



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE TECNOLOGIA

RELATÓRIO TÉCNICO-CIENTÍFICO FINAL

Produção de cristais de β -caroteno de elevado grau de pureza a partir da casca da pupunha (*Bactris gasipaes*)

(Processo 59004.000739/2022-48)

Vigência: 07/07/2022 a 07/07/2024 (24 meses)

Coordenador: Renan Campos Chisté.

Órgão financiador: Superintendência de Desenvolvimento da Amazônia (SUDAM).

Belém/PA

2024

SUMÁRIO

1. RESUMO DO RELATÓRIO FINAL	3
2. JUSTIFICATIVA DO PROJETO (Proposta no Plano Inicial)	3
3. OBJETIVOS E METAS DO PLANO INICIAL	5
4. CRONOGRAMA PROPOSTO NO PLANO INICIAL.....	7
5. CRONOGRAMA REALIZADO	8
6. REALIZAÇÃO DAS ETAPAS/ATIVIDADES PREVISTAS NO PROJETO.....	9
6.1) <i>META 1: Aquisição e tratamento dos frutos, III Feira de Tecnologia de Alimentos e Treinamento dos Produtores rurais (parcialmente realizado).....</i>	<i>9</i>
6.2) <i>META 2: Obtenção de extratos com elevados teores de β-caroteno (realizado) 10</i>	<i>10</i>
6.3) <i>META 3: Isolamento e cristalização do β-caroteno (realizado).....</i>	<i>12</i>
6.4) <i>META 4: Estabilidade dos cristais de β-caroteno (realizado).....</i>	<i>27</i>
7. OUTRAS INFORMAÇÕES.....	36

1. RESUMO DO RELATÓRIO FINAL

Este relatório técnico-científico final compreende o período de 24 meses (07/07/2022 a 07/07/2024) do Projeto de Pesquisa intitulado “Produção de cristais de β -caroteno de elevado grau de pureza a partir da casca da pupunha (*Bactris gasipaes*)”, com financiamento da Superintendência de Desenvolvimento da Amazônia (SUDAM). Todas as atividades científicas propostas foram finalizadas com sucesso, sendo necessário a inclusão de novas atividades para atender aos desdobramentos científicos observados. Uma parte dos resultados obtidos no desenvolvimento deste Projeto foi publicada no ano de 2023 em uma revista científica indexada de alto fator de impacto na área de alimentos: revista *Heliyon* (Editora Elsevier), classificada como Qualis A2 na área de Ciência de Alimentos da CAPES. Outra parte do Projeto está em fase final de preparação para submissão em revista científica internacional indexada de elevado impacto da área de Alimentos. O recurso financeiro concedido para a execução do Plano de trabalho (R\$ 60.000,00) foi devidamente empregado, conforme notas fiscais disponíveis para consulta na seção ANEXOS. Algumas intercorrências (atrasos) foram experienciadas na aquisição do conjunto de equipamentos essenciais para a execução do Plano de Trabalho; no entanto, foi possível concluir os objetivos científicos propostos através de parcerias, conforme a previsão do cronograma de atividades.

2. JUSTIFICATIVA DO PROJETO (Proposta no Plano Inicial)

Os carotenoides, a exemplo do β -caroteno, são compostos bioativos lipossolúveis amplamente distribuídos em frutos e outros vegetais, e além de seu amplo uso como corante alimentício (coloração variando entre o amarelo, alaranjado e vermelho), os carotenoides também são importantes para a saúde humana, pois alguns compostos atuam como precursores da vitamina A. Além disso, o aumento da ingestão frequente de alimentos contendo carotenoides na composição vem sendo associado ao fortalecimento do sistema imunológico e também à diminuição do risco de desenvolvimento de diversas doenças crônico-degenerativas, tais como inflamações, doenças cardiovasculares, cataratas, degeneração macular e câncer (Griffiths et al., 2016).

A região Amazônica, que possui importância internacional e uma grande variedade de matérias-primas pouco exploradas sobre a ótica científica e econômica, destaca-se como fonte de frutos ricos em carotenoides, a exemplo da pupunha, tucumã e o buriti (De Rosso & Mercadante, 2007). Dentre os frutos com elevados teores de

carotenoides mencionados, a pupunha é o objeto de interesse desta Proposta. A pupunha (*Bactris gasipaes*), pertencente à família Aracaceae, é uma espécie nativa da região amazônica, rica do ponto de vista nutricional e com estimáveis propriedades funcionais, que é considerada alimento básico em muitas regiões da América Latina, porém ainda pouco explorada cientificamente. Várias pesquisas já reportaram o importante valor nutricional dos seus componentes lipídicos, aminoácidos essenciais e fibras, possuindo um alto valor energético (Leterme et al., 2005).

No Norte do Brasil, o consumo dos frutos da pupunha é tradicionalmente feito após o cozimento em água salgada. Além disso, alguns estudos estão disponíveis na literatura científica sobre o uso potencial da polpa dos frutos de pupunha para a produção de farinha (Carvalho et al., 2010; Rojas-Garbanzo et al., 2011), que pode ser utilizada em extrusados (Carvalho et al., 2010) e produtos de panificação (Pires et al., 2019). No entanto, após o cozimento dos frutos, a casca é considerada um descarte sem valor econômico, e eventualmente é destinada para o uso em compostagem (adubo). Em um estudo realizado pelo grupo de pesquisa sob a orientação do coordenador desta Proposta, a casca de pupunha foi investigada em detalhes, tendo seu perfil de carotenoides identificados e este resíduo agroindustrial foi classificado como uma fonte muito elevada de carotenoides, especialmente o β -caroteno (Matos et al., 2019).

A produção industrial de corantes alimentícios vem se expandindo nas últimas décadas; contudo, devido à constante procura por produtos naturais, visando uma maior preocupação pela saúde por parte dos consumidores, o mercado internacional de pigmentos busca incorporar corantes naturais em seus produtos ao invés dos sintéticos (ou artificiais) (Agócs & Deli, 2011). Desta forma, os pigmentos naturais extraídos de fontes naturais vêm despertando o interesse científico e comercial devido ao seu apelo natural. No período de 2013 a 2018, o Brasil importou um total de 3.781.376 kg de preparações contendo carotenoides, movimentando US\$ 38.929.505; e para o mesmo período, exportou apenas 10.555 kg, o que correspondeu a US\$ 678.007 (Comex Stat, 2018), tornando o Brasil um país essencialmente importador de carotenoides e seus derivados, mas com potencial para atuar como grande exportador.

Dessa forma, pesquisas e ações que objetivam a adoção de estratégias de aproveitamento e rentabilização dos recursos naturais da região Amazônica, a exemplo da utilização da casca da pupunha como fonte natural para a obtenção de cristais de β -caroteno de elevado grau de pureza, são altamente desejáveis e podem levar ao surgimento de novos produtos com potencial de aplicação por importantes indústrias

alimentícias, cosméticas e farmacêuticas, além da possibilidade de criação de patentes através do desenvolvimento de processos e produtos com alegação funcional.

Os resultados esperados com a execução desta Proposta podem vir a ser destacados pelo: 1) desenvolvimento de processos para a obtenção de um produto natural de elevado valor comercial agregado a partir de matéria-prima de baixíssimo custo (a casca de pupunha); 2) pelo desenvolvimento de um produto com aplicação não somente como corante natural, mas também como produto funcional (nutracêutico e fitoterápico) a ser amplamente utilizado pelas indústrias alimentícias, farmacêuticas e cosméticas; 3) pelo desenvolvimento de um produto com aplicação como padrão analítico de mais baixo custo, se comparado às alternativas comerciais (síntese química), para a utilização por Instituições de Pesquisa; e 4) pelo fortalecimento da imagem das frutas Amazônicas e das empresas que comercializam produtos derivados desses frutos no cenário nacional e internacional.

Com o desenvolvimento deste Projeto, teremos a oportunidade também de estimular futuras políticas de desenvolvimento científico-comercial pelo Governo do Estado do Pará; a formação de recursos humanos qualificados através dos alunos de graduação e Pós-Graduação da área de Alimentos envolvidos no Projeto através da interação e transferência de tecnologia com os Pesquisadores/Grupo de Pesquisa da UFPA e instituição parceira, assim como promover o incentivo para que a produção de pupunha seja mais bem organizada pelos produtores ou cooperativas de produtores visando a exploração racional e sustentável para a geração de emprego e renda para a população que vive e depende do extrativismo da pupunha.

3. OBJETIVOS E METAS DO PLANO INICIAL

O objetivo geral deste Projeto é a produção de extratos ricos em β -caroteno, utilizando a casca da pupunha como matéria-prima, para a obtenção de cristais de elevado grau de pureza para as mais diversas aplicações comerciais/industriais.

Para atingir tal objetivo, foram traçadas as seguintes metas a serem desenvolvidas:

META 1: Aquisição e tratamento dos frutos, III Feira de Tecnologia de Alimentos e Treinamento dos Produtores rurais (**parcialmente realizado**)

1- Levantamento de informações sobre os produtores de pupunha da região metropolitana de Belém para parceria neste Projeto; **(não-realizado, com justificativa neste relatório)**

2- Aquisição dos frutos e tratamento das partes de interesse; **(realizado)**

META 2: Obtenção de extratos com elevados teores de β -caroteno **(realizado)**

3- Desenvolvimento da extração utilizando o processo por maceração; **(realizado)**

4- Determinação do perfil de carotenoides do extrato obtido por maceração; **(realizado)**

5- Desenvolvimento da extração utilizando o processo assistido por ultrassom; **(realizado)**

6- Determinação do perfil de carotenoides do extrato obtido por extração assistida por ultrassom; **(realizado)**

META 3: Isolamento e cristalização do β -caroteno **(realizado)**

7- Testes de cristalização do β -caroteno nos extratos obtidos em ambos os processos; **(realizado)**

8- Determinação do grau de pureza dos cristais; **(realizado)**

META 4: Estabilidade dos cristais de β -caroteno **(realizado)**

9- Estabilidade dos cristais de β -caroteno sob congelamento; **(realizado)**

10- Avaliação da higroscopicidade dos cristais obtidos. **(realizado)**

4. CRONOGRAMA PROPOSTO NO PLANO INICIAL

ID	Tarefas	Responsável	Início	Término	Predecessora
META 1: Aquisição e tratamento dos frutos					
1	Levantamento de informações sobre os produtores de pupunhada região metropolitana de Belém para parceria neste Projeto	Renan Chisté/Aluno Mestrado	1º mês	6º mês	
2	Aquisição dos frutos e tratamento das partes de interesse	Aluno Mestrado	3º mês	6º mês	
3	Realização da III Feira de Tecnologia de Alimentos	Renan Chisté	7º mês	7º mês	2
4	Treinamento dos produtores rurais no desenvolvimento de novos produtos oriundos da pupunha	Renan Chisté/Aluno Mestrado/ Aluno Iniciação Científica	7º mês	9º mês	3
META 2: Obtenção de extratos com elevados teores de β-caroteno					
5	Desenvolvimento da extração utilizando o processo por maceração	Aluno Mestrado/ Aluno Iniciação Científica	7º mês	9º mês	2
6	Determinação do perfil de carotenoides do extrato obtido por maceração	Eliseu Rodrigues/Aluno Mestrado	7º mês	9º mês	5
7	Desenvolvimento da extração utilizando o processo assistido por ultrassom	Aluno Mestrado/ Aluno Iniciação Científica	9º mês	12º mês	6
8	Determinação do perfil de carotenoides do extrato obtido por extração assistida por ultrassom	Eliseu Rodrigues/Aluno Mestrado	9º mês	12º mês	7
META 3: Isolamento e cristalização do β-caroteno					
9	Testes de cristalização do β -caroteno nos extratos obtidos em ambos os processos	Aluno Mestrado	13º mês	17º mês	6 e 8
10	Determinação do grau de pureza dos cristais	Aluno Mestrado	13º mês	17º mês	9
META 4: Estabilidade dos cristais de β-caroteno					
11	Estabilidade dos cristais de β -caroteno sob congelamento	Rosinelson Pena/Aluna de Mestrado	17º mês	21º mês	10
12	Avaliação da higroscopicidade dos cristais obtidos	Rosinelson Pena/Aluna de Mestrado	21º mês	24º mês	10

