food: A review. **Food hydrocolloids**, v. 112, p. 106374, 2021.

ROCCHETTI, G.; BLASI, F.; MONTESANO, D.; GHISONI, S.; MARCOTULLIO, M. C.; SABATINI, S.; COSSIGNANI, L.; LUCINI, L. Impact of conventional/non-conventional extraction methods on the untargeted phenolic profile of *Moringa oleifera* leaves. **Food Research International**, v. 115, n. August 2018, p. 319–327, 2019.

ROCCHETTI, G.; PAGNOSSA, J. P.; BLASI, F.; COSSIGNANI, L.; PICCOLI, R. H.; ZENGIN, G.; MONTESANO, D.; COCCONCELLI, P. S.; LUCINI, L. Phenolic profiling and in vitro bioactivity of *Moringa oleifera* leaves as affected by different extraction solvents. **Food Research International**, v. 127, n. September 2019, 2020.

RODÍGUEZ-PÉREZ, C.; GILBERT-LOPEZ, B.; MENDIOLA, J. A.; QUIRANTES-PINÉ, R.; SEGURA-CARRETERO, A.; IBÁÑEZ, E. Optimization of microwave-assisted extraction and pressurized liquid extraction of phenolic compounds from moringa oleifera leaves by multiresponse surface methodology. **Electrophoresis**, v. 37, n. 13, p. 1938–1946, 2016b.

RODÍGUEZ-PÉREZ, C.; MENDIOLA, J. A.; QUIRANTES-PINÉ, R.; IBÁÑEZ, E.; SEGURA-CARRETERO, A. Green downstream processing using supercritical carbon dioxide, CO₂-expanded ethanol and pressurized hot water extractions for recovering bioactive compounds from Moringa oleifera leaves. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 116, p. 90–100, 2016a.

RODÍGUEZ-PÉREZ, C.; QUIRANTES-PINÉ, R.; FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ, A.; SEGURA-CARRETERO, A. Optimization of extraction method to obtain a phenolic compounds-rich extract from Moringa oleifera Lam leaves. **Industrial Crops and Products**, v. 66, p. 246–254, 2015.

RODRIGUES, L. A.; MUNIZ, T. A.; SAMARÃO, S. S.; CYRINO, A. E. Qualidade de mudas de Moringa oleifera Lam. Cultivadas em substratos com fibra de coco verde e compostos orgânicos. **Revista Ceres**, v. 63, n.4, p. 545-552, jul/ago, 2016.

SADH, P. K.; DUHAN, S.; DUHAN, J. S. Agro-industrial wastes and their utilization using solid state fermentation: a review. **Bioresources and Bioprocessing**, v. 5, n. 1, p. 1–15, 2018.

SAIFULLAH, M.; SHISHIR, M. R. I.; FERDOWSI, R.; RAHMAN, M. R. T.; VUONG, Q. V. Micro and nano encapsulation, retention and controlled release of flavor and aroma compounds: A critical review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 86, n. September 2018, p. 230–251, 2019.

SAIKIA, S; MAHNOT, N. K; MAHANTA, C. L. Optimisation of phenolic extraction from Averrhoa carambola pomace by response surface methodology and its microencapsulation by spray and freeze drying. **Food chemistry**, v. 171, p. 144-152, 2015.

SANTOS, J.P.B. ; FABRICANTE, J.R. ; OLIVEIRA, A.M. . Espécies Exóticas utilizadas na Arborização Urbana do Município de Itabaiana, Sergipe, Brasil. *Agroforestalis News* , v. 3, p. 59-71, 2018.

SHARMA, P.; WICHAPHON, J.; KLANGPETCH, W. Antimicrobial and antioxidant activities of defatted Moringa oleifera seed meal extract obtained by ultrasound-assisted extraction and application as a natural antimicrobial coating for raw chicken sausages. **International Journal of Food Microbiology**, v. 332, n. June, 2020.

SHETTY, K., CURTIS, O. F., LEVIN, R. E., WITKOWSKY, R., & ANG, W. Prevention of Vitrification Associated with in vitro Shoot Culture of Oregano. (*Origanum vulgare*) by *Pseudomonas* spp. **Journal of Plant Physiology**, 147(3–4), 447–451. 1995.

SHI, H.; YANG, E.; LI, Y.; CHEN, X.; ZHANG, J. Effect of Solid-State Fermentation on Nutritional Quality of Leaf Flour of the Drumstick Tree (*Moringa oleifera* Lam.). **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 9, p. 267, 2021.

SHI, H.; SU, B.; CHEN, X.; PIAN, R. Solid state fermentation of Moringa oleifera leaf meal by mixed strains for the protein enrichment and the improvement of nutritional value. **PeerJ**, v. 8, p. e10358, 2020.

