

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS

Faculdade de Agronomia “Eliseu Maciel”

Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos



Dissertação

**Extração de compostos antociânicos de frutos de jambolão (*Syzygium cumini*
L.) e sua incorporação em fibras ultrafinas de zeína**

Felipe Nardo dos Santos

Tecnólogo em Alimentos

Pelotas, 2021

Felipe Nardo dos Santos

**Extração de compostos antociânicos de frutos de jambolão (*Syzygium cumini*
L.) e sua incorporação em fibras ultrafinas de zeína**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do Título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Comitê de orientação:

Prof^a. Dr^a. Elessandra da Rosa Zavareze – UFPel

Prof. Dr. Alvaro Renato Guerra Dias – UFPel

Prof^a. Dr^a. Dianini Hütner Kringel – UDESC

Pelotas, 2021

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

S237e Santos, Felipe Nardo dos

Extração de compostos antociânicos de frutos de jambolão (*Syzygiumcumini* L.) e sua incorporação em fibras ultrafinas de zeína / Felipe Nardo dos Santos ; Elessandra da Rosa Zavareze, orientadora ; Alvaro Renato Guerra Dias, Dianini Hütner Kringel, coorientadores. — Pelotas, 2021.

76 f. : il.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2021.

1. Antocianinas. 2. Compostos bioativos. 3. Método multivariado. 4. Fibras ultrafinas. 5. *Electrospinning*. I. Zavareze, Elessandra da Rosa, orient. II. Dias, Alvaro Renato Guerra, coorient. III. Kringel, Dianini Hütner, coorient. IV. Título.

CDD : 634.6

Banca examinadora:

Prof^a. Dr^a. Adriana Dillenburg Meinhart – UFPel

Prof^a. Dr^a. Dianini Hütner Kringel – UDESC- Campus Pinhalzinho

Prof^a. Dr^a. Joseana Severo – IFFar Campus Santa Rosa

Dedicatória

Dedico este trabalho à minha família.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Pelotas e ao Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, pela oportunidade de realização do mestrado.

Aos meus pais, Lêda e Jomar e a minha querida irmã Andréia, pelo apoio incondicional em todos os momentos da minha vida e formação. Vocês são meus exemplos de pessoas trabalhadoras e honestas, obrigado por nunca me deixarem desistir dos meus sonhos, por acreditarem em mim, desde o primeiro dia que saí de casa, e me incentivarem a ser uma pessoa melhor. Vocês são a base de tudo isso e isso vai ser sempre por vocês e para vocês.

Aos demais familiares, principalmente aos meus tios e tias, primos e primas e as minhas queridas sobrinhas, por compreenderem a minha ausência e por todo companheirismo e apoio durante esta jornada.

Ao meu amor, Heliur, por todo o companheirismo e amor ao longo desse tempo, por sempre me incentivar e acreditar em mim mais do que eu mesmo acredito, e por tornar os meus dias mais leves e felizes.

A minha orientadora, Prof. Dra. Elessandra da Rosa Zavareze, por não medir esforços para me auxiliar, desde a concepção do projeto até a conclusão, obrigado pelos ensinamentos, pela paciência, pela dedicação, pela boa convivência e por ser responsável pelo meu crescimento profissional e pessoal.

Ao meu coorientador Prof. Dr. Alvaro Renato Guerra Dias, obrigado pelos bons conselhos e ensinamentos.

A minha coorientadora Prof. Dra. Dianini Hütner Kringel, que desde a minha chegada ao PPGCTA me recebeu de braços abertos, obrigado por toda tua dedicação, por estar comigo nos momentos bons e ruins, pelos ensinamentos tanto acadêmicos quanto pessoal que foram importantes durante esta trajetória, e pela amizade sincera e gentil.

A minha querida Prof. Dra. Joseana Severo, que mesmo distante nunca mediu esforços para me auxiliar no que fosse preciso, obrigado pela nossa amizade sincera, pelas nossas parcerias e por acreditar em mim mesmo quando eu mesmo não acreditava.

Aos demais professores do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, da Universidade Federal de Pelotas (PPGCTA – UFPel), em especial a professora Adriana que sempre esteve disposta em me ajudar e me auxiliar no que fosse preciso, aliás, se não fosse sua ajuda esse trabalho não tinha se concretizado.

Aos queridos amigos, Thauana, Estefânia, Juliani, Lucas e Wyller, com quem tive o prazer de compartilhar a maioria dos meus dias durante o período de mestrado, por não faltar amizade e companheirismo em todos os momentos e pela honestidade e generosidade sempre demonstradas. A vocês minha imensa admiração e eterna gratidão.

Aos companheiros que ganhei ao ingressar no mestrado, Francine, Laura, Tatiane, Rosane, Elder e Jaqueline por nunca hesitarem em me estender a mão, por tornarem os dias mais felizes no ambiente de trabalho e também por toda a ajuda que tive.

Aos demais amigos e clientes que tive o privilégio de conhecer com a criação da Happy Cake do Fê, obrigado por vocês acreditarem no meu sonho e tornarem isso realidade, os meus dias são bem mais leves quando estou fazendo doces.

Aos demais colegas do PPGCTA, pela receptividade e pelo convívio durante o período de mestrado.

A todos que de alguma forma ou de outra fizeram parte dessa caminhada para minha formação e conquista pessoal, meu muito obrigado.

Da mesma forma gostaria de agradecer a mim, por nunca desistir ou desviar dos meus objetivos e por ser sempre eu mesmo, independente das circunstâncias.

*“Uma vida sem amigos é que nem morar em uma ilha deserta,
sem água e sem luz”*

Paulo Gustavo

RESUMO

SANTOS, Felipe Nardo dos. **Extração de compostos antociânicos de frutos de jambolão (*Syzygium cumini* L.) e sua incorporação em fibras ultrafinas de zeína**. Orientador: Elessandra da Rosa Zavareze. 2021. 76 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2021.

O jambolão é um fruto rico em compostos bioativos, especialmente antocianinas. As antocianinas são pigmentos naturais atóxicos pertencentes ao grupo dos flavonoides, que apresentam diversas propriedades biológicas, como atividade antioxidante e antimicrobiana. As antocianinas presentes em frutos de jambolão são compostos promissores para a substituição de corantes sintéticos para a elaboração de embalagens ativas e inteligentes para alimentos. O objetivo deste estudo foi otimizar a extração de antocianinas de jambolão, utilizando um planejamento multivariado 2^3 , com pontos centrais e axiais, tendo como variáveis, temperatura, tempo e concentração de etanol/água. O extrato de jambolão obtido no ponto ótimo de extração foi caracterizado e adicionado à solução polimérica de zeína nas concentrações de 0, 20, 30 e 40% (p/p) para a produção de fibras pela técnica de *electrospinning*. As condições de extração (temperatura de 30 a 95 °C, tempo de 5 a 120 minutos e proporção de etanol/água de 0 a 100%) permitiram a identificação das seguintes antocianinas: delfinidina 3,5-diglicosídeo (Del3,5D(1) e Del3,5D(2)), petunidina 3,5-diglicosídeo (Pet3,5D(1) e Pet3,5D(2)), malvinidina 3,5-diglicosídeo (Mal3,5D) e petunidina 3-glicosídeo (Pet3G). A condição ótima para a extração de antocianinas foi de 30 °C por 5 minutos de extração, utilizando apenas água acidificada (0% de etanol). O conteúdo total de antocianinas presentes no extrato foi de 142,88 mg/100g apresentando como composto majoritário a delfinidina 3,5-diglicosídeo, representando 39,05% das antocianinas identificadas. As fibras obtidas apresentaram-se ultrafinas, uniformes e contínuas com diâmetro variando de 472 a 622 nm, eficiência de encapsulamento de até 66,8%, ângulo de contato variando de 94,4° a 64,4° e elevada atividade antioxidante (58,8% de inibição pelo método ABTS^{•+}). O perfil colorimétrico do extrato de antocianinas de jambolão em diferentes pH mostrou ser uma opção viável para aplicação como indicador de mudança de pH em embalagens inteligentes. Sendo assim, as fibras ultrafinas produzidas neste estudo apresentam características promissoras para a elaboração de embalagens ativas/inteligentes para alimentos.

Palavras-chave: Antocianinas; Compostos bioativos; Método multivariado; Fibras ultrafinas; *Electrospinning*.

ABSTRACT

SANTOS, Felipe Nardo dos. **Extraction of anthocyanic compounds from jambolan fruits (*Syzygium cumini* L.) and their incorporation into zein ultrafine fibers**. Advisor: Elessandra da Rosa Zavareze. 2021. 76 f. Dissertation (Masters in Food Science and Technology) - Postgraduate Program in Food Science and Technology, University Federal of Pelotas, Pelotas, 2021.

Jambolan is a fruit rich in bioactive compounds, especially anthocyanins. Anthocyanins are non-toxic natural pigments belonging to the group of flavonoids, which have several biological properties, such as antioxidant and antimicrobial activity. The anthocyanins present in jambolan fruits are promising compounds for replacing synthetic dyes for the elaboration of active and intelligent packaging for food. The aim of this study was to optimize the extraction of anthocyanins from jambolan, using a 2³ multivariate design, with central and axial points, having as variables temperature, time and concentration of ethanol/water. The jambolan extract obtained at the optimal point of extraction was characterized and added to the polymeric solution of zein at concentrations of 0, 20, 30 and 40% (w/w) for the production of fibers by the electrospinning technique. The extraction conditions (temperature from 30 to 95 °C, time from 5 to 120 minutes and ethanol/water ratio from 0 to 100%) allowed the identification of the following anthocyanins: delphinidin 3,5-diglycoside (Del3,5D(1) and Del3,5D(2)), petunidin 3,5-diglycoside (Pet3,5D(1) and Pet3,5D(2)), malvidin 3,5-diglycoside (Mal3,5D) and petunidin 3-glycoside (Pet3G) . The optimal condition for the extraction of anthocyanins was 30 °C for 5 minutes of extraction, using only acidified water (0% ethanol). The total content of anthocyanins present in the extract was 142.88 mg/100g, with delphinidin 3,5-diglycoside as the major compound, representing 39.05% of the anthocyanins identified. The fibers obtained were ultra-fine, uniform and continuous with a diameter ranging from 472 to 622 nm, encapsulation efficiency of up to 66.8%, contact angle ranging from 94.4° to 64.4° and high antioxidant activity (58.8% inhibition by the ABTS^{••} method). The colorimetric profile of jambolan anthocyanins extract at different pH proved to be a viable option for application as an indicator of pH change in smart packaging. Therefore, the ultra-fine fibers produced in this study have promising characteristics for the development of active/intelligent food packaging.

Keywords: Anthocyanins; Bioactive compounds; Multivariate method; Ultrafine fibers; *Electrospinning*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Representação ilustrativa da árvore de jambolão (a), flores e frutos (b), cacho de frutos (c), fruto maduro (exterior e interior) (d).....	19
Figura 2: (a) Estrutura básica das antocianinas e diferentes formas encontradas em vegetais. (b) principais antocianinas encontradas em frutos de jambolão.	21
Figura 3: Transformação estrutural das moléculas de antocianinas em extratos aquosos bem como a cor predominante em cada solução.	22
Figura 4: Representação esquemática do processo de <i>electrospinning</i>	23
Figura 5: Cromatograma de HPLC com o perfil de antocianina do jambolão da condição de extração do ponto central do planejamento multivariado (temperatura de 62,5 °C, tempo de extração de 62,5 minutos e concentração de etanol/água de 50%).....	36
Figura 6: Perfil de cor (a) e espectros na região do visível (b) das soluções do extrato de jambolão em diferentes valores de pH (1-14).....	48
Figura 7: Morfologia das fibras ultrafinas e respectiva distribuição de tamanho: zeína controle (a-b), zeína com 20% de extrato de jambolão (c-d), zeína com 30% de extrato de jambolão (e-f) e zeína com 40% de extrato de jambolão (g-h). Amplitudes (1000x e 5000x).	53
Figura 8: Espectros de FTIR obtidos para as amostras de jambolão liofilizado, zeína pura e fibras contendo 0, 20, 30 e 40% de extrato de jambolão.	55
Figura 9: Curvas TG (a) e curvas DTG (b) obtidas para as amostras de zeína pura, extrato de jambolão, e fibras contendo 0, 20, 30 e 40% de extrato de jambolão.	57
Figura 10: Curvas de DSC para as amostras de zeína pura, extrato de jambolão, e fibras contendo 0, 20, 30 e 40% de extrato de jambolão.	59
Figura 11: Ângulo de contato das fibras de zeína contendo 0% (a,b), 20% (c,d), 30% (e,f) e 40% (g,h) de extrato de jambolão. (a), (c), (e) e (g) são referentes ao instante imediato da queda da gota de água, e (b), (d), (f) e (h) são referentes à 3 segundos após a queda da gota.....	61
Figura 12: Atividade antioxidante do extrato de jambolão e das fibras produzidas com diferentes concentrações de extrato (0, 20, 30 e 40%) pelos métodos de Inibição dos radicais DPPH e ABTS.....	62

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Variáveis e níveis estudadas no planejamento multivariado.....	26
Tabela 2: Delineamento experimental para a produção de fibras de zeína incorporadas de extrato de jambolão.	32
Tabela 3: Identificação das antocianinas presentes em extratos de jambolão.	37
Tabela 4: Variáveis codificadas e decodificadas e respostas observadas no planejamento multivariado 2^3 para otimização da extração de antocianinas de jambolão.....	39
Tabela 5: Modelos matemáticos para descrever as variáveis: coeficientes significativos, teste F para a significância estatística da regressão e a falta de ajuste dos modelos obtidos na otimização multivariada da extração de antocianinas em jambolão.....	43
Tabela 6: Otimização das condições ótimas para obtenção máxima de extração dos compostos de jambolão, respostas previstas e observadas pelo modelo matemático e quantificação dos compostos.	45
Tabela 7: Parâmetros de cor (L^* , a^* , b^* e ΔE^*) dos extratos indicadores colorimétricos.	50
Tabela 8: Condutividade elétrica e viscosidade aparente das soluções de zeína 30% com diferentes concentrações de extrato de jambolão.	51
Tabela 9: Eficiência de encapsulação de extrato de jambolão em fibras ultrafinas de zeína.	54

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. OBJETIVOS	17
2.1 Objetivo Geral	17
2.2 Objetivos Específicos.....	17
3. HIPÓTESES	17
4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
4.1 Jambolão	18
4.2 Compostos fenólicos.....	19
4.3 Antocianinas	20
4.4 <i>Electrospinning</i>	23
4.5 Embalagens ativas e inteligentes.....	24
5. MATERIAL E MÉTODOS	25
5.1 Material	25
5.2 Métodos	26
5.2.1 Preparo da matéria-prima	26
5.2.2 Otimização multivariada da extração	26
5.2.3 Identificação e quantificação dos compostos por HPLC-MS	27
5.2.4 Validação do método de análise por HLPC-ESI-QTOF-MSMS.....	28
5.2.5 Caracterizações do extrato obtido no ponto ótimo de extração	29
5.2.5.1 Potencial redutor total e atividade antioxidante	29
5.2.5.2 Perfil de cor em diferentes valores de pH.....	30
5.2.6 Produção das fibras pela técnica de <i>electrospinning</i>	31
5.2.6.1 Preparo do extrato para eletrofiação	31
5.2.6.2 Preparo das soluções poliméricas para <i>electrospinning</i>	31
5.2.6.3 Caracterização das soluções poliméricas.....	32
5.2.6.4 Produção das fibras pela técnica de <i>electrospinning</i>	32
5.2.7 Caracterização das fibras produzidas pela técnica de <i>electrospinning</i>	33
5.2.7.1 Morfologia e distribuição de tamanho das fibras	33
5.2.7.2 Eficiência de encapsulação	33
5.2.7.3 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR).....	34
5.2.7.4 Análise termogravimétrica (TGA).....	34
5.2.7.5 Propriedades térmicas (DSC)	34
5.2.7.6 Ângulo de contato das fibras	34

5.2.7.7 Atividade antioxidante.....	35
5.2.8 Análise estatística	35
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	36
6.1 Antocianinas	36
6.2 Otimização multivariada.....	38
6.3 Caracterizações do extrato obtido no ponto ótimo de extração	47
6.3.1 Capacidade redutora total e atividade antioxidante	47
6.3.2 Perfil de cor em diferentes valores de pH.....	47
6.4 Caracterização das fibras produzidas pela técnica de <i>electrospinning</i>	51
6.4.1 Condutividade elétrica e viscosidade aparente das soluções poliméricas....	51
6.4.2 Morfologia e distribuição do tamanho	52
6.4.3 Eficiência de encapsulação	54
6.4.4 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)	55
6.4.5 Análise termogravimétrica (TGA).....	57
6.4.6 Propriedades térmicas (DSC)	58
6.4.7 Ângulo de contato	60
6.4.8 Atividade antioxidante	62
7. CONCLUSÕES.....	63
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	65

1. INTRODUÇÃO

A procura por embalagens que apresentem rótulos de fácil entendimento e com redução de materiais sintéticos vem despertando o interesse da indústria de alimentos, a fim de desenvolver materiais ativos e inteligentes capazes de interagir com o alimento, evitando a deterioração ou então, indicando o frescor em que o produto se encontra (DOMÍNGUEZ et al., 2018; FILIPINI et al., 2020). As embalagens inteligentes são usadas para informar o consumidor da qualidade do alimento durante seu armazenamento. As embalagens inteligentes têm sido comumente usadas como indicadores colorimétricos sensíveis a variações de pH, com o intuito monitorar o frescor em produtos cárneos, peixes e frutos do mar (GHAANI et al., 2016; ZHANG et al., 2020; MERZ et al., 2020; FILIPINI et al., 2020).

As embalagens que apresentam sensores de variação de pH geralmente são produzidas com o uso de corantes sintéticos tais como azul de bromofenol e vermelho de clorofenol. Contudo, esses corantes são compostos químicos que podem apresentar efeitos nocivos ao ser humano (ZHANG et al., 2014). Nesse sentido, as antocianinas surgem como alternativas de substituição aos corantes sintéticos, uma vez que são pigmentos naturalmente encontrados nos alimentos, não tóxicos e mudam de cor frente a alterações de pH, o que possibilita seu uso como indicadores colorimétricos para o desenvolvimento de embalagens inteligentes. Além disso, as antocianinas são conhecidas pelas suas propriedades biológicas, como elevada atividade antioxidante e antimicrobiana (FIDAN-YARDIMCI et al., 2019; POURJAVAHER et al., 2017; PRIETTO et al., 2018; FILIPINI et al., 2020).

Os frutos de jambolão (*Syzygium cumini* L.), popularmente conhecidos como ameixa preta, ameixa de java ou jamun, são pertencentes à família *Myrtaceae*, uma planta originária da Ásia tropical, mais especificamente da Índia. As antocianinas presentes no jambolão são responsáveis pela intensa cor roxa do fruto (BRITO et al., 2007).

Na literatura vêm sendo estudados diferentes parâmetros, a fim de garantir uma melhor eficiência de extração de antocianinas em frutos, tais como: o uso de diversos solventes, tecnologias de extração, temperaturas e tempos de extração e nos últimos anos, principalmente, as pesquisas têm focado cada vez mais no uso de tecnologias mais limpas e solventes menos poluentes (AQIL et al., 2012). A extração

de compostos de interesse utilizando solventes verdes, por exemplo, é algo que depende não apenas do método utilizado, mas também do binômio tempo/temperatura. Dessa forma, a otimização da extração de compostos por meio de estratégias multivariadas representa uma ferramenta útil e de extrema importância (ALBUQUERQUE et al., 2019; SABINO et al., 2021), pois possibilita a avaliação dos efeitos de forma individual, bem como os efeitos de interação entre as variáveis estudadas. Além disso, é possível adequar modelos matemáticos que descrevam o comportamento das variáveis, os quais são muito úteis para prever as condições ótimas de extração dos compostos (ANGEL et al., 2020; KU & MUN, 2008). Porém, até o presente momento, poucos estudos empregaram métodos multivariados para extração de compostos bioativos em frutos de jambolão (ALBUQUERQUE et al., 2019; SABINO et al., 2021).

Apesar de amplamente conhecidos, os compostos bioativos de frutos, como do jambolão, apresentam considerável instabilidade frente a condições de luz, oxigênio e temperatura necessitando assim técnicas que garantam a proteção de sua estrutura e a consequente manutenção de suas propriedades, como a encapsulação por *electrospinning*, por exemplo.

Para o desenvolvimento de fibras através da técnica de *electrospinning*, vários polímeros podem ser usados, como por exemplo, a zeína, uma proteína anfifílica extraída do milho, conhecida por sua alta resistência térmica, grande barreira ao oxigênio, baixo custo e atóxica (ANTUNES et al., 2017; EVANGELHO et al., 2019; RADÜNZ et al., 2020). As antocianinas extraídas de jambolão e encapsuladas em fibras de zeína podem ser promissoras como indicadores de cor no desenvolvimento de embalagens inteligentes. Até onde sabemos, não existem relatos de estudos voltados à encapsulação de antocianinas de jambolão através da técnica de *electrospinning*, tampouco de sua aplicação em alimentos como indicador de pH em embalagens inteligentes.