5. CRONOGRAMA REALIZADO

ID	Tarefas	Responsável	Início	Término	Porcentagem conclusão
META 1: Aquisição e tratamento dos frutos					
1	Aquisição dos frutos e tratamento das partes de interesse	Renan Chisté/Aluno Iniciação Científica	1º mês	3º mês	100%
2	Levantamento de informações sobre os produtores de pupunha da região metropolitana de Belém para parceria neste Projeto	Renan Chisté/Aluno Iniciação Científica	18º mês	24º mês	0% (justificativa apresentada)
3	Realização da III Feira de Tecnologia de Alimentos	Renan Chisté	18º mês	24º mês	0% (justificativa apresentada)
4	Treinamento dos produtores rurais no desenvolvimento de novos produtos oriundos da pupunha	Renan Chisté/Aluna Mestrado	18º mês	24º mês	0% (justificativa apresentada)
META 2: Obtenção de extratos com elevados teores de β-caroteno					
5	Desenvolvimento da extração utilizando o processo por maceração	Renan Chisté/ Aluno Iniciação Científica	1º mês	8º mês	100%
6	Determinação do perfil de carotenoides do extrato obtido por maceração	Renan Chisté/ Aluno Iniciação Científica	1º mês	8º mês	100%
7	Desenvolvimento da extração utilizando o processo assistido por ultrassom	Renan Chisté/ Aluno Iniciação Científica	1º mês	8º mês	100%
8	Determinação do perfil de carotenoides do extrato obtido por extração assistida por ultrassom	Renan Chisté/ Aluno Iniciação Científica	1º mês	8º mês	100%
META 3: Isolamento e cristalização do β-caroteno					
9	Testes de cristalização do β -caroteno nos extratos obtidos em ambos os processos	Renan Chisté/ Aluno Iniciação Científica	9º mês	16º mês	100%
10	Determinação do grau de pureza dos cristais	Renan Chisté/Aluna Mestrado	9º mês	16º mês	100%
META 4: Estabilidade dos cristais de β-caroteno					
11	Estabilidade dos cristais de β -caroteno	Rosinelson Pena/ Renan Chisté/Aluna Mestrado	17º mês	24º mês	100%
12	Avaliação da higroscopicidade dos cristais obtidos	Rosinelson Pena/ Renan Chisté/Aluna Mestrado	17º mês	24º mês	100%

6. REALIZAÇÃO DAS ETAPAS/ATIVIDADES PREVISTAS NO PROJETO

6.1) META 1: Aquisição e tratamento dos frutos, III Feira de Tecnologia de Alimentos e Treinamento dos Produtores rurais (parcialmente realizado)

Atividade realizada:

1) Aquisição e tratamento dos frutos

Os frutos de pupunha de casca alaranjada foram adquiridos através de parcerias com produtores rurais da região metropolitana de Belém (Pará, Brasil) e encaminhados para o Laboratório de Tecnologia de Alimentos da Faculdade de Engenharia de Alimentos (FEA) da Universidade Federal do Pará (UFPA). Os frutos foram lavados com água corrente para a remoção de sujidades, sanitizados com água contendo hipoclorito de sódio (100 ppm) por 10 min, cozidos sob pressão por 30 min (em panela de pressão, conforme procedimento tradicional de utilização do fruto), e as cascas dos frutos foram separadas manualmente. As cascas de pupunha foram utilizadas para a realização de testes de extração e caracterização para o posterior isolamento do β -caroteno. As cascas dos frutos foram trituradas em processador de alimentos, liofilizadas, embaladas a vácuo e armazenadas a -20 °C, protegidas da luz, até o momento de preparação dos extratos. O acesso aos frutos selecionados foi registrado no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen, ACC7773).

Atividades não-realizadas:

- 2) Levantamento de informações sobre os produtores de pupunha da região metropolitana de Belém para parceria neste Projeto;*
- 3) Realização da III Feira de Tecnologia de Alimentos;*
- 4) Treinamento, de até 10, dos produtores rurais no desenvolvimento de novos produtos oriundos da pupunha.*

Justificativa para a não-realização: Os objetivos foram reprogramados para serem executados entre o 18º e 24º mês de desenvolvimento do Projeto, conforme a sazonalidade do fruto e a depender da agenda semestral da disciplina na UFPA, sob a

organização/coordenação do Prof. Dr. Renan Campos Chisté. No entanto, o coordenador, Prof. Dr. Renan Campos Chisté, servidor público federal anteriormente vinculado à Universidade Federal do Pará (UFPA), entrou em processo de redistribuição federal durante o ano de 2023, e foi redistribuído para a Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) em março/2024, conforme a Portaria Conjunta do Ministério da Educação Nº 188 de 14 de março de 2024, publicada no DOU (Nº 52, 15/03/24), para atuar como Professor do Magistério Superior no Departamento de Alimentos da Faculdade de Farmácia da UFMG, e por essa razão não foi possível conduzir a realização da III Feira de Tecnologia de Alimentos, e nem o treinamento com os 10 produtores. **Entretanto, a não-realização da III Feira de Tecnologia de Alimentos, e do treinamento com os 10 produtores, não prejudicou a conclusão dos objetivos principais deste Objeto que foi a produção de extratos ricos em β -caroteno, utilizando a casca da pupunha como matéria-prima, para a obtenção de cristais de elevado grau de pureza para as mais diversas aplicações comerciais/industriais. Além disso, todas as demais atividades programadas foram conduzidas 100%.**

6.2) *META 2: Obtenção de extratos com elevados teores de β -caroteno (realizado)*

Atividades realizadas:

5- *Desenvolvimento da extração utilizando o processo por maceração;*

6- *Determinação do perfil de carotenoides do extrato obtido por maceração;*

7- *Desenvolvimento da extração utilizando o processo assistido por ultrassom;*

8- *Determinação do perfil de carotenoides do extrato obtido por extração assistida por ultrassom;*

Para a obtenção de extratos com elevados teores de β -caroteno, a partir da casca de frutos de pupunha, foram desenvolvidos e avaliados vários processos utilizando álcool etílico (etanol) como solvente de extração, devido a permissibilidade de uso para fins alimentícios. **Na Proposta inicial, apenas dois processos seriam estudados:**

- Primeiro processo: extração sólido-líquido por maceração à temperatura ambiente, que será realizada por agitação da casca de pupunha liofilizada com o solvente de extração, em mesa agitadora;

- Segundo processo: extração sólido-líquido assistida por ultrassom à temperatura ambiente, que será realizada em banho ultrassônico.

No entanto, para maior compreensão sobre o efeito do processo de extração na composição de carotenoides dos extratos obtidos, adotamos a estratégia de monitorar e comparar cinco diferentes processos:

- a) Maceração convencional utilizando acetona (experimento controle);
- b) Maceração convencional utilizando etanol;
- c) Extração utilizando agitador *shaker*;
- d) Extração utilizando agitação magnética;
- e) Extração assistida por ultrassom.

Os resultados dessa meta foram publicados na revista científica internacional indexada *Heliyon* (Editora *Elsevier*), com fator de impacto 4.0 (Qualis A2 na área de Ciência de Alimentos, conforme a CAPES) (<http://dx.doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e14933> - ANEXO 1). A realização deste estudo permitiu a formação e a capacitação de 01 aluno de graduação (Jhonathan Vinícius Menezes Silva), que hoje se encontra realizando o curso de Doutorado Direto no Programa de Pós-graduação em Alimentos e Nutrição da UNICAMP. Além disso, a execução das atividades foi realizada em parceria com outros grupos de pesquisa, uma vez que o equipamento programado para ser adquirido no âmbito do Projeto não havia sido entregue ainda. O intercâmbio do conhecimento científico para o cumprimento desta meta certamente agregou conhecimento para o Projeto e consolidou as parcerias criadas para o desenvolvimento de futuros Projetos de Pesquisa.

Como resultado da execução desta meta, pudemos concluir que o perfil qualitativo de carotenoides das cascas de pupunha foi o mesmo para todos os métodos de extração, porém o teor dos carotenoides identificados carotenoides foram diferentes. A extração assistida por ultrassom utilizando etanol como solvente apresentou teor de carotenoides estatisticamente igual ao procedimento tradicional (maceração com acetona). Neste sentido, o método analítico convencional utilizando solvente orgânico tóxico (acetona) pode ser substituído por um método que utiliza etanol como solvente GRAS (*Generally Recognized As Safe*) e baixo tempo operacional, o que evitará o contato prolongado dos carotenoides com fatores de degradação como o oxigênio e a incidência de luz. Além disso, a extração por agitação magnética com etanol mostrou ser um método com potencial de utilização para a obtenção de carotenoides a partir de cascas de frutos de pupunha devido ao seu baixo custo operacional e técnico. Os extratos etanólicos ricos em carotenoides obtidos de cascas de frutos de pupunha por meio de ultrassom e agitação

magnética mostraram excelente potencial para ser utilizado pelas indústrias alimentícia e farmacêutica.

Neste estudo, o método com alta eficiência de extração e baixo efeito negativo no perfil de carotenoides pode ser utilizado em outros estudos para promover a recuperação de subprodutos ricos em carotenoides de frutas amazônicas. Além disso, o método pode ser aplicado para obter antioxidantes e pigmentos naturais e padrão analítico de alta pureza, que podem ser usados por alimentos, produtos farmacêuticos e cosméticos indústrias.

6.3) META 3: Isolamento e cristalização do β -caroteno (**realizado**)

Atividade realizada:

9- Testes de cristalização do β -caroteno nos extratos obtidos

10- Determinação do grau de pureza dos cristais;

O β -caroteno presente nos extratos com elevados teores de carotenoides foi submetido a experimentos de cristalização, conforme procedimento adotado pelo nosso grupo de Pesquisas. Para o cumprimento desta meta, contávamos com a chegada do conjunto de equipamentos para a concentração dos compostos sob pressão em evaporador rotativo ($T < 38\text{ }^{\circ}\text{C}$) (**adquirido e disponível para utilização no âmbito deste Plano de Trabalho apenas em março/2023**). Foram realizados diferentes testes de cristalização do β -caroteno em diferentes extratos ricos em carotenoides.

Uma vez que os extratos obtidos exibiram a presença de compostos interferentes extraídos com o etanol, a exemplo de lipídeos e ceras oriundas da casca do fruto, **foi necessário realizar testes adicionais não previstos no plano inicial** com o objetivo de viabilizar o processo de cristalização.

Nesta etapa, pesou-se 50 g de casca de pupunha *in natura*, submetendo a uma prévia lavagem com aproximadamente 20 mL de hexano, com agitação manual por 5 minutos, seguido de filtragem a vácuo para retirar a fração gordurosa interferente. Os seguintes testes foram realizados com o objetivo de eliminação dos interferentes:

Teste 1: As cascas parcialmente desengorduradas foram trituradas com o auxílio de um mini processador, utilizando o éter etílico (50 mL) como solvente. No entanto,

imediatamente foi observada a ineficiência do processador para a trituração, sendo esta opção descartada para os demais experimentos.