SHISHIR, M. R. I.; XIE, L.; SUN, C.; ZHENG, W.; CHEN, W. Advances in micro and nano-encapsulation of bioactive compounds using biopolymer and lipid-based transporters. *Trends in Food Science and Technology*, v. 78, n. December 2017, p. 34–60, 2018.

SILVA, F.; TORRES, L.; SILVA, L.; FIGUEIREDO, R.; GARRUTI, D.; ARAÚJO, T.; RICARDO, N. Cashew gum and maltodextrin particles for green tea (*Camellia sinensis* var *Assamica*) extract encapsulation. *Food Chemistry*, v. 261, p. 169–175, 2018.

SINGH, A. K.; RANA, H. K.; TSHABALALA, T.; KUMAR, R.; GUPTA, A.; NDHLALA, A. R.; PANDEY, A. K. Phytochemical, nutraceutical and pharmacological attributes of a functional crop *Moringa oleifera* Lam: An overview. *South African Journal of Botany*, v. 129, p. 209–220, 2019.

SINGH, R. G.; NEGI, P. S.; RADHA, C. Phenolic composition, antioxidant and antimicrobial activities of free and bound phenolic extracts of *Moringa oleifera* seed flour. *Journal of Functional Foods*, v. 5, n. 4, p. 1883–1891, 2013.

SOCOL, C. R.; COSTA, E. S. F.; LETTI, L. A. J.; KARP, S. G.; WOICIECHOWSKI, A. L.; VANDENBERGHE, S. L. P. Recent developments and innovations in solid state fermentation. *Biotechnology Research and Innovation*, v. 1, n. 1, p. 52–71, 2017.

JORDÁNSUÁREZ, O.; GLORIO-PAULET, P.; VIDAL, L. Optimization of processing parameters for the microencapsulation of soursop (*Annona muricata* L.) leaves extract: Morphology, physicochemical and antioxidant properties. *Scientia Agropecuaria*, v. 12, n. 2, p. 161–168, 2021.

TAI, T. K.; THONGKLAY, J.; MEUNPRASERTDEE, P.; KORNTATTALIM, P.; KAAEWMANEE, T. A comparison of three extraction methods for phenolic compounds and antioxidant activities from *moringa oleifera* leaves. *Chiang Mai Journal of Science*, v. 45, n. 7, p. 2779–2789, 2018.

TEIXEIRA, E. M. B.; CARVALHO, M. R. B.; NEVES, V. A.; SILVA, M. A.; ARANTES-PEREIRA, L. Chemical characteristics and fractionation of proteins from *Moringa oleifera* Lam. leaves. *Food chemistry*, v. 147, p. 51–54, 2014.

TELES, A. S. C.; CHÁVEZ, D. W. H.; GOMES, F. D. S.; CABRAL, L. M. C.; TONON, R. V. Effect of temperature on the degradation of bioactive compounds of Pinot Noir grape pomace during drying. *Brazilian Journal of Food Technology*, v. 21, 2017.

THAIPONG, K.; BOONPRAKOB, U.; CROSBY, K.; CISNEROS-ZEVALLOS, L.; HAWKINS BYRNE, D. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19, 669–675, 2006.

THOMAS, L.; LARROCHE, C.; PANDEY, A. Current developments in solid-state fermentation. *Biochemical Engineering Journal*. v. 81, p. 146–161, 2013.

TILOKE, C.; ANAND, K.; GENGAN, R. M.; CHUTURGOONA, A. A. *Moringa oleifera* and their phytonanoparticles: Potential antiproliferative agents against cancer. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, v. 108, n. April, p. 457–466, 2018.

TIRGAR, M.; JINAP, S.; Z Aidul, I. S. M.; MIRHOSSEINI, H. Suitable coating material for microencapsulation of spray-dried fish oil. *Journal of food science and technology*, v. 52, n. 7, p. 4441–4449, 2015.