Neste sentido, o objetivo deste estudo foi à extração de um extrato fenólico rico em antocianinas de jambolão a partir de um método multivariado e sua incorporação em fibras de zeína utilizando a técnica de *electrospinning*.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

O objetivo deste estudo foi à extração de um extrato fenólico rico em antocianinas do jambolão através de um método multivariado e sua incorporação em fibras de zeína pela técnica de *electrospinning*.

2.2 Objetivos Específicos

- Extrair compostos fenólicos e antocianinas de frutos de jambolão a partir de um método multivariado;
- Caracterizar o extrato obtido de frutos de jambolão;
- Avaliar o perfil colorimétrico do extrato obtido no ponto ótimo de extração;
- Produzir fibras pela técnica de *electrospinning* utilizando zeína, incorporada de extrato fenólico rico em antocianinas extraídas de frutos de jambolão;
- Caracterizar as fibras produzidas pela técnica de *electrospinning*.

3. HIPÓTESES

- A utilização de um método multivariado é capaz de otimizar a extração dos compostos provenientes de frutos de jambolão visando a máxima extração de um extrato fenólico rico em antocianinas;
- É possível encapsular extrato fenólico rico em antocianinas extraído de jambolão pela técnica de *electrospinning*, utilizando zeína como material encapsulante;
- O extrato fenólico rico em antocianinas de jambolão possui potencial para aplicação como indicador de mudança de pH.

4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1 Jambolão

O jambolão (*Syzygium cumini* L.) popularmente conhecido como jamun, jambolana, ameixa preta, jamelão, azeitona roxa entre outros é uma planta pertencente à família Myrtaceae, originária da Índia, e aos poucos foi sendo introduzida para outros países do continente africano e da América Latina com fácil adaptação de solo e clima (GROVER; VATS; RATHI, 2000).

A árvore de *Syzygium cumini* L. (Figura 1a) é uma planta densamente foliada podendo atingir até 15 metros de altura e 4 metros de diâmetro. Suas flores (Figura 1b) são pequenas (7-12 mm), numerosas, de cor branca e perfumadas. Os frutos quando pequenos apresentam cor verde e com o decorrer do processo de desenvolvimento e maturação, vão adquirindo tamanho e coloração variando do verde suave ao roxo intenso, quando totalmente maduros (Figura 1b); o que ocorre em torno de 2 meses (BALIGA et al., 2011). Os frutos de jambolão (Figura 1c) são encontrados em cachos, que apresentam de 4 a 20 frutos, podendo ser encontrados em diferentes partes da copa das árvores.

Quando maduros, os frutos apresentam cor roxa intensa, polpa carnosa e em seu interior uma única semente (Figura 1d), após o completo processo de maturação, apresentam uma combinação de sabor doce, levemente azedo e adstringente, podendo desta forma, serem utilizados para o preparo de geleias, sucos ou então no preparo de vinho (VEIGAS et al., 2007). A adstringência dos frutos é decorrente dos processos químicos de maturação, proveniente dos taninos e compostos fenólicos presentes (BRITO et al., 2017).

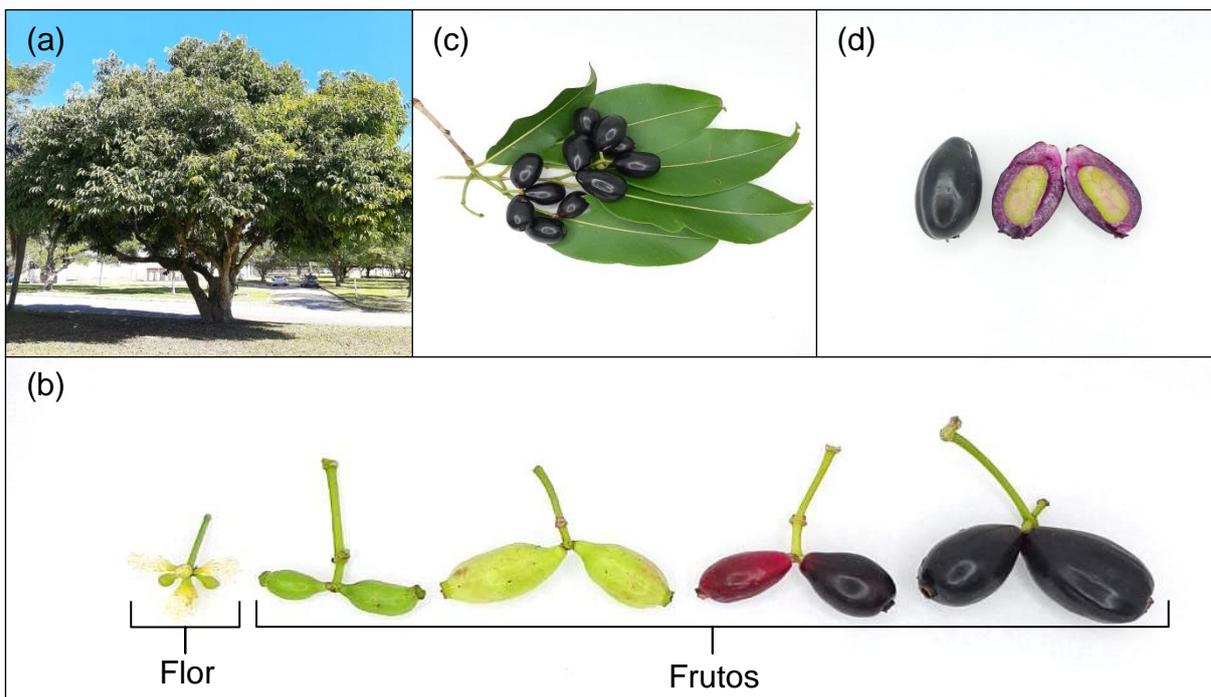


Figura 1: Representação ilustrativa da árvore de jambolão (a), flores e frutos (b), cacho de frutos (c), fruto maduro (exterior e interior) (d).
 Fonte: O autor.

Os frutos de jambolão apresentam uma composição fenólica bastante complexa, formada por ácidos fenólicos, flavonas e flavonoides, como ácido gálico, miricetina e antocianinas, respectivamente; e as combinações desses compostos resultam na coloração e sabor característicos da fruta (FARIA et al., 2011). Dentre os compostos fenólicos presentes no jambolão, destacam-se as antocianinas, compostos pertencentes ao grupo dos flavonoides, que apresentam como característica marcante sua ampla gama de atividades biológicas, como efeito antioxidante, anti-inflamatório, redução do risco de diabetes e inibição do crescimento de células tumorais, especialmente as do cólon (FIDAN-YARDIMCI et al., 2019, FLORES et al., 2015).

4.2 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos são substâncias fitoquímicas oriundas do metabolismo secundário de vegetais e são responsáveis por garantir o crescimento, reprodução e defesa da planta. Essas substâncias são derivadas da fenilalanina e podem ser encontradas conjugadas a um ou mais resíduos de açúcares, que por sua vez são ligados a grupos hidroxila (VEITCH; GRAYER, 2011; DAI; MUMPER,

2010). Na natureza, podem ser encontrados em diversos produtos naturais conferindo características sensoriais únicas a frutas, folhas, tubérculos, sementes e raízes (PANDEY; RIZVI, 2009). As principais classes fenólicas incluem os ácidos fenólicos, flavonoides, estilbenos e ligninas (SHAHIDI; AMBIGAIPALAN, 2015).

Na dieta humana, os fenólicos são absorvidos através da ingestão de vegetais e produtos oriundos de seu processamento, tais como os chocolates, chás, sucos, vinhos, entre outros. Os compostos fenólicos são responsáveis por diversas reações e auxiliam no combate e prevenção de doenças (DAL MAGRO et al., 2016). Uma maior atenção deve-se dar ao fato de que os fenólicos apresentam alto poder antioxidante, podendo ser capazes de combater células cancerígenas. A ação antioxidante é modulada pela presença de ligações conjugadas dos anéis benzenos, característicos da estrutura fenólica, agindo como estabilizantes de radicais livres e processos oxidativos (VEITCH; GRAYER, 2011).

4.3 Antocianinas

O termo antocianina tem origem grega, onde “antho” significa flor e “kiano”, azul, termo que foi primeiramente utilizado por Marquat em 1835 para designar os pigmentos azuis de flores. As antocianinas são compostos pertencentes à subclasse dos flavonoides e juntamente com as clorofilas, carotenoides e as betalaínas, formam o principal grupo de pigmentos encontrados em vegetais. As antocianinas são responsáveis também pelas colorações violeta, vermelha e púrpura de uma grande variedade de espécies do reino vegetal (DAL MAGRO et al., 2016).

As antocianinas são formadas a partir do metabolismo secundário de plantas e são responsáveis por garantir cor, proteção e reprodução das espécies. A estrutura básica das antocianinas é o cátion 2-fenilbenzopirílio (Figura 2a), também denominado de cátion flavílico, variando em diferentes substituições de hidroxila ou metoxila. As antocianinas são glicosídeos e acilglicosídeos de antocianidinas, na forma glicosilada são mais solúveis em água, enquanto que na forma acilada, a solubilidade diminui. Nos alimentos podem ser encontradas em diferentes formas (Figura 2a), sendo que em frutos de jambolão as principais formas encontradas são diferentes agliconas ligadas a um 3,5-diglicosídeo. Cinco das seis agliconas comumente encontradas em alimentos podem facilmente ser encontradas na composição de frutos de jambolão (Figura 2b), tais como: cianidina, delphinidina,

malvinidina, peonidina e petunidina. Diferenças nos teores de cada antocianina podem ser encontradas devido ao tipo de método de extração utilizado bem como às características geográficas e tipo de cultivar (CHAUDHARY & MUKHOPADHYAY, 2013; SARI et al., 2012; LI et al., 2009; BRITO et al., 2007; WU & PRIOR, 2005). A presença de compostos bioativos tais como as antocianinas são de grande interesse para pesquisadores, pois estão relacionados à redução de doenças cardiovasculares e de alguns tipos de cânceres (ANANGA et al., 2013). Além disso, as antocianinas podem ser utilizadas como corantes naturais em alimentos e bebidas; porém, sua utilização é restrita, devido à baixa estabilidade em meios aquosos e pH superior a 2 (ANANGA et al., 2013).

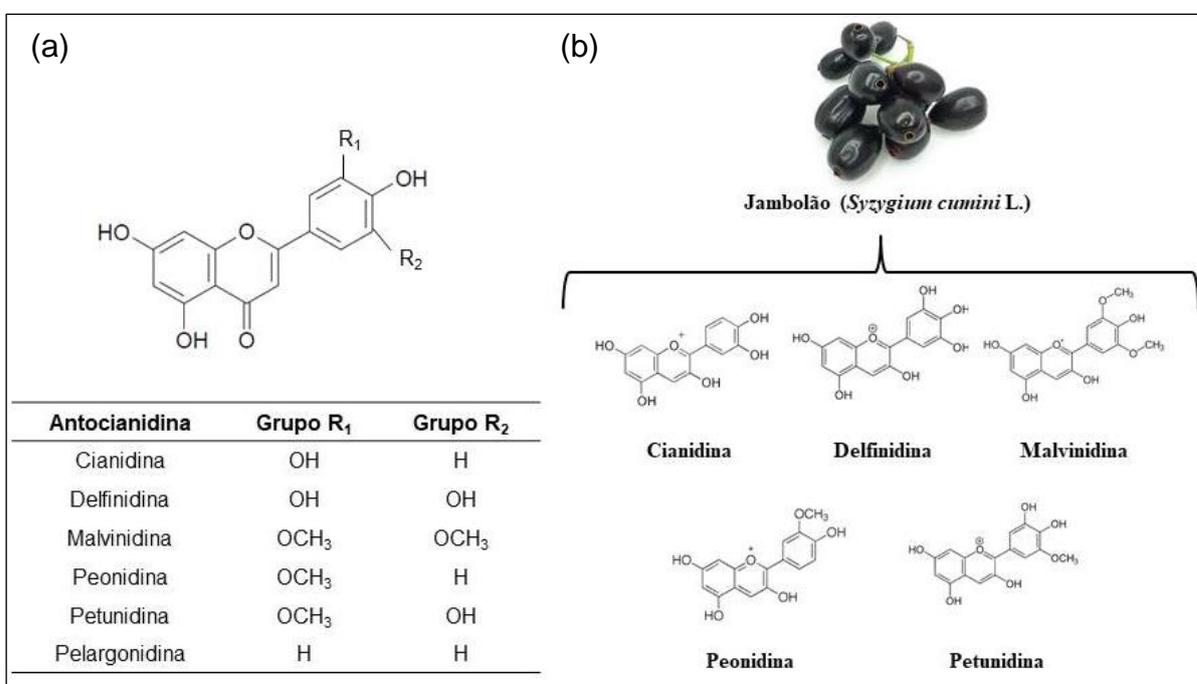


Figura 2: (a) Estrutura básica das antocianinas e diferentes formas encontradas em vegetais. (b) principais antocianinas encontradas em frutos de jambolão.
Fonte: Adaptado de Sari et al., 2009.

As variações de coloração das soluções de antocianinas e antocianidinas estão diretamente ligadas a mudanças estruturais nas moléculas. As soluções quando submetidas a alterações de pH sofrem transformações estruturais e com isso a coloração das soluções altera, conforme apresentado na Figura 3. Essa variação colorimétrica atribuída as antocianinas em diferentes pH, é de grande interesse para a elaboração de embalagens inteligentes (GHAANI et al., 2016; ANANGA et al., 2013).

As antocianinas quando em soluções aquosas, podem ser encontradas na forma de cátion flavílio, base quinoidal, carbinol pseudobase e a chalcona (Figura 3) (ANANGA et al., 2013). Em soluções com pH inferior a 3, as antocianinas apresentam-se na forma de cátion flavílio e de cor vermelha. Em pH 4 e 5 ocorre a formação de carbinol pseudobase de coloração incolor e conforme o pH da solução é aumentado, ocorre a formação da base quinoidal de coloração violeta (pH 6-7), com posterior formação da base quinoidal aniônica de coloração azul (pH 7-8) e por fim, a formação de chalcona de coloração amarelo indicando a degradação da molécula (ANANGA et al., 2013).

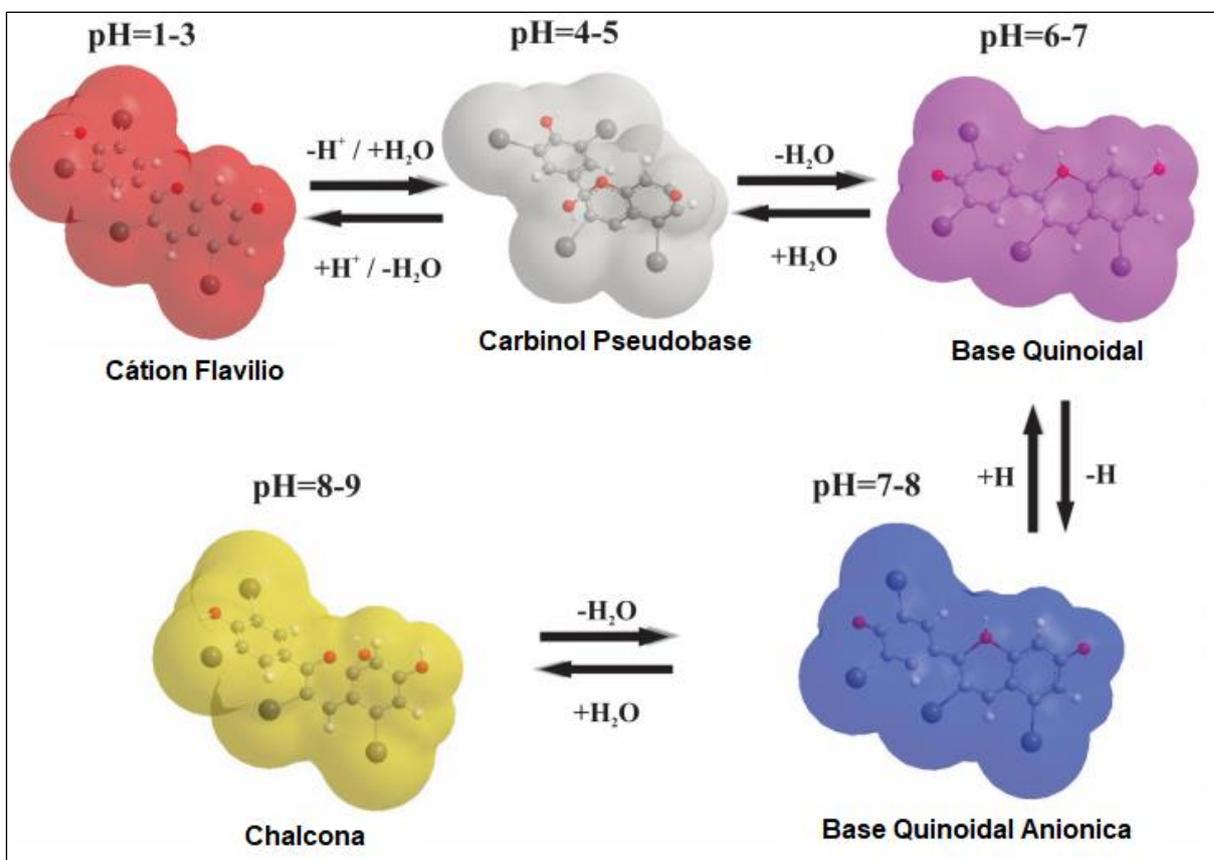


Figura 3: Transformação estrutural das moléculas de antocianinas em extratos aquosos bem como a cor predominante em cada solução.
Fonte: Adaptado de Ananga et al., 2013.

Os principais fatores que influenciam a estabilidade das antocianinas, são o pH, temperatura, luz e a presença de oxigênio; quando expostas a essas condições, as antocianinas podem sofrer degradação. O pH tem influência direta na estabilidade e coloração das antocianinas, as quais apresentam maior estabilidade em soluções mais ácidas do que alcalinas (FRANCIS, 1989). Já em temperaturas

elevadas, ocorre à formação de compostos complexos de coloração castanho-marrom, cuja síntese é atenuada com a presença de oxigênio (CASTAÑEDA-OVANDO et al., 2009). Na presença de luz, as antocianinas sofrem reações fitoquímicas e, quando expostas a oxigênio, são degradadas por meio de oxidação direta ou indireta (LOPES et al., 2007). Segundo Pratas et al. (2010), o oxigênio apresenta efeito ativador nas reações oxidativas, as quais são catalisadas por diferentes enzimas como as polifenoloxidasas e peroxidases. As polifenoloxidasas, na presença de oxigênio, catalisam reações que convertem o ácido clorogênico em seu correspondente *o*-quinona, este intermediário, se condensa com as antocianinas presentes no meio, formando então substâncias complexas e de coloração marrom.

4.4 *Electrospinning*

O *Electrospinning* ou eletrofiação é uma técnica considerada simples e versátil, onde são produzidas fibras com diâmetros na ordem de nanômetros ou micrômetros (ZHANG et al., 2016; GÖNEN et al., 2016).

O funcionamento de uma estação de *electrospinning* é baseado na formação de um campo eletromagnético no qual são formadas as nanofibras (SALLES, 2013). O modelo de uma estação de *electrospinning* é ilustrado na Figura 4 e consiste basicamente em uma fonte de alta tensão, uma bomba infusora com uma seringa (capilar) e um coletor.

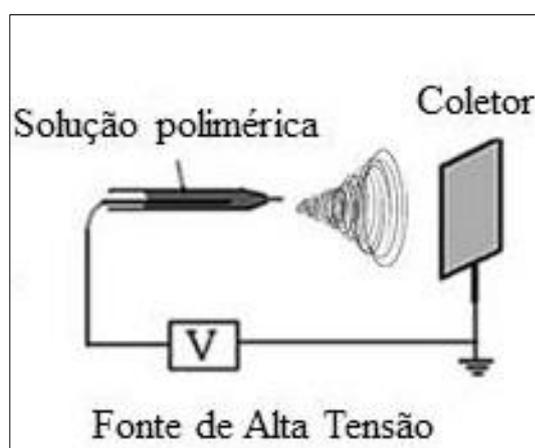


Figura 4: Representação esquemática do processo de *electrospinning*.
Fonte: Adaptado de Bhushani e Anandharamakrishnan (2014).

O processo de eletrofiação ocorre quando uma solução polimérica, contida na seringa, é eletricamente carregada por alta voltagem, formando um jato que sai

da agulha da seringa em direção ao coletor. Um eletrodo positivo é conectado a um tubo capilar e o outro negativo a um coletor, formando desta forma uma diferença de potencial elétrico, entre a ponta do capilar e o coletor. Com o aumento da tensão elétrica aplicada, o campo eletromagnético se intensifica fazendo com que ocorra o alongamento da gota de um fluido criado na ponta do capilar, formando uma fibra sólida no coletor. Durante o processo de alongamento ocorre a evaporação do solvente utilizado na solubilização da solução polimérica (KIM, et al., 2015; FUH et al., 2016).

