UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

CARLOS RENATO VIEIRA NASCIMENTO

POTENCIAL ANTIOXIDANTE E ANTIMICROBIANO DE MICROCÁPSULAS DE EXTRATO DE FOLHAS DE MORINGA (Moringa oleifera) ARMAZENADAS DURANTE 10 MESES

> São Cristóvão - SE Dezembro/2022

CARLOS RENATO VIEIRA NASCIMENTO

POTENCIAL ANTIOXIDANTE E ANTIMICROBIANO DE MICROCÁPSULAS DE EXTRATO DE FOLHAS DE MORINGA (Moringa oleifera) ARMAZENADAS DURANTE 10 MESES

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Departamento de Tecnologia de Alimentos, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Alimentos

Orientadora: Profa. Dra. Luciana Cristina Lins de Aquino Santana

São Cristóvão – SE Dezembro/2022

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pois sem ele nada nasce, nada cresce e nada dá frutos. Depois aos meus orixás, que protegem e guiam o meu orí de forma que eu consiga trilhar o caminho com sabedoria, resiliência e coragem;

Agradeço aos meus pais, Lourdes e Carlos, que são os modelos da minha vida, que me deram e dão amor incondicional, que sempre me apoiaram nessa jornada de muita luta, sempre me impulsionando e me dando a base que eu precisei, preciso e ainda precisarei nessa jornada;

Agradeço aos meus irmãos, Olivia e Olin, por compartilharem comigo momentos de fraternidade verdadeira e ajuda mútua nos momentos difíceis que passamos;

Agradeço à minha companheira, Victória, que decidiu trilhar seu caminho junto comigo e juntos estamos crescendo gradualmente, com muito amor, respeito, sonhos e metas a serem alcançadas.

Agradeço aos meus sacerdotes, Rita e José, que são exemplos de luta contínua e sabedoria constante, que me aceitaram na família de axé e que continuam partilhando suas experiências comigo para que eu possa crescer juntos com eles.

Agradeço à minha orientadora, Prof^a Dr^a Luciana Cristina, que me deu uma oportunidade ainda como voluntário, que acreditou no meu potencial nesses 4 anos de trabalho comum e que partilha o seu conhecimento com seus alunos diariamente.

Agradeço às minhas amigas Simone e Larissa, que trilharam um caminho comigo cheio de dificuldades, passando pelas situações mais inacreditáveis e mesmo assim, a nossa amizade se provou verdadeira e leal.

Agradeço à agora Prof^a Dr^a Tacila Jericó, que quando eu conheci, era aluna de doutorado do LMAB-UFS, que no começo da minha pesquisa, me ajudou em muitas das minhas dúvidas de novato.

Agradeço ao DTA-UFS e todos os professores, que me receberam da melhor forma possível e que contribuíram para a minha formação.

Agradeço à FAPITEC-SE, que me proporcionou a minha primeira bolsa remunerada do curso, e que contribuiu para o meu crescimento profissional.

Agradeço também aos programas que eu participei, PIBITI e PIBIC da COPES-UFS, que disponibilizaram conteúdos importantíssimos para a formação acadêmica e profissional dos estudantes.

Agradeço à UFS, que nesse longo tempo que eu estou matriculado, me proporcionou as mais diversas situações, que contribuíram para a minha formação profissional e pessoal.

Por fim agradeço ao curso de Engenharia de Alimentos, curso que eu aprendi a amar e a querer trilhar todo e qualquer caminho que os conhecimentos adquiridos possam me levar.

RESUMO

A Moringa oleifera, também conhecida como "árvore milagrosa" ou "árvore da vida", é uma planta rica em nutrientes e compostos fenólicos, encontrados em, quase todas as partes da planta, incluindo folhas, raízes, flores, vagens, cascas e gomas, os quais podem proporcionar um efeito terapêutico, como potencial anticâncer, antioxidante, antidiabético e antibacteriano. Suas folhas merecem destaque, por conta de seu alto teor de proteínas e compostos fenólicos. Neste contexto, a microencapsulação surge como uma alternativa para evitar a degradação dos compostos contidos nestes extratos. Desta forma, o presente trabalho teve como objetivo determinar os teores de fenólicos totais, flavonoides totais, potencial antioxidante, potencial antimicrobiano e as características físico-químicas em relação à umidade, atividade de água, higroscopicidade e solubilidade de microcápsulas de extrato de folhas de moringa armazenadas em dessecador, em temperatura ambiente durante 10 meses. As microcápsulas demonstraram aumentos que variaram de 59 a 146% no valor de atividade de água, diminuição no teor de umidade na faixa de 65 a 75%; e higroscopicidade tendo seu valor reduzido em valores que variaram de 35 a 67%. Em relação ao teor de fenólicos totais obteve-se leve aumento de cerca de 30%. Foram detectados aumento do potencial antioxidante pelo método ABTS e diminuição dos valores quando os métodos DPPH e FRAP foram usados, em comparação ao dia 0 de armazenamento. As microcápsulas não demonstraram potencial antimicrobiano frente a bactérias patogênicas. Contudo, foi demonstrado que o tempo de armazenamento alterou positivamente algumas características físicas, como a umidade e a higroscopicidade das microcápsulas e proporcionou a concentração de compostos antioxidantes.