Teste 2: As cascas parcialmente desengorduradas foram trituradas com o auxílio de um mini processador com o uso de 200 mL da mistura de dois solventes: éter etílico e álcool etílico, na proporção de (1:2, v/v), no qual, optou-se primeiramente pela trituração das cascas no processador e depois estas mesmas cascas foram submersas em éter etílico por aproximadamente 10 minutos, resultando na obtenção de um extrato com coloração alaranjada intensa, após a filtração a vácuo para a remoção das cascas.

Teste 3 (Obtido conforme a META 2 deste Plano): Neste teste, as cascas frescas (sem a lavagem de hexano) foram submetidas à extração assistida por ultrassom, conforme estabelecido na **META 2 deste Projeto (Artigo publicado - ANEXO 1)**. Em seguida, o resíduo sólido foi filtrado a vácuo resultando em um extrato límpido de coloração alaranjada (Figura 1).



Figura 1. Extrato de carotenoides obtido no Teste 3.

O extrato obtido no teste 3 foi deixado no congelador por 24 h para solidificar a gordura presente na amostra, seguido de posterior remoção da parte sólida por filtração a vácuo (Figura 2), com todos os utensílios previamente gelados, e com rápida manipulação. A gordura ficou retida no papel filtro e o extrato líquido foi recolhido em um erlenmayer para posterior secagem por evaporação rotativa ($T < 40\text{ }^{\circ}\text{C}$). No entanto, durante o procedimento de cristalização foi verificada a elevada impureza do extrato inicial, devido a presença de elevados teores de gordura solubilizada (Figura 2), impedindo a formação de cristais de β -caroteno que justificasse um processo rentável.



Figura 2 - Extrato de carotenoides com elevado teor de gordura obtido nos experimentos para cristalização do β -caroteno após a extração com etanol (Teste 3) como solvente como solvente GRAS (*Generally Recognized As Safe*).

Com base na impossibilidade de formação de cristais de β -caroteno com elevado grau de pureza através do extrato obtido, optamos por seguir outra via tecnológica de utilização dos extratos de carotenoides da casca de pupunha através do desenvolvimento de **microcápsulas de carotenoides de casca de pupunha**. Com base nessa estratégia, foi possível orientar uma dissertação de Mestrado, da discente ALANA CAROLINE GARCIA DA SILVA, no Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da UFPA.

A microencapsulação visa aumentar a estabilidade dos carotenoides através da proteção que oferece por meio de materiais de parede que servem como barreira aos fatores externos de degradação. Além disso, a microencapsulação de ingredientes ativos pode proporcionar o aumento da bioacessibilidade e biodisponibilidade de compostos, pois ocorre a liberação controlada dos componentes encapsulados de maneira que estes possam ser digeridos e absorvidos eficientemente no sistema digestivo humano. Até o presente momento, não foram encontrados estudos na literatura sobre a microencapsulação dos carotenoides extraídos da casca de frutos de pupunha.

Nesse contexto, o estudo do processo de microencapsulação dos carotenoides da casca da pupunha apresenta relevância científica e comercial, pois poderá proporcionar a incorporação de carotenoides em formulações alimentícias, permitindo maior alcance a novos mercados no âmbito dos alimentos funcionais, devido ao aumento da vida útil do produto fazendo uso do seu potencial tecnológico e benéfico para o aumento da sua atividade biológica, favorecendo a utilização e valorização de resíduos agroindustriais.

Para esta finalidade, foram necessárias a inclusão de novas METAS:

- I) Caracterizar o extrato de carotenoides da casca de pupunha obtidos por extração assistida por ultrassom;
- II) Determinar as melhores condições para o processo de microencapsulação dos carotenoides do extrato da casca da pupunha, por secagem em spray dryer, utilizando maltodextrina como material de parede e lecitina de soja como emulsificante;
- III) Produzir microcápsulas contendo extrato de carotenoides da casca da pupunha e verificar o efeito do processo de secagem no teor de carotenoides totais, eficiência de encapsulação, parâmetros de cor, umidade, atividade de água, rendimento, solubilidade e microscopia dos pós.

Com o desenvolvimento das novas metas, foi possível elaborar um artigo científico, que está em fase final de preparação para submissão em uma revista científica internacional indexada de elevado impacto na área de Ciência de Alimentos. Por essa razão, os detalhes da metodologia encontram-se descritos no artigo preparado (**Artigo a ser submetido - ANEXO 2**). Os principais resultados serão apresentados agora neste relatório.

I) Caracterização do extrato de carotenoides da casca de pupunha obtido por extração assistida por ultrassom

O teor dos carotenoides totais do extrato da casca de pupunha obtidos através da extração assistida por ultrassom foi de 604,71 µg/g (base seca). Este valor destaca a alta concentração de carotenoides presentes na casca da pupunha, um subproduto descartado após o consumo do fruto cozido, o que faz dela uma rica fonte dessa classe de compostos que possuem reconhecidas propriedades benéficas à saúde.

O extrato da casca de pupunha quando comparado ao teor de carotenoides totais de outros extratos de cascas alimentícias assemelham-se, corroborando com Lima *et al.* (2021) que encontrou valor próximo ao presente trabalho 771,5 µg/g em cascas de abobora. Entretanto, Benmeziane *et al.* (2018) verificaram para a casca de melão um teor de carotenoides totais de 124,61 µg/g, abaixo deste estudo, da mesma forma que Liang *et al.* (2020) obteve 116,78 µg/g para casca de manga vermelha. Dessa forma, esses valores ratificam a importância dos carotenoides em extratos de subprodutos alimentícios, principalmente os de origem amazônica como os encontrados na casca da pupunha.

O perfil dos carotenoides do extrato da casca de pupunha obtidos neste estudo pode ser visualizado na Figura I.1, e as características dos picos estão descritas na Tabela I.1. Dentre os carotenoides identificados na composição do extrato, quatro compostos majoritários puderam ser observados: pico 7 (*all-E*)- δ -caroteno (19,95 $\mu\text{g/g}$), pico 8 (*all-E*)- γ -caroteno (16,30 $\mu\text{g/g}$), pico 9 *Z*- γ -caroteno (36,53 $\mu\text{g/g}$), sendo o pico 4, (*all-E*)- β -Caroteno (62,06 $\mu\text{g/g}$), o principal constituinte do extrato da casca do fruto.

Figura I.1 – Cromatograma obtido por HPLC-DAD dos Carotenoides do Extrato da Casca de Pupunha.

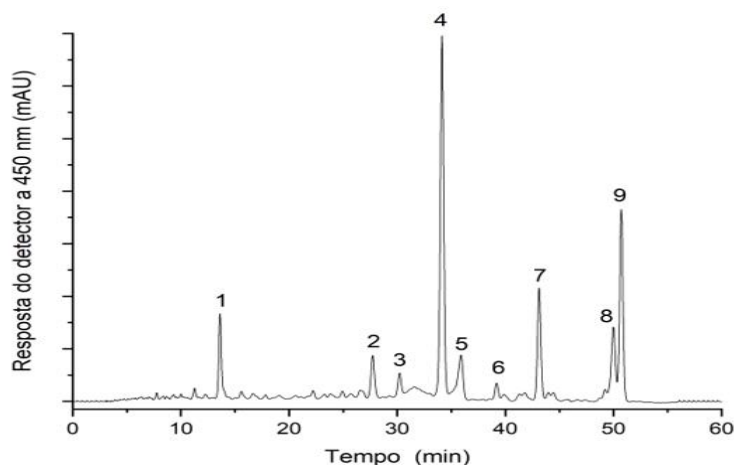


Tabela I.1 - Carotenoides identificados nos extratos da casca de pupunha por HPLC-DAD.

Pico ^a	Carotenoide ^b	Concentração ($\mu\text{g/g}$)	t_r (min) ^c	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	% III/ II	% AB/ A _{II}
1	(<i>all-E</i>)-Luteína	9,21 \pm 0,85	13,4	267, 420, 444, 472	62	0
2	13 <i>Z</i> - β -Caroteno	6,86 \pm 0,60	27,5	339,420, 443, 467	33	36
3	(<i>all-E</i>)- α -caroteno	0,92 \pm 0,08	30,0	267, 425, 444, 471	50	0
4	(<i>all-E</i>)- β -Caroteno	62,06 \pm 17,6	33,9	273, 430, 451, 477	31	0
5	9 <i>Z</i> - β -Caroteno	10,8 \pm 1,56	35,7	347, 425, 448, 472	16	9
6	13 <i>Z</i> - δ -Caroteno	0,24 \pm 0,2	39,0	349, 433, 454, 482	33	36
7	(<i>all-E</i>)- δ -Caroteno	19,95 \pm 0,73	42,9	282, 432, 455, 484	44	0

8	(all- <i>E</i>)- γ -Caroteno	16,30 \pm 1,22	49,5	282, 436, 460, 490	56	0
9	<i>Z</i> - γ -Caroteno	36,53 \pm 1,41	50,2	282, 436, 461, 491	50	n.c

^aPicos numerados de acordo com o cromatograma mostrado na Figura. ^bIdentificação provisória por HPLC-DAD com base em dados publicados pelo nosso grupo de pesquisa para a mesma metodologia e matéria-prima (Matos *et al.*, 2019; Chisté *et al.*, 2021). ^cTempo de retenção na coluna C₃₀. n.c = não calculado.

Os carotenoides identificados nos picos 4, 7, 8 e 9 foram os mesmos observados por Matos *et al.* (2019) em extratos da casca de pupunha não-cozidas, e por Chisté *et al.* (2021) para polpa de pupunhas cozidas, onde o (all-*E*)- β -Caroteno (pico 4), principal composto presente no extrato, foi confirmado positivamente por meio das características espectrais, e tempo de retenção comparados com o padrão autêntico de β -caroteno.

Os picos 1, 2 e 5 identificados como (all-*E*)-luteína, 13*Z*- β -caroteno e 9*Z*- β -caroteno, respectivamente, foram os mesmos encontrados por Chisté *et al.* (2021) para a polpa de pupunha cozida, obtendo as mesmas características espectrais, além de ser identificado outros compostos isômeros nos picos 3 (all-*E*)- α -caroteno e pico 6, 13*Z*- δ -caroteno. Todos esses carotenoides detectados já foram anteriormente identificados em polpas de tucumã, pupunha e outras frutas amazônicas (CHISTÉ; MERCADANTE, 2012; ROSSO; MERCADANTE, 2007).

II) Determinação das melhores condições de microencapsulação dos carotenoides do extrato da casca da pupunha

A Tabela II.1 apresenta os resultados encontrados para o teor de carotenoides totais das microcápsulas e a eficiência de encapsulação durante a realização do planejamento experimental. Os maiores teores de carotenoides totais e eficiência de encapsulação das microcápsulas do extrato da casca de pupunha, obtidas por meio de diferentes condições experimentais foram nos experimentos 1 e 3, 16,33 e 17,76 μ g; 70,88 e 75,24%, respectivamente, independentemente da vazão adotada, uma vez que, as vazões utilizadas no processo não diferem estatisticamente entre si (Tabela II.1). De acordo com a Tabela II.1, os maiores teores de carotenoides totais (menor degradação) foram observados em menores valores de T ($^{\circ}$ C) e menores C (%), onde verificamos a diminuição de aproximadamente \approx

40% no teor de carotenoides totais e de $\approx 65\%$ na eficiência de encapsulação (experimento 2), quando ocorre o aumento da temperatura para 170 °C.

Tabela II.1 - Matriz de planejamento com os resultados das respostas obtidas para carotenoides totais e eficiência de encapsulação em diferentes condições de secagem, das microcápsulas do extrato de carotenoides da casca de pupunha, obtidas por *spray dryer*.