A produção de nanofibras pela técnica de *electrospinning* é comumente utilizada com o uso de diferentes polímeros (sintéticos e/ou naturais) e solventes. Diversos polímeros naturais mostraram ser eficientes na produção de nanofibras, como quitosana, zeína, gelatina, celulose, colágeno, entre outros, sendo escolhidos de acordo com a aplicação a que se deseja destinar (BHARDWAJ, KUNDU, 2010).

A zeína é uma proteína de origem vegetal, extraída do milho e que apresenta grande potencial como material polimérico para a produção de materiais a partir da técnica de *electrospinning*. A zeína é insolúvel em água, acetona e álcoois anidros, porém solúvel em álcoois (60, 70 e 80%), éter etílico, solução alcalina (pH 11 ou superior) e glicóis (PRASANNA, 2001). Pesquisas sobre encapsulação de compostos bioativos utilizando nanofibras de zeínas, produzidas pela técnica de *electrospinning*, reportaram o aumento da estabilidade e da biodisponibilidade dos compostos encapsulados, tais como ácido gálico (NEO et al., 2013), ácido ferúlico (YANG et al., 2013), tanino (MORI et al., 2014), óleo essencial de eucalipto (ANTUNES et al., 2017), ácido fólico (EVANGELHO et al., 2019), antocianinas de repolho roxo e tegumentos de feijão preto (PRIETTO et al., 2018), óleo essencial de laranja (KRINGEL et al., 2020) e extrato de jabuticaba (AVILA et al., 2020).

4.5 Embalagens ativas e inteligentes

As embalagens de alimentos têm como função prolongar a vida útil, evitando perdas na produção, transporte, comercialização e consumo. As embalagens são responsáveis por garantir proteção, conservação e apresentam a função de identificar, atrair e instruir o consumidor sobre o tipo de produto embalado (EVANGELHISTA, 2008). Dentre os tipos de embalagens para alimentos, destacam-se as embalagens ativas e inteligentes, produzidas a partir de diferentes técnicas e

polímeros que podem ser oriundos de fontes biodegradáveis como o amido (MARIS et al., 2017), derivados de celulose (DICASTILLO et al., 2016), proteínas (BERISTAIN-BAUZA et al., 2017) entre outros.

As embalagens ativas são aquelas incorporadas de algum tipo de composto bioativo com finalidade de melhorar as características de um determinado alimento acondicionado. Essas embalagens atuam diretamente com o alimento, absorvendo ou liberando determinada substância e garantindo proteção contra elementos externos, podendo ser utilizados diferentes compostos com ação antimicrobiana ou antioxidante, absorvedores de oxigênio, de etileno, de umidade, de odores ou sabores, entre outras funcionalidades (BHUSHANI, ANANDHARAMAKRISHNAN, 2014; SCHAEFER, CHEUNG, 2018).

Por sua vez, as embalagens inteligentes são aquelas que monitoram o alimento e são responsáveis por fornecer informações sobre a qualidade do produto embalado durante o transporte e o armazenamento. As principais funções de uma embalagem inteligente são: perceber, detectar e rastrear, registrar e comunicar certos tipos de informações atuando como indicadores de temperaturas, detectores de gás, monitoramento de frescor através de alterações de pH, ou então como indicadores de amadurecimento (PRASADI et al., 2014; REALINI et al., 2014; SCHAEFER, CHEUNG, 2018). O uso de embalagens inteligentes incorporadas de antocianinas obtidas a partir de fontes naturais já é relatado na literatura (CHEN et al., 2020; ZHANG et al., 2020; MERZ et al., 2020), a principal finalidade desta embalagem é indicar o frescor em que o alimento se encontra através da alteração de pH.

5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Material

O experimento foi conduzido no Laboratório de Frutas e Hortaliças do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, da Faculdade de Agronomia “Eliseu Maciel”, da Universidade Federal de Pelotas, situado no Campus Capão do Leão/RS. Os frutos de jambolão foram colhidos na cidade de Capão do Leão, Rio Grande do Sul, Brasil (31°80’15”S e 52°41’57”W). Etanol P.A. foi adquirido da Synth, ácido fórmico adquirido da Sigma-Aldrich (grau HPLC, CAS: 64-18-6) e acetonitrila da J. T. Baker (grau HPLC, CAS: 75-05-8). A zeína foi obtida da Sigma-Aldrich,

Brasil (97% pureza, CAS: 9010-66-6). A água ultrapura foi obtida pelo sistema MegaPurity[®] da MecLab (Jacareí, Brasil).

5.2 Métodos

5.2.1 Preparo da matéria-prima

Para a obtenção do jambolão liofilizado, os frutos de jambolão foram colhidos e imediatamente lavados e higienizados em solução de hipoclorito de sódio a 150 ppm por 10 min. As sementes foram removidas, e a casca e a polpa foram congeladas em ultra-freezer por 24 h, em seguida foram secas em liofilizador (Liotop K 108) e moídas em moinho (modelo Hamilton Beach) para a obtenção de um pó. O pó de jambolão liofilizado foi armazenado em ultra-freezer (-70 °C) em frascos protegidos da luz e umidade até a realização das análises.

5.2.2 Otimização multivariada da extração

Para o processo de otimização da extração, foi realizado um planejamento multivariado 2³ completo, com pontos centrais e axiais, composto por 15 tratamentos mais duas repetições do ponto central totalizando 17 experimentos. As variáveis investigadas bem como os níveis codificados e decodificados estão apresentadas na Tabela 1. As variáveis dependentes foram: identificação e quantificação das antocianinas presentes no extrato por HPLC, atividade antioxidante, compostos fenólicos totais, e perfil de cor em diferentes pH.

Tabela 1: Variáveis e níveis estudadas no planejamento multivariado.

Variáveis (unidades)	Níveis codificados e decodificados				
	-1,68	-1	0	1	1,68
X1 - Temperatura (°C)	30	43,16	62,50	81,85	95,00
X2 - Tempo (min)	5	28,30	62,50	96,70	120,00
X3 - % etanol/água (v/v)	0	20,20	50,00	79,80	100,00

O processo de extração foi baseado na metodologia proposta por Zhang et al. (2020), com algumas modificações. Resumidamente, 0,1 g de jambolão liofilizado foi adicionado de 15 mL de solução extratora (etanol/água, em concentrações conforme a matriz experimental do planejamento). Todas as soluções extratoras foram acidificadas com ácido fórmico até pH 2,5. Em seguida, os tubos foram levados a banho termostático (Velp Scientifica, Enzymatic Digester-GDE, Itália) com agitação

em 300 rpm, com temperatura e tempo de acordo com a matriz experimental. Após, as soluções foram centrifugadas (Eppendorf Centrífuga 5430 R, Alemanha) a 3226 x g por 10 min em temperatura de 4 °C. Os extratos líquidos foram filtrados em filtro de nylon hidrofílico com membranas de 0,22 µm de porosidade e mantidos sob congelamento à -70 °C em ultrafreezer até o momento das análises por HPLC-ESI-QTOF-MS/MS. Os experimentos foram realizados de forma aleatória.

As respostas investigadas foram às áreas dos picos cromatográficos das antocianinas identificadas nos extratos: delphinidina 3,5-diglicosídeo/digalactosídeo (1) (Del3,5D(1)), petunidina 3,5-diglicosídeo/digalactosídeo (1) (Pet3,5D(1)), delphinidina 3,5-diglicosídeo/digalactosídeo (2) (Del3,5D (2)), petunidina 3,5-diglicosídeo/digalactosídeo (2) (Pet3,5D(2)), malvinidina 3,5-diglicosídeo (Mal3,5D) e petunidina 3-glicosídeo (Pet3G).

Os resultados foram analisados quanto à possibilidade de ajuste de modelos matemáticos, através da análise de variância, para realizar a predição das condições ótimas de extração. A condição ótima predita foi executada experimentalmente, em triplicata, e os resultados foram comparados por teste t, com 95% de confiança. Empregando a condição ótima de extração, as antocianinas extraídas de jambolão foram quantificadas.

5.2.3 Identificação e quantificação dos compostos por HPLC-MS

Os extratos de antocianinas obtidos no planejamento de otimização foram identificados e quantificados utilizando um sistema HPLC (Shimadzu, Kyoto, Japão) equipado com uma coluna Cogent Bidentate C₁₈ (100 mm x 2,1 mm x 2,2 µm ID, MicroSolv Technology Corporation, Greater Wilmington NC, EUA) e acoplado a um detector de espectrometria de massa de tempo de voo quadrupolo (Modelo Q-TOF-MSD, Impact HD, Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha) com uma fonte de ionização por eletropulverização (ESI). As condições cromatográficas e ESI-Q-TOF-MS/MS foram realizadas de acordo com Siebeneichler et al. (2020). Resumidamente, foram utilizados os seguintes parâmetros: temperatura da coluna, 40 °C; volume de injeção, 10 µL; taxa de fluxo, 0,2 mL.min⁻¹; fase móvel, água acidificada com ácido fórmico 0,5% (fase A) e acetonitrila acidificada com ácido fórmico 0,5% (fase B), com o seguinte gradiente de programação de eluição: 0,00-2,00 min, 10% B; 2,01-10,00 min, 75% B; 10,01-15,00 min, 75% B; 15,01-18,00 min, 90% B; 18,01-21,00 min,

90% B; 21,01-23,00 min, 10% B; 23,01-30,00 min 10% B. O espectrômetro de massa foi operado no modo de ionização positiva. Os espectros foram adquiridos em uma faixa de m/z 50-1200. As condições de operação foram: tensão capilar, 4,5 kV; fluxo de N_2 do gás de secagem de $9,0 \text{ L min}^{-1}$; temperatura do vaporizador $200 \text{ }^\circ\text{C}$; pressão do gás de nebulização, 2,0 Bar; RF de colisão, 500 Vpp; tempo de transferência, $60 \text{ } \mu\text{s}$; armazenamento pré-pulso $5,0 \text{ } \mu\text{s}$. O equipamento foi calibrado em formato de sódio (10 mmol L^{-1}).

5.2.4 Validação do método de análise por HLPC-ESI-QTOF-MS/MS

A quantificação dos compostos foi realizada por curva analítica externa, empregando o padrão analítico de delphinidina (pureza > 97%, marca Extrasynthese, Genay, França). A linearidade foi avaliada com padrão na faixa de limite de quantificação ($1,25 \text{ ng ml}^{-1}$ até 1000 ng ml^{-1}), com 6 pontos equidistantes, em triplicatas aleatórias. A qualidade da curva analítica foi confirmada através da avaliação do ajuste do modelo (valores de F menores que o F crítico), da dispersão aleatória dos resíduos e da significância da regressão (95% de confiança), o modelo apresentou $R^2 = 0,995$. O limite de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ) foi determinado como 3 e 6 vezes a resposta do sinal ruído, respectivamente, com coeficiente de variação de precisão abaixo de 15% (obtendo-se $0,6 \text{ ng ml}^{-1}$ para o LOD e $1,25 \text{ ng ml}^{-1}$ para o LOQ). A precisão no dia e entre dias da análise foi realizada através da avaliação do padrão analítico de delphinidina e de três antocianinas naturalmente presentes em diferentes concentrações do extrato de jambolão (petunidina 3-glicosídeo, malvinidina 3,5-diglicosídeo e delphinidina 3,5-diglicosídeo), em três níveis (LOQ, ponto intermediário e ponto máximo da curva). A precisão no dia da análise foi realizada com 9 repetições e apresentou desvio padrão relativo menor que 12,6% para o nível de limite de quantificação e menor que 6,8% para os demais níveis. A precisão entre os dias da análise foi realizada em três dias, com seis repetições em cada dia, o desvio padrão relativo para o limite de quantificação foi menor que 16% e para os demais níveis foi de no máximo 6%, confirmando que o método é adequado para a quantificação.

5.2.5 Caracterizações do extrato obtido no ponto ótimo de extração

5.2.5.1 Potencial redutor total e atividade antioxidante

O potencial redutor total foi determinado usando o método colorimétrico de Folin-Ciocalteu (SINGLETON & ROSSI, 1965), para isto, foram usadas soluções de ácido gálico nas concentrações de 0 a 200 µg/mL para a construção da curva de calibração ($R^2 = 0,998$) e os resultados foram expressos em mg equivalentes de ácido gálico (mgGAE/100g) em jambolão.

A atividade antioxidante do extrato de jambolão no ponto ótimo de extração, foi avaliada pelo método de inibição do radical DPPH (BRAND-WILLIAMS et al., 1995) e do radical ABTS^{•+} (RE, 1999). Para o método do DPPH, primeiramente, a solução estoque foi preparada usando 12 mg de DPPH em 50 mL de metanol. Em seguida, retirou-se uma alíquota dessa solução (10 mL) e diluiu-se em 45 mL de metanol, sendo a absorbância ajustada para $1,10 \pm 0,02$ a 515 nm. Após, alíquotas de 100 µL do extrato foram adicionados de 3,9 mL de solução de DPPH e agitados em um vórtex por 30 segundos e, em seguida, mantido no escuro em temperatura ambiente (25 ± 2 °C) por 2 horas e meia. A absorbância das amostras foi medida em 515 nm em espectrofotômetro (Jenway Model 6705 Scanning UV/Visible Spectrophotometers), utilizando cubeta de quartzo e o resultado foi expresso em porcentagem de inibição, de acordo com a Equação 1.

$$Inibição (\%) = \frac{Abs\ branco - Abs\ amostra}{Abs\ branco} * 100$$

(Eq.1)

Para o radical ABTS^{•+}, a solução estoque de ABTS^{•+} 7,4 mM foi preparada utilizando 96 mg de ABTS^{•+} em 25 mL de água destilada. A solução de persulfato de potássio 140 mM foi preparada utilizando 378.4 mg de persulfato de potássio dissolvido em água destilada, até volume final de 10 mL. Após, realizou-se o preparo da solução do radical ABTS^{•+} onde, 5 mL de solução estoque de ABTS^{•+} foi misturada com 88 µL de persulfato de potássio 140 mM e mantida no escuro por 16 horas em temperatura ambiente (25 ± 2 °C), em seguida, 1 mL da solução de ABTS^{•+} foi diluída em 90 mL de etanol e a absorbância foi ajustada para $0,70 \pm 0,05$ nm a 734 nm. Para a reação, alíquotas de 30 µL do extrato foram colocados em

tubos separados e, em seguida, foram adicionados 3 mL da solução ABTS⁺, agitados em vórtex por 30 segundos e deixados no escuro por 30 minutos em temperatura ambiente (25 ± 2 °C). A absorbância foi medida a 734 nm em espectrofotômetro (Jenway Model 6705 Scanning UV/Visible Spectrophotometers) utilizando cubeta de quartzo e o resultado expresso em percentagem de inibição conforme a Equação 1.

5.2.5.2 Perfil de cor em diferentes valores de pH

O perfil de cor do extrato obtido no ponto ótimo em diferentes valores de pH foi avaliado por espectrometria na região do visível, conforme metodologia descrita por Chen et al. (2020), com algumas modificações. Para a análise dos espectros, foram preparadas diferentes soluções com o pH variando de 1 a 14. Para as soluções de pH 1 e 2 utilizou-se uma solução de HCL 1 mol L⁻¹ e para as soluções de pH variando de 3 a 14 utilizou-se soluções de NaOH de 1 mol L⁻¹ e 0,2 mol L⁻¹. As soluções foram avaliadas por espectrofotômetro (Jenway Model 6705 Scanning UV/Visible, Spectrophotometers) em uma faixa de comprimento de onda de 400–800 nm. Os dados obtidos foram tratados utilizando o programa SigmaPlot[®] versão 12.0 (Fystat software, San Jose, CA, EUA).

As soluções de extrato de jambolão obtidas no ponto ótimo de extração, utilizadas para as análises dos espectros em diferentes valores de pH (1 a 14) também foram avaliadas pelos parâmetros de cor L (luminosidade), croma a (verde (-) ao vermelho (+)) e croma b (azul (-) ao amarelo (+)), utilizando um colorímetro (MINOLTA, CR 400, Japão), com 6 medições para cada solução de extrato. A diferença total de cor (ΔE) foi calculada em relação à solução obtida no ponto ótimo de extração (pH do extrato obtido foi de 2,5) usando a seguinte Equação 2.

$$\Delta E = \sqrt{(L - L_0)^2 + (a - a_0)^2 + (b - b_0)^2} \quad (\text{Eq. 2})$$

Onde L, a e b são os parâmetros de cores das soluções de antocianinas em diferentes soluções de pH (1-14); L₀, a₀ e b₀ são parâmetros de cor do controle a partir do extrato obtido no ponto ótimo de extração (L₀= 32,05; a₀= 6,65; b₀= 0,09). As fotografias das soluções do ponto ótimo, em diferentes valores de pH (1-14),

foram tiradas sob mesma condição de iluminação e usadas para montar seu perfil colorimétrico.

5.2.6 Produção das fibras pela técnica de *electrospinning*

5.2.6.1 Preparo do extrato para eletrofiação

O extrato de jambolão liofilizado foi obtido através do desenho experimental descrito anteriormente (seção 5.2.2) e segundo metodologia proposta por Zhang et al. (2020), com modificações. Resumidamente, 3,6 gramas de jambolão liofilizado foi misturado em 540 mL de água ultra pura acidificada com ácido fórmico (pH 2,5). As soluções foram levadas a um banho termostático (Velp Scientifica, Enzymatic Digester-GDE, Itália) com agitação em 300 rpm a 30 °C durante 5 minutos; em seguida, as soluções foram centrifugadas (Eppendorf Centrífuga 5430 R, Alemanha) a 3226 x g por 10 min, a 4 °C. Os extratos líquidos foram filtrados em algodão, congelados em ultrafreezer a -70 °C por 24 h e então liofilizados. Após a liofilização, o extrato resultante foi pesado para fins de cálculo de rendimento e então armazenado até o momento das análises. O rendimento do extrato de jambolão liofilizado foi de 76%.

5.2.6.2 Preparo das soluções poliméricas para *electrospinning*

A partir dos resultados obtidos no ponto ótimo de extração, do delineamento experimental obtido na seção 5.2.2, foram produzidas as fibras de zeína contendo o extrato de jambolão, conforme a Tabela 2. O experimento consta de 4 tratamentos, composta por diferentes concentrações de extrato de jambolão incorporados às solução polimérica de zeína para produção das fibras pela técnica de *electrospinning*.

Tabela 2: Delineamento experimental para a produção de fibras de zeína incorporadas de extrato de jambolão.

Tratamento	Variáveis independentes	Variáveis dependentes
	Extrato de jambolão (%;p/p)*	Avaliação da solução polimérica
1	0	Condutividade da solução
2	20	Viscosidade da solução
3	30	Avaliação das fibras**
4	40	MEV e distribuição de tamanho FTIR TGA DSC Eficiência de encapsulação Ângulo de contato Atividade antioxidante

*Peso de extrato de jambolão liofilizado em relação ao peso de zeína; **MEV: Microscopia eletrônica de varredura; FTIR: Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier; TGA: Análise termogravimétrica; DSC: Propriedades térmicas através da análise de varredura por diferencial de calorimetria.

A solução de zeína, na concentração de 30% (p/v), foi preparada, pela dissolução do polímero em etanol 83% (v/v), sob agitação magnética durante 2 h. Posteriormente, o extrato de jambolão nas concentrações de 20, 30 e 40% (p/p) foi homogeneizado em etanol 83% (v/v) durante 30 min e misturados à solução de zeína, descrita anteriormente.

5.2.6.3 Caracterização das soluções poliméricas

As soluções poliméricas foram caracterizadas quanto à viscosidade aparente e condutividade elétrica. A viscosidade aparente foi determinada em um viscosímetro digital Brookfield com spindle n°18 (Model DV–II, EUA). A condutividade elétrica foi avaliada através de um condutivímetro (Medidor EC150 de condutividade em $\mu\text{S}/\text{cm}$ & mS/cm). Aproximadamente 10 mL de amostra foram necessárias para cada análise, sendo todas estas análises realizadas em triplicata e em temperatura ambiente (± 23 °C).

5.2.6.4 Produção das fibras pela técnica de *electrospinning*

As soluções poliméricas foram preparadas conforme descrito na sessão 5.2.6.2. As soluções foram depositadas em uma seringa de plástico de 3 mL, conectada a uma agulha de aço inoxidável de 0,8 mm de diâmetro, a uma distância de 16 cm entre a agulha e coletor. A solução foi bombeada em uma taxa de fluxo de $0,6 \text{ mL}\cdot\text{h}^{-1}$ em uma bomba de infusão (KD Scientific, Modelo 100, Holliston,

Inglaterra), sob uma tensão de 23 kV no sistema (Instor, INSES-HV30, Brasil). O coletor foi revestido com papel alumínio para facilitar a retirada das fibras após o término do processo de eletrofição (EVANGELHO et al., 2019). O processo de eletrofição foi conduzido sob temperatura controlada (20 ± 2 °C) e umidade relativa fixada em $45 \pm 2\%$, com o auxílio de um equipamento de ar condicionado e um desumidificador.