Palavras-chave: Moringa Oleifera; microencapsulação; antimicrobiano; antioxidante

LISTA DE FIGURAS

| Figura 1. Países onde há a presença de Moringa oleifera Lam |
|---|
| Figura 2. Partes de Moringa oleifera, (A) Folha, (B) Flores, (C) Vagens e (D) sementes13 |
| Figura 3. Tipos e diferença entres as micropartículas |
| Figura 4. Teor de umidade em microcápsulas de extrato de folha de moringa. Formulações - |
| 01E:10G (1 g de extrato para 10 ml de solução de goma arábica); 01E:06G (1 g de extrato para 6 |
| mL de solução de goma arábica); 01E:04G (1 g de extrato para 4 mL de goma arábica)25 |
| Figura 5. Atividade de água em microcápsulas de extrato de folha de moringa. Formulações - |
| $01E:10G\ (1\ g\ de\ extrato\ para\ 10\ ml\ de\ solução\ de\ goma\ arábica);\ 01E:06G\ (1\ g\ de\ extrato\ para\ 6$ |
| mL de solução de goma arábica); 01E:04G (1 g de extrato para 4 mL de goma arábica)26 |
| Figura 6. Higroscopicidade em microcápsulas de extrato de folha de moringa. Formulações - |
| $01E:\!10G$ (1 g de extrato para 10 ml de solução de goma arábica); $01E:\!06G$ (1 g de extrato para 6 |
| mL de solução de goma arábica); 01E:04G (1 g de extrato para 4 mL de goma arábica)27 |
| $Figura~7.~Solubilidade~em~microc\'apsulas~de~extrato~de~folha~de~moringa.~Formula\~ç\~oes-01E:10G$ |
| (1 g de extrato para 10 ml de solução de goma arábica); 01E:06G (1 g de extrato para 6 mL de |
| solução de goma arábica); 01E:04G (1 g de extrato para 4 mL de goma arábica)28 |
| Figura 8. Teor de fenólicos totais em microcápsulas de extrato de folha de moringa. Formulações |
| -01E:10G (1 g de extrato para 10 ml de solução de goma arábica); $01E:06G$ (1 g de extrato para |
| $6\ ml$ de solução de goma arábica); $01E:04G\ (1\ g$ de extrato para $4\ ml$ de solução goma arábica). |
| 29 |
| Figura 9. Teor de flavonoides totais obtidos em microcápsulas de extrato de folha de moringa |
| após $10\ \text{meses}$ de armazenamento. Formulações $-01E:10G\ (1\ \text{g}$ de extrato para $10\ \text{ml}$ de solução |
| de goma arábica); $01E:06G$ (1 g de extrato para 6 ml de solução de goma arábica); $01E:04G$ (1 g |
| de extrato para 4 ml de solução goma arábica) |
| Figura 10. Valores de atividade antioxidante por ABTS em microcápsulas de extrato de folha de |
| $moringa. \ Formulações -01E:10G \ (1 \ g \ de \ extrato \ para \ 10 \ ml \ de \ solução \ de \ goma \ arábica);$ |
| 01E:06G (1 g de extrato para 6 ml de solução de goma arábica); 01E:04G (1 g de extrato para 4 |
| ml de solução goma arábica) |
| Figura 11. Valores de atividade antioxidante por DPPH em microcápsulas de extrato de folha de |
| moringa. Formulações - 01E:10G (1 g de extrato para 10 ml de solução de goma arábica); |
| 01E:06G (1 g de extrato para 6 ml de solução de goma arábica); 01E:04G (1 g de extrato para 4 |
| ml de solução) |
| Figura 12. Valores de atividade antioxidante por FRAP em microcápsulas de extrato de folha de |
| moringa. Formulações $-01E:10G$ (1 g de extrato para 10 ml de solução de goma arábica); |
| $01E:\!06G$ (1 g de extrato para 6 ml de solução de goma arábica); $01E:\!04G$ (1 g de extrato para 4 |
| ml de solução goma arábica) |

SUMÁRIO

| 1. | INT | RODUÇÃO | 9 | | | |
|---|--------|---|----|--|--|--|
| 2. | OBJE | TIVOS | 11 | | | |
| | 2.1 | Objetivo Geral | 11 | | | |
| | 2.2 | Objetivos Específicos | 11 | | | |
| 3. | REFE | RENCIAL TEÓRICO | 12 | | | |
| | 3.1 | Moringa oleifera | 12 | | | |
| | 3.2 | Microencapsulamento | 14 | | | |
| | 3.3 | Estabilidade de compostos bioativos após armazenamento de microcápsulas | 17 | | | |
| 4. | MATI | ERIAL E MÉTODOS | 19 | | | |
| | 4.1 M | ateriais | 19 | | | |
| | 4.2 Ce | pas bacterianas | 19 | | | |
| | 4.3 M | etodologia | 19 | | | |
| 4.3.1 Microcápsulas dos extratos de moringa | | | | | | |
| | 4.3. | 2 Análises Físico-Químicas das Microcápsulas | 20 | | | |
| | 4.3. | 2.1 Umidade | 20 | | | |
| | 4.3. | 2.2 Atividade de água | 20 | | | |
| 4.3.2.3 Solubilidade | | | | | | |
| | 4.3. | 2.4. Higroscopicidade | 21 | | | |
| | 4.4 | Quantificação de compostos bioativos e atividade antioxidante | 21 | | | |
| | 4.4. | 1 Determinação do teor de compostos fenólicos totais | 22 | | | |
| | 4.4. | 2 Determinação de flavonoides totais nas microcápsulas | 22 | | | |
| | 4.4. | 3 Atividade antioxidante <i>in vitro</i> das microcápsulas | 23 | | | |
| | 4.4. | 3.1. Ensaio de eliminação de radicais DPPH | 23 | | | |

| 24 |
|----|
| 24 |
| 25 |
| 25 |
| 28 |
| 30 |
| 33 |
| 34 |
| 35 |
| |

1. INTRODUÇÃO

A Moringa oleifera é uma planta de origem indiana, compondo o único gênero da família Moringaceae, a qual possui 13 espécies, das quais a moringa é a mais conhecida, e alvo de muitas pesquisas, devido seu alto potencial nutricional e medicinal, sendo conhecida 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 (GOMEZ-MARTINEZ et al., 2020). O uso desses compostos tem sido vinculado à diferentes técnicas de extração, isolamento e proteção, dos quais, a microencapsulação é um dos mais usados.

A microencapsulação é um dos métodos importantes para estender a vida útil dos compostos bioativos do extrato das folhas de moringa. Cam et al. (2014) descobriu que cerca de 35% dos compostos fenólicos foram perdidos de extratos não encapsulados que foram armazenados a 4 °C por três meses. Tem sido demonstrado que o declínio dos compostos antioxidantes da extratos de folhas de moringa aceleraram quando foram armazenados em alta temperatura e umidade relativa (DADI et al, 2020).