Exp.	Variáveis independentes			Variáveis Dependentes	
	X ₁	X ₂	X ₃	Carotenoides totais (µg)	Eficiência encapsulação (%)
1	-1(130)	-1(20)	-1(10)	16,33 ^{ab} ± 2,16	70,88 ^a ± 3,39
2	1(170)	-1(20)	-1(10)	9,76 ^c ± 1,44	25,10 ^e ± 0,79
3	-1(130)	1(40)	-1(10)	17,76 ^a ± 0,60	75,24 ^a ± 3,06
4	1(170)	1(40)	-1(10)	16,39 ^{ab} ± 2,12	46,20 ^{bc} ± 3,45
5	-1(130)	-1(20)	1(30)	12,15 ^{bc} ± 4,04	41,85 ^{cd} ± 3,08
6	1(170)	-1(20)	1(30)	11,74 ^{bc} ± 0,17	42,01 ^{cd} ± 0,40
7	-1(130)	1(40)	1(30)	8,11 ^c ± 0,13	14,94 ^f ± 1,90
8	1(170)	1(40)	1(30)	8,76 ^c ± 0,22	33,93 ^{de} ± 1,88
9**	0(150)	0(30)	0(20)	15,26 ^{ab} ± 0,20	51,55 ^b ± 1,62
10**	0(150)	0(30)	0(20)	12,41 ^{bc} ± 0,25	36,02 ^d ± 1,72
11**	0(150)	0(30)	0(20)	9,88 ^c ± 0,34	42,64 ^{bcd} ± 1,78

Exp.: Experimento. X₁: temperatura do ar de entrada (°C). X₂: vazão de alimentação (%). X₃: concentração de maltodextrina (%). **ponto central. Letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey, $p \leq 0,05$.

As literaturas nos mostram que o conteúdo de carotenoides totais diminui com o aumento de temperatura, devido a maior degradação dos carotenoides ocasionados pelo efeito térmico do processo de secagem por *spray dryer*, reações de isomerização ocorrem e aumentam a proporção de isômeros *cis* do β -caroteno (ETZBACH *et al.*, 2020; FOO; KHONG; YOUSOFF, 2020).

Os valores encontrados para carotenoides totais e eficiência de encapsulação, respectivamente (Tabela II.1), para temperaturas acima de 170 °C, corroboram com os

observados por Rezende, Nogueira e Narain (2018), para microcápsulas de extrato de resíduo de acerola com concentração de maltodextrina a 10% (0,76 $\mu\text{g/g}$ e 17,25 %). Donhowe *et al.* (2014) obtiveram dados inferiores para microcápsulas de padrão do β -caroteno, em comparação com o presente estudo (80 $\mu\text{g/g}$ e 37,7%), e concentração de material de parede de 10%, confirmando que temperaturas altas induzem uma maior perda do composto bioativo.

No gráfico de Pareto (Figura II.1), podemos observar o maior efeito da adição de maltodextrina nas respostas selecionadas.

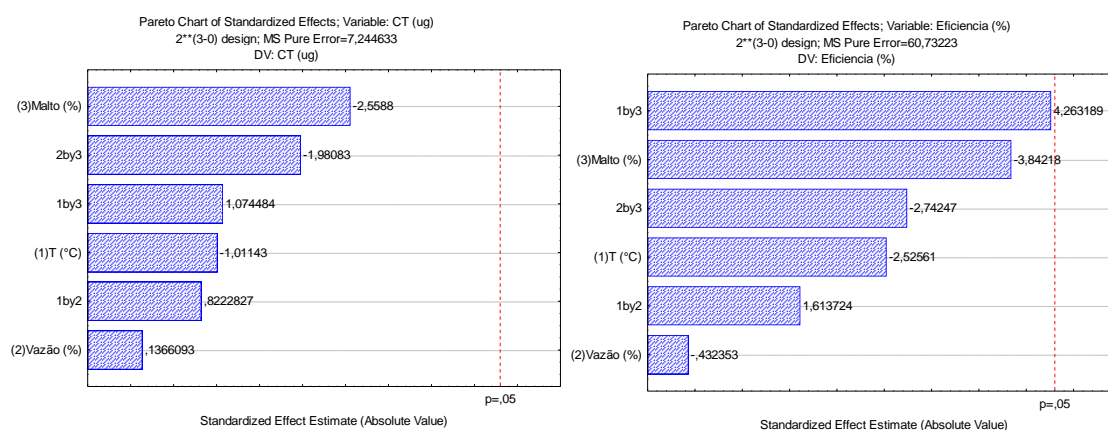


Figura II.1 – Gráfico de Pareto ilustra os efeitos das variáveis independentes nos teores de carotenoides totais e na eficiência de encapsulação.

Os valores descritos no gráfico de Pareto (Figura II.1) são negativos, nos mostrando que quando alteramos a concentração de malto de 10 para 30%, o teor de carotenoides e a eficiência de encapsulamento tende a diminuir, o mesmo efeito é observado para o aumento da temperatura de entrada.

Em baixas temperaturas de secagem observa-se maiores umidades com tendência à aglomeração, e esta aglomeração reduz a superfície exposta das partículas, deixando-as menos susceptíveis à ação do oxigênio e aos processos oxidativos, aumentando os teores de compostos bioativos no núcleo das microcápsulas obtidos por *spray dryer* (LIMA *et al.*, 2021). Além disso, uma boa eficiência de encapsulamento e maior conteúdo de composto bioativo pode ser proporcionado pela correta escolha do material de parede a ser utilizado, sendo a maltodextrina bastante conhecida por formar rapidamente uma parede densa, conferindo proteção ao núcleo (RIBEIRO *et al.*, 2020).

Alguns autores relatam que a maltodextrina quando utilizada em altas concentrações como material de parede ocasionam perdas de compostos bioativos. Tal perda pode ser explicada devido ao efeito de diluição dos pigmentos presentes, pela polaridade proporcionada pelos grupos hidroxilas (OH) presentes na sua molécula, disponíveis para interagir com as moléculas de água, por formação de pontes de hidrogênio, favorecendo a perda de nutrientes e da cor do produto, e diminuindo a qualidade dos pós produzidos (DIB-TAXI *et al.*, 2003; FERRARI; RIBEIRO; AGUIRRE, 2012).

Os maiores teores de carotenoides totais foram encontrados nos experimentos 3 e 4, que contém menores concentrações de maltodextrina e alta vazão (Tabela II.1), uma vez que, as maiores vazões utilizadas nesses pontos também influenciaram na eficiência de encapsulação, devido a maior evaporação de líquido e solventes durante a secagem o que favoreceu maior teor de compostos bioativos na superfície e no interior do núcleo (OLIVEIRA; PETROVICK, 2010).

A vazão de alimentação utilizada durante a atomização está relacionada com a velocidade de escoamento do fluido no equipamento: quanto maior a vazão, menor o tempo de exposição da amostra com o ar de secagem (TONON; BRABET; HUBINGER, 2009). Nesta pesquisa, as maiores concentrações de carotenoides foram observadas em maiores vazões com menores temperaturas (Tabela II.1). Eitzbach *et al.* (2020) também observaram maiores concentrações de carotenoides devido a uma rápida exposição do composto bioativo em temperaturas baixas durante o processo de secagem.

A média do teor de carotenoides totais das microcápsulas e a eficiência de encapsulação nos pontos centrais foram 12,5 µg e 44,4%, respectivamente. Ao observarmos a variação dos resultados nos experimentos do ponto central, podemos visualizar a repetibilidade do processo de secagem para as variáveis analisadas, no CV (%) dos pontos centrais encontramos um valor de 21% para o teor de carotenoides e 18% para a eficiência de encapsulação. Para o teor de carotenoides, o CV (%) é alto, mas pode ser explicado pelo baixo teor dos compostos na matriz, que é confirmado no gráfico de Pareto (Figura II.1), para ambas as respostas.

Estes valores encontrados confirmam os de Eitzbach *et al.* (2020) para carotenoides totais da microcápsula de amora dourada, com aproximadamente 50% da quantidade inicial e uma eficiência de encapsulação de 65%. Lee *et al.* (2020) observaram uma eficiência de encapsulação de 79,3% para microcápsulas de óleo de palma, e os

autores citados trabalharam com faixa de temperatura e vazão semelhantes a esta pesquisa.

A Tabela II.2 ilustra a ANOVA para os dados experimentais do teor de carotenoides totais na microcápsula e a eficiência de encapsulação, respectivamente.

Tabela II.2. ANOVA para os dados experimentais do teor de carotenoides totais nas microcápsulas e eficiência de encapsulação, obtidas por secagem em *spray dryer*.

Fonte de variação	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Média quadrática	Valor de F	R ²
Carotenoides totais (µg)					
Regressão	96,67	6	16,11	3,87	0,85
Resíduo	16,66	4	4,16		
Falta de ajuste	2,1681	2	1,08403	0,15**	
Erro puro	14,4893	2	7,24463		
Total	113,3259	10			
Eficiência de encapsulação (%)					
Regressão	3014,02	6	502,34	16,43*	0,96
Resíduo	122,30	4	30,58		
Falta de ajuste	0,837	2	0,419	0,01**	
Erro puro	121,464	2	60,732		
Total	3136,321	10			

F_{0,05; 6; 4} = 6,16; F_{0,05; 2; 2} = 19 (F = valor tabelado do teste de Fisher). *Modelo significativo (p≤0,05). **Modelo preditivo (p≤0,05).

Nos dados da Tabela II.2, podemos verificar que o modelo matemático da metodologia de superfície de resposta apresentou R² = 0,85 para o teor de carotenoides totais e R² = 0,96 para a predição da eficiência de encapsulação. Os valores dos coeficientes de determinação foram satisfatórios, porém aplicou-se o teste-F para indicar se o modelo matemático é preditivo e significativo. Após a aplicação do teste-F, o modelo matemático proposto para prever o teor de carotenoides totais foi preditivo, mas não foi considerado significativo. Dessa forma, não foi possível construir superfície de resposta para otimizar o processo de secagem para determinar o teor de carotenoides totais na microcápsula na faixa das condições experimentais testadas. Apenas foi construído o gráfico (Figura II.2) para visualizar as tendências do processo quanto a essa variável.

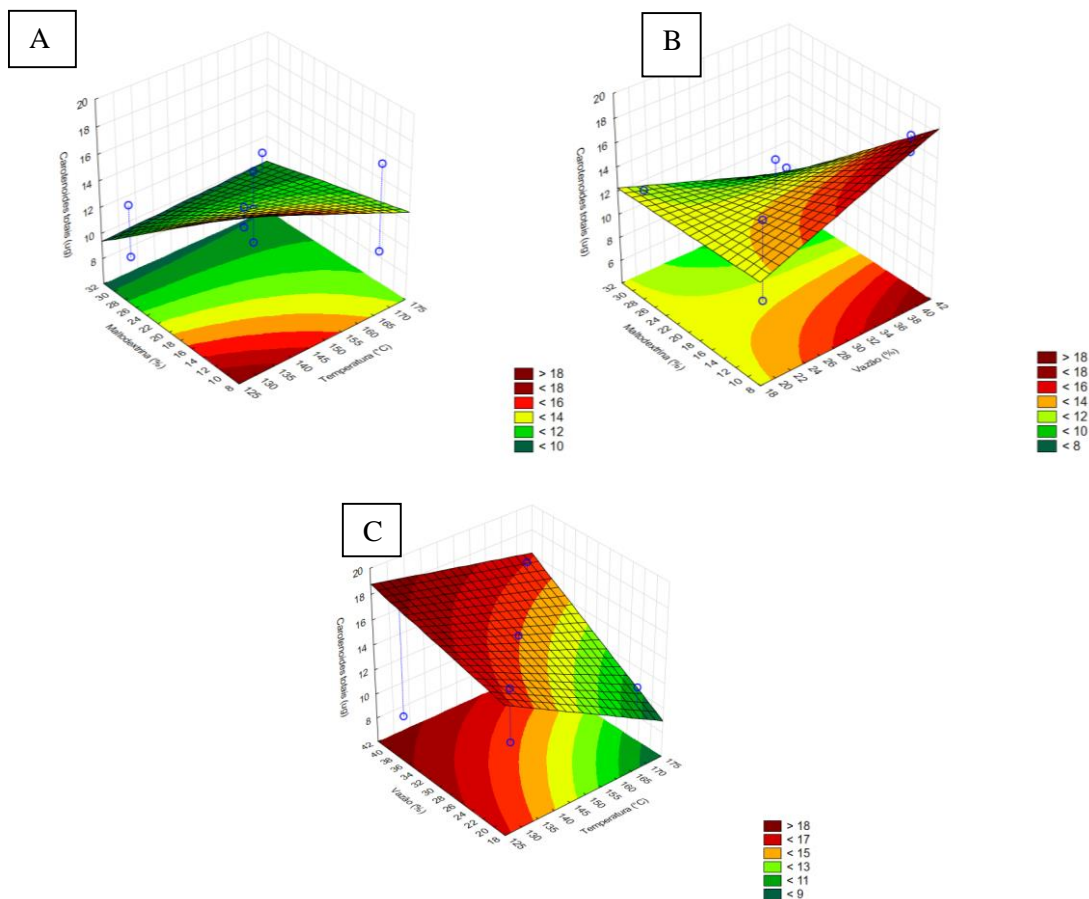


Figura II.2 – Gráfico das variáveis dependentes carotenoides totais, em função das variáveis independentes: concentração de maltodextrina x temperatura (A); maltodextrina x vazão (B); vazão x temperatura (C).