5.2.7 Caracterização das fibras produzidas pela técnica de *electrospinning*

5.2.7.1 Morfologia e distribuição de tamanho das fibras

A morfologia das fibras obtidas foi avaliada por meio de microscópio eletrônico de varredura (MEV) (Jeol, JSM - 6610LV, EUA). Uma pequena parte do material foi fixada em *stub*, por meio de fita dupla-face e, recoberta com ouro por meio de um metalizador (Sputtering, Denton Vacuum Desk V, EUA), a análise foi realizada com uma aceleração de tensão de 10 kV. O diâmetro médio e a distribuição do tamanho das fibras foram analisadas a partir da medição aleatória de 50 fibras por meio do software ImageJ (versão 2015, EUA), através das imagens obtidas do MEV.

5.2.7.2 Eficiência de encapsulação

A eficiência de encapsulação (EE) do extrato de jambolão incorporado em fibras de zeína em diferentes concentrações foi avaliada por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). As fibras devidamente incorporadas com extrato (10 mg), foram colocadas em tubos eppendorf (2 mL), misturadas com 1,5 mL de etanol 83% (v/v), juntamente com 10 µL de ácido tricloroacético (TCA) para favorecer a precipitação das proteínas, em seguida, as soluções foram agitadas em vórtex por 1 minuto, para completa dissolução das fibras. As amostras foram centrifugadas a 6000 rpm por 10 minutos a 4 °C (Centrífuga 5430 R, Eppendorf AG, Alemanha). Os sobrenadantes foram filtrados em filtro de nylon hidrofílico com membranas de 0,22 µm de porosidade e imediatamente analisados por HPLC-ESI-QTOF-MSMS. O processo de identificação e quantificação foi realizado conforme descrito na sessão 5.2.3. A identificação dos compostos antociânicos presentes nas fibras de zeína foi confirmada pela comparação dos espectros de massas com o padrão analítico, e

através de uma curva analítica de calibração. A EE (%) foi calculada conforme a Equação 3.

$$EE = \left(\frac{\text{Quantidade de composto na fibra}}{\text{Quantidade real de composto}} \right) * 100$$

(Eq. 3)

5.2.7.3 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

A zeína pura, o extrato de jambolão e as fibras contendo as diferentes concentrações de extrato foram avaliadas em um espectrômetro na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) (Shimadzu, IRAffinity, Japão), com pastilha de KBr. Foram realizadas varreduras na faixa espectral de 400 a 4000 cm^{-1} e recolhidas 100 leituras a uma resolução de 2 cm^{-1} .

5.2.7.4 Análise termogravimétrica (TGA)

As análises termogravimétricas das fibras e compostos puros (zeína e extrato de jambolão liofilizado) foram realizadas em analisador termogravimétrico (SDT Q600, marca TA Instruments, modelo TA60, EUA). As amostras (cerca de 5 mg) foram aquecidas em cápsulas de platina entre 30 e 600 $^{\circ}\text{C}$, sob fluxo de nitrogênio de 50 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$, a uma taxa de aquecimento de 50 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$. Uma cápsula de platina vazia foi usada como referência.

5.2.7.5 Propriedades térmicas (DSC)

As propriedades térmicas de jambolão liofilizado e fibras com diferentes proporções de extrato de jambolão/zeína foram avaliadas usando um calorímetro de varredura diferencial (DSC 2010, TA Instruments, New Castle, EUA). Uma amostra de 3 mg foi colocada em cadinhos de alumínio fechados herméticamente. As amostras foram aquecidas a uma taxa de aquecimento de 0,5 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$, na faixa de 30 $^{\circ}\text{C}$ a 250 $^{\circ}\text{C}$ sob fluxo de nitrogênio (50 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$).

5.2.7.6 Ângulo de contato das fibras

A hidrofiliabilidade das membranas de zeína obtidas pela técnica de *electrospinning* foram avaliadas através da medição do ângulo de contato, utilizando goniômetro (Labometric, LB-DX) em temperatura ambiente (20 $^{\circ}\text{C}$). As membranas

foram depositas sobre lâminas de vidro para posterior análise. Uma gota de água destilada de 7 μ L foi colocada sobre a amostra. O tempo para absorção da água foi registrado em câmera digital. Duas fotos foram registradas, a primeira no momento exato em que a gota caiu e a segunda após os 3 segundos em que a gota permaneceu em contato com a membrana.

5.2.7.7 Atividade antioxidante

A atividade antioxidante das fibras, com e sem o extrato, foram avaliadas em comparação com o radical DPPH (OLIVEIRA et al., 2020) e o radical ABTS^{•+} (FONSECA et al., 2020). O preparo dos radicais DPPH e ABTS^{•+} foi realizado conforme descrito no item 5.2.5.1. As amostras (1 mg) foram pesadas em tubos separados, e em seguida foi adicionado 3,9 mL de DPPH previamente preparado, e depois agitados em um vórtex por 30 segundos e, em seguida, mantido no escuro em temperatura ambiente (25 ± 2 °C) durante 2 horas e meia. A absorbância das amostras foi medida em 515 nm (SpectraMax 190, Leitor de Microplaca, EUA) e o resultado foi expresso em porcentagem de inibição, de acordo com a Equação 1.

Para o radical ABTS^{•+}, as amostras (1 mg) foram pesadas em tubos separados e, em seguida, foram adicionados 3 mL da solução ABTS^{•+} previamente preparado. A solução foi agitada em vórtex por 30 segundos e deixados no escuro por 30 minutos em temperatura ambiente (25 ± 2 °C). A absorbância foi medida a 734 nm e os resultados apresentados como porcentagens de inibição conforme a Equação 1.

5.2.8 Análise estatística

Os resultados obtidos foram analisados por meio de análise de variância, com 95% de confiança, utilizando os softwares estatística 7.0 e Design Expert 6.0.4.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Antocianinas

Seis antocianinas foram identificadas nos extratos de jambolão (Tabela 3). Com base nos valores de massa experimental e perfis de fragmentação, o pico 1 foi identificado como o composto delphinidina 3,5-diglicosídeo ou digalactosídeo (Del 3,5D (1)), com m/z 627 $[M]^+$, o pico 2 como o composto petunidina 3,5-diglicosídeo ou digalactosídeo (Pet 3,5 D(1)), (m/z 641 $[M]^+$), o pico 3 como delphinidina 3,5-diglicosídeo ou digalactosídeo (Del 3,5D (2)), (m/z 627 $[M]^+$), o pico 4 como petunidina 3,5-diglicosídeo ou digalactosídeo (Pet 3,5 D(2)), (m/z 641 $[M]^+$), o pico 5 como malvinidina 3,5-diglicosídeo (m/z 655 $[M]^+$ (Mal 3,5D)) e o pico 6 identificado como petunidina 3-glicosídeo (m/z 479 $[M]^+$ (Pet 3G)). Os fragmentos obtidos estão apresentados na Tabela 3 e corroboram com resultados obtidos para antocianinas encontradas em outros estudos de jambolão (FARIA et al., 2011; LI et al., 2009; SABINO et al., 2021; BRITO et al., 2007) e em outras frutas como uva (WU & PRIOR, 2005). O cromatograma de antocianinas identificadas nos frutos de jambolão está apresentado na Figura 5.

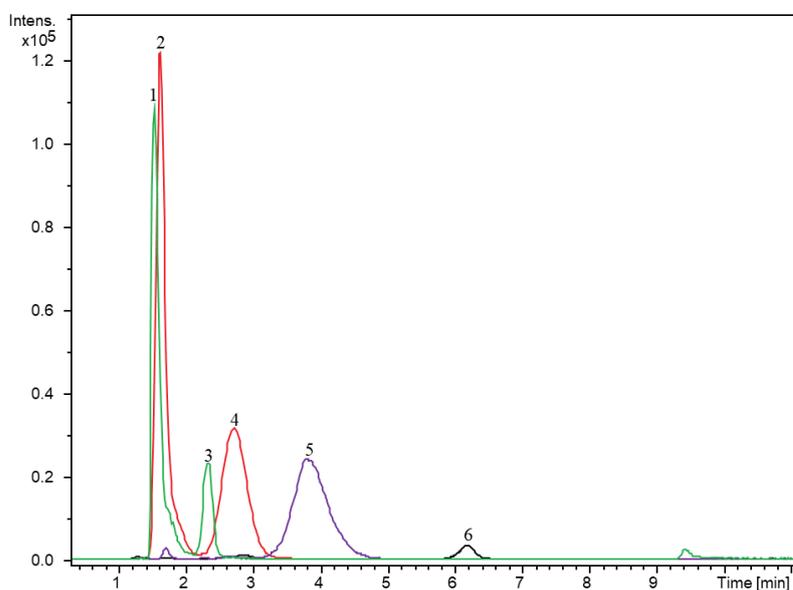


Figura 5: Cromatograma de HPLC com o perfil de antocianina do jambolão da condição de extração do ponto central do planejamento multivariado (temperatura de 62,5 °C, tempo de extração de 62,5 minutos e concentração de etanol/água de 50%).

Tabela 3: Identificação das antocianinas presentes em extratos de jambolão.

Número do pico	Compostos identificados	Formula Química	Rt* (min)	Massa experimental (H ⁺)	Massa teórica	Erro da massa (Δ , ppm)	M _{sigma}	Fragmentos	Energia
1	Delfinidina 3,5-diglicosideo/digalactosideo (1)	C ₂₇ H ₃₁ O ₁₇	1,61	627,1564	627,1556	-1,3	25	465/303	38,8
2	Petunidina 3,5-diglicosideo/digalactosideo (1)	C ₂₈ H ₃₃ O ₁₇	1,64	641,1721	641,1712	-1,3	26,1	479/317	39,2
3	Delfinidina 3,5-diglicosideo/digalactosideo (2)	C ₂₇ H ₃₁ O ₁₇	2,33	627,1553	627,1556	0,4	47,1	465/303	38,8
4	Petunidina 3,5-diglicosideo/digalactosideo (2)	C ₂₈ H ₃₃ O ₁₇	2,66	641,1703	641,1712	1,5	51,8	479/317	39,2
5	Malvinidina 3,5-diglicosideo	C ₂₉ H ₃₅ O ₁₇	3,68	655,1861	655,1869	1,2	28,7	493/331	39,7
6	Petunidina 3-glicosideo	C ₂₂ H ₂₃ O ₁₂	6,23	479,1173	479,1184	2,2	8,2	317	34,0

*Rt = Tempo de retenção.

6.2 Otimização multivariada

As variáveis e níveis estudados estão apresentados na Tabela 4, bem como a área dos picos cromatográficos de cada antocianina identificada nos extratos e a soma das formas isoméricas de Del 3,5D e Pet 3,5D.

Tabela 4: Variáveis codificadas e decodificadas e respostas observadas no planejamento multivariado 2³ para otimização da extração de antocianinas de jambolão.

Experimento	Variáveis decodificadas (variáveis codificadas)			Antocianinas identificadas* (Área**)								
	Temperatura (°C)	Tempo (min)	Etanol (%, v/v)	Del3,5D (1)	Del3,5D (2)	Soma Del3,5D (1+2) ***	Pet3,5D (1)	Pet3,5D (2)	Soma Pet3,5D (1+2) ***	Mal3,5D	Pet3G	Soma ****
1	43,16 (-1)	28,3 (-1)	20,2 (-1)	379,15	297,46	676,61	189,6	582,33	771,93	301,29	24,47	1774,29
2	81,85 (1)	28,3 (-1)	20,2 (-1)	458,63	379,53	838,16	251,54	780,83	1032,37	586,66	38,05	2495,24
3	43,16 (-1)	96,7 (1)	20,2 (-1)	353,87	273,96	627,83	180,11	519,02	699,13	270,63	23,16	1620,75
4	81,85 (1)	96,7 (1)	20,2 (-1)	263,40	201,89	465,29	132,10	395,14	527,24	208,03	15,96	1216,53
5	43,16 (-1)	28,3 (-1)	79,8 (1)	341,20	83,68	424,88	374,58	151,28	525,86	62,16	4,81	1017,70
6	81,85 (1)	28,3 (-1)	79,8 (1)	229,22	55,22	284,44	257,22	100,17	357,39	45,97	3,53	691,32
7	43,16 (-1)	96,7 (1)	79,8 (1)	309,74	72,39	382,13	333,98	141,95	475,93	56,64	5,10	919,81
8	81,85 (1)	96,7 (1)	79,8 (1)	135,30	39,57	174,87	165,91	75,35	241,26	37,08	2,55	455,75
9	30 (-1,68)	62,5 (0)	50 (0)	409,81	140,18	549,99	401,81	267,14	668,95	130,54	10,34	1359,83
10	95 (1,68)	62,5 (0)	50 (0)	138,11	51,32	189,43	151,51	115,57	267,08	63,98	6,61	527,11
11	62,5 (0)	5 (-1,68)	50 (0)	395,12	137,99	533,11	380,64	264,29	644,93	113,48	10,32	1301,83
12	62,5 (0)	120 (1,68)	50 (0)	280,73	99,91	380,64	282,04	184,67	466,71	88,84	9,56	945,75
13	62,5 (0)	62,5 (0)	0 (-1,68)	2,170	620,61	622,78	2,93	643,78	646,71	255,73	14,34	1539,57
14	62,5 (0)	62,5 (0)	100 (1,68)	262,19	53,49	315,68	325,54	98,36	423,9	37,45	4,75	781,79
15	62,5 (0)	62,5 (0)	50 (0)	294,13	98,37	392,5	289,30	185,13	474,43	87,04	8,49	962,45
16	62,5 (0)	62,5 (0)	50 (0)	301,92	97,96	399,88	294,69	185,86	480,55	86,99	10,06	977,47
17	62,5 (0)	62,5 (0)	50 (0)	307,46	102,74	410,20	303,65	199,18	502,83	101,67	9,75	1024,45

*Antocianinas identificadas: Del3,5D(1): Delfinidina 3,5-diglicosídeo/digalactosídeo (1), Pet3,5D(1): Petunidina 3,5-diglicosídeo/digalactosídeo (1), (Del3,5D(2): Delfinidina 3,5-diglicosídeo/digalactosídeo (2), (Pet3,5D(2): Petunidina 3,5-diglicosídeo/digalactosídeo (2), Mal3,5D: Malvinidina 3,5-diglicosídeo, Pet3G: Petunidina 3 glicosídeo. ** Áreas obtidas a partir da média de duplicata em cada experimento.***Soma dos compostos ((Del3,5D(1) e (Del3,5D(2)) e ((Pet3,5D(1) e (Pet3,5D(2))).****Soma total das antocianinas identificadas individualmente.

O aumento da temperatura afetou negativamente o processo de extração, uma vez que reduziu o teor do composto Del3,5D (1) (experimentos 3 e 4, 5 e 6, 7 e 8, 9, 16 e 10), com exceção dos experimentos 1 e 2, onde o aumento da temperatura resultou em leve aumento do teor deste composto, enquanto as demais variáveis permaneciam em seus níveis inferiores. Esses experimentos indicam que a temperatura apresentou efeito de interação negativo com as demais variáveis.

Efeitos de interação negativo também foram relatados por Sabino et al. (2021), ao otimizar um processo de extração de antocianinas em jambolão com líquido pressurizado. Os autores observaram uma maior degradação das antocianinas conforme o aumento da temperatura de extração. Comportamento semelhante foi observado por Patras et al. (2009) que estudaram o efeito do processamento sob alta pressão em purê de amora e morango submetidos a altas temperaturas e observaram que as antocianinas foram significativamente afetadas pela aumento da temperatura de extração.

A variável tempo apresentou efeito negativo (experimentos 1 e 3, 2 e 4, 5 e 7, 6 e 8, e entre os experimentos 11, 16 e 12). O aumento da concentração de etanol na solução extratora também apresentou efeito negativo no processo de extração (experimentos 1 e 5, 2 e 6, 3 e 7, 4 e 8). No entanto, o resultado do experimento 13 (nível -1,68, 0% de etanol) indica que os níveis de etanol utilizados devem ser baixos, mas não devem atingir 0% de etanol para garantir uma maior extração. O experimento que permitiu a maior extração do composto Del3,5D (1) foi o experimento 2 (temperatura de 81,85 °C, tempo de 28,3 min e concentração de etanol/água de 20,2%).

Para o composto isomérico do primeiro, a Del3,5D (2), o aumento da temperatura também acarretou na redução de extração do composto (experimentos 3 e 4, 5 e 6, 7 e 8 e 9 e 10), exceto quando comparados os experimentos 1 e 2, onde as demais variáveis estiveram em seus níveis inferiores. O aumento do tempo também apresentou efeito negativo na extração deste composto. A variável que exerceu maior influência para este composto foi a variável C (concentração de etanol na solução extratora) cujo aumento apresentou efeito negativo (experimentos 1 e 5, 2 e 6, 3 e 7, 4 e 8). A menor concentração de etanol utilizada no desenho experimental foi responsável pela maior extração deste composto (experimento 13).

Para o composto Pet 3,5D (1), o aumento da temperatura mostrou leve efeito positivo, enquanto as demais variáveis estiveram nos níveis inferiores (experimentos 1 e 2). Nas demais condições, o aumento da temperatura influenciou negativamente as respostas (experimentos 3 e 4, 5 e 6, 7 e 8, 9, 16 e 10). Feuereisen et al. (2017) relataram um efeito positivo para a variável temperatura ao avaliar antocianinas em aroeira-vermelha (*Schinus terebinthifolius* Raddi) através de um método multivariado utilizando extração líquida pressurizada. Os autores relataram uma degradação individual dos compostos e conseqüentemente, uma redução da extração conforme a temperatura foi aumentada.

O aumento do tempo apresentou efeito negativo sobre a extração (experimentos 1 e 3, 2 e 4, 5 e 7, 6 e 8, 11, 16 e 12). A variável que exerceu maior influência foi a variável concentração de etanol na solução extratora, com efeito positivo sobre o rendimento de extração para o composto Pet 3,5D (1). Quanto maior é a concentração de etanol, maior é a extração para este composto (experimentos 1 e 5, 2 e 6, 3 e 7 e 4 e 8). No entanto, considerando os experimentos 13, 14 e os pontos centrais (15, 16 e 17), a concentração de etanol apresenta influência positiva de 50 até 80%, acima do qual, impacta na redução do composto Pet 3,5D (1). Sabino et al. (2021) relataram efeito semelhante quando utilizaram etanol como solução extratora, observando uma relação direta entre a concentração de etanol e a extração das antocianinas. Este fato pode ser explicado devido à alta polaridade do etanol, que possibilita uma maior extração e estabilização das antocianinas.

Para o composto Pet3,5D (2), isômero do composto Pet 3,5D (1), os efeitos observados entre as variáveis temperatura e tempo foi semelhante ao observado para Pet3,5D (1); porém, o aumento da concentração de etanol exerceu efeito negativo em todas as condições. Quando considerado a soma dos compostos Pet3,5D (1+2), foi observada a tendência de que todas as variáveis podem ser utilizadas em seus níveis inferiores.

A diferença de comportamento dos compostos Del 3,5D (1) e (2) frente à concentração de etanol na solução extratora (experimentos 13, 14 e 16), bem como dos compostos Pet 3,5D (1) e (2), provavelmente se deve à isomerização molecular que ocorre nas antocianinas nas diferentes formas de extração (CHORFA et al., 2016). Quando considerada a soma dos compostos Del 3,5 D (1+2) e Pet 3,5 D

(1+2), o comportamento da extração se apresenta de forma similar, indicando que no nível extremo inferior (-1,68) da concentração de etanol na solução extratora foi obtido a maior extração dos compostos, quando utilizado a soma de ambos. Possivelmente esse comportamento é observado pelas diferenças entre as antocianinas, decorrentes do número de grupos hidroxílicos presentes na molécula, do tipo de metilação destes grupos, da posição e número de açúcares e dos tipos de ácidos ligados à molécula de antocianina (ANANGA et al., 2013), que podem se apresentar de diferentes formas conforme as condições de extração.

Para a Mal 3,5D, a variável concentração de etanol exerceu efeito linear negativo (experimentos 1 e 5, 2 e 6, 3 e 7 e 4 e 8). A maior concentração deste composto foi obtida quando a temperatura foi levemente aumentada (81,85 °C) e as demais variáveis nos níveis inferiores (experimento 2).

Para o composto Pet 3G, a variável concentração de etanol exerceu influência significativa e seu efeito linear foi negativo. Dessa forma, o aumento da concentração de etanol na solução extratora diminui a extração deste composto (experimentos 1 e 5, 2 e 6, 3 e 7 e 4 e 8). Para a otimização, foi considerada a soma de todas as formas individuais de antocianinas, uma vez que o objetivo é obter o máximo de antocianinas no extrato, sem discriminação entre as diferentes antocianinas encontradas.

Os modelos estabelecidos para explicar as respostas, o teste F para ajuste dos modelos, o teste F para significância das regressões e os coeficientes significativos dos modelos estão apresentados na Tabela 5.

Tabela 5: Modelos matemáticos para descrever as variáveis: coeficientes significativos, teste F para a significância estatística da regressão e a falta de ajuste dos modelos obtidos na otimização multivariada da extração de antocianinas em jambolão.