A microencapsulação, processo em que ingredientes sensíveis são protegidos de condições adversas do ambiente pelo agente encapsulante (HOGAN *et al.*, 2001), representa alternativa para a utilização de compostos de interesse nos mais diversos sistemas alimentares. As microcápsulas produzidas por esse processo apresentam características físicas e químicas resultantes da combinação entre o material de parede e o núcleo utilizado.

Tendo em vista que, a funcionalidade de compostos bioativos em longo prazo é um dos grandes desafios que se apresentam atualmente, o presente estudo objetivou avaliar comparativamente do tempo 0 ao tempo 10 meses de armazenamento em dessecador à

temperatura ambiente, o conteúdo de compostos bioativos e a atividade antioxidante das microcápsulas de extrato de folha de moringa, como também avaliar a atividade antimicrobiana das microcápsulas.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar a bioatividade e propriedades físico-químicas de microcápsulas elaboradas com diferentes concentrações de extrato de folhas de moringa armazenadas em dessecador, à temperatura ambiente durante 10 meses.

2.2 Objetivos Específicos

- Preparação dos extratos de folhas de moringa;
- Síntese das microcápsulas com diferentes concentrações de extrato de folhas de moringa;
- Determinar as características físico-químicas das microcápsulas (umidade, atividade de água, solubilidade e higroscopicidade);
- Determinar os teores de compostos fenólicos totais e flavonóides totais nas microcápsulas;
- Determinar a atividade antioxidante das microcápsulas por meio dos métodos ABTS,
 DPPH e FRAP;
- Avaliar o potencial antimicrobiano das microcápsulas frente a bactérias patógenas;

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Moringa oleifera

A Moringa oleifera Lam. (Moringaceae) é uma planta nativa do oeste e sul do Himalaia, nordeste da Índia, Paquistão e Afeganistão, mas hoje em dia se encontra disseminada por muitos países tropicais e subtropicais, sendo largamente cultivada na África, América do Sul, sudeste, centro e sul asiático, Índia, Arábia, Ilhas do Pacífico e Caraíbas. É conhecida também pelos nomes de acácia branca, árvore-rabanete-de-cavalo — devido ao sabor das suas raízes —, moringueiro, cedro e quiabo-de-quina — devido a forma das suas vagens. É tolerante à seca, florescendo e produzindo frutos e cresce desde as florestas subtropicais secas ou úmidas até as tropicais secas ou úmidas. É uma planta de míltiplo uso, podendo ser usada na alimentação humana ou animal, produção de óleos, planta medicinal e na clarificação de água para o consumo humano. Todas as partes da Moringa possuem valores mediciais e, no Brasil, existem vários estudos científicos de todas as partes da Moringa, se destacando o óleo e as folhas (SANTOS, 2015; ALMEIDA 2018).



Figura 1. Países onde há a presença de *Moringa oleifera* Lam.

Fonte: Adaptado de Kuput et al. (2015)

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). 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).

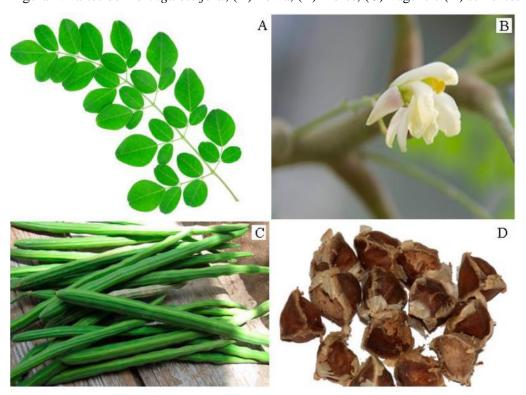


Figura 2. Partes de Moringa oleifera, (A) Folha, (B) Flores, (C) Vagens e (D) sementes

Fonte: https://loveachild.com/2016/03/miracle-moringa-tree/. Acesso em: 13 de novembro de 2022.

As folhas da moringa são uma excelente fonte de proteínas, vitaminas A, B, C e E, mineais – ferro, zinco, selênio – Betacaroteno, gordura, são ricas em energia metabolizável e contém os 10 aminoácidos essenciais para o homem. Pesquisadores concluiram que as folhas da moringa possuem sete vezes mais vitamina C do que a laranja, quatro vezes mais vitamina A do que a cenoura, quatro vezes mais cálcio do que o leite de vaca, três vezes mais ferro que o espinafre e três vezes mais potássio do que a banana. Além disso, a composição da proteína mostra um balanço excelente de aminoácidos essenciais – aqueles que precisamos ingerir, pois o corpo humano não os produz (ALMEIDA, 2018).

As folhas também demonstraram capacidade em promover uma redução considerável nos níveis de glicose no sangue e na urina, com aumento da proteína sérica total, do peso corporal, da hemoglobina e redução da proteinúria, sendo indicada para o tratamento da diabetes mellitus. A atividade antioxidante *in vitro* dos extratos aquosos das folhas de moringa foram estudadas e os resultados mostraram que esses extratos são potentes fontes de substâncias sequestradoras de radicais livres, sugerindo que estes extratos são capazes de prevenir os danos oxidativos do organismo humano (GIMENIS, 2015). Em estudo realizado por Feitosa et al. (2020), uma maior quantidade de compostos flavonoides foi obtida em extratos aquosos de farinhas de folhas de moringa não fermentadas (cerca de 1600 mg QCE/100 g de extrato). Isso indicou que o extrato de folhas de moringa continha aumento dos níveis de flavonóides altamente polares. Pesquisadores que obtiveram aumento do teor de flavonoides totais após FES de resíduos agroindustriais como subprodutos da ameixa, também associaram esse fenômeno à produção de β - glucosidase por A. niger.

3.2 Microencapsulamento

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).

O desenvolvimento da tecnologia de microencapsulação e sua extensa aplicabilidade é fruto da necessidade constante que a indústria alimentícia demonstra em propriedades cada vez mais complexas nas formulações, e que muitas vezes só podem ser conferidas por meio dessa tecnologia (GIBBS *et al.*, 1999). A microencapsulação é uma alternativa para modificar as características de um produto, melhorar a aparência, proteger e prolongar a funcionalidade de um ingrediente. Para a indústria de alimentos, o uso dessa técnica reduz a reatividade do núcleo com o ambiente, diminui a velocidade de evaporação ou transferência do material do núcleo para o meio, facilita a manipulação do encapsulado, promove a liberação controlada, mascara odor e sabor desagradáveis, além de promover a diluição homogênea do material encapsulado em um produto alimentício (ANAL; SINGH, 2007).