Para a eficiência de encapsulação, o teste-F descrito na Tabela II.2 indicou que o modelo matemático pode ser considerado preditivo e significativo para predição da eficiência de encapsulação pelo processo de secagem nas condições testadas. Logo, o modelo matemático que apresentou ajuste aos dados experimentais e pôde ser utilizado para prever a eficiência de encapsulação de carotenoides no processo estudado é:

$$\text{Eficiência de encapsulação (\%)} = 351,5 - 2,2X_1 - 1,9X_2 - 7,6X_3 + 0,02X_1X_2 + 0,05X_1X_3 - 0,07X_2X_3$$

Diante do exposto, construímos curvas de contorno (Figura II.3) para selecionar as condições ótimas do processo, para a variável eficiência de encapsulação. Onde podemos observar que a eficiência de encapsulação apresentou sempre as melhores respostas para as menores temperaturas, menor porcentagem de maltodextrina, independentemente da vazão.

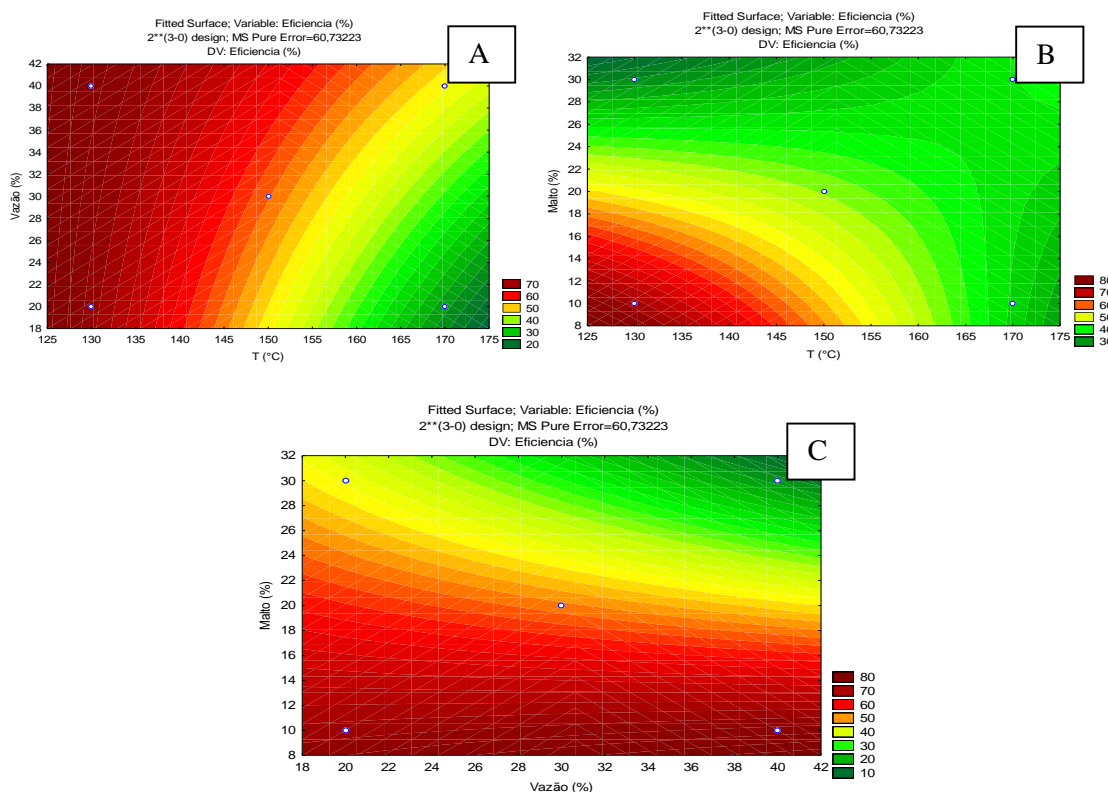


Figura II.3 – Gráfico das curvas de contorno para a variável dependente eficiência de encapsulação, em função das variáveis independentes: vazão x temperatura (A); maltodextrina x temperatura (B); maltodextrina x vazão (C).

A seleção das melhores condições do processo de secagem foi realizada conforme os dados experimentais observados nas curvas de contorno (Figura II.3) da metodologia de superfície de resposta, pelo teste de Tukey (Tabela II.2) e pela técnica de otimização simultânea denominada “Função desejabilidade”. Diante desses resultados, foram estabelecidos valores ótimos para as variáveis de entrada: temperatura de entrada (T), vazão de alimentação (V) e concentração de maltodextrina (C); adotando como base a obtenção de valores desejáveis para as respostas: teor de carotenoides totais (μg) e eficiência de encapsulação (%).

O gráfico da Função desejabilidade (Figura II.4) demonstra os perfis de desejabilidade para as respostas, indicando os valores 0 (indesejado), 0,5 (moderadamente desejável) e 1 (desejável). Dessa forma, as linhas tracejadas em vermelho sugerem as condições ótimas para o processo de secagem em *spray dryer* das microcápsulas do extrato de carotenoides da casca de pupunha: $T = 130\text{ }^{\circ}\text{C}$; $V = 40\%$; $C = 10\%$. Essas condições produziram microcápsulas com teor de carotenoides totais de $17,76\text{ }\mu\text{g}$ e eficiência de encapsulação de $75,24\%$.

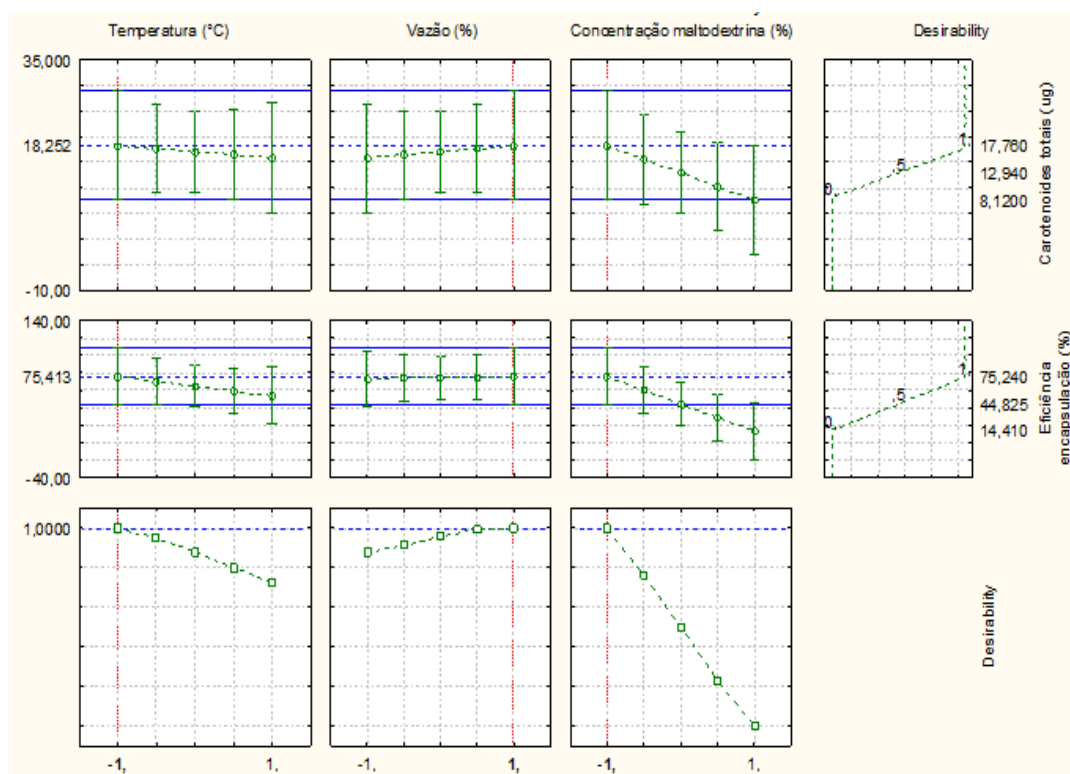


Figura II.4 –Função deseabilidade com os valores ótimos do processo de secagem por *Spray Dryer* das microcápsulas do extrato da casca de pupunha.

De acordo com as melhores condições observadas na função deseabilidade, as melhores respostas foram reportadas pelo experimento 3, apresentando os melhores resultados de carotenoides totais (17,76 µg) e eficiência de encapsulação (75,24%). Nesta condição, as microcápsulas apresentaram características desejáveis tais como, baixa umidade (3,16), baixa aw (0,17), alto rendimento (96,44%) e cor indicando a presença de carotenoides ($L^* = 70,12$; $C^* = 22,89$; $h^\circ = 88,28$; $a^* = 0,47$; $b^* = 23,63$).

III) Produção de microcápsulas contendo extrato de carotenoides da casca da pupunha e verificação do efeito do processo de secagem no teor de carotenoides totais, eficiência de encapsulação, parâmetros de cor, umidade, atividade de água, rendimento, solubilidade e microscopia dos pós.

A Tabela III.1 apresenta os valores obtidos dos parâmetros avaliados nas microcápsulas de carotenoides da casca de pupunha, a partir da condição ótima de secagem. As características avaliadas para validar os resultados como, umidade, atividade de água, rendimento e carotenoides totais estão dentro dos valores observados no item

5.4, onde são apresentados os valores otimizados do processo de secagem por *spray dryer*, confirmando a validação das condições estudadas.

Tabela III.1- Valores obtidos das microcápsulas com e sem carotenoides, para a validação da condição ótima de secagem (T = 130 °C, V = 40% e C = 10%).

Respostas	Microcápsulas com Carotenoides	Controle*
Teor de carotenoides (µg)	17,73 ± 0,61	-
Eficiência de encapsulação (%)	75,04 ± 1,18	-
Umidade (%)	3,41 ± 3,16	3,00 ± 3,62
Atividade de Água	0,18 ± 0,01	0,15 ± 0,01
Rendimento (%)	93,20 ± 2,44	97,92 ± 1,44
Solubilidade (%)	98,70 ± 0,10	98,65 ± 0,03

*microcápsulas sem carotenoides.