Respostas	Modelo	Falta de Ajuste		Regressão		Coeficientes significativos* (Erro padrão)				C ²
		F (MS _{lof} / MS _{pe})**	F*** crítico 95%	F (MS _R /MS _r)****	F***** crítico 95%	Intercepto	A Temperatura (°C)	B Tempo (min)	C Etanol (%, v/v)	
Del3,5D (1)	Linear	286,29	19,4	1,93	3,41	-	-	-	-	-
Del3,5D (2)	Quadrático	458,86	19,3	17,13	3,68	100,61 (27,65)	-	-	-135,93 (12,99)	81,03 (14,31)
Del 3,5D (1+2)	Linear	134,36	19,4	13,71	3,41	451,08 (23,01)	-69,95 (25,68)	-60,84 (25,68)	-136,13 (25,68)	-
Pet3,5D (1)	Quadrático	56,96	19,3	8,3	3,68	297,17 (26,73)	-50,72 (12,56)	-31,26 (12,56)	67,45 (12,56)	-50,96 (13,84)
Pet3,5D (2)	Linear	245,67	19,4	14,82	3,41	287,65 (27,67)	-	-	-199,70 (30,88)	-
Pet 3,5D (1+2)	Linear	81,16		8,46		541,6 (30,08)	-	-76,47 (33,57)	-132,25 (33,57)	-
Mal 3,5D	Linear	165,26		6,26		149,07 (24,28)	-	-	-112,24 (27,10)	-
Pet 3G	Linear	71,75		6,39		11,87 (1,57)	-	-	-7,46 (1,76)	-
Soma	Linear	115,51		8,86		1153,63 (77,62)	-	-	-388,08 (86,63)	-

*Os coeficientes A², B², AB, AC e BC não foram significativos para nenhuma das respostas; **MS_{lof} = falta de ajuste do quadrado médio; MS_{pe} = erro puro do quadrado médio; *** Valores de F crítico para a falta de ajuste (modelo linear (11,2) e modelo quadrático (5,2), com 95% de confiança); ****MS_r = regressão do quadrado médio; MS_r = resíduo do quadrado médio; *****Valores de F crítico para a regressão (modelo linear (3,13) e modelo quadrático (9,7), com 95% de confiança).

Todos os modelos das antocianinas apresentaram falta de ajuste para realizar a predição das condições ótimas, inclusive os modelos em que foi realizada a soma das duas formas isoméricas de Del 3,5 D (1+2) e Pet 3,5D (1+2) e a soma total de todas as formas individuais (Tabela 5). Os modelos para Del 3,5D (1+2), Pet 3,5D (1+2), Mal 3,5D, Pet 3G e a soma total apresentaram valores de F calculados de 6,9, 4,2, 8,5, 3,7 e 6,0 vezes o valor do F crítico $(_{11,2})$ para o modelo linear. Embora tenham falta de ajuste, vários estudos relatam o uso de modelos com leve falta de ajuste e que podem realizar predições úteis para obter a condição ótima, mesmo com alguns desvios entre a condição predita e a observada (BALLUS et al., 2011; COUTINHO et al., 2015; SILVEIRA et al., 2019; SILVEIRA et al., 2020). Dessa forma, estes modelos foram empregados para realizar a predição das condições ótimas de extração de antocianinas em jambolão. As variáveis foram otimizadas empregando a função de desejabilidade descrita por Derringer e Suich (1980), que permite combinar os modelos para obter uma única resposta global.

As condições de desejabilidade estabelecidas para a obtenção máxima de extração dos compostos presentes no jambolão liofilizado, bem como as áreas preditas no ponto ótimo de extração estão apresentadas na Tabela 6. As áreas observadas quando a condição ótima foi executada experimentalmente (n=3) e as concentrações de cada antocianina presente também estão apresentadas na Tabela 6. As condições desejadas foram de minimizar todas as variáveis para maior extração dos compostos, enquanto que para as respostas, a desejabilidade foi de maximizar. A combinação dos modelos nas condições de desejabilidade estabelecidas permitiu concluir que, para obter um extrato de jambolão liofilizado rico em antocianinas, as condições ótimas em termos codificados, são -1,68, -1,68 e -1,68 para as variáveis A (temperatura), B (tempo) e C (concentração de etanol na solução extratora), respectivamente. Em termos experimentais, esses valores são expressos como temperatura de 30 °C, tempo de agitação de 5 minutos e concentração de etanol na solução extratora de 0%.

Tabela 6: Otimização das condições ótimas para obtenção máxima de extração dos compostos de jambolão, respostas previstas e observadas pelo modelo matemático e quantificação dos compostos.

Variáveis e respostas	Critérios de desejabilidade para as variáveis e respostas					Valor predito	Valor observado	Quantificação (mg/100g)**
	Desejabilidade	Limite inferior	Limite superior	Importância	Condição ótima predita (Codificada)			
A (°C)	Na faixa	-1,68	1,68	3	-1,68			
B (min)	Na faixa	-1,68	1,68	3	-1,68			
C (%)	Na faixa	-1,68	1,68	3	-1,68			
Del 3,5D (1+2)	maximizar	174,87	838,16	3		899,50 ^b	968,99 ^a	55,80 ± 6,90
Pet 3,5D (1+2)	maximizar	241,26	1032,4	3		1014,11 ^a	883,41 ^b	52,77 ± 9,00
Mal 3,5D	maximizar	37,08	586,66	3		385,63 ^a	339,69 ^b	22,78 ± 3,59
Pet 3G	maximizar	2,55	38,05	3		27,98 ^a	21,76 ^b	11,53 ± 0,43
Soma	maximizar	455,75	2495,2	3		2327,23 ^a	2213,85 ^a	142,88 ± 19,93***

*Letras diferentes na mesma linha diferem estatisticamente ($p < 0,05$). **Os resultados são as médias de três determinações. Resultados expressos em base seca. ***Soma total dos compostos presentes na amostra (mg/100g).

Foram observadas diferenças significativas entre o valor predito e o observado para as respostas Del3,5D (1+2), Pet3,5D (1+2), Mal3,5D e Pet3G. Essa diferença provavelmente é decorrente da falta de ajuste dos modelos. No entanto, a diferença de concentração é pequena do ponto de vista prático. Para a soma de todos os compostos não foi observada diferença significativa entre as condições previstas e as condições experimentais. A condição ótima prevista não teve diferença estatística significativa (95% de confiança), considerando o erro do ponto central do planejamento multivariado, com a melhor condição experimental testada (experimento 2) com 81,8 °C de aquecimento em banho maria, 28,3 min de agitação e 20,2% de etanol na solução extratora. Tais resultados evidenciam que os modelos foram capazes de prever a extração total de antocianinas em jambolão, possibilitando a obtenção de um extrato rico em antocianinas por meio de um método de baixo custo e de rápida extração.

Nas condições de extração do ponto ótimo, foram obtidos um total de 142,88 mg/100g (equivalentes a Del3,5D) de antocianinas totais no jambolão liofilizado, valores superiores ao observado por Tavares et al. (2016), 31,5 mg/100g de antocianinas, ao avaliar frutas frescas de jambolão submetidas a extração utilizando uma combinação de metanol, água e ácido fórmico como solvente extrator, e Coelho et al. (2016) ao avaliar polpa congelada e suco de jambolão produzido por extração auxiliada por pectina a 60 °C, obtendo uma concentração média de antocianina de 62,6 e 73,6 mg/100g, respectivamente. Por outro lado, Carvalho et al. (2017) obtiveram teores de 159,8 mg/100g e 229,8 mg/100g de antocianinas em frutos inteiros e em sucos desidratados de jambolão, valores estes superiores ao encontrado em nosso estudo.

Em termos de abundâncias proporcionais de antocianinas individuais, o extrato otimizado apresentou 39,1% de Del3,5D (1+2), 36,9% de Pet3,5D (1+2), 15,9% de Mal3,5D e 8,1% de Pet3G, corroborando com os resultados obtidos por Faria et al. (2011), Tavares et al. (2016) e Sabino et al. (2021) ao avaliar antocianinas presentes em frutos de jambolão.

6.3 Caracterizações do extrato obtido no ponto ótimo de extração

6.3.1 Potencial redutor total e atividade antioxidante

O extrato obtido no ponto ótimo de extração (temperatura de 30 °C, tempo de extração de 5 min e 0% de etanol na solução extratora) foi avaliado quanto ao potencial redutor total e atividade antioxidante frente aos radicais DPPH e ABTS. O extrato apresentou uma capacidade redutora total (compostos fenólicos totais) de 2040,96 mg GAE/100g de fruta seca, resultado superior ao encontrado por Faria et al. (2011) que obtiveram 148,3 mg GAE/100g (fruta fresca) para extrato aquoso metanólico obtido a partir de frutos de jabolão *in natura*.

Um estudo realizado por Brandão et al. (2019) avaliou o teor de compostos fenólicos em frutos de jabolão e obteve valores variando de 312 a 434,8 mg/100g em polpa de fruta. Essas diferenças encontradas podem estar relacionados à concentração dos compostos devido ao processo de liofilização empregado, o que conseqüentemente acarreta em maiores diferenças comparados a resultados expressos em base úmida; além disso, outros fatores, tais como: o tipo de solvente utilizado para a extração, as condições climáticas e o estado de maturação dos frutos também podem interferir na biossíntese dos compostos.

O extrato de jabolão apresentou boa atividade antioxidante de 72% de inibição frente ao radical DPPH e 64% frente ao radical ABTS. Os resultados encontrados neste estudo são inferiores aos relatados por Filipini et al. (2020), que avaliaram a atividade antioxidante de extrato obtido de cascas de jabolão através de extração aquosa e obtiveram valores acima de 80% frente a ambos os radicais, diferenças observadas podem estar relacionadas a fatores externos (tipo de solo, clima e localização geográfica) e grau de maturação dos frutos utilizados.

6.3.2 Perfil de cor em diferentes valores de pH

Os parâmetros de cor do extrato de jabolão obtido no ponto ótimo de extração de antocianinas foram avaliados no intervalo de pH de 1 a 14 (Figura 6). As variações de cor das soluções de extrato de acordo com o pH estão apresentadas na Figura 6a. Em pH extremamente ácido (pH 1 e 2), a solução do extrato apresentou cor vermelha intensa, porém com o aumento do pH da solução, as cores variaram do violeta ao lilás suave (pH 3 a pH 7). Em condições alcalinas, as cores do extrato variaram do azul ao verde (pH 8 a pH 10) e do amarelo ao marrom (pH 11

a 14). Comportamento semelhante foi observado por Chen et al. (2020), Zhang et al. (2020), Prietto et al. (2018) e Merz et al. (2020) ao avaliarem extratos provenientes de batata-doce roxa, repolho roxo, tegumentos de feijão preto e jambolão, respectivamente.

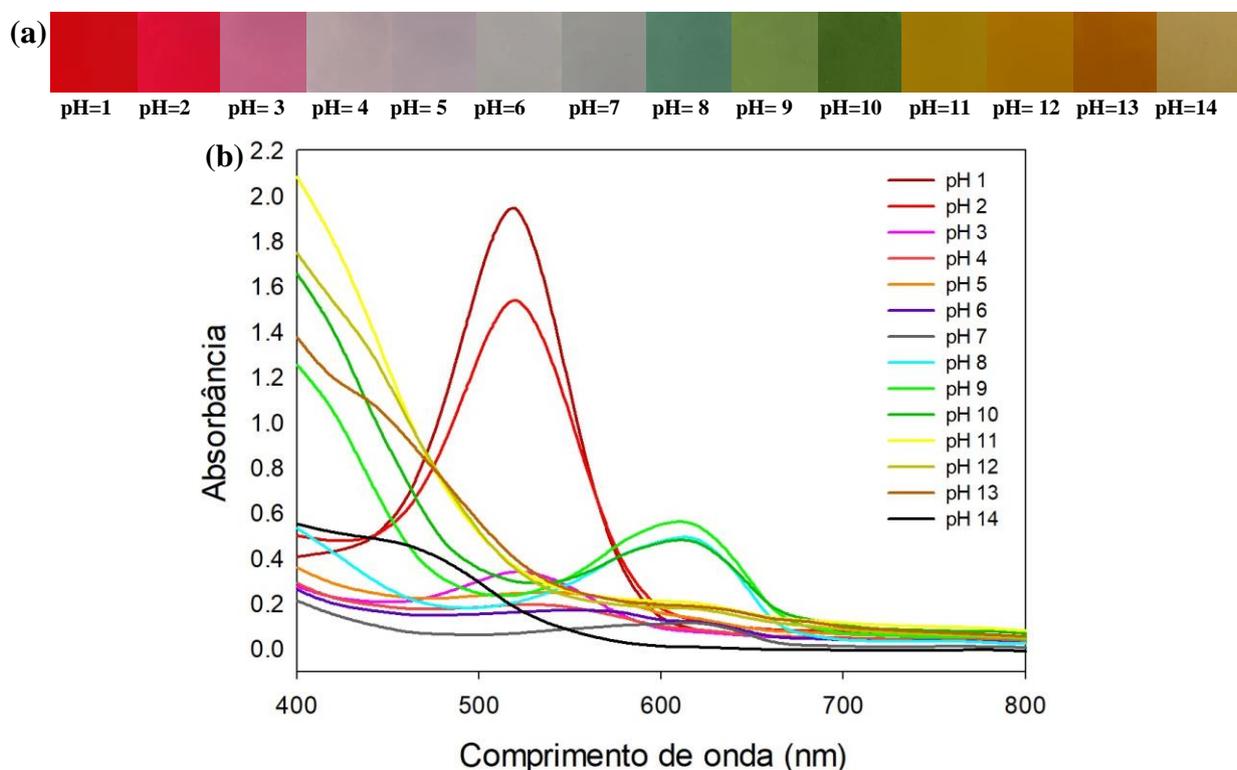


Figura 6: Perfil de cor (a) e espectros na região do visível (b) das soluções do extrato de jambolão em diferentes valores de pH (1-14).

Conforme o pH da solução do extrato de jambolão foi aumentado, os valores de absorbância no comprimento de onda de absorção máxima diminuíram (pH 1 até pH 6) (Figura 6b). Os maiores valores para absorbância, em torno de 525 nm, foram observados no pH 1 a 3, com predomínio da cor vermelho intenso (Figura 6a). A partir do pH 4, houve um deslocamento do pico de absorbância máxima de 525 para 625 nm e conseqüentemente, os valores de absorbância diminuíram conforme o pH da solução foi aumentado. O deslocamento do pico máximo de absorção é devido ao deslocamento batocromico ocorrido em diferentes soluções de antocianinas (pH 1 a 14), devido a alteração do pico máximo de absorção para maiores comprimentos de onda no espectro ultravioleta (SINOPOLI et al., 2019).

Sari et al. (2012) e Merz et al. (2020) reportaram comportamentos semelhantes ao avaliarem o perfil de cor de antocianinas provenientes de jambolão

e Chen et al. (2020) avaliando o perfil de cor de antocianinas de batata-doce roxa. A alteração de cor dos extratos de jambolão obtidos em diferentes valores de pH (1-14) está relacionado a transformação estrutural que ocorre nas antocianinas presentes no extrato (CASTAÑEDA-OVANDO et al., 2009). A principal forma da antocianina é o cátion flavílio com coloração avermelhada em pH 1 e 2. Com o aumento do pH, a cor das antocianinas torna-se mais suave devido à formação de bases quinonoidais ou pseudo-bases de carbinol incolores. Em pH variando da neutralidade a alcalinidade (pH 7 a 14), a coloração das antocianinas passa de azul-púrpura para amarelo, indicando a formação de anidrobases quinoide e por fim, a formação de chalconas, devido à degradação da estrutura das antocianinas (KHOO et al., 2017; ANDRETTA et al., 2019). Portanto, o extrato de antocianinas de jambolão apresenta potencial para aplicação como indicador de qualidade de alimentos, devido à alteração de cor decorrente da mudança de pH.

Os resultados do perfil colorimétrico pela avaliação das coordenadas L* (preto = 0 ao branco = 100), a* (verde (-) ao vermelho (+)) e b* (azul (-) ao amarelo (+)), do extrato de jambolão obtido no ponto ótimo, submetido a diferentes valores de pH de 1 a 14 estão apresentados na Tabela 7. As soluções de antocianinas apresentaram um valor de L* baixo, indicando uma menor luminosidade. Em relação às coordenadas de cromaticidade, foi observado um menor valor do croma a* conforme aumento do pH (1 a 14). Este resultado indica que a cor vermelha tem maior intensidade em pH ácidos, enquanto a cor verde tende a predominar em pH alcalinos. Para o croma b*, os resultados indicaram uma maior predominância da cor azul com tendência ao amarelo.

Tabela 7: Parâmetros de cor (L^* , a^* , b^* e ΔE^*) dos extratos indicadores colorimétricos.

pH	L^*	a^*	b^*	ΔE^*
1	$38,19 \pm 0,01^{bcd}$	$3,94 \pm 0,02^a$	$0,26 \pm 0,02^a$	$5,20 \pm 0,01^{cd}$
2	$38,13 \pm 0,18^{bcd}$	$4,23 \pm 0,02^a$	$0,26 \pm 0,03^a$	$5,10 \pm 0,18^{cd}$
3	$38,93 \pm 0,12^{bcd}$	$3,99 \pm 0,07^a$	$-0,30 \pm 0,03^{bc}$	$5,93 \pm 0,12^{bc}$
4	$39,62 \pm 0,09^b$	$2,46 \pm 0,03^b$	$-0,65 \pm 0,06^{cd}$	$6,97 \pm 0,08^b$
5	$39,22 \pm 0,08^{bc}$	$2,32 \pm 0,06^b$	$-1,15 \pm 0,09^{ef}$	$6,71 \pm 0,08^b$
6	$37,79 \pm 1,72^{cde}$	$1,57 \pm 0,23^c$	$-2,01 \pm 0,48^h$	$6,22 \pm 1,22^{bc}$
7	$37,50 \pm 1,05^{de}$	$0,97 \pm 0,17^e$	$-1,88 \pm 0,25^{gh}$	$6,16 \pm 0,87^{bc}$
8	$36,27 \pm 0,73^g$	$0,65 \pm 0,07^f$	$-1,45 \pm 0,18^g$	$5,42 \pm 0,43^c$
9	$38,21 \pm 0,20^{bcd}$	$0,31 \pm 0,02^g$	$-0,12 \pm 0,05^{ab}$	$6,75 \pm 0,16^b$
10	$37,79 \pm 0,01^{cde}$	$0,87 \pm 0,03^{ef}$	$-0,95 \pm 0,02^{de}$	$6,15 \pm 0,02^{bc}$
11	$36,45 \pm 0,41^{eg}$	$0,98 \pm 0,04^e$	$-0,38 \pm 0,11^{bc}$	$5,04 \pm 0,29^{cd}$
12	$35,74 \pm 0,24^g$	$1,27 \pm 0,12^d$	$-0,37 \pm 0,09^{bc}$	$4,35 \pm 0,18^d$
13	$35,79 \pm 0,44^g$	$1,31 \pm 0,08^{cd}$	$-0,65 \pm 0,25^{cd}$	$4,42 \pm 0,33^d$
14	$43,76 \pm 1,03^a$	$0,73 \pm 0,07^f$	$-0,86 \pm 0,13^{de}$	$11,46 \pm 0,95^a$

Valores expressos como média \pm desvio padrão ($n = 6$). Médias na mesma coluna seguidas por diferentes letras são significativamente diferentes ($p < 0,05$). Os valores ΔE^ das soluções foram calculados usando a Eq. (2) e considerando os parâmetros de cor do extrato obtido no ponto ótimo de extração (pH 2,5).

Os resultados obtidos neste estudo são semelhantes aos reportados por Prietto et al. (2018), que avaliaram o perfil de cor de filmes incorporados com antocianinas extraídas de tegumentos de feijão preto e de repolho roxo, e relataram uma maior luminosidade em filmes incorporados com antocianinas, quando comparados aos filmes sem adição de antocianinas. Os autores também reportaram a predominância da cor vermelha em pH mais baixos e da cor verde em pH mais elevados, em ambos os filmes incorporados com antocianinas. Por outro lado, os valores de croma b^* dos filmes foram influenciados pela origem das antocianinas, nos filmes contendo antocianinas de tegumentos de feijão preto foram observadas a predominância da cor amarela e para os filmes contendo antocianinas de repolho roxo a predominância da cor azul.

Em relação aos valores de ΔE^* , valores maiores que 5 podem ser facilmente detectados pelo olho humano e valores superiores a 12 implicam em diferença absoluta de cor, ou seja, a mudança de cor pode ser perceptível até mesmo para pessoas treinadas (PRIETTO et al., 2018; TASSANAWAT et al., 2007). Os resultados obtidos para o ΔE^* neste estudo foram superiores a 5 com exceção dos pH 12 e 13, confirmando que a alteração de cor (Figura 6a) ocorrida em diferentes valores de pH podem ser facilmente detectadas pelo olho humano.

6.4 Caracterização das fibras produzidas pela técnica de *electrospinning*

6.4.1 Condutividade elétrica e viscosidade aparente das soluções poliméricas

A condutividade elétrica e a viscosidade aparente das soluções de zeína com diferentes concentrações de extrato de jambolão estão apresentadas na Tabela 9. A condutividade elétrica da solução polimérica é influenciada pela concentração do polímero e do tipo de solvente utilizado (BHARDWAJ e KUNDU, 2010). A adição de extrato de jambolão, em diferentes concentrações, reduziu a condutividade elétrica das soluções poliméricas de zeína (Tabela 8). Entretanto, essa redução não afetou o processo eletromagnético na formação de fibras, uma vez que houve a formação de jato contínuo e estável, permitindo a produção de fibras ultrafinas pela técnica de *electrospinning*, indicando que a incorporação de extrato de jambolão não afetou negativamente na produção das fibras.