A microencapsulação é uma técnica aplicada no empacotamento de sólidos, gotículas de líquidos ou material gasoso com finas coberturas poliméricas, formando pequenas

partículas que podem liberar seu conteúdo sob condições específicas. O produto encapsulado é denominado de núcleo ou recheio, e o material que forma a cápsula, encapsulante, cobertura ou parede. Em função do tamanho das cápsulas formadas o processo é classificado em macro (> 5000 μ m), micro (0,2 – 5000 μ m) ou nano (<0,2 μ m). Quanto à forma, as cápsulas são idealmente esféricas, embora seu formato seja influenciado pela estrutura original do ingrediente encapsulado (BICUDO, 2014).

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).

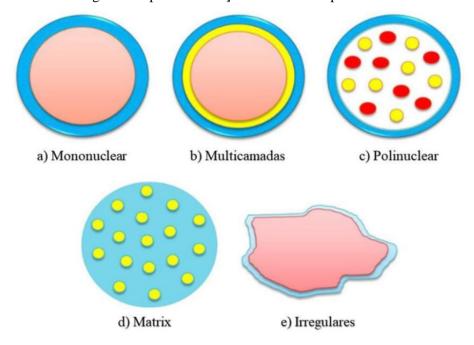


Figura 3. Tipos e diferença entres as micropartículas

Fonte: Saifullah et al., (2019)

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 (CHAUDHURI; CHAKRABORTY, 2016; PAULO; SANTOS, 2017; SAIFULLAH, et al., 2019; RIBEIRO; VELOSO, 2021).

A escolha do agente encapsulante ou material de parede depende de uma série de fatores, entre eles a não reatividade com o material a ser encapsulado, o processo utilizado para a formação da microcápsula e o mecanismo de liberação ideal. Muitos materiais podem ser utilizados como cobertura para as microcápsulas, dentre eles goma arábica, alginato, amido, amido modificado, dextrinas, sacarose, celuloses, mono e diacilgliceróis, óleos e gorduras, caseína, gelatina e os materiais inorgânicos como sulfato de cálcio e silicatos (JACKSON e LEE, 1991).

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.

3.3 Estabilidade de compostos bioativos após armazenamento de microcápsulas

Alguns trabalhos foram encontrados sobre a avaliação de compostos bioativos após o armazenamento de microcápsulas. Dadi et al (2020) armazenou os produtos bioativos microencapsulados de *M. stenoptala* nas temperaturas 4, 25 e 45 °C durante 60 dias. Os autores observaram que o teor de compostos fenólicos manteve-se quase estável quando armazenado à 4 e 25 °C, tendo sido observado diminuição dos teores na temperatura de 45 °C.

Por outro lado, houve redução significativa de teor de compostos fenólicos nos extratos não encapsulados após 60 dias de armazenamento sendo as perdas 17,49, 61,94 e 90,39% a 4, 25 e 45 °C, respectivamente. Paini et al. (2015) relataram, 21% de compostos polifenólicos foram perdidos quando a microcápsula foi armazenada a 25 °C por 70 dias e 66% quando exposto à luz ultravioleta por 48 h. Segundo Robert et al. (2010), há degradação gradativa dos princípios ativos dos encapsulados após longos períodos de armazenamento. Sendo recomendável armazenar os compostos bioativos microencapsulados a baixa temperatura o que pode minimizar o estresse térmico do material de revestimento e dos compostos ativos.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Materiais

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-etilbenztiazolina) 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). O reagente Folin-Ciocalteau, carbonato de sódio, persulfato de potássio, ácido acético foram obtidos da Dinâmica (Indaiatuba, SP, BR). O ágar Muller Hinton da marca HIMEDIA (Mumbai, India). Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico;

As folhas de moringa foram obtidas no Campus São Cristóvão da Universidade Federal de Sergipe.

4.2 Cepas bacterianas

As bactérias *Pseudomonas aeruginosa* (CBAM 0679), *Staphylococcus aureus* (CBAM 0629), *Bacillus cereus* (CBAM 0353), *Bacillus subtilis* (CBAMd f 0441), *Serratia marcescens* (CBAM 0519), *Escherichia coli* (CBAM 0002), *Salmonella enteritidis* foram adquiridos pela Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Leônidas e Maria Deane, Coleção de bactérias da Amazônia (CBAM) (Fiocruz, Manaus, Amazônia) e a *Enterococcus faecalis* (INCQS 00531) foi adquirida do IOC/FIOCRUZ (Manguinhos, Rio de Janeiro). As estirpes foram armazenadas em caldo de infusão de cérebro coração (BHI) e solução de glicerol a 20% a - 80°C em um Ultrafreezer.

4.3 Metodologia

4.3.1 Microcápsulas dos extratos de moringa

As microcápsulas foram previamente obtidas por Nascimento (2022) (dissertação de

mestrado). As microcápsulas foram preparadas usando goma arábica como agente encapsulante nas proporções 1:10, 1:6 e 1:4 (g extrato/mL de solução de goma arábica) respectivamente. As microcápsulas foram armazenadas por 10 meses, sendo mantidas em dessecador à temperatura de 25°C. Após este tempo foram realizadas as análises físico químicas, microbiológicas e determinação do teor de compostos fenólicos totais, flavonoides totais e atividade antioxidante. Os resultados foram comparados com as microcápsulas obtidas no dia 0.

4.3.2 Análises Físico-Químicas das Microcápsulas

4.3.2.1 *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.