Com relação à solubilidade, as microcápsulas produzidas nesta pesquisa apresentaram uma alta solubilidade em água (98%) para ambas as cápsulas produzidas (Tabela III.1), com carotenoides e sem carotenoides. Os dados encontrados são importantes uma vez que, estamos trabalhando com uma matriz alimentícia rica em carotenoides na sua composição, onde a solubilidade implica na qualidade dos produtos e na aplicabilidade.

Os resultados mencionados corroboram com os achados por Rezende, Nogueira e Narain (2018) que observaram valor próximo deste trabalho com 99% de solubilidade para microcápsulas de resíduo de acerola utilizando maltodextrina como material de parede. Essa alta solubilidade é devido ao agente encapsulante utilizado, e ao tamanho das microcápsulas, pois partículas pequenas facilitam uma alta solubilidade devido maior área de contato que favorece a sua hidratação.

Algumas literaturas, tais como Lima *et al.* (2021) e Eitzbach *et al.* (2020), verificaram uma solubilidade de 92,62% e 92,11%, respectivamente, valores estes próximos aos encontrados nesta pesquisa. Estes confirmam que a alta solubilidade é devido ao material de parede, bem como, a morfologia dos pós que afetam as várias propriedades tecnológicas como densidade aparente, fluidez, compactação e reidratação, que têm impacto nas possíveis aplicações dos pós.

Com relação à morfologia, a Figura III.1 apresenta as eletromicrografias para as microcápsulas com carotenoides e sem carotenoides, obtidas a partir da melhor condição de microencapsulação do extrato de carotenoides da pupunha em *spray dryer*. A morfologia dos pós descreve microcápsulas com aproximadamente 10 μm de diâmetro, formato esférico, superfícies lisas, poucas irregularidades, como encolhimento para ambas, sendo mais evidente nas microcápsulas com carotenoides, assim como algumas aglomerações. Estes formatos e tamanho são característicos de pós produzidos por pulverização.

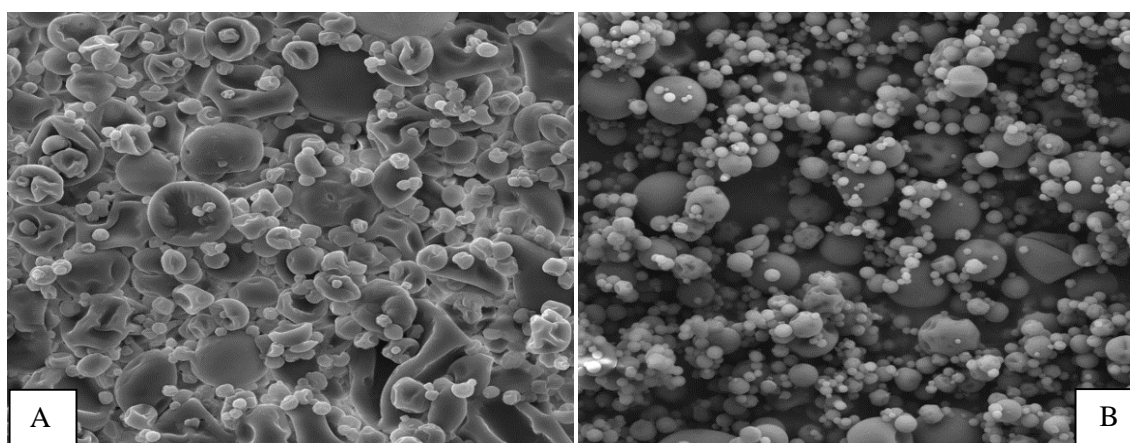


Figura III.1 – Eletromicrografias das microcápsulas com carotenoides (A), e sem carotenoides (B), obtidas da condição ótima de secagem por *spray dryer*: temperatura 130 °C; vazão 40% e concentração de maltodextrina 10%.

As imagens evidenciam que as microcápsulas resultantes da secagem por *spray dryer* na condição ótima de temperatura a 130 °C, produziram uma crosta úmida e flexível. Este fato está relacionado à baixa temperatura de secagem, resultando em formatos irregulares e com encolhimentos tendendo a aglomerações, com maior evidência para as que continham carotenoides em seu núcleo. Além disso, menores concentrações de maltodextrina, como a que foi utilizada nesta pesquisa, resultam em partículas mais higroscópicas tendendo a aglomerações com formatos irregulares (POMBO; MEDEIROS; PENA, 2020).

Segundo Alvarez Henao (2018), que em sua pesquisa obteve cápsulas de tamanhos semelhantes a este estudo (1,64 a 14,20 μm de diâmetro), a irregularidade na superfície das microcápsulas é desejável em cápsulas alimentícias, pois favorece a dispersibilidade e reidratação dos pós. Além disso, o tamanho pequeno das partículas

confere melhor solubilidade das microcápsulas e conseqüentemente do composto bioativo, devido a maior área de contato com a matriz.

Características semelhantes foram observadas por Faria et al. (2010), onde a maioria das amostras apresentou conformação esférica, formas irregulares, e superfície lisa com diâmetros 11,39 μm ; bem como por Rezende, Nogueira e Narain (2018), que produziu partículas esféricas de tamanho semelhante (10,5 μm), com marcas perceptíveis atribuídas ao encolhimento durante a secagem por pulverização e à equivalente dextrose da maltodextrina.

Além disso, Donhowe et al. (2014) obtiveram microcápsulas por pulverização com diâmetro de 10,5 μm , com características arredondadas e superfícies enrugadas. Eitzbach et al. (2020) produziram microcápsulas com tamanho médio de 11,5 –21,5 μm , resultando em pós pequenos, arredondados, e encolhidas o que pode aumentar a oxidação e facilitar os processos de degradação dos carotenoides. Dessa forma, todos os dados apresentados estão dentro da faixa de valores esperados para pós secos em spray dryer.

6.4) META 4: Estabilidade dos cristais de β -caroteno (realizado)

Para o cumprimento desta Meta, foram avaliadas a estabilidade e a higroscopicidade das microcápsulas de carotenoides da casca de carotenoides, conforme as novas metas estabelecidas, uma vez que não foi possível obter cristais puros de β -caroteno.

I) Estabilidade das microcápsulas contendo carotenoides da casca de pupunha

Carotenoides totais

A Tabela I.1 apresenta as características das microcápsulas contendo carotenoides durante os dias de armazenamento a temperatura ambiente. O teor de carotenoides totais das microcápsulas (superfície + núcleo) exibiu decréscimo de 77,5% após 35 dias de armazenamento, sendo que o declínio no teor do composto bioativo foi mais acentuado a partir do 7º dia para os carotenoides presentes no núcleo das microcápsulas.

Tabela I.1- Características das microcápsulas de carotenoides da casca de pupunha durante os dias de armazenamento.

Tempo					
(dias)	CTM	CS	CN	U (%)	Aw
0	17,73 ^a ± 0,61	3,08 ^a ± 0,07	14,65 ^a ± 0,59	3,41 ^b ± 3,16	0,18 ^e ± 0,01
7	14,01 ^b ± 0,09	2,44 ^{ab} ± 0,33	11,57 ^a ± 0,28	3,66 ^b ± 1,49	0,21 ^d ± 0,02
14	8,85 ^c ± 0,50	2,41 ^{ab} ± 0,04	6,44 ^b ± 0,64	3,94 ^b ± 3,16	0,30 ^c ± 0,01
21	7,35 ^c ± 0,27	2,21 ^{ab} ± 0,05	5,27 ^{bc} ± 3,13	4,31 ^b ± 1,85	0,35 ^b ± 0,01
28	7,08 ^c ± 2,19	1,81 ^{ab} ± 1,11	5,14 ^{bc} ± 0,31	6,01 ^{ab} ± 1,84	0,41 ^a ± 0,01
35	4,00 ^d ± 0,45	1,59 ^b ± 0,30	2,41 ^c ± 0,33	8,22 ^a ± 3,16	0,45 ^a ± 0,01

CTM: Carotenoides Totais das Microcápsulas; CS: Carotenoides da Superfície das microcápsulas; CN: Carotenoides do Núcleo; U: Umidade; Aw: Atividade de Água. *Os valores (média ± desvio padrão, n = 3, base seca) seguidos por letras iguais na mesma coluna não diferem significativamente (p < 0,05) para o teste de Tukey.

A umidade e atividade de água das microcápsulas aumentaram gradativamente durante o período de estocagem (Tabela I.1), onde podemos observar que somente no 28^o dia estes valores estavam fora da faixa indicada para a estabilidade de produtos em pó (umidade até 6% e aw < 0,3).

O controle da umidade e atividade de água é imprescindível no estudo da estabilidade dos alimentos em pó, haja vista, que estes estão relacionados a disponibilidade de água para a ocorrência de reações químicas. Nesse tipo de produto, a estabilidade ocorre em uma faixa de umidade até 6% e aw < 0,3, a partir desse ponto, ocorre maior probabilidade de degradação da fração lipídica do alimento, favorecendo reações de oxidação e isomerização dos compostos (GARCÍA *et al.*, 2018; CHEN *et al.*, 2014).

Álvarez-Henao (2018), observou a degradação completa das suas microcápsulas em 20 dias de armazenamento, armazenadas a umidade relativa (UR) controlada em uma placa de petri de vidro aberto dentro de uma câmara climática. E Spada *et al.* (2012) obteve degradação total das microcápsulas de carotenoides após 10 dias de armazenamento, conservadas em vidro âmbar sob temperatura ambiente no escuro. Dessa

forma, as microcápsulas deste estudo apresentaram boa proteção aos carotenoides, retendo 22, 5% do composto bioativo ao final do período de armazenamento estudado.

Nos primeiros sete dias de armazenamento, o teor de carotenoides tanto na superfície quanto no núcleo exibiu a mesma porcentagem de degradação (Figura I.1), os carotenoides na superfície degradaram com uma taxa de degradação mais lenta do que os carotenoides no núcleo, o que indica que os carotenoides presentes no núcleo migraram lentamente para a superfície degradando-os.

Segundo Lima *et al.* (2021) a degradação das microcápsulas de carotenoides é favorecida por alguns fatores, como por exemplo a microestrutura dos pós, formatos pequenos e desintegrados como os observados nesta pesquisa, aumentam a área superficial favorecendo a degradação por oxidação.

Além disso, a degradação dos carotenoides é acelerada durante o processamento térmico e durante o armazenamento na presença de luz, oxigênio e variações de temperatura, as alterações do processamento ou estocagem na estrutura do β -caroteno, levam a isomerização ou oxidação e os principais isômeros formados são o 9-*cis*, 13-*cis* e o 15-*cis*, o que resulta na perda de funcionalidade desse composto, (BORBA *et al.*, 2019; SYAMILA *et al.*, 2019).

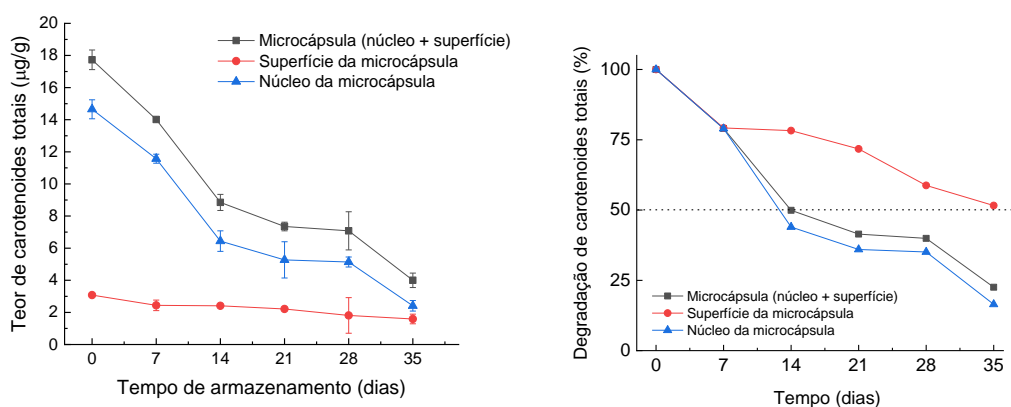


Figura I.1 – Teor de carotenoides totais das microcápsulas do extrato da casca de pupunha, durante os dias de armazenamento.