Tabela 8: Condutividade elétrica e viscosidade aparente das soluções de zeína 30% com diferentes concentrações de extrato de jambolão.

Solução polimérica		Condutividade elétrica ($\mu\text{S}/\text{cm}^{-1}$)	Viscosidade aparente (cP/cm^{-1})
Zeína (%; p/v)	Extrato de jambolão (%; p/v)		
30	0	$1821,00 \pm 1,00^{\text{a}}$	$126,60 \pm 0,17^{\text{d}}$
30	20	$1561,00 \pm 2,65^{\text{b}}$	$154,70 \pm 0,17^{\text{c}}$
30	30	$1463,00 \pm 3,61^{\text{c}}$	$171,10 \pm 0,62^{\text{b}}$
30	40	$1347,67 \pm 1,51^{\text{d}}$	$204,47 \pm 0,65^{\text{a}}$

Valores expressos como média \pm desvio padrão (n = 3). Letras diferentes na mesma coluna diferem entre si (p<0,05).

A adição do extrato de jambolão na solução polimérica de zeína aumentou a viscosidade aparente das soluções poliméricas, sugerindo a interação do extrato com a proteína. Segundo Aytac et al. (2016), o aumento da viscosidade aparente é devido ao maior emaranhamento de cadeias poliméricas na solução. Comportamento semelhante foi observado por Evangelho et al. (2019) ao avaliar a condutividade elétrica e a viscosidade aparente em fibras de zeína incorporadas com ácido fólico; conforme o aumento da concentração de ácido fólico menor era a condutividade elétrica e maior era a viscosidade aparente das soluções poliméricas. A redução da condutividade elétrica e o aumento da viscosidade aparente das soluções poliméricas não afetaram o processo de eletrofiação, porém, acarretaram em um aumento do diâmetro médio das fibras. De acordo com Wen et al. (2016),

soluções poliméricas que apresentam viscosidade alta e condutividade baixa tendem a formar fibras mais espessas.

6.4.2 Morfologia e distribuição do tamanho

As morfologias e os diâmetros médios das fibras de zeína incorporadas de 0, 20, 30 e 40% de extrato de jambolão estão apresentadas na Figura 7. Os parâmetros utilizados nos processos de eletrofiação permitiram a formação de fibras ultrafinas homogêneas e contínuas sem presença de *beads*. A incorporação de extrato de jambolão não afetou a morfologia das fibras obtidas, no entanto, o diâmetro médio, em todos os tratamentos, foi alterado, o que pode ser atribuído ao aumento da viscosidade aparente das soluções (Tabela 8) devido à incorporação de extrato de jambolão nas fibras.

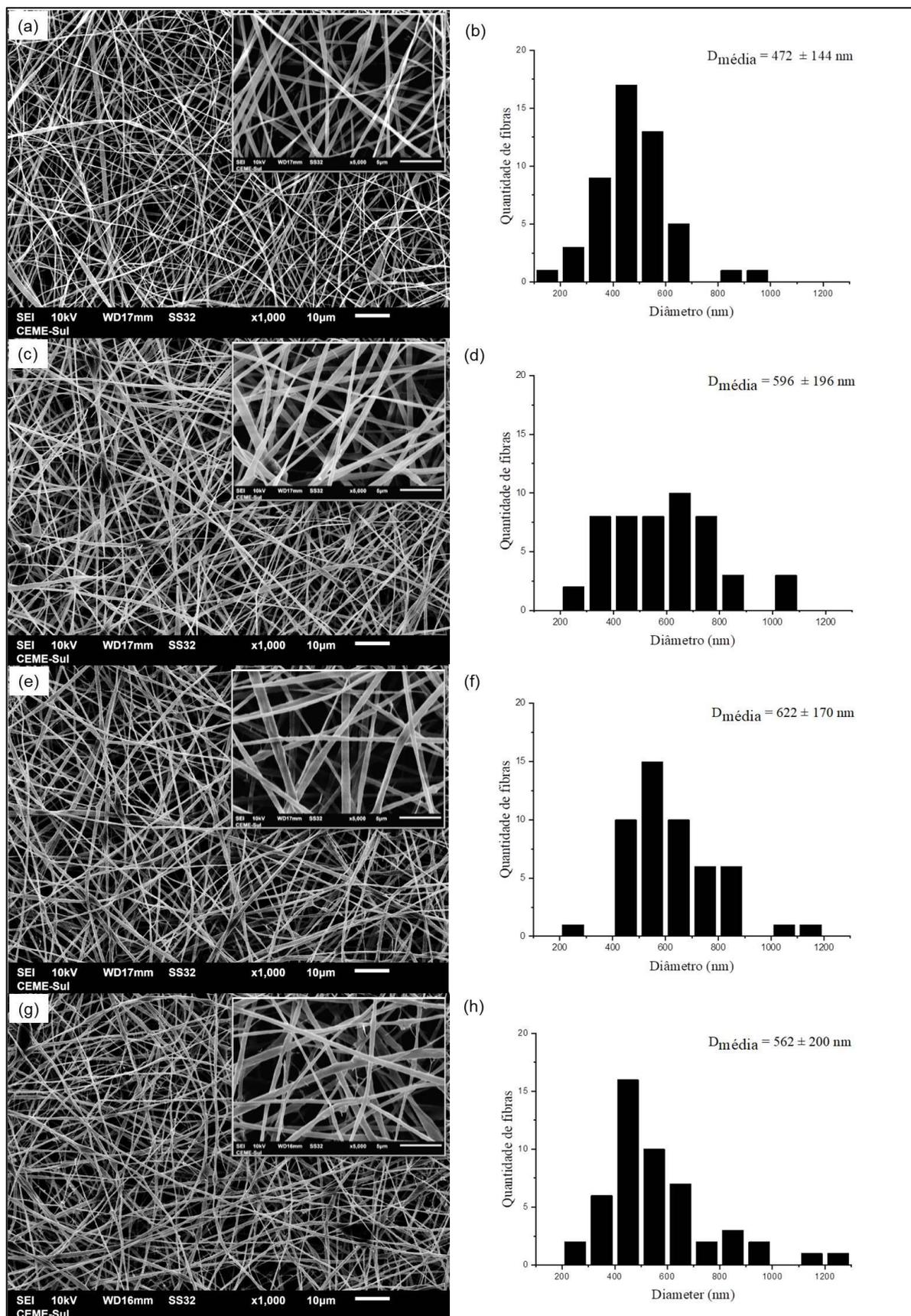


Figura 7: Morfologia das fibras ultrafinas e respectiva distribuição de tamanho: zeína controle (a-b), zeína com 20% de extrato de jambolão (c-d), zeína com 30% de extrato de jambolão (e-f) e zeína com 40% de extrato de jambolão (g-h). Amplitudes (1000x e 5000x).

O diâmetro médio variou entre 472 a 622 nm, sendo que o maior diâmetro foi observado para a fibra incorporada de 30% de extrato de jambolão (Figura 7e-f). A incorporação de extrato de jambolão rico em antocianinas aumentou o diâmetro médio das fibras de zeína. Este comportamento está relacionado com o aumento da concentração de soluto na solução polimérica resultando em fibras com maiores diâmetros.

As diferenças de espessuras podem ser atribuídas a diferentes fatores, incluindo as condições do processo de eletrofiação (por exemplo, taxa de alimentação, tensão e distância do coletor) e características da solução de eletrofiação (por exemplo, viscosidade aparente, condutividade elétrica e tensão superficial) (BHARDWAJ & KUNDU et al., 2010). Estudos realizados com fibras ultrafinas de zeína com a incorporação de diferentes concentrações de extratos de jabuticaba e de repolho roxo, ricos em antocianinas apresentaram um diâmetro médio variando de 583 a 572 nm e 444 a 510 nm, respectivamente (AVILA et al., 2020; PRIETTO et al., 2018). Evangelho et al. (2019) relataram um diâmetro médio variando de 369 a 702 nm para fibras produzidas com soluções de 30% de zeína e diferentes concentrações de ácido fólico, 0, 0,5, 1 e 1,5%, respectivamente. Altan et al. (2018) ao produzirem fibras utilizando soluções de zeína 30% (p/v) relataram um diâmetro médio de 604 nm, enquanto que as fibras de zeína incorporadas de 5, 10 e 20% de carvacrol apresentaram diâmetros de 647, 539 e 553 nm, respectivamente.

6.4.3 Eficiência de encapsulação

A eficiência de encapsulação do extrato de jambolão incorporado em fibras ultrafinas de zeína pode ser observada na Tabela 9.

Tabela 9: Eficiência de encapsulação de extrato de jambolão em fibras ultrafinas de zeína.

Extrato de jambolão (%)	Eficiência de encapsulação (%)
20	66,83 ± 1,07 ^a
30	62,65 ± 0,64 ^b
40	58,04 ± 0,32 ^c

Valores expressos como média ± desvio padrão (n = 3). Letras diferentes na mesma coluna diferem entre si (p<0,05).

O tratamento com 20% de extrato de jambolão apresentou maior eficiência de encapsulação e o tratamento com 40% de extrato de jambolão a menor eficiência de encapsulação, mostrando que existe uma relação inversa entre a concentração

do composto e a eficiência de encapsulação das fibras ultrafinas de zeína. A redução da eficiência com o aumento da concentração de extrato de jambolão pode estar relacionada a um excesso de compostos presentes na solução, dificultando a sua incorporação na matriz proteica. Comportamento semelhante também foi observado por Evangelho et al. (2019) que relataram uma redução na eficiência de encapsulação com o aumento da concentração de ácido fólico em fibras de zeína.

6.4.4 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

A técnica de FTIR foi utilizada para determinar a natureza química das fibras, bem como dos seus materiais precursores (Figura 8).

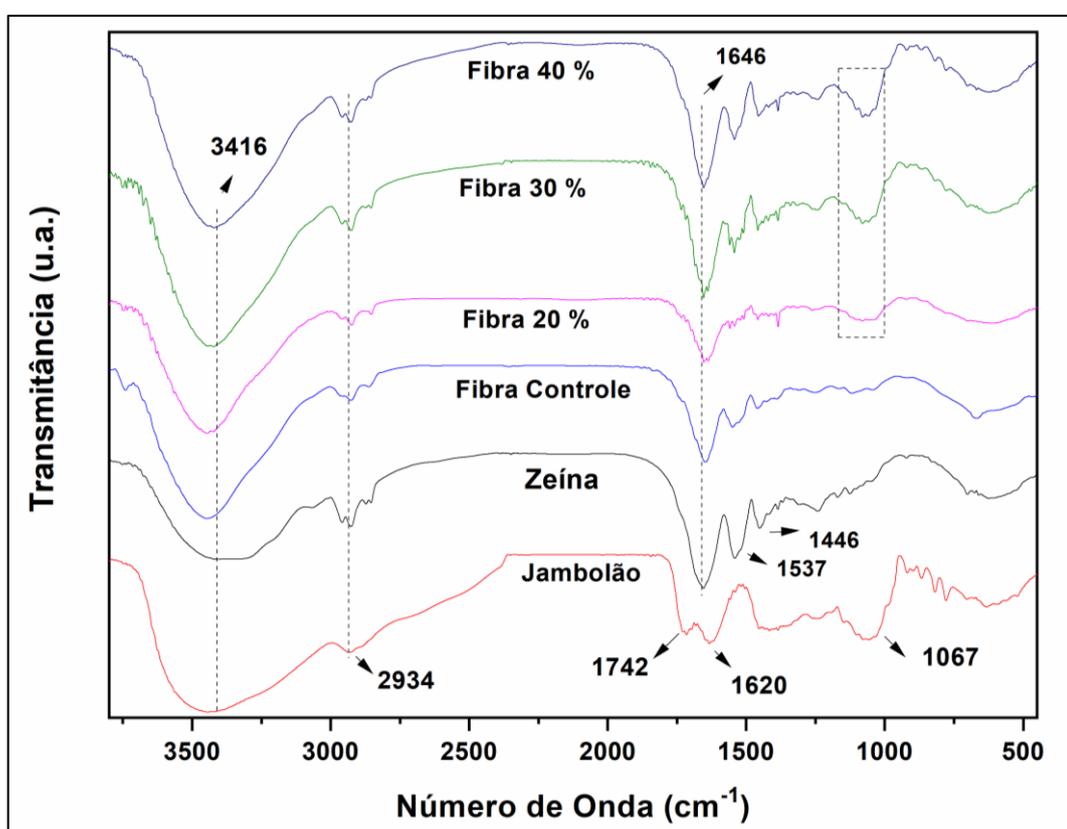


Figura 8: Espectros de FTIR obtidos para as amostras de jambolão liofilizado, zeína pura e fibras contendo 0, 20, 30 e 40% de extrato de jambolão.

O espectro do extrato de jambolão apresentou uma banda larga em torno de 3416 cm^{-1} referente ao estiramento da ligação O-H. Foram identificadas bandas em torno de 2934 cm^{-1} , as quais estão relacionadas ao estiramento C-H dos grupos alifáticos (CHEN et al., 2020). Em 1742 cm^{-1} e 1620 cm^{-1} , foi observado o estiramento assimétrico e simétrico (respectivamente) característicos dos grupos

carbonila (C=O) (LI et al., 2020). Ainda, na região de 950-1100 cm^{-1} foram observadas bandas atribuídas ao estiramento das ligações C=C e C-OH presentes nos anéis aromáticos da estrutura das antocianinas (NEO et al., 2013).

Os espectros da zeína e da fibra controle não apresentaram mudança significativa. Em ambos os espectros, foram observados a banda entre 3000-3500 cm^{-1} do estiramento da ligação N-H e O-H presentes na estrutura da proteína (PÉREZ-MASIÁ; LÓPEZ-RUBIO; LAGARÓN, 2013). Na região de 2900-2790 cm^{-1} , nota-se o estiramento da ligação C-H dos grupos alifáticos. A banda 1646 cm^{-1} está atribuída a carbonila de amida primária, já a banda em 1537 cm^{-1} está atribuída a vibração da ligação C=O de amida secundária (LI et al., 2020). Também em 1446 cm^{-1} observa-se a banda característica da ligação C-N (NEO et al., 2013). Comparando o espectro da zeína com as fibras de zeína controle, pode-se constatar que a eletrofiação não altera a estrutura química da proteína.

Nos espectros das fibras contendo diferentes concentrações de jambolão (20, 30 e 40%) foram identificadas as bandas provenientes da zeína com pequenas modificações, onde foi observado um estreitamento na banda da ligação O-H e N-H em torno de 3500 cm^{-1} , provavelmente devidos às interações intermoleculares entre a zeína e as antocianinas presentes no extrato de jambolão (BECERRIL; NERÍN; SILVA, 2021). Também se observa uma sobreposição das bandas da ligação C=O do jambolão pelas bandas de amida (primária e secundária) presentes na zeína. Em contrapartida, para as fibras contendo extrato de jambolão observa-se as bandas características dos anéis aromáticos das antocianinas em 950-1100 cm^{-1} as quais ficam mais evidenciadas com aumento da concentração do extrato, o que por sua vez confirma a presença das mesmas nas fibras desenvolvidas.

6.4.5 Análise termogravimétrica (TGA)

A estabilidade térmica das fibras e dos materiais precursores foi investigada através da técnica de TG/DTG (Figura 9).

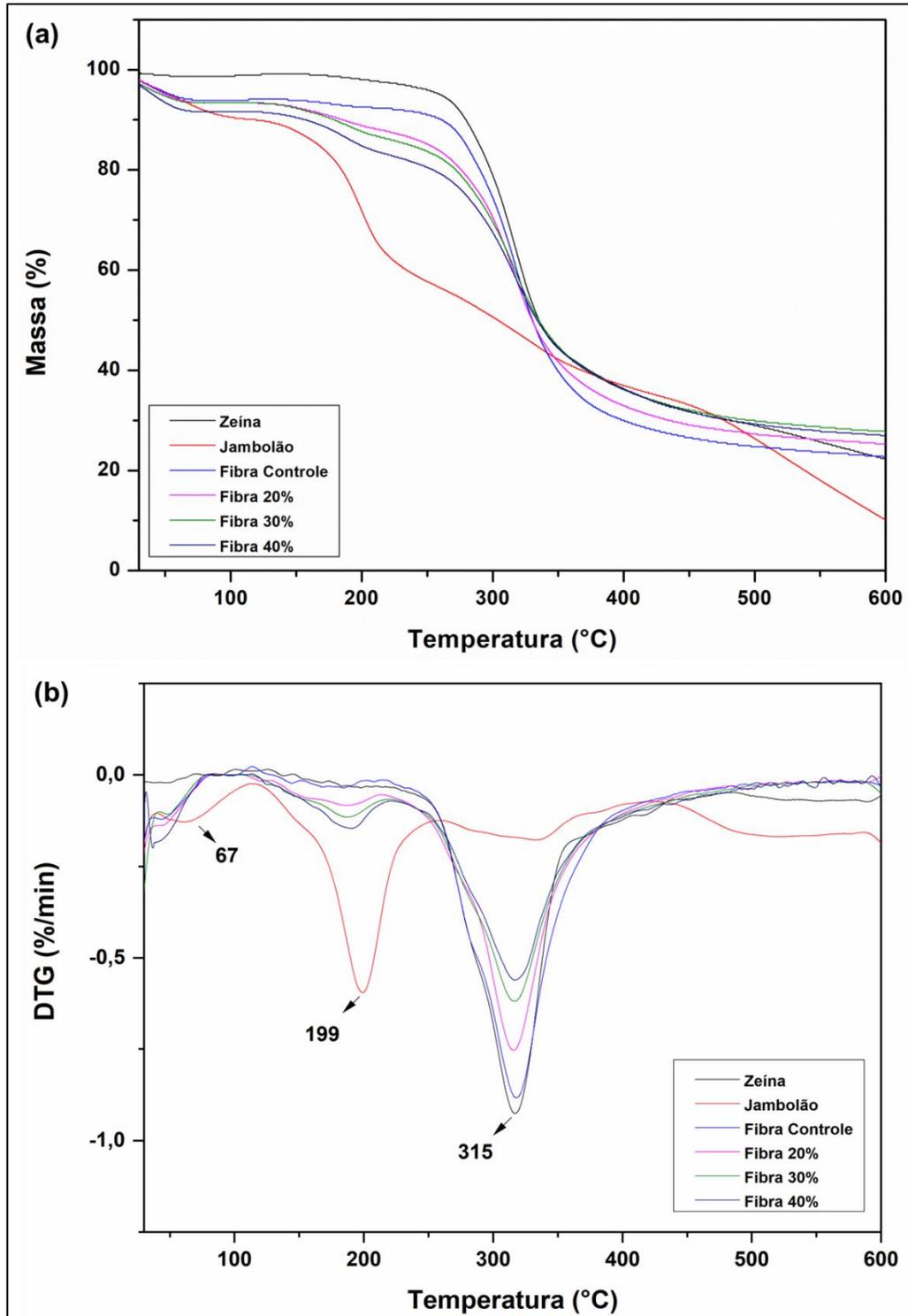


Figura 9: Curvas TG (a) e curvas DTG (b) obtidas para as amostras de zeína pura, extrato de jambolão, e fibras contendo 0, 20, 30 e 40% de extrato de jambolão.

O jambolão apresentou um padrão térmico com três estágios de perda de massa. O primeiro em torno de 67 °C (cerca de 10% de perda de peso) referente à perda de água, o segundo iniciando em 150 °C (cerca de 27% de perda de peso) com um máximo em 199 °C, que corresponde a degradação das hidroxilas laterais presentes na estrutura das antocianinas, o terceiro estágio ocorre entre 250-450 °C com um máximo em 315 °C e corresponde a degradação térmica do composto (perda de 45% de peso) (SHARIF; KHOSHNOUDI-NIA; JAFARI, 2020). A zeína, bem como a fibra controle apresentou padrão térmico semelhante, com apenas um estágio de perda de peso entre 250-350 °C (cerca de 70% de perda de peso) o qual é característico da degradação térmica de proteínas (LI et al., 2020). Em contrapartida, quando comparando os padrões térmicos das fibras contendo o extrato de jambolão, esses apresentaram três estágios de perda de peso, o primeiro em torno de 67 °C (cerca de 10% de perda de peso) referente a perda de água, o segundo entre 100-200 °C com um máximo em 199 °C (cerca de 10% de perda de peso) o qual está associado a degradação das hidroxilas laterais da estrutura das antocianinas presentes no extrato, e o terceiro entre 250-400 °C (cerca de 40% de perda de massa) que corresponde a degradação térmica da proteína (PÉREZ-MASIÁ; LÓPEZ-RUBIO; LAGARÓN, 2013). Esses resultados sugerem que a incorporação das antocianinas nas fibras foi bem sucedida, e que o uso de zeína como material encapsulante aumenta a estabilidade térmica final do material.