4.3.2.2 Atividade de água

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

4.3.2.3 Solubilidade

A solubilidade das microcápsulas foi determinada de acordo com a metodologia proposta por Rezende 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 colocada em placa de petri previamente esterilizada e pesada, e secou-se em estufa a 105°C por 5 h. A solubilidade foi calculada por diferença de pesos, e expressa em porcentagem (%), conforme a seguinte equação:

Solubilidade (%)=
$$\frac{(Peso\ inicial-peso\ final)-Vx_{100}}{V}x_{100}$$

Onde:

Peso inicial = Peso da placa + sobrenadante (g)

Peso Final = Peso da placa + sobrenadante após secagem

V = volume do sobrenadante (mL)

4.3.2.4. Higroscopicidade

A higroscopicidade foi determinada de acordo com a metodologia estabelecida por (REZENDE et al.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. As amostras foram pesadas (Peso final) e sua higroscopicidade foi expressa em porcentagem (%) de umidade adsorvida, conforme a equação abaixo.

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

4.4 Quantificação de compostos bioativos e atividade antioxidante

Para os experimentos de determinação de fenólicos totais, flavonoides totais e atividade antioxidante realizou-se procedimento de rompimento das microcápsulas conforme descrito por Dadi et al. (2020). Pós das microcápsulas (100mg) 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.

4.4.1 Determinação do teor de compostos fenólicos totais

Os compostos fenólicos totais foram determinados nas microcápsulas de acordo com a metodologia de Folin-Ciocalteau, descrita por Shetty et al. (1995) com modificações. Assim, Alíquotas de 0,5 mL dos extratos foram transferidos para tubos de ensaio e adicionouse 0,5 mL de solução de etanol 95%, 2,5 mL de água destilada e 0,25 mL de reagente Folin-Ciocalteau 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 (0-90 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).

4.4.2 Determinação de flavonoides totais nas microcápsulas

O teor de flavonoides totais foi determinado nas microcápsulas 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 2,0 mL 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 flavonoides 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).

4.4.3 Atividade antioxidante in vitro das microcápsulas

As microcápsulas foram avaliadas 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).

4.4.3.1. 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. Para o branco foi utilizado álcool etílico. Enfim, os resultados foram expressos em μmol Trolox/g de material sólido.

4.4.3.2. 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. Os resultados foram expressos em µmol Trolox/g de material sólido.

4.4.3.3. 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 banhomaria. 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. Os resultados foram expressos em μmol de Trolox/g de material sólido.

4.5 Atividade antimicrobiana das microcápsulas

As microcápsulas de extrato de folha de moringa foram avaliadas quanto a atividade antimicrobiana através da técnica de difusão em poços (ELBESHEHY, 2015, com modificações) frente às bactérias *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Serratia marcensces*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa e Salmonella enteritidis*.

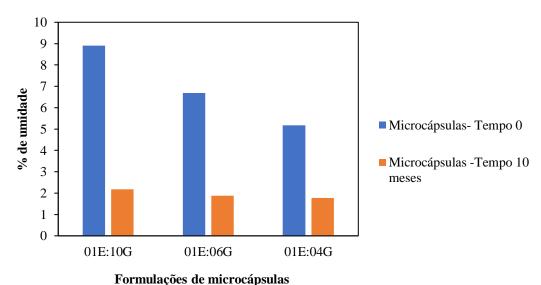
As suspensões bacterianas foram preparadas transferindo-se uma alçada de cada massa celular para tubos de ensaio contendo solução salina a 0,85% esterilizada. Em seguida, tais suspensões foram agitadas durante 2 min com auxílio de aparelho Vortex. Após agitação, cada suspensão teve sua turbidez comparada ao tubo 0,5 da escala de Mc Farland, o qual corresponde a um inóculo de aproximadamente 1,5 x10⁸ UFC/mL para bactérias. Em placas de Petri 90 x 15 mm, de vidro, esterilizadas foi colocado Agar Muller-Hinton e em seguida ocorreu a semeadura do inóculo do microrganismo teste a partir do tubo de ensaio, com *swab* descartável esterilizado. As microcápsulas dissolvidas (30 µL) foram adicionados aos poços (5 mm de diâmetro) nas placas de petri placas contendo ágar Mueller-Hinton e semeadas, e em seguida levados para a incubação a temperatura de 35 °C durante 24 h. O diâmetro dos halos de inibição foi medido e os resultados expressos em milímetros.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1. Análises Físico-Químicas

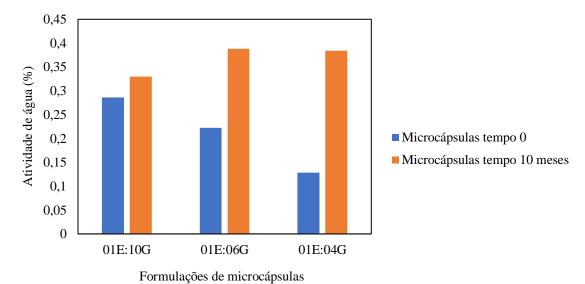
As microcápsulas foram avaliadas quanto umidade, atividade de água, solubilidade e higroscopicidade. Todos os resultados demonstrados no tempo 0 foram obtidos por Nascimento (2022). Os valores de umidade obtidos para as microcápsulas de extrato de folha de moringa no tempo de 10 meses de armazenamento variaram entre 1,8 e 2,2%, e foram menores que os obtidos no tempo 0 (5,17 a 8,9%) (Figura 4), sendo que a quanto maior a concentração de extrato, menor a variação de umidade entre o tempo 0 e o tempo 10 meses de armazenamento. Dadi et al (2020) e George et al (2021), avaliaram o teor de umidade de microcápsulas liofilizadas de extratos de *M. oleifera* e *M. stenopetala*, respectivamente, no tempo 0, e obtiveram teor de umidade de 1,77% e entre 2,29 e 2,48%. Valores estes superiores aos obtidos nas microcápsulas deste trabalho (no tempo 0). Não foram encontrados trabalhos que avaliem a umidade após armazenamento das microcápsulas.