Os teores de carotenoides da superfície encontrados neste estudo foram maiores nas primeiras 3 semanas, do que os achados por Eitzbach *et al.* (2020), onde os carotenoides de superfície foram reduzidos à metade nos primeiros 2–4 dias, no estudo citado o autor utilizou 20% de maltodextrina como material de parede para a microencapsulação de carotenoides da amora dourada.

Além disso, Spada *et al.* (2012), menciona que ao utilizar material de parede menor que 20 DE o conteúdo de caroteno não encapsulado foi maior na superfície das cápsulas, isso deve-se a amilose livre presente na maltodextrina DE 20 com alta capacidade de formação de filme após o aquecimento, que forma uma rede contínua através de ligações de hidrogênio resultando em uma estrutura de gel, conferindo proteção aos carotenoides aprisionados no núcleo.

Aos 35 dias de armazenamento, podemos observar a maior degradação dos carotenoides do núcleo (Figura 14), isso pode ter ocorrido devido ao elevado aumento da umidade e atividade de água que podem favorecer a oxidação e isomerização dos carotenoides, por conta da maior hidratação do material de parede utilizado (GARCÍA *et al.*, 2018). Entretanto, a concentração dos carotenoides do núcleo da microcápsula na última semana de armazenamento foi maior do que os teores reportados por Rezende, Nogueira e Narain (2018), (0,76 a 1,58 µg/g) para microcápsulas de resíduo de acerola.

A diminuição intensa dos carotenoides do núcleo na última semana (Figura I.1), ratifica a importância do emprego da tecnologia de microencapsulação, haja vista, que estes conseguem manter o composto bioativo retido no núcleo mais estáveis por mais tempo, mesmo em condições de temperatura ambiente. Este mesmo efeito já foi demonstrado nos estudos de Lee *et al.* (2020) e Kha *et al.* (2015), onde a melhor estabilidade dos compostos bioativos nas microcápsulas foi proporcionada pelo material de parede utilizado, que protegeu as concentrações remanescentes do composto bioativo após o armazenamento.

Cor Instrumental

A Tabela I.2 dispõe sobre os parâmetros de cor instrumental das microcápsulas avaliadas durante os 35 dias de armazenamento, onde podemos observar que as cápsulas tiveram perda de cor a partir do 7º dia. Sendo que na última semana de armazenamento aos 35º dias houve um decréscimo da intensidade da cor, estando relacionada com a perda de carotenoides totais, e as microcápsulas analisadas no tempo 0 para todos os parâmetros estão de acordo com os valores encontrados nos ensaios do planejamento experimental para a condição ótima apresentada.

Tabela I.2 - Parâmetros de cor instrumental (CIELAB) das microcápsulas de carotenoides da casca de pupunha durante os dias de armazenamento.

Tempo (dias)	L^*	C^*	h°	a^*	b^*
0	71,77 ^{ab} ± 0,78	23,38 ^a ± 0,75	86,28 ^d ± 1,65	0,45 ^b ± 0,04	23,29 ^a ± 1,10
7	80,55 ^a ± 0,93	18,63 ^b ± 1,29	91,06 ^c ± 0,07	-0,62 ^b ± 0,01	15,91 ^{cd} ± 1,11
14	71,02 ^b ± 6,20	14,74 ^c ± 2,39	95,59 ^a ± 1,12	-1,32 ^a ± 0,18	13,74 ^d ± 2,39
21	72,59 ^{ab} ± 7,43	18,93 ^{bc} ± 2,04	91,59 ^c ± 0,33	-0,58 ^b ± 0,09	18,76 ^{bc} ± 1,40
28	80,78 ^{ab} ± 1,80	22,25 ^{ab} ± 0,07	91,81 ^{bc} ± 0,5	-0,67 ^b ± 0,14	22,22 ^{ab} ± 0,07
35	72,64 ^{ab} ± 3,72	18,86 ^b ± 1,84	93,84 ^{ab} ± 0,51	-1,24 ^a ± 0,17	18,49 ^{bc} ± 1,84

L^* : Luminosidade; C^* : Croma; h° : Ângulo Hue; a^* : Valores de a^* ; b^* : *Os valores (média ± desvio padrão, n = 3, base seca) seguidos por letras iguais na mesma coluna não diferem significativamente ($p < 0,05$) para o teste de Tukey.

Os parâmetros de L^* (Tabela I.2) apresentaram luminosidade entre 71,02 e 80,55 nos dias de armazenamento, indicando que as microcápsulas produzidas tiveram cores intensas devido a menor concentração de maltodextrina utilizada na formulação da condição ótima de secagem (Figura I.2). Lima *et al.* (2021) também observou parâmetro de L^* maior que 70 semelhantes a esta pesquisa, utilizando baixas concentrações de extrato na formulação das microcápsulas, sendo que durante os 90 dias de armazenamento a concentração de pigmento das microcápsulas de carotenoides da casca de abobora decresceu.



Figura I.2 – Microcápsulas de extrato dos carotenoides da casca de pupunha, obtidas por secagem no *spray dryer* da condição ótima de secagem: temperatura a 130°C; 10% de maltodextrina e 40% de vazão.

Os valores de h° (93,84 e 86,28) indicam a presença da cor amarelo puro com maior saturação de cor no tempo 0 ($C^* = 23,38$), sendo que o 7º dia é caracterizado pelo começo do declínio do composto bioativo. Os valores de a^* e de b^* mostram que no tempo 0 as microcápsulas apresentaram cores mais intensas tendendo para o amarelo alaranjado. Entretanto, houve uma queda na intensidade da cor para ambos os parâmetros no 7º dia, devido o decréscimo no teor de carotenoides totais e finalmente no 35º dias de armazenamento a perda de pigmento.

Os autores Spada *et al.* (2012), observaram alterações na cor das amostras, relacionadas a degradação de carotenoides em microcápsulas do pinhão durante os 25 dias de armazenamento, sendo que o parâmetro a^* não foi um bom indicador de retenção de caroteno porque caracteriza a extensão do vermelho ao verde, quando o valor de a^* é negativo predomina branca do amido.

De acordo com a Figura I.3 ao observarmos a diferença total de cor (ΔE^*) dos parâmetros de L^* , a^* e b^* , verificamos que estes valores estão de acordo com a degradação dos carotenoides totais das microcápsulas. Sendo que, após 7 dias de armazenamento podemos perceber uma elevada porcentagem de degradação do pigmento, e por isso a diferença de cor foi mais intensa.

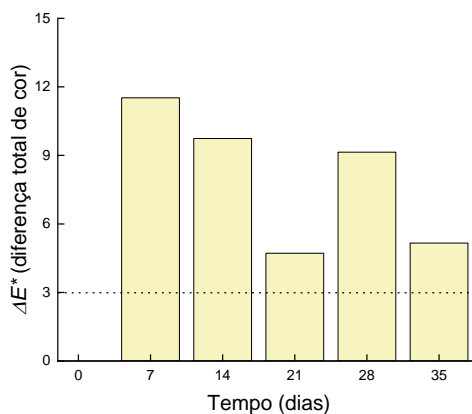


Figura I.3 – Diferença total de cor (ΔE^*) das microcápsulas contendo carotenoides durante o armazenamento em relação ao tempo zero.

A degradação dos carotenoides relacionados com alterações na cor durante os dias de armazenamento, também já foi reportado por Lee *et al.* (2020), que avaliou a estabilidade das microcápsulas do óleo de palma vermelho, onde estes também observaram a redução dos valores de a^* , b^* , c^* e h° ao final de 35 dias de armazenamento,

e uma correlação negativa para a ΔE que aumentou à medida que a concentração de caroteno diminuiu.

Os dados da Figura I.3 corroboram também com Kha *et al.* (2015) onde a ΔE mostrou uma relação significativa com a degradação de carotenos, a dependência de L^* , a^* e b^* na degradação de carotenos, as microcápsulas de carotenoides do óleo de gac avaliadas pelo autor mencionado foram armazenadas em temperatura de 60 °C por 28 dias, acondicionadas em folhas laminadas e embaladas a vácuo na presença de ar, sendo que a degradação foi fortemente favorecida pela temperatura, ar e luz.

Perfil dos Carotenoides das Microcápsulas da Casca de Pupunha

O perfil dos carotenoides do extrato da casca de pupunha pode ser visualizado na Figura I.4, e as características dos picos estão descritas na Tabela I.3, foram detectados 8 carotenoides, sendo que os identificados no ponto 0 e após 2 meses são os mesmos encontrados nos extratos da casca de pupunha. Dessa forma, as microcápsulas preservaram os carotenoides no núcleo, mesmo em baixas concentrações quando comparadas a matéria prima *in natura*.

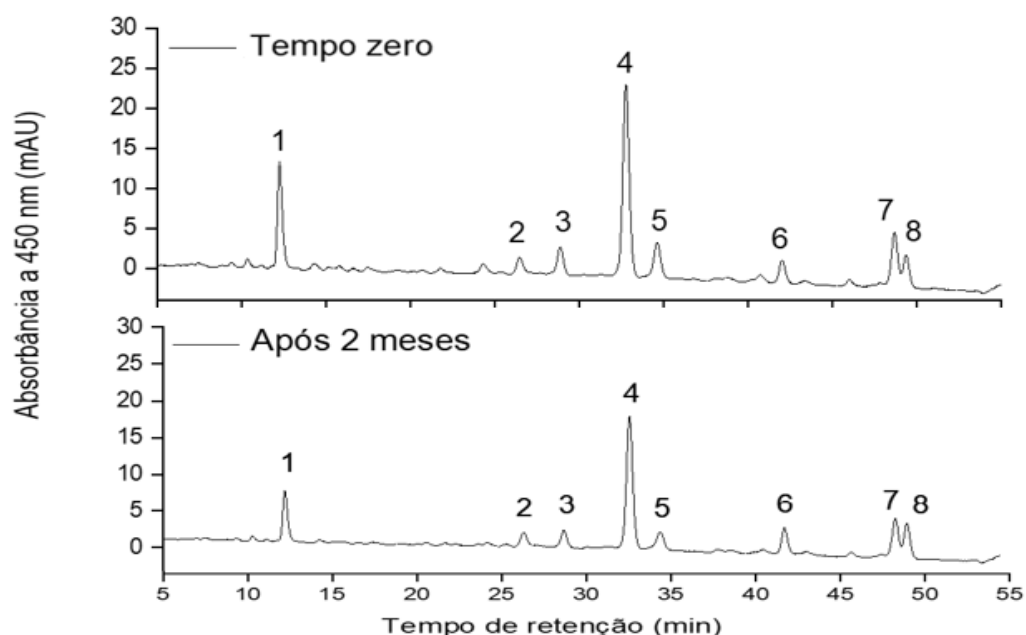


Figura I.4 – Cromatograma obtido por HPLC-DAD dos Carotenoides das microcápsulas do Extrato da Casca de Pupunha, no tempo zero e após 2 meses de armazenamento.

Tabela I.3 - Carotenoides identificados nas microcápsulas contendo o extrato da casca de pupunha por HPLC-DAD, no tempo zero e após 2 meses de armazenamento.