6.4.6 Propriedades térmicas (DSC)

A técnica termoanalítica de DSC determina a quantidade de calor necessária para aumentar a temperatura de uma amostra, que está intimamente relacionada com as interações químicas (ligação covalente) ou físicas (ligação de hidrogênio ou atração eletrostática) presentes na mesma. Assim, a partir dos dados obtidos, é possível identificar transições de fases no material, determinar o seu ponto de fusão, transições vítreas, entre outras. Na Figura 10 estão apresentadas as curvas de DSC dos materiais analisados.

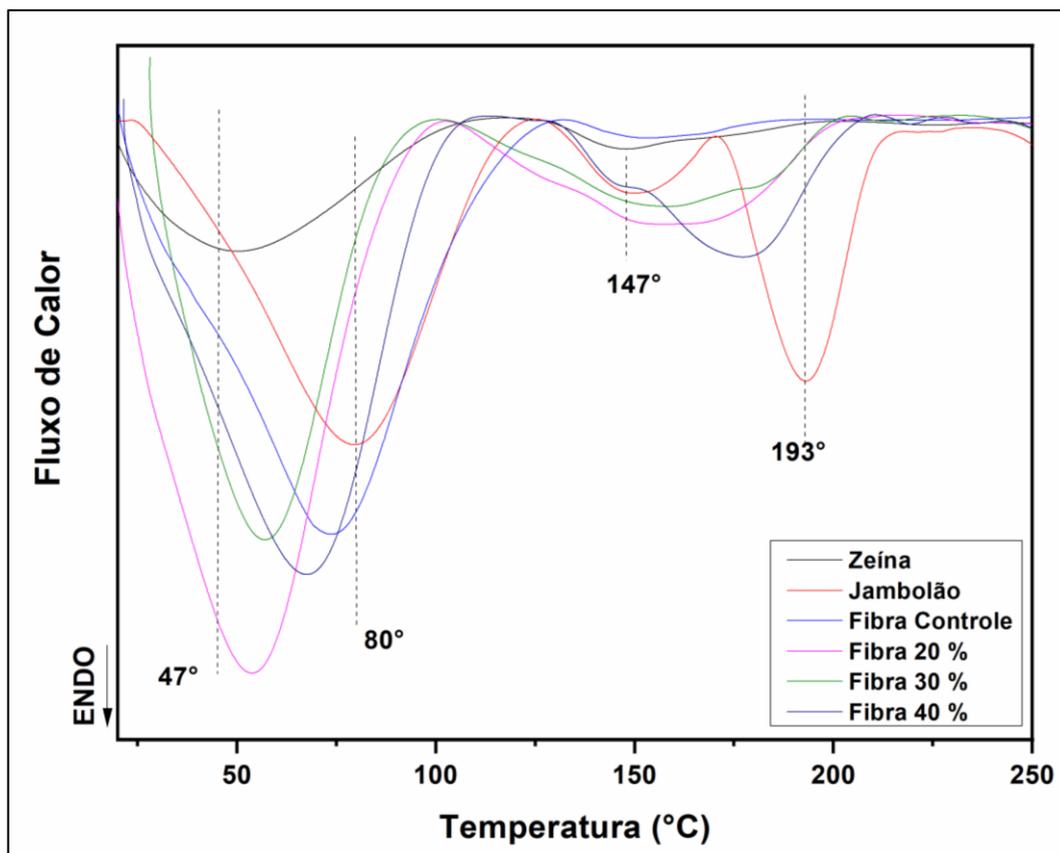


Figura 10: Curvas de DSC para as amostras de zeína pura, extrato de jambolão, e fibras contendo 0, 20, 30 e 40% de extrato de jambolão.

A curva de DSC para a zeína apresentou um pico endotérmico na faixa de 30-100 °C com um máximo em 47 °C correspondente à perda de água (CHEN et al., 2020). A fibra controle apresentou um pico endotérmico entre 30-125 °C, com um máximo em 75 °C sugerindo que o material eletrofiado possui maior ordenação, ou seja, torna-se mais cristalino, necessitando de maior energia para que o evento ocorra, tornando o material mais estável termicamente e com maior entalpia (MORI et al., 2014).

O extrato de jambolão apresentou três picos endotérmicos, o primeiro com máximo em 80 °C, que corresponde a perda de água e compostos voláteis presentes no extrato, o segundo ocorre em 147 °C, e o terceiro em 193 °C, os quais estão associados a degradação térmica estrutural das antocianinas presentes (VEDOVE; MANIGLIA; TADINI, 2021). Quando comparados os padrões térmicos da fibra controle com as fibras contendo extrato de jambolão, observam-se dois picos endotérmicos, o primeiro entre 30-100 °C, onde é possível observar que o aumento da concentração de extrato de jambolão aumenta a área do pico endotérmico nesse estágio, o que por sua vez aumenta a entalpia do material (VEDOVE; MANIGLIA;

TADINI, 2021). Também nota-se um aumento na temperatura em que o evento acontece, o que sugere que a zeína como material encapsulante para a produção das fibras incorporadas de diferentes concentrações de extrato de jambolão aumenta a estabilidade final do composto encapsulado, provavelmente devido às interações intermoleculares entre a zeína e os compostos presentes no extrato (NEO et al., 2013). Além disso, as fibras contendo extrato apresentaram um segundo pico endotérmico entre 100-200 °C o qual é característico da desnaturação de proteínas (KUMAR et al., 2019). Os resultados obtidos corroboram os resultados da análise termogravimétrica, bem como indicam que a eletrofiação aumenta a estabilidade térmica do extrato de jambolão.

6.4.7 Ângulo de contato

Os ângulos de contato das fibras ultrafinas com diferentes concentrações de extrato de jambolão estão apresentados na Figura 11.

As gotas de água depositadas sobre as fibras ultrafinas de zeína contendo diferentes concentrações de extrato de jambolão apresentaram redução do seu ângulo de contato após 3 segundos da queda da gota na superfície da fibra. A fibra de zeína controle (Figuras 11a e 11b) apresentou um ângulo de contato inicial de 94,4° no instante imediato de queda da gota, sendo reduzido para 26,4° após 3 segundos de contato da gota com a superfície da fibra.

O ângulo de contato das fibras diminuíram conforme o aumento da concentração de extrato de jambolão, de 89,0° (20% de extrato) para 64,4° (40% de extrato) e após 3 segundos de contato, reduziu de 20,7° (20% de extrato) para 14,5° (40% de extrato). Essa diminuição no ângulo de contato é devido a hidrofiliabilidade das antocianinas presentes no extrato, implicando em fibras altamente hidrofílicas. Valores maiores para o ângulo de contato das fibras de zeína se deve a presença de aminoácidos hidrofóbicos da proteína (DENG et al., 2019). Comportamento semelhante também foi observado por Prietto et al. (2018) ao avaliarem o ângulo de contato em fibras de zeína adicionadas de antocianinas provenientes de repolho roxo. Esses autores reportaram que quanto maior a concentração de antocianinas, maior foi a permeabilidade da fibra.

A maior permeabilidade das fibras de zeína contendo extrato de jambolão podem ser úteis para aplicações em embalagens inteligentes, permitindo que as

antocianinas presentes nas fibras interajam de forma rápida, emitindo uma resposta de cor em função do pH em que o alimento se encontra.

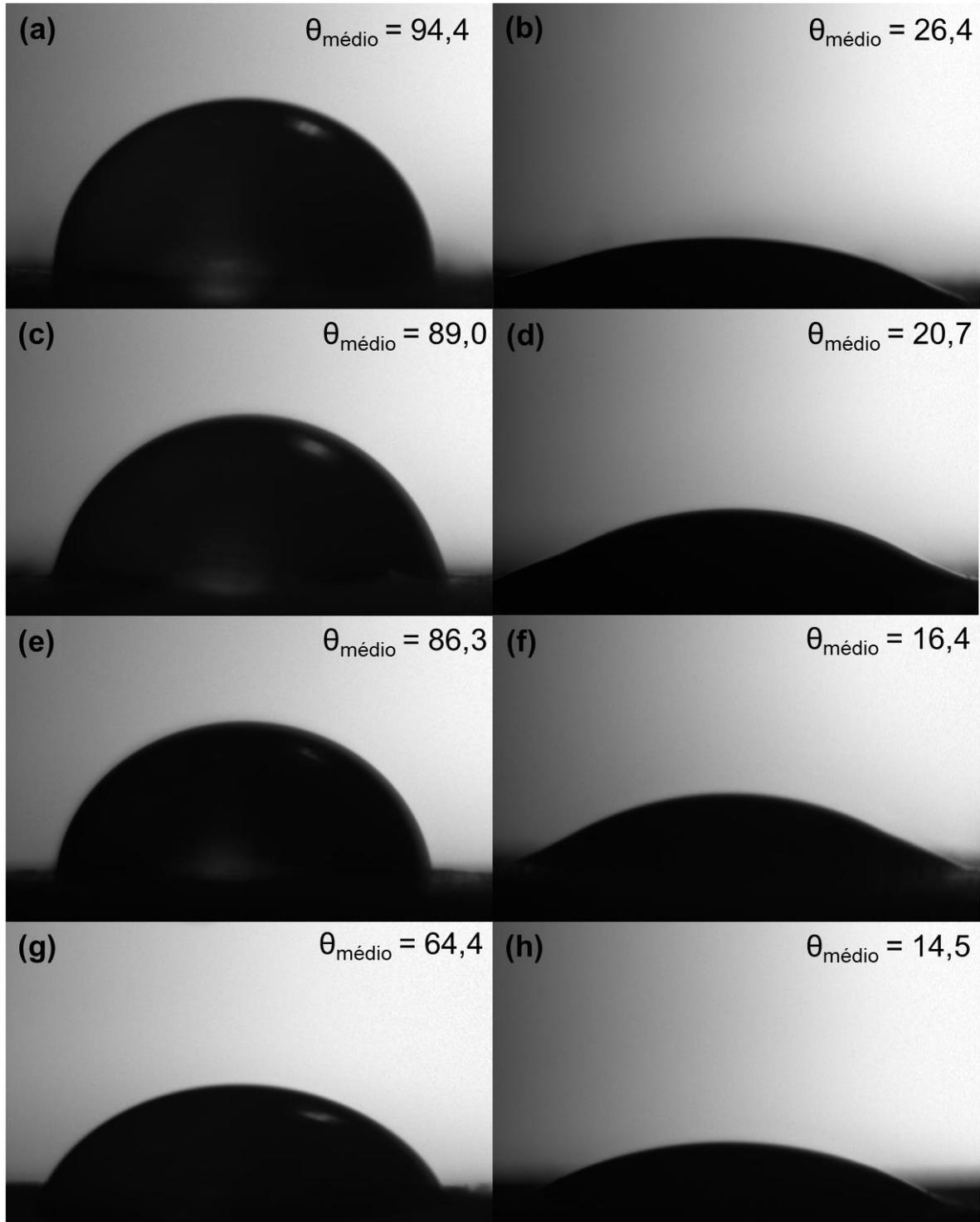


Figura 11: Ângulo de contato das fibras de zeína contendo 0% (a,b), 20% (c,d), 30% (e,f) e 40% (g,h) de extrato de jambolão. (a), (c), (e) e (g) são referentes ao instante imediato da queda da gota de água, e (b), (d), (f) e (h) são referentes à 3 segundos após a queda da gota.

6.4.8 Atividade antioxidante

A atividade antioxidante do extrato de jambolão na forma livre bem como na forma encapsulada em fibras de zeína são apresentadas na Figura 12.

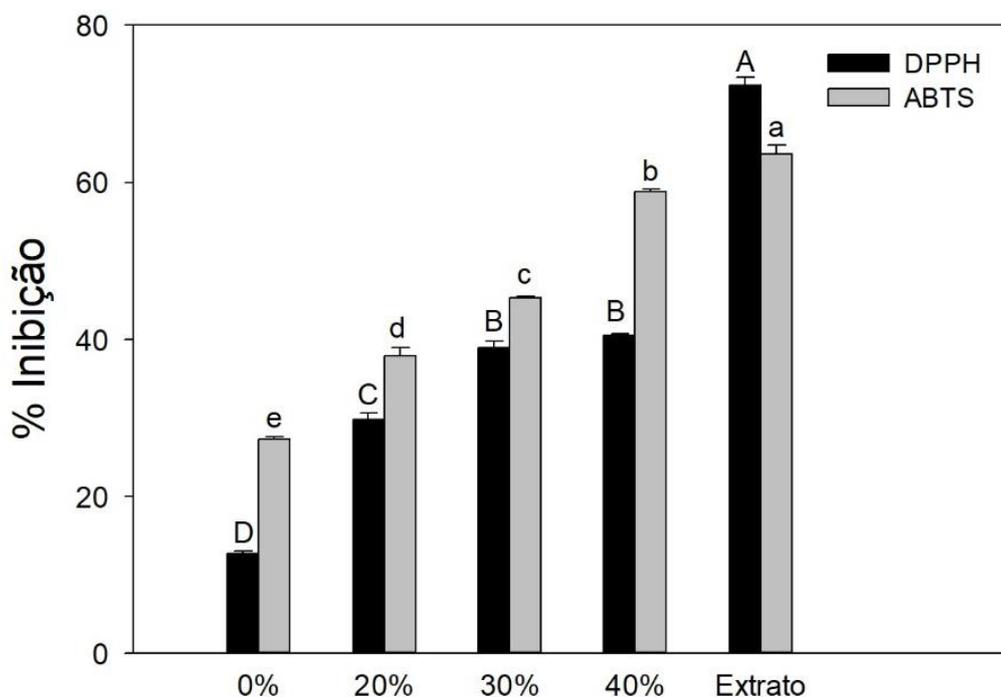


Figura 12: Atividade antioxidante do extrato de jambolão e das fibras produzidas com diferentes concentrações de extrato (0, 20, 30 e 40%) pelos métodos de Inibição dos radicais DPPH e ABTS.

O extrato de jambolão na sua forma livre apresentou uma capacidade de eliminação de 72% para o radical DPPH e 64% para o radical ABTS^{•+}. As fibras de zeína contendo diferentes concentrações de extrato de jambolão apresentaram valores de capacidade de inibição de até 40,5% para o radical DPPH. As fibras de zeína contendo 30% e 40% de extrato de jambolão não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$) para a inibição do radical DPPH, com valor médio de inibição de 39,7% para esse radical.

Para o radical ABTS^{•+} a capacidade antioxidante das fibras foi maior quando comparado ao radical DPPH; além disso, observou-se um aumento gradual da atividade de eliminação deste radical com o aumento da concentração de extrato de jambolão presente nas fibras, sendo a maior capacidade antioxidante observada para a fibra contendo 40% de extrato, com um valor médio de inibição para este radical.

A maior atividade de inibição do radical ABTS⁺, em comparação ao radical DPPH ocorre devido a uma maior sensibilidade desse radical para a identificação de atividades antioxidantes, uma vez que este possui uma cinética de reação mais rápida e também uma maior resposta aos antioxidantes (LEE et al., 2015). A encapsulação do extrato de jambolão é uma alternativa altamente promissora para aumentar a estabilidade das antocianinas presentes, além de garantir a proteção de suas propriedades funcionais, como a atividade antioxidante, uma vez que, em sua forma livre, esse composto pode facilmente se degradar na presença de altas temperaturas, luz e alterações de pH.

7. CONCLUSÕES

A metodologia de planejamento multivariado se mostrou uma ferramenta útil para extração de antocianinas em frutos de jambolão, permitindo a identificação de parâmetros de extração significativos, bem como suas interações. Os modelos matemáticos encontrados foram adequados para a otimização da extração utilizando solventes verdes, como água e etanol. A utilização de água acidificada em uma temperatura de 30 °C e 5 minutos de extração em banho maria permitiu a extração de 142,88 mg/100g de antocianinas do jambolão. A antocianina majoritária presente no extrato de jambolão foi a delphinidina 3-5diglicosideo (Del3,5D) representando 39,1% do total das antocianinas presentes.

O extrato obtido no ponto ótimo de extração apresentou atividade antioxidante superior a 64%, indicando sua aplicação em embalagens ativas, a fim de prevenir reações de oxidação em alimentos. Além disso, o extrato de jambolão também pode ser aplicado em embalagens inteligentes, devido à sua capacidade de mudança de cor em uma ampla faixa de pH, o que pode ser extremamente útil para acompanhar a alteração da qualidade de alimentos durante a estocagem.

As fibras de zeína com e sem extrato de jambolão obtidas apresentaram homogeneidade e uniformidade, apresentando diâmetro médio entre 472 a 622 nm, boa eficiência de encapsulação de 66,8% e elevada atividade antioxidante (de 29,7 a 40,5% para o radical DPPH e de 37,9 a 58,7% para o radical ABTS⁺). A incorporação do extrato em diferentes concentrações nas fibras reduziu o seu ângulo de contato tornando-as mais hidrofílicas, resultado este considerado positivo quando se deseja aplicar essas fibras como sensores em embalagens inteligentes,

uma vez que precisam absorver os exsudados para emitir uma resposta em relação à alteração de pH do produto.

As condições otimizadas para extração das antocianinas do jambolão, bem como a produção de fibras ultrafinas de zeína incorporadas de extrato de jambolão, constituem uma base crucial para pesquisas futuras, como ensaios de bioatividade, purificação de antocianinas de frutos de jambolão e desenvolvimentos de embalagens inteligentes, a fim de garantir a qualidade de alimentos durante seu armazenamento.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBUQUERQUE, G. A.; CARVALHO, A. V.; FARIA, L. J. G.; CHISTÉ, R. C.; MARTINS, L. H. S.; LOPES, A. S. Effects of thermal pasteurization on jambolan tropical juice bioactive compounds. **British Food Journal**, v. 121(11), p. 2821–2834, 2019.

ALTAN, A.; AYTAC, Z.; UYAR, T. Carvacrol loaded electrospun fibrous films from zein and poly (lactic acid) for active food packaging. **Food Hydrocolloids**, v. 81, p. 48-59, 2018.

ANANGA, A.; GEORGIEV, V.; OCHIENG, J.; PHILLS, B.; TSOLOV, V. Production of anthocyanins in grape cell cultures: a potential source of raw material for pharmaceutical, food, and cosmetic industries. **The Mediterranean genetic code-grapevine and olive**, p. 247-287, 2013.

ANDRETTA, R.; LUCHESE, C. L.; TESSARO, I. C.; SPADA, J. C. Development and characterization of pH-indicator films based on cassava starch and blueberry residue by thermocompression. **Food Hydrocolloids**, v. 93, p. 317–324, 2019.

ANGEL, N.; GUO, L.; YAN, F.; WANG, H.; & KONG, L. Effect of processing parameters on the electrospinning of cellulose acetate studied by response surface methodology. **Journal of Agriculture and Food Research**, v. 2, p. 100015, 2020.

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

AQIL, F.; GUPTA, A.; MUNAGALA, R.; JEYABALAN, J.; KAUSAR, H.; SHARMA, R. J.; SINGH, I. P.; GUPTA, R. C. Antioxidant and antiproliferative activities of anthocyanin/ellagitannin- enriched extracts from *Syzygium cumini* L. (Jamun, the Indian Blackberry). **Nutrition and Cancer**, v. 64(3), p. 428–438, 2012.

AVILA, L. B.; FONTES, M. R. V.; ZAVAREZE, E. R.; MORAES, C. C.; MORAIS, M. M.; & ROSA, G. S. D. Recovery of bioactive compounds from jaboticaba peels and

application into zein ultrafine fibers produced by electrospinning. **Polymers**, v. 12(12), p. 2916, 2020.

AYTAC, Z.; KUSKU, S. I.; DURGUN, E.; UYA, T. Encapsulation of gallic acid/cyclodextrin inclusion complex in electrospun polylactic acid nanofibers: Release behavior and antioxidant activity of gallic acid. **Materials Science and Engineering**, v. 63, p. 231–239, 2016.

BALIGA, M. S.; BHAT, H. P.; BALIGA, B. R. V.; WILSON, R.; & PALATTY, P. L. Phytochemistry, traditional uses and pharmacology of *Eugenia jambolana* Lam.(black plum): a review. **Food Research International**, v. 44(7), p. 1776-1789, 2011.

BALLUS, C. A.; MEINHART, A. D.; BRUNS, R. E.; GODOY, H. T. Use of multivariate statistical techniques to optimize the simultaneous separation of 13 phenolic compounds from extra-virgin olive oil by capillary electrophoresis. **Talanta**, v. 83, p. 1181–1187, 2011.

BECERRIL, R.; NERÍN, C.; SILVA, F. Bring some colour to your package: Freshness indicators based on anthocyanin extracts. **Trends in Food Science and Technology**, v. 111, p. 495–505, 2021.

BERISTAIN-BAUZA, S. DEL C.; MANI-LÓPEZ, E.; PALOU, E.; LÓPEZ-MALO, A. Antimicrobial activity of whey protein films supplemented with *Lactobacillus sakei* cell-free supernatant on fresh beef. **Food Microbiology**, v. 62, p. 207–211, 2017.

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

BHUSHANI, J. A., ANANDHARAMAKRISHNAN, C. Electrospinning and electrospaying techniques: Potential food based applications. **Trends in Food Science & Technology**, v. 38, p. 21–33, 2014.