Figura 4. Teor de umidade em microcápsulas de extrato de folha de moringa. Formulações – 01E:10G (1 g de extrato para 10 ml de solução de goma arábica); 01E:06G (1 g de extrato para 6 mL de solução de goma arábica); 01E:04G (1 g de extrato para 4 mL de goma arábica)



Os valores de atividade de água obtidos nas microcápsulas após 10 meses de armazenamento variaram entre 0,33 e 0,39%, valores superiores aos obtidos no tempo 0, que obteve valores entre 0,12 a 0,29% (Figura 5). Houve uma maior atividade de água detectada nos compostos com maior concentração de extrato. Valores altos de atividade de água indicam a presença de água disponível para a ocorrência de reações bioquímicas, e portanto, menor vida útil do produto (NUNES et al, 2015). Não foram encontrados trabalhos que avaliem a atividade de água de microcápsulas após armazenamento.

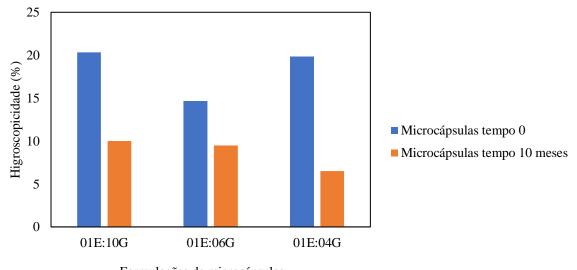
Figura 5. Atividade de água em microcápsulas de extrato de folha de moringa. Formulações – 01E:10G (1 g de extrato para 10 ml de solução de goma arábica); 01E:06G (1 g de extrato para 6 mL de solução de goma arábica); 01E:04G (1 g de extrato para 4 mL de goma arábica)



Um importante fator para a qualidade das microcápsulas é a higroscopicidade, que é a capacidade de absorção de água. O teor de umidade representa uma proporcionalidade inversa aos valores de higroscopicidade, pois quanto menor o teor de umidade maiores os valores de higroscopicidade, e consequentemente maior capacidade de absorver a umidade do ambiente (YAMASHITA et al, 2017). Os valores de higroscopicidade obtidos para microcápsulas de extrato de folha de moringa após 10 meses de armazenamento variaram

entre 6,5 e 10%, enquanto no tempo 0 foram obtidos valores entre 14,6 a 20,3%, sugerindo uma diminuição da capacidade de absorção de água do ambiente, fato corroborado pelos resultados obtidos para teor de umidade das microcápsulas (Figura 6). A degradação gradual do material polimérico encapsulante, vai diminuindo a capacidade de retenção de água, o que ocasiona os menores valores de higroscopicidade (DONG et al, 2014). Valores de higroscopicidade menores de 20% são comuns de produtos menos viscosos, de acordo com Tontul e Topuz (2017), ou seja, nesse quesito, as microcápsulas de extrato de folhas de moringa continuam dentro do padrão.

Figura 6. Higroscopicidade em microcápsulas de extrato de folha de moringa. Formulações — 01E:10G (1 g de extrato para 10 ml de solução de goma arábica); 01E:06G (1 g de extrato para 6 mL de solução de goma arábica); 01E:04G (1 g de extrato para 4 mL de goma arábica)

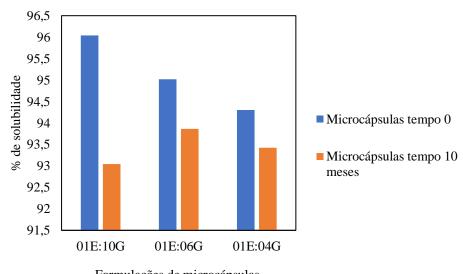


Formulações de microcápsulas

Os valores obtidos para a solubilidade para as microcápsulas no tempo 10 meses foram de cerca 93%, indicando pouca diferença dos valores obtidos no tempo 0 (94 a 96%,) (Figura 7), o que sugere que as microcápsulas continuam altamente solúveis em água. Esses valores são próximos aos que Bicudo (2014) obteve em microcápsulas de juçara usando goma arábica como revestimento (93,18%). 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, em tempo 0.

Figura 7. Solubilidade em microcápsulas de extrato de folha de moringa. Formulações – 01E:10G (1 g de extrato para 10 ml de solução de goma arábica); 01E:06G (1 g de extrato para 6 mL de solução de goma arábica); 01E:04G (1 g de extrato para 4 mL de goma arábica)



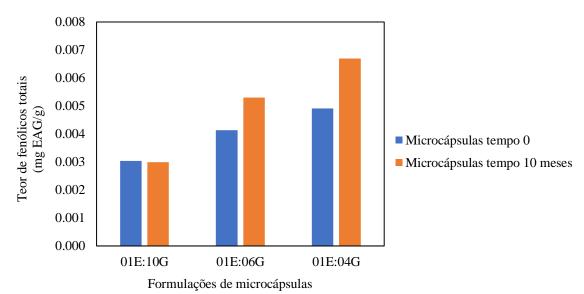
Formulações de microcápsulas

5.2. Compostos Bioativos

A Figura 8 demonstra os resultados obtidos para o teor de fenólicos totais das microcápsulas após 10 meses de armazenamento. Todos os resultados demonstrados no tempo 0 foram obtidos por Nascimento (2022). Foi observado um aumento do teor de fenólicos de 28 e 36% para as formulações 01E:06G e 01E:04G, respectivamente, Esse fenômeno pode ser explicado pela maior concentração dos compostos em função de uma possível degradação do material polimérico da microcápsula ao longo do tempo, causando uma menor retenção de água livre (menor umidade) (referência ??). Além disso, verificou-se que quanto menor a quantidade de goma arábica (01E:04G) usada nas microcápsulas maior foi o teor de fenólicos totais, devido à maior concentração do extrato. Este resultado foi semelhante ao obtido por Vonghirundecha et al. (2022), que observaram aumento no teor de

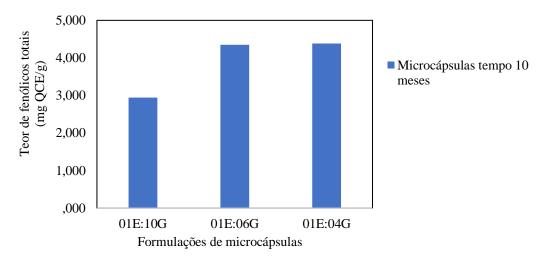
fenólicos depois de 90 dias de armazenamento a 4°C e 37°C, o teor de compostos fenólicos das microcápsulas de extrato cru de folhas de moringa aumentou de 0,8 a 1,08 mg EAG/g extrato para 1,13 a 4,45 mg EAG/g extrato.