Pico ^a	Carotenoide ^b	t _r min ^c	λ _{máx} (nm) ^d	%III/ II	%AB/ A _{II}	Teor de carotenoides (μg/g)	
						Tempo zero	Após 2 meses
1	(all- <i>E</i>)-Luteína	12.2	421, 444, 472	57	0	1,11 ± 0,02	0,37 ± 0,02
2	13- <i>Z</i> -β-Caroteno	26.5	337, 420, 445, 471	33	45	0,40 ± 0,02	0,08 ± <0,01
3	(all- <i>E</i>)-α-caroteno	28.9	420, 444, 472	45	0	0,51 ± 0,02	0,12 ± <0,01
4	(all- <i>E</i>)-β-Caroteno	32.8	347, 420, 451, 477	25	0	3,81 ± 0,01	0,91 ± 0,06
5	9- <i>Z</i> -β-Caroteno	34.7	425, 448, 472	22	20	0,60 ± 0,02	0,17 ± 0,01
6	(all- <i>E</i>)-δ-Caroteno	42.1	432, 455, 484	33	0	0,70 ± 0,03	0,10 ± 0,01
7	(all- <i>E</i>)-γ-Caroteno	48.7	438, 460, 492	27	0	1,02 ± 0,11	0,24 ± 0,02
8	<i>Z</i> -γ-Caroteno	49.5	461, 469, 495	42	n.c	1,05 ± 0,10	0,14 ± 0,01
Soma total						9,2 ± 0,5	2,1 ± 0,1

^aPicos numerados de acordo com o cromatograma mostrado na Figura 17. ^bIdentificação por HPLC-DAD com base em dados publicados pelo nosso grupo de pesquisa para a mesma metodologia e matéria-prima (Matos *et al.*, 2019; Chisté *et al.*, 2021). ^cTempo de retenção na coluna C₃₀. ^dGradiente de metanol/MTBE. n.c = não calculado.

Os carotenoides da microcápsula identificados nos picos 4, 6, 7 e 8 foram observados por Matos *et al.* (2019) em extratos da casca de pupunha não-cozidas, e os picos 1, 2, 3 e 5 por Chisté *et al.* (2021) para polpa de pupunhas cozidas. O (all-*E*)-β-caroteno (pico 4), principal composto presente no extrato, foi identificado nas microcápsulas no tempo zero e após 2 meses de armazenamento, por meio das características espectrais observadas pelos autores citados e tempo de retenção comparados com o padrão autêntico de β-caroteno.

O teor de β-caroteno encontrado nas microcápsulas foi menor quando comparado com o teor inicial do composto presente nos extratos de carotenoides, a quantidade deste composto foi significativamente reduzida pelo processo de secagem em *spray dryer*. Após 2 meses de armazenamento a concentração de β-caroteno diminuiu 76,12%.

Alguns compostos identificados neste trabalho, a exemplo da luteína, o β -caroteno e o (9Z)- β -caroteno, também foram mencionados por García et al. (2018) em microcápsulas de extrato de manga analisadas durante 25 dias de armazenamento, sendo o β -caroteno o composto majoritário. No entanto, o mesmo autor relata que a quantidade deste composto também foi drasticamente reduzida 87% durante o processo de secagem quando comparado com a concentração inicial da matéria-prima utilizada. Tal fato ocorre devido a susceptibilidade dos carotenoides a altas temperaturas, em parte explicada pela presença de muitas insaturações na molécula.

O perfil de carotenoides determinado neste estudo para as microcápsulas de carotenoides no tempo zero e após 2 meses de armazenamento não evidenciaram a presença de produtos de degradação, e esse resultado está de acordo com o de Curi-Borda *et al.* (2021) para microcápsulas de bixina armazenadas por 30 dias. Este autor sugere que isso acontece devido a formação de produtos de degradação incolores com sistemas conjugados limitados e em concentração muito baixa para serem detectados.

A concentração de 9Z- β -caroteno também decresceu quando comparado a concentração inicial presente no extrato, no entanto ela foi maior em comparação com os outros compostos como o (all-E)- δ -Caroteno e o Z- γ -Caroteno no tempo 0, isso mostra que este isômeros durante o processo de secagem não obteve concentrações maiores que o β -caroteno.

O resultado mencionado foi também relatado por Etbach *et al.* (2020) que encontrou reações de isomerização, onde o perfil de carotenoides das microcápsulas de amora amarela armazenadas por 35 dias a 30°C em vidraria sob exclusão de luz em uma cabine de aquecimento, consistiu apenas em all-*trans*- β -caroteno com uma retenção de 6,7% devido à degradação avançada de carotenoides, maior do que os encontrados nesta pesquisa.

7. OUTRAS INFORMAÇÕES

O Plano de Trabalho vinculado ao desenvolvimento deste Projeto teve início após a assinatura de todas as partes no dia **27 de junho de 2022**, e para a execução deste Projeto, foram liberados os seguintes recursos descritos no quadro a seguir:

PLANO DE APLICAÇÃO CONSOLIDADO - PAD	
CÓDIGO DA NATUREZA DA DESPESA	VALOR PREVISTO
4.4.90.52 - Equipamentos	R\$ 47.000,00
3.3.90.30 - Materiais de consumo	R\$ 13.000,00

Após a assinatura do Plano de Trabalho, os recursos foram liberados e transferidos para a conta da Universidade Federal do Pará (UFPA), conforme o TED nº 001/2022 (Figura 2), no dia **07 de julho de 2022**:

___ SIAFI2022-DOCUMENTO-CONSULTA-CONNC (NOTA MOVIMENTACAO DE CREDITO)_____								
07/07/22 11:02				USUARIO: RAFAEL MILEO				
DATA EMISSAO	:	07Jul22	VALORIZACAO	:	07Jul22	NUMERO	: 2022NC000001	
UG EMITENTE	:	533013 - SUPERINTEND. DO DESENVOLVIMENTO DA AMAZONIA						
GESTAO EMITENTE	:	53202 - SUPERINTEND. DO DESENVOLVIMENTO DA AMAZONIA						
UG/GESTAO FAVORECIDA	:	153063 / 15230 - UFPA						
OBSERVACAO								
TRANSFERÊNCIA DE CRÉDITO PARA A DESCENTRALIZAÇÃO DE CRÉDITO (TED N° 001/2022),								
PARA PRODUÇÃO DE CRISTAIS DE BETA CAROTENO DE ELEVADO GRAU DE PUREZA A PARTIR								
DA CASCA DA PUPUNHA, CONFORME PROCESSO SEI N° 59004.000739/2022-48								
NUM. TRANSFERENCIA : 1AAJPO								
EV.	ESF	PTRES	FONTE	ND	SB	UGR	PI	V A L O R
300300	1	195123	0100000000	339030			NA0000A4542	13.000,00
300300	1	195123	0100000000	449052			NA0000A4542	47.000,00
LANCADO POR : 44256345272 - RAFAEL MILEO UG : 533013 07Jul22 10:56								
PF1=AJUDA PF3=SAI PF4=ESPELHO PF12=RETORNA								

Figura 2 – Comprovante de transferência de crédito para a descentralização de crédito em favor do Plano de Trabalho.

Após a descentralização dos recursos no valor total de R\$ 60.000,00 (Sessenta mil reais), a UFPA disponibilizou o recurso para execução através do Plano Interno (PI) NA0000A4542. Foram adquiridos materiais de consumo diversos para a realização do

projeto (reagentes, solventes e itens para o laboratório) no valor total de R\$ 13.000,00 (treze mil reais) (**Notas fiscais em ANEXO**) e um conjunto de equipamentos no valor de R\$ 47.000,00 (Quarenta e sete mil reais) (**Nota fiscal em ANEXO**), contendo 01 evaporador rotativo + 01 sistema de recirculação (*chiller*) + 01 bomba de vácuo resistente a solventes orgânicos (**Figura 3**). Os equipamentos já possuem número de tombamento.

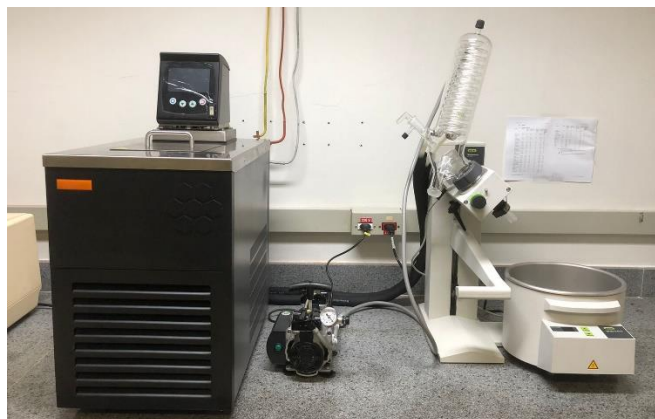


Figura 3 - Evaporador rotativo + 01 sistema de recirculação (*chiller*) + 01 bomba de vácuo resistente a solventes orgânicos, adquiridos no âmbito do Projeto.

Os recursos financeiros do projeto foram executados em regime de urgência no segundo semestre de 2022, uma vez que valores disponibilizados em Plano Internos na Universidade não podem ser transferidos de um ano para outro. Logo, uma vez disponibilizados em 2022, devem ser utilizados em 2022.

Vale ressaltar que o início do processo de compra dos referidos equipamentos essenciais para a realização do Projeto foi registrado no Sistema Integrado de Patrimônio, Administração e Contratos (SIPAC – Processo 23073.042207/2022-17) da UFPA no dia **02/08/2022**, e a finalização da entrega dos equipamentos no nosso Laboratório foi registrada na UFPA no dia **17/01/2023** (**vide Nota fiscal em ANEXO**). No entanto, dois dos equipamentos, o *Chiller* e a bomba de vácuo, manifestaram falha de funcionamento no momento da instalação e tiveram que ser devolvidos para a empresa. Todo o trâmite demorado para a devolução dos itens foi tramitado e a transportadora responsável pelo serviço retirou ambos os itens de nosso laboratório no dia 22/03/2023, devolvendo os novos equipamentos somente no dia **28/04/2023**. Portanto, o equipamento apenas esteve operacional e disponível para a realização do Projeto no final do primeiro ano de realização do Projeto.

Tais contratempos certamente prejudicaram o andamento do Plano de Trabalho. No entanto, contornamos a problemática através de parceria com outros grupos de pesquisa que dispunham do mesmo conjunto de equipamento para uso condicionado, conforme a disponibilidade de uso.

Vale salientar que os objetivos de realização da III Feira de Tecnologia de Alimentos e do Treinamento dos produtores rurais no desenvolvimento de novos produtos oriundos da pupunha não foram realizados em função da redistribuição docente do Coordenador deste Projeto (**Portaria de redistribuição Federal - ANEXO 3**). No entanto, conforme mencionado anteriormente, o coordenador, Prof. Dr. Renan Campos Chisté, servidor público federal anteriormente vinculado à Universidade Federal do Pará (UFPA), entrou em processo de redistribuição federal durante o ano de 2023, e foi redistribuído para a Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) em março/2024, conforme a Portaria Conjunta do Ministério da Educação Nº 188 de 14 de março de 2024, publicada no DOU (Nº 52, 15/03/24), para atuar como Professor do Magistério Superior no Departamento de Alimentos da Faculdade de Farmácia da UFMG, e por essa razão não foi possível conduzir a realização da III Feira de Tecnologia de Alimentos, e nem o treinamento com os 10 produtores. **Entretanto, a não-realização da III Feira de Tecnologia de Alimentos, e do treinamento com os 10 produtores, não prejudicou a conclusão dos objetivos principais deste Objeto que foi a produção de extratos ricos em β -caroteno, utilizando a casca da pupunha como matéria-prima, para a obtenção de cristais de elevado grau de pureza para as mais diversas aplicações comerciais/industriais. Além disso, todas as demais atividades programadas foram conduzidas 100%.**

Data: 25/10/2024.

Assinatura do coordenador do Projeto: _____

Assinatura do representante na UFPA: _____