- TONON, R. V.; BRABET, C.; HUBINGER, M. D. Influence of process conditions on the physicochemical properties of açai (*Euterpe oleracea* Mart.) powder produced by spray drying. **Journal of food engineering**, v. 88, n. 3, p. 411-418, 2008
- TONON, R. V.; BRABET, C.; HUBINGER, M. D. Anthocyanin stability and antioxidant activity of spray-dried açai (*Euterpe oleracea* Mart.) juice produced with different carrier agents. **Food research international**, v. 43, n. 3, p. 907-914, 2010.
- TONTUL, I; TOPUZ, A. Spray-drying of fruit and vegetable juices: Effect of drying conditions on the product yield and physical properties. **Trends in food science & technology**, v. 63, p. 91-102, 2017.
- TOUDERT, N.; ZAITER, A.; DJILANI, A. E.; DADA, N.; DJILANI, A.; DICKO, A. Impact of Methanol-Water Ratio of Leaf and Root Extracts of *Ampelodesma mauritanica* on the Antioxidant Activity, and Effect of Different Solvent Extraction on Phenolic Compounds Quantification. **Acta Scientific Nutritional Health**. v. 1, n. 5, p. 3–7, 2017.
- VALDEZ-SOLANA, M. A.; MEJÍA-GARCÍA, V. Y.; TÉLLEZ-VALENCIA, A.; GARCÍA-ARENAS, G.; SALAS-PACHECO, J.; ALBA-ROMERO, J. J.; SIERRA-CAMPOS, E. Nutritional content and elemental and phytochemical analyses of moringa oleifera grown in Mexico. **Journal of Chemistry**, v. 2015, 2015.
- VISHALI, D. A.; MONISHA, J.; SIVAKAMASUNDARI, S. K.; MOSES, J. A.; ANANDHARAMAKRISHNAN, C. Spray freeze drying: Emerging applications in drug delivery. **Journal of Controlled Release**, v. 300, p. 93-101, 2019.
- VONGHIRUNDECHA, P.; CHUSRI, S.; MEUNPRASERTDEE, P.; KAEWMANEE, T. Microencapsulated functional ingredients from a *Moringa oleifera* leaf polyphenol-rich extract: Characterization, antioxidant properties, in vitro simulated digestion, and storage stability. **LWT**, v. 154, p. 112820, 2022.
- VONGSAK, B.; SITHISARN, P.; MANGMOOL, S.; THONGPRADITCHOTE, S.; WONGKRAJANG, Y.; GRITSANAPAN, W. Maximizing total phenolics, total flavonoids contents and antioxidant activity of *Moringa oleifera* leaf extract by the appropriate extraction method. **Industrial Crops and Products**, v. 44, p. 566–571, 2013.
- WANG, J.; CAO, F.; ZHU, Z.; ZHANG, X.; SHENG, Q.; QIN, W. Improvement of quality and digestibility of *Moringa oleifera* leaves feed via solid-state fermentation by *Aspergillus niger*. **International Journal of Chemical Reactor Engineering**, v. 16, n. 12, 2018.
- WANG, Y; WANG, C; ZHOU, W; YANG, F, CHEN, X; ZHANG, Q.. Effects of wilting and *Lactobacillus plantarum* addition on the fermentation quality and microbial community of *Moringa oleifera* leaf silage. **Frontiers in microbiology**, v. 9, p. 1817, 2018.
- WANNING, S; SÜVERKRÜP, R; LAMPRECHT, A. Pharmaceutical spray freeze drying. **International journal of pharmaceutics**, v. 488, n. 1-2, p. 136-153, 2015.
- WEN, P.; ZONG, M.; LINHARDT, R. J.; FENG, K.; WU, H. Electrospinning: A novel nano-encapsulation approach for bioactive compounds. **Trends in Food Science and Technology**, v. 70, n. May, p. 56–68, 2017.
- YADAV, K.; BAJAJ, R. K.; MANDAL, S.; MANN, B. Encapsulation of grape seed extract phenolics using whey protein concentrate, maltodextrin and gum arabica blends. **Journal of Food Science and Technology**, v. 57, n. 2, p. 426-434, 2020.

YAMASHITA, C; CHUNG, M, M, S; SANTOS, C; MAYER, C, R, M; MORAES, I, C, F; BRANCO, I, G. Microencapsulation of an anthocyanin-rich blackberry (*Rubus* spp.) by-product extract by freeze-drying. **Lwt**, v. 84, p. 256-262, 2017.

ZHANG, M.; HUANG, Y.; ZHAO, H.; WANG, T.; XIE, C.; ZHANG, D.; WANG, X. SHENG, J.. Solid-state fermentation of *Moringa oleifera* leaf meal using *Bacillus pumilus* CICC 10440. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 92, n. 8, p. 2083–2089, 2017.

ZHANG, X.; SUN, Z.; CAI, J.; WANG, G.; WANG, J.; ZHU, Z.; CAO, F.. Dietary supplementation with fermented *moringa oleifera* leaves inhibits the lipogenesis in the liver of meat ducks. **Animal Feed Science and Technology**, v. 260, n. 159, p. 1–13, 2020b.

ZHANG, X.; SUN, Z.; CAI, J.; WANG, J.; WANG, G.; ZHU, Z.; CAO, F. Effects of dietary fish meal replacement by fermented *moringa* (*Moringa oleifera* Lam.) leaves on growth performance, nonspecific immunity and disease resistance against *Aeromonas hydrophila* in juvenile gibel carp (*Carassius auratus gibelio* var. CAS III). **Fish and Shellfish Immunology**, v. 102, n. April, p. 430–439, 2020a.

ZIANI, B. E. C.; RACHED, W.; BACHARI, K.; ALVES, M.. J.; CALHELHA, R. C.; BARROS, L.; FERREIRA, I. C. F. R. Detailed chemical composition and functional properties of *Anmodaucus leucotrichus* Cross. & Dur. and *Moringa oleifera* Lamarck. **Journal of Functional Foods**, v. 53, n. October 2018, p. 237–247, 2019.