Figura 8. Teor de fenólicos totais em microcápsulas de extrato de folha de moringa. Formulações – 01E:10G (1 g de extrato para 10 ml de solução de goma arábica); 01E:06G (1 g de extrato para 6 ml de solução de goma arábica); 01E:04G (1 g de extrato para 4 ml de solução goma arábica).



O teor de flavonoides totais nas microcápsulas (Figura 9) variou de 2,9 a 4,4 mg QCE/g de extrato. Não foi comparado com os valores do tempo 0 (NASCIMENTO, 2022) pois não foi realizada esta análise. Os valores foram menores aos mostrados por Dadi et al (2020), que obtiveram valores de 45,42 mg QCE/g, com a ressalva que os resultados do presente trabalho levam em conta o tempo de armazenamento (10 meses), enquanto o estudo mencionado faz suas análises em tempo 0. Não foram encontrados na literatura disponível, estudos que discutam o teor de flavonoides totais após um período de armazenamento.

Figura 9. Teor de flavonoides totais obtidos em microcápsulas de extrato de folha de moringa após 10 meses de armazenamento. Formulações – 01E:10G (1 g de extrato para 10 ml de solução de goma arábica); 01E:06G (1 g de extrato para 6 ml de solução de goma arábica); 01E:04G (1 g de extrato para 4 ml de solução goma arábica).



5.3. Atividade antioxidante

As Figuras 10 a 12 descrevem os resultados da atividade antioxidante das microcápsulas de extrato de folha de moringa no tempo 0 e após 10 meses de armazenamento. Todos os resultados demonstrados no tempo 0 foram obtidos por Nascimento (2022). Os valores de atividade antioxidante das microcápsulas pelo método ABTS tiveram aumentos significativos (140 a 307%) do tempo 0 para 10 meses e foi maior nas microcápsulas com menor quantidade de goma arábica. Este resultado pode ser devido à maior concentração de compostos fenólicos com potencial para reagir com o radical ABTS, a medida que a quantidade goma arábica foi diminuída nas microcápsulas. Por outro lado, houve diminuição de atividade antioxidante pelos métodos DPPH (faixa de 23%) e FRAP (36 a 70%), após 10 meses de armazenamento, provavelmente devido a degradação de compostos capazes de reduzir o ferro e o radical ABTS. Vonghirundecha et al (2022) mostraram que a atividade antioxidante das microcápsulas de extrato cru de folhas de moringa pelo método ABTS

variou de aproximadamente 0,27 a 0,74 mg Trolox/g inicialmente para 0,26 a 0,78 mg Trolox/g após três meses de armazenamento em local protegido da luz, a 4 °C e 37 °C, valores estes inferiores ao obtido no presente estudo. 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).

Figura 10. Valores de atividade antioxidante por ABTS em microcápsulas de extrato de folha de moringa. Formulações – 01E:10G (1 g de extrato para 10 ml de solução de goma arábica); 01E:06G (1 g de extrato para 6 ml de solução de goma arábica); 01E:04G (1 g de extrato para 4 ml de solução goma arábica)

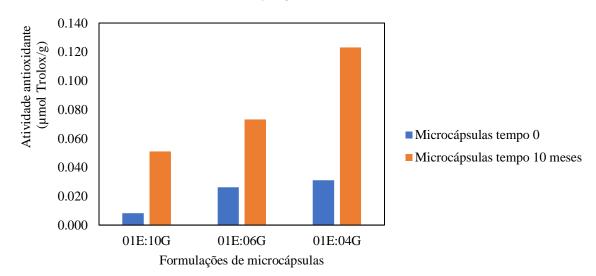


Figura 11. Valores de atividade antioxidante por DPPH em microcápsulas de extrato de folha de moringa. Formulações – 01E:10G (1 g de extrato para 10 ml de solução de goma arábica); 01E:06G (1 g de extrato para 6 ml de solução de goma arábica); 01E:04G (1 g de extrato para 4 ml de solução)

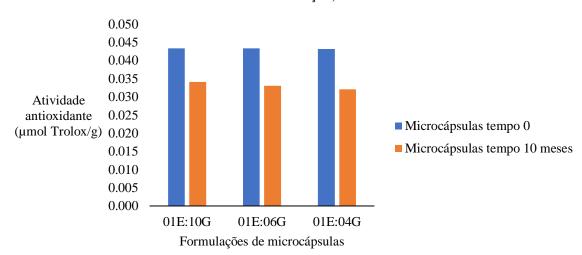
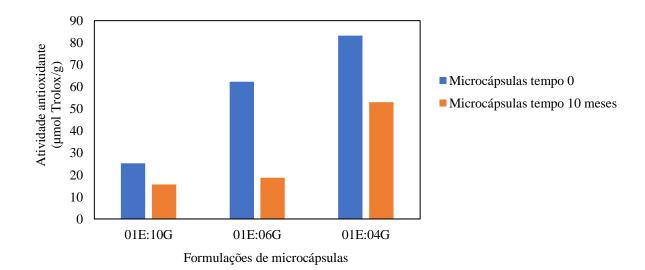


Figura 12. Valores de atividade antioxidante por FRAP em microcápsulas de extrato de folha de moringa. Formulações – 01E:10G (1 g de extrato para 10 ml de solução de goma arábica); 01E:06G (1 g de extrato para 6 ml de solução de goma arábica); 01E:04G (1 g de extrato para 4 ml de solução goma arábica)



5.4. Potencial Antimicrobiano

Conforme demonstrado na Tabela 1 as microcápsulas não inibiram o crescimento das bactérias patogênicas testadas. As medidas obtidas correspondem aos diâmetros dos poços, evidenciando que houve crescimento das cepas por toda a placa.