BRANDÃO, T. S. D. O.; PINHO, L. S.; TESHIMA, E.; DAVID, J. M.; & RODRIGUES, M. I. Optimization of a technique to quantify the total phenolic compounds in jambolan (*Syzygium cumini* Lamark) pulp. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 22,p. e2018158, 2019.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; & BERSET, C. L. W. T. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT-Food science and Technology**, v. 28(1), p. 25-30, 1995.

BRITO, B. N. C.; PENA, R. S.; LOPES, A. S.; & CHISTÉ, R. C. Anthocyanins of jambolão (*Syzygium cumini*): Extraction and pH-dependent color changes. **Journal of food science**, v. 82(10), p. 2286-2290, 2017.

BRITO, E. S.; ARAÚJO, M. C. P.; ALVES, R. E.; CARKEET, C.; CLEVIDENCE, B. A.; & NOVOTNY, J. A. Anthocyanins present in selected tropical fruits: Acerola, jambolão, jussara, and guajiru. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55(23), p. 9389–9394, 2007.

CARVALHO, T. I. M.; NOGUEIRA, T. Y. K.; MAURO, M. A.; GÓMEZ-ALONSO, S.; GOMES, E.; SILVA, R.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I.; LAGO-VANZELA, E. S. Dehydration of jambolan (*Syzygium cumini* (L.)) juice during foam mat drying: Quantitative and qualitative changes of the phenolic compounds. **Food Research International**, v. 102, p. 32-42, 2017.

CASTAÑEDA-OVANDO, A.; PACHECO-HERNÁNDEZ, M. L.; PÁEZ-HERNÁNDEZ, M. E.; RODRÍGUEZ, J. A.; & GALÁN-VIDAL, C. A. Chemical studies of anthocyanins: A review. **Food Chemistry**, v. 113(4), p. 859–871, 2009.

CHAUDHARY, B.; & MUKHOPADHYAY, K. Solvent optimization for anthocyanin extraction from *Syzygium cumini* L. Skeels using response surface methodology. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 64(3), p. 363–371, 2013.

CHEN, S.; WU, M.; LU, P.; GAO, L.; YAN, S.; & WANG, S. Development of pH indicator and antimicrobial cellulose nanofibre packaging film based on purple sweet potato anthocyanin and oregano essential oil. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 149, p. 271–280, 2020.

CHORFA, N.; SAVARD, S.; & BELKACEMI, K. An efficient method for high-purity anthocyanin isomers isolation from wild blueberries and their radical scavenging activity. **Food Chemistry**, v. 197, p. 1226–1234, 2016.

COELHO, E. M.; AZEVEDO, L. C.; CORRÊA, L. C.; BORDIGNON-LUIZ, M. T.; & LIMA, M. S. Phenolic profile, organic acids and antioxidant activity of frozen pulp and juice of the jambolan (*Syzygium Cumini*). **Journal of Food Biochemistry**, v. 40(2), p. 211-219, 2016.

COUTINHO, J. P.; BARBERO, G. F.; AVELLÁN, O. F.; GARCÉS-CLAVER, A.; GODOY, H. T.; PALMA, M.; & BARROSO, C. G. Use of multivariate statistical techniques to optimize the separation of 17 capsinoids by ultra performance liquid chromatography using different columns. **Talanta**, v. 134, p. 256-263, 2015.

DAI, J.; MUMPER, R. J. Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. **Molecules**, v. 15, p. 7313–7352, 2010.

DAL MAGRO, L.; GOETZE, D.; RIBEIRO, C. T.; PALUDO, N.; RODRIGUES, E.; HERTZ, P. F.; KLEIN, M. P.; & RODRIGUES, R. C. Identification of bioactive compounds from *vitis labrusca* l. variety concord grape juice treated with commercial enzymes: improved yield and quality parameters. **Food and Bioprocess Technology**, v. 9(2), p. 365–377, 2016.

DENG, L.; LI, Y.; FENG, F.; ZHANG, H. Study on wettability, mechanical property and biocompatibility of electrospun gelatin/zein nanofibers cross-linked by glucose. **Food Hydrocolloids**, v. 87, p. 1-10, 2019.

DERRINGER G, SUICH R. Simultaneous optimization of several response variables. **Journal of quality technology**, v. 12, p. 214–219, 1980.

DICASTILLO, L. C.; RODRÍGUEZ, F.; GUARDA, A.; GALOTTO, M. J. Antioxidant films based on cross-linked methyl cellulose and native Chilean berry for food packaging applications. **Carbohydrate Polymers**, v. 136, p. 1052–1060, 2016.

DOMÍNGUEZ, R.; BARBA, F. J.; GÓMEZ, B.; PUTNIK, P.; KOVAČEVIĆ, D. B.; PATEIRO, M.; SANTOS, E. M.; LORENZO, J. M. Active packaging films with natural antioxidants to be used in meat industry: A review. **Food Research International**, v.113, p. 93-101, 2018.

EVANGELHO, J. A.; CRIZEL, R. L.; CHAVES, F. C.; PRIETTO, L.; PINTO, V. Z.; MIRANDA, M. Z.; DIAS, A. R. G.; ZAVAREZE, E. R. Thermal and irradiation

resistance of folic acid encapsulated in zein ultrafine fibers or nanocapsules produced by *electrospinning* and *electrospraying*. **Food Research International**, v. 124, p. 137-146, 2019.

EVANGELISTA, J. **Tecnologia de Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2008.

FARIA, A. F.; MARQUES, M. C.; & MERCADANTE, A. Z. Identification of bioactive compounds from jambolão (*Syzygium cumini*) and antioxidant capacity evaluation in different pH conditions. **Food Chemistry**, v. 126(4), p. 1571–1578, 2011.

FEUEREISEN, M. M.; BARRAZA, M. G.; ZIMMERMANN, B. F.; SCHIEBER, A.; & SCHULZE-KAYSERS, N. Pressurized liquid extraction of anthocyanins and biflavonoids from *Schinus terebinthifolius* Raddi: A multivariate optimization. **Food Chemistry**, v. 214, p. 564–571, 2017.

FIDAN-YARDIMCI, M.; AKAY, S.; SHARIFI, F.; SEVIMLI-GUR, C.; ONGEN, G.; & YESIL-CELIK TAS, O. A novel niosome formulation for encapsulation of anthocyanins and modelling intestinal transport. **Food Chemistry**, v. 293, p. 57–65, 2019.

FILIPINI, G. S.; ROMANI, V. P.; & GUIMARÃES MARTINS, V. Biodegradable and active-intelligent films based on methylcellulose and jambolão (*Syzygium cumini*) skins extract for food packaging. **Food Hydrocolloids**, v. 109, p. 106139, 2020.

FLORES, G.; DEL CASTILLO, M. L. R.; COSTABILE, A.; KLEE, A.; GUERGOLETTI, K. B.; & GIBSON, G. R. In vitro fermentation of anthocyanins encapsulated with cyclodextrins: Release, metabolism and influence on gut microbiota growth. **Journal of Functional Foods**, v. 16, p. 50–57, 2015.

FONSECA, L. M.; OLIVEIRA, J. P.; CRIZEL, R. L.; SILVA, F. T.; ZAVAREZE, E. R.; BORGES, C. D. Electrospun starch fibers loaded with pinhão (*Araucaria angustifolia*) coat extract rich in phenolic compounds. **Food Biophysics**, v. 15(3), p. 355–367, 2020.

FRANCIS, F. J. Food colorants: anthocyanins. **Critical Review of Food Science and Nutrition**, v. 28, p. 273-314, 1989.

FUH, Y.; WU, Y.; HE, Z.; HUANG, Z.; HU, W. The control of cell orientation using biodegradable alginate fibers fabricated by near-field electrospinning. **Materials Science & Engineering**, v. 62, p. 879–887, 2016.

GHAANI, M.; COZZOLINO, C. A.; CASTELLI, G.; FARRIS, S. An overview of the intelligent packaging technologies in the food sector. **Trends in Food Science & Technology**, v. 51, p. 1-11, 2016.

GÖNEN, S. Ö.; EROL TAYGUN, M.; KÜÇÜKBAYRAK, S. Evaluation of the factors influencing the resultant diameter of the electrospun gelatin/sodium alginate nanofibers via Box-Behnken design. **Materials Science & Engineering**, v. 58, p. 709–723, 2016.

GROVER, J. K.; VATS, V.; RATHI, S. S. Anti-hyperglycemic effect of *Eugenia jambolana* and *Tinospora cordifolia* in experimental diabetes and their effects on key metabolic enzymes involved in carbohydrate metabolism. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 73(3), p. 461–470, 2000.

JIANG, G.; HOU, X.; ZENG, X.; ZHANG, C.; WU, H.; SHEN, G.; LI, S.; LUO, Q.; LI, M.; LIU, X.; CHEN, A.; WANG, Z.; ZHANG, Z. Preparation and characterization of indicator films from carboxymethyl-cellulose/starch and purple sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) lam) anthocyanins for monitoring fish freshness. **International journal of biological macromolecules**, v. 143, p. 359-372, 2020.

KHOO, H. E.; AZLAN, A.; TANG, S. T.; & LIM, S. M. Anthocyanidins and anthocyanins: Colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits. **Food and Nutrition Research**, v. 61(1), p. 1361779, 2017.

KIM, I. G.; LEE, J.; UNNITHAN, A. R.; PARK, C.; KIM, C. S. A comprehensive electric field analysis of cylinder-type multi-nozzle electrospinning system for mass production of nanofibers. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 31, p. 251–256, 2015.

KRINGEL, D. H.; SILVA, W. M. F.; BIDUSKI, B.; WALLER, S. B.; LIM, L. T.; DIAS, A. R. G.; & ZAVAREZE, E. D. R. Free and encapsulated orange essential oil into a β -cyclodextrin inclusion complex and zein to delay fungal spoilage in cakes. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 44(5), p. e14411, 2020.

KU, C. S.; & MUN, S. P. Optimization of the extraction of anthocyanin from Bokbunja (*Rubus coreanus* Miq.) marc produced during traditional wine processing and characterization of the extracts. **Bioresource Technology**, v. 99(17), p. 8325–8330, 2008.

KUMAR, T. S. M.; KUMAR, K. S.; RAJINI, N.; SIENGCHIN, S.; AYRILMIS, N.; & RAJULU, A. V. A comprehensive review of electrospun nanofibers: **Food and packaging perspective**, v. 175, p. 107074, 2019.

LEE, K. J.; OH, Y. C.; CHO, W. K.; & MA, J. Y. Antioxidant and anti-inflammatory activity determination of one hundred kinds of pure chemical compounds using offline and online screening HPLC assay. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, p. 1-13, 2015.

LI, L.; ADAMS, L. S.; CHEN, S.; KILLIAN, C.; AHMED, A.; & SEERAM, N. P. Eugenia jambolana Lam. berry extract inhibits growth and induces apoptosis of human breast cancer but not non-tumorigenic breast cells. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57(3), p. 826–83, 2009.

LI, L.; WANG, H.; CHEN, M.; JIANG, S.; CHENG, J.; LI, X.; ZHANG, M.; & JIANG, S. Gelatin/zein fiber mats encapsulated with resveratrol: Kinetics, antibacterial activity and application for pork preservation. **Food Hydrocolloids**, v. 101, p. 105577, 2020.

LOPES, T.; XAVIER, M.; QUADRI, M. G.; & QUADRI, M. Antocianinas: uma breve revisão das características estruturais e da estabilidade. **Current Agricultural Science and Technology**, v. 13(3), 2007.

MARIS, S.; MEIRA, M.; ZEHETMEYER, G.; ORLANDINI, J.; BRANDELLI, A. A novel active packaging material based on starch-halloysite nanocomposites incorporating antimicrobial peptides. **Food Hydrocolloids**, v. 63, p. 561–570, 2017.

MERZ, B.; CAPELLO, C.; LEANDRO, G. C.; MORITZ, D. E.; MONTEIRO, A. R.; & VALENCIA, G. A. A novel colorimetric indicator film based on chitosan, polyvinyl alcohol and anthocyanins from jambolan (*Syzygium cumini*) fruit for monitoring shrimp freshness. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 153, p. 625–632, 2020.

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

NEO, Y. P.; RAY, S.; JIN, J.; GIZDAVIC-NIKOLAIDIS, M.; NIEUWOUDT, M. K.; LIU, D.; & QUEK, S. Y. Encapsulation of food grade antioxidant in natural biopolymer by electrospinning technique: A physicochemical study based on zein-gallic acid system. **Food Chemistry**, v. 136(2), p. 1013–1021, 2013.

OLIVEIRA, J. P.; BRUNI, G. P.; FONSECA, L. M.; DA SILVA, F. T.; DA ROCHA, J. C.; ZAVAREZE, E. R. Characterization of aerogels as bioactive delivery vehicles produced through the valorization of yerba-mate (*Illex paraguariensis*). **Food Hydrocolloids**, v. 107, p. 105931, 2020.

PANDEY, K. B.; RIZVI, S. I. Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. **Oxid Med Cell Longev**, v. 2(5), p. 270–278, 2009.

PATRAS, A.; BRUNTON, N. P.; GORMELY, T. R.; & BUTLER, F. Impact of high pressure processing on antioxidant activity, ascorbic acid, anthocyanins and instrumental colour of blackberry and strawberry puree. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 10(3), p. 308-313, 2009.

PÉREZ-MASIÁ, R.; LÓPEZ-RUBIO, A.; LAGARÓN, J. M. Development of zein-based heat-management structures for smart food packaging. **Food Hydrocolloids**, v. 30(1), p. 182–191, 2013.

POURJAVAHER, S.; ALMASI, H.; MESHKINI, S.; PIRSA, S.; PARANDI, E. Development of a colorimetric pH indicator based on bacterial cellulose nanofibers and red cabbage (*Brassica oleraceae*) extract. **Carbohydrate polymers**, v. 156, p. 193-201, 2017.

PRASAD, P.; KOCHHAR, A. Active packaging in food industry: a review. *Journal of Environmental Science*, **Toxicology and Food Technology**, v. 8(5), p. 1-7, 2014.

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

PRIETTO, L.; MIRAPALHETE, T. C.; PINTO, V. Z.; HOFFMANN, J. F.; VANIER, N. L.; LIM, L. T.; DIAS, A. R. G.; ZAVAREZE, E. R. pH-sensitive films containing anthocyanins extracted from black bean seed coat and red cabbage. **LWT - Food Science and Technology**, v. 80, p. 492–500, 2018.

RADÜNZ, M.; HACKBART, H. C. D. S.; BONA, N. P.; PEDRA, N. S.; HOFFMANN, J. F.; STEFANELLO, F. M.; ZAVAREZE, E. D. R. Glucosinolates and phenolic compounds rich broccoli extract: Encapsulation by electrospraying and antitumor activity against glial tumor cells. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 192, p. 111020, 2020.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; & RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free radical biology and medicine**, v. 26(9-10), p. 1231-1237, 1999.

REALINI, C. E.; MARCOS, B. Active and intelligent packaging systems for a modern society. **Meat science**, v. 98(3), p. 404-419, 2014.

ROACH, P.; EGLIN, D.; ROHDE, K.; & PERRY, C. C. Modern biomaterials: a review—bulk properties and implications of surface modifications. **Journal of Materials Science**, v. 18(7), p. 1263-1277, 2007.

SABINO, L. B. S.; FILHO, E. G. A.; FERNANDES, F. A. N.; BRITO, E. S.; & JÚNIOR, I. J. S. Optimization of pressurized liquid extraction and ultrasound methods for recovery of anthocyanins present in jambolan fruit (*Syzygium cumini* L.). **Food and Bioproducts Processing**, v. 127, p. 77–89, 2021.

SALLES, T. H. C. **Eletrofiação de nanofibras de blendas de gelatina /PVP (poli (vinil pirrolidona)) a partir de soluções de água e ácido acético**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Mecânica) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2013.

SARI, P.; WIJAYA, C. H.; SAJUTHI, D.; & SUPRATMAN, U. Colour properties, stability, and free radical scavenging activity of jambolan (*Syzygium cumini*) fruit anthocyanins in a beverage model system: Natural and copigmented anthocyanins. **Food Chemistry**, v. 132(4), p. 1908–1914, 2012.

SARI, P.; WIJAYA, C. H.; SAJUTHI, D.; & SUPRATMAN, U. Identification of anthocyanins in jambolan fruit (*Syzygium cumini*) by high performance liquid chromatography - diode array detection. **Jurnal Teknologi dan Industri Pangan**, v. 20(2), p. 102–108, 2009.

SCHAEFER, D.; CHEUNG, W. M. Smart packaging: Opportunities and challenges. **Procedia CIRP**, v. 72, p. 1022-1027, 2018.

SHAHIDI, F.; AMBIGAIPALAN, P. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices : Antioxidant activity and health effects –. **Journal of Functional Foods**, v. 18, p. 820–897, 2015.

SHARIF, N.; KHOSHNOUDI-NIA, S.; JAFARI, S. M. Nano/microencapsulation of anthocyanins; a systematic review and meta-analysis. **Food Research International**, v. 132, p. 109077, 2020.

SIEBENEICHLER, T. J.; CRIZEL, R. L.; CAMOZATTO, G. H.; PAIM, B. T.; MESSIAS, R. S.; ROMBALDI, C. V.; & GALLI, V. The postharvest ripening of strawberry fruits induced by abscisic acid and sucrose differs from their in vivo ripening. **Food Chemistry**, v. 317, p. 126407, 2020.

SILVEIRA, T. F. F.; GODOY, H. T. Non-Anthocyanin phenolic compounds in açai (*Euterpe oleracea* Mart.) juice by Ultra-high performance liquid chromatography-diode array detector (UHPLC-DAD): A multivariate optimization. **Journal of chromatographic science**, v. 57, p. 139-148, 2019.

SILVEIRA, T. F. F.; LIMA, M. A.; MEINHART, A. D.; KUHNLE, G. G.; & GODOY, H. T. Effect of solvent composition on the extraction of phenolic compounds and antioxidant capacity of bacaba juice (*Oenocarpus bacaba* Mart.). **Food Analytical Methods**, v. 13(5), p. 1119-1128, 2020.

SINGLETON, V. L.; & ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American journal of Enology and Viticulture**, v. 16(3), p. 144-158, 1965.

SINOPOLI, A.; CALOGERO, G.; & BARTOLOTTA, A. Computational aspects of anthocyanidins and anthocyanins: A review. **Food Chemistry**, v. 297, p. 124898, 2019.

TASSANAWAT, S.; PHANDEE, A.; MAGARAPHAN, R.; NITHITANAKUL, M.; & MANUSPIYA, H. pH-Sensitive PP/clay nanocomposites for beverage smart packaging. **International Conference on Nano/Micro Engineered and Molecular Systems**, v. 662, p. 478–482, 2007.

TAVARES, I. M. C.; LAGO-VANZELA, E. S.; REBELLO, L. P. G.; RAMOS, A. M.; GOMEZ-ALONSO, S.; GARCIA-ROMERO, E.; DA-SILVA, R.; HERMOSIN-GUTIRREZ, I. Comprehensive study of the phenolic composition of the edible parts of jambolan fruit (*Syzygium cumini* (L.) Skeels). **Food Research International**, v. 82, p. 1-13, 2016.

VEDOVE, T. M. A. R. D.; MANIGLIA, B. C.; TADINI, C. C. Production of sustainable smart packaging based on cassava starch and anthocyanin by an extrusion process. **Journal of Food Engineering**, v. 289, p. 110274, 2021.

VEIGAS, J. M.; NARAYAN, M. S.; LAXMAN, P. M.; & NEELWARNE, B. Chemical nature, stability and bioefficacies of anthocyanins from fruit peel of *Syzygium cumini* Skeels. **Food Chemistry**, v. 105(2), p. 619-627, 2007.

VEITCH, N. C.; GRAYER, R. J. Flavonoids and their glycosides, including anthocyanins. **Natural Product Reports**, v. 28(10), p. 1626–1695, 2011.

WEN, H. F.; YANG, C.; YU, D. G.; LI, X. Y.; & ZHANG, D. F. Electrospun zein nanoribbons for treatment of lead-contained wastewater. **Chemical Engineering Journal**, v. 290, p. 263-272, 2016.

WU, X.; & PRIOR, R. L. Systematic identification and characterization of anthocyanins by HPLC-ESI-MS/MS in common foods in the United States: Fruits and berries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53(7), p. 2589–2599, 2005.

YANG, J.-M.; ZHA, L.-S.; YU, D.-G.; LIU, J. Coaxial electrospinning with acetic acid for preparing ferulic acid/zein composite fibers with improved drug release profiles. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 102, p. 737-743, 2013.

ZHANG, K.; HUANG, T. S.; YAN, H.; HU, X.; & REN, T. Novel pH-sensitive films based on starch/polyvinyl alcohol and food anthocyanins as a visual indicator of

shrimp deterioration. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 145, p. 768–776, 2020.

ZHANG, X., LU, S., & CHEN, X. A visual pH sensing film using natural dyes from *Bauhinia blakeana* Dunn. **Sensors and actuators B: Chemical**, v. 198, p. 268-273, 2014.

ZHANG, X.; TANG, K.; ZHENG, X. Electrospinning and Crosslinking of COL/PVA Nanofiber-microsphere Containing Salicylic Acid for Drug Delivery. **Journal of Bionic Engineering**, v. 13, p.143–149, 2016.