Tabela 1. Atividade antimicrobiana das microcápsulas de extrato de folhas de moringa após 10 meses de armazenamento. Formulações – 01E:10G (1 g de extrato para 10 ml de solução de goma arábica); 01E:06G (1 g de extrato para 6 ml de solução de goma arábica); 01E:04G (1 g de extrato para 4 ml de solução goma arábica).

| | Diâmetro dos poços (mm) | | | | | | | | |
|---------|-------------------------|----------|------|----------|------------|-------------|------------|--------|--|
| Extrato | В. | В. | E. | E. | Р. | S. | S. | S. | |
| | cereus | subtilis | coli | feacalis | aeruginosa | enteritidis | marcescens | aureus | |
| 01E:10G | 5,0 | 5,0 | 5,0 | 5,0 | 5,0 | 5,0 | 5,0 | 5,0 | |
| 01E:6G | 5,0 | 5,0 | 5,0 | 5,0 | 5,0 | 5,0 | 5,0 | 5,0 | |
| 01E:4G | 5,0 | 5,0 | 5,0 | 5,0 | 5,0 | 5,0 | 5,0 | 5,0 | |

6 CONCLUSÕES

O tempo de armazenamento de 10 meses a 25 °C influenciou nas características físico-químicas das microcápsulas, diminuindo a umidade e higroscopicidade e aumentando a atividade de água.

Após o armazenamento por 10 meses a 25 °C, verificou-se aumento no teor de fenólicos totais e aumento da atividade antioxidante pelo método ABTS, sobretudo nas microcápsulas contendo menor quantidade de goma arábica na formulação.

As microcápsulas não exibiram potencial antimicrobiano frente as bactérias patogênicas testadas.

O tempo de armazenamento alterou positivamente características físicas das microcápsulas, como a umidade e higroscopicidade e proporcionou a concentração de compostos antioxidantes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, M. S. M. de. Moringa oleifera Lam., seus benefícios medicinais, nutricionais e avaliação de toxicidade. Dissertação do upgrade ao Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, 2018.

ANAL, A.K.; SINGH, H. Recent advances in microencapsulation of probiotics for industrial applications and targeted delivery. **Trends in Food Science & Technology**, v.18, n.5, p.240–251, 2007.

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.

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.

BICUDO, M. O. P. Composição fenólica, atividade antioxidante e microencapsulação de frutos de juçara (*Euterpe edulis*): aspectos de interesse para a indústria de alimentos.

2014. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) — Programa de Pós Graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

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.

BUARQUE FEITOSA, Paula Ribeiro; JERICÓ SANTOS, Tacila Rayane; GUALBERTO, Nayjara Carvalho; NARAIN, Narendra; SANTANA, Luciana Cristina Lins de Aquino. Solid - state fermentation with Aspergillus niger for the bio - enrichment of bioactive compounds in Moringa oleifera (moringa) leaves. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, São 02 08, Cristovão Sergipe, 27, p. 12 jul. 2020. DOI https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101709. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1878818120304345?via%3Dihub. Acesso em: 22 nov. 2022

ÇAM, M., 'IÇYER, N. C., & ERDOGAN, F. Pomegranate peel phenolics: Microencapsulation, storage stability and potential ingredient for functional food development. **LWT-Food Science Technology**, v. 55, n. 1, p. 117–123, 2014. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.09.011

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.

DONG, J.; LIAO, L.; MA, Y.; SHI, L.; WANG, G.; FAN, Z.; LI, S.; LU, Z.; Polym. Degrad. Stab. 2014, 103, 26

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.

ELBESHEHY EK, ELAZZAZY AM, AGGELIS G. Silver nanoparticles synthesis mediated by new isolates of Bacillus spp., nanoparticle characterization and their activity against Bean Yellow Mosaic Virus and human pathogens. **Front Microbiol** 2015;6:453.

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.

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.

GIBBS, B.F. Encapsulation in the food industry: a review. **International Journal Food Science and Nutrition**, v. 50, n.3, p.213–224, 1999.

GIMENIS, Janine Mailho. **Avaliação da atividade antioxidante, fotoprotetora e antiglicante dos extratos das folhas e flores de Moringa oleifera**. 2015. 60 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências e Letras de Assis, 2015.

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.

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.

HOGAN, S.A.; MCNAMEE, B.F.; O'RIORDAN, E.D.; O'SULLIVAN, M. Emulsifi cation and microencapsulation Properties of sodium caseinate/ carbohydrate blends. **International Dairy Journal**, v.11, p.137–144, 2001.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ [2008]. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. São Paulo: Intituto Adolfo Lutz, 2008. 1020p. Disponível em: Acesso em: 23 nov. 2021.

JACKSON, L.S.; LEE, K. Microencapsulation and the food industry. **Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie**, v.24, n.4, p.289–297, 1991.

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.

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> Acesso em: 10 de nov. de 2022.

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.

NASCIMENTO, Rosely de Jesus. ELABORAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE MICROCÁPSULAS OBTIDAS A PARTIR DE EXTRATOS DE FOLHAS DE MORINGA FERMENTADA E NÃO FERMENTADA. Orientador: Prof^a. Dr^a. Luciana Cristina Lins de Aquino Santana. 2022. Dissertação (Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.) - Departamento de Tecnologia de Alimentos, UFS, [S. l.], 2022.

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.

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.

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.

PAINI, M., ALIAKBARIAN, B., CASAZZA, A.A., LAGAZZO, A., BOTTER, R., PEREGO, P., 2015. Microencapsulation of phenolic compounds from olive pomace using spray drying: a study of operative parameters. LWT-Food Sci. Technol. 62 (1), 177–186.

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

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.

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.

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.

ROBERT, P., GORENA, T., ROMERO, N., SEPULVEDA, E., CHAVEZ, J., SAENZ, C., 2010. Encapsulation of polyphenols and anthocyanins from pomegranate (Punica granatum) by spray drying. Int. J. Food Sci. Technol. 45 (7), 1386–1394.

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.

SANTOS, Andréa et al. - **Moringa oleifera: Resource Management and Multiuse Life Tree.** Advances in Research. ISSN 23480394. 4:6 (2015) 388–402. doi: 10.9734/AIR/2015/18177.

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

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.

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.

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, Volume 154, 2022, 112820, ISSN 0023-6438. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112820.

(https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643821019733)

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.