



SILVIA CRISTINA ANAYA FERNANDEZ

PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE MICROPARTÍCULAS LIPÍDICAS OBTIDAS POR SPRAY COOLING COMPOSTAS POR CERA DE CARNAÚBA, ÁCIDO OLEICO E LECITINA NA ENCAPSULAÇÃO DE SOLUÇÃO DE GLICOSE E GLICOSE SÓLIDA.

CAMPINAS

2014



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

Faculdade de Engenharia de Alimentos

SILVIA CRISTINA ANAYA FERNANDEZ

PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE MICROPARTÍCULAS LIPÍDICAS OBTIDAS POR SPRAY COOLING COMPOSTAS POR CERA DE CARNAÚBA, ÁCIDO OLEICO E LECITINA NA ENCAPSULAÇÃO DE SOLUÇÃO DE GLICOSE E GLICOSE SÓLIDA.

Dissertação de mestrado apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas, como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Mestra em Alimentos e Nutrição, na área de concentração Consumo e Qualidade de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Raimundo Ferreira Grosso

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA DISSERTAÇÃO DEFENDIDA PELA ALUNA SILVIA CRISTINA ANAYA FERNANDEZ, E ORIENTADA PELO PROF. DR. CARLOS RAIMUNDO FERREIRA GROSSO.

Prof. Dr. Carlos Raimundo Ferreira Grosso

CAMPINAS

2014

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Engenharia de Alimentos
Claudia Aparecida Romano de Souza – CRB 8/5816

An18p Anaya Fernandez, Silvia Cristina, 1982-
Produção e caracterização de micropartículas lipídicas obtidas por spray cooling compostas por cera de carnaúba, ácido oleico e lecitina na encapsulação de solução de glicose e glicose sólida / Silvia Cristina Anaya Fernandez.-
Campinas, SP : [s.n.], 2014.

Orientador: Carlos Raimundo Ferreira Grosso.
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1. Micropartículas lipídicas. 2. Cera de carnaúba. 3. Spray cooling. 4. Liberação controlada. I. Grosso, Carlos Raimundo Ferreira. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Production and characterization of lipid microparticles obtained by spray cooling containing carnauba wax, oleic acid and lecithin encapsulating glucose solution and solid glucose

Palavras-chave em inglês:

Lipid microparticles
Carnauba wax
Spray cooling
Controlled release

Área de concentração: Consumo e Qualidade de Alimentos

Titulação: Mestra em Alimentos e Nutrição

Banca Examinadora:

Carlos Raimundo Ferreira Grosso [Orientador]
Lireny Aparecida Guaraldo Gonçalves
Ana Silvia Prata Soares

Data de defesa: 30-04-2014

Programa de Pós-Graduação: Alimentos e Nutrição

Banca Examinadora

Prof. Dr. Carlos Raimundo Ferreira Grosso

(Orientador)

Faculdade de Engenharia de Alimentos – UNICAMP

Prof. Dra. Lireny Aparecida Guaraldo Gonçalves.

Membro Titular

Faculdade de Engenharia de Alimentos – UNICAMP

Prof. Dra. Ana Silvia Prata Soares

Membro Titular

Faculdade de Ciências Aplicadas – UNICAMP

Prof. Dr. Chiu Chih Ming

Membro Suplente

Prof. Dra. Izabela Dutra Alvim.

Membro Suplente

Instituto de Tecnologia de Alimentos - Campinas

“A melhor de todas as coisas é aprender. O dinheiro pode ser perdido ou roubado, a saúde e força podem falhar, mas o que você dedicou à sua mente é seu para sempre. Tentar e falhar é, pelo menos, aprender. Não chegar a tentar é sofrer a inestimável perda do que poderia ter sido”

“Quem sabe concentrar-se numa coisa e insistir nela como único objetivo, obtém, ao fim e ao cabo, a capacidade de fazer qualquer coisa”

(Mahatma Gandhi)

"Você ganha forças, coragem e confiança a cada experiência em que você enfrenta o medo. Você tem que fazer exatamente aquilo que acha que não consegue."

(Eleanor Roosevelt)

Dedicatória

A meus pais, **Oscar** e **Silvia**, meus grandes incentivadores, por serem meu exemplo de vida, amor, dedicação e fé.

Ao meu grande parceiro, **Renato**, por me amar incondicionalmente e me demonstrar cada dia a importância que tenho na sua vida.

Ao meu pedacinho de céu, **Lucca Inácio**, por me fazer sentir a cada segundo do dia que minha vida tem sentido.

Agradecimentos

Estes anos que fiz esta pesquisa foi uma árdua jornada de desafio, construção e amadurecimento. Nenhum empreendimento é realizado de forma fácil e sem esforço.

Escrever esta dissertação de Mestrado foi uma experiência enriquecedora e de plena superação. Nos modificamos a cada tentativa de buscar respostas às nossas aflições de ‘pesquisador’. Para aqueles que compartilham conosco desse momento, parece uma tarefa interminável e enigmática que só se torna realizável graças a muito esforço.

Daisaku Ikeda discorreu que os grandes empreendimentos são construídos em meio a muitas dificuldades: “Ser herói não significa acertar constantemente. É muito mais que isso. O verdadeiro espírito de um herói encontra-se na intensa convicção de enfrentar e vencer as dificuldades em vez de desistir de tudo. Na vida de todos nós poderão surgir situações inesperadas, poderão manifestar obstáculos ou problemas que jamais havíamos imaginado. É justamente nesses momentos que revelamos o que verdadeiramente carregamos no coração”.

Neste período, aprendi que uma tese ou qualquer outro trabalho é a extensão de nossa vida, e para que algo de valor seja produzido, a pessoa deve primeiro criar algo de valor em si. Por este motivo, agradeço sincera e profundamente a todas as pessoas que muito me encorajaram e me ajudaram a produzir algo de valor em minha vida. De maneira especial quero expressar meu reconhecimento e gratitude:

A Deus, pela dádiva da vida e porque cada dia surgem oportunidades para provar que Ele é uma fonte inesgotável de poder ilimitado, acionado pela minha fé. E é por isso, que posso confiar que a porta que o Senhor vier abrir para mim, ninguém poderá fechar.

A UNICAMP, pela oportunidade de ter feito realidade meu maior sonho, progredir na minha profissão, numa das melhores Universidades do mundo, obrigada pela possibilidade de crescimento e desenvolvimento intelectuais.

Ao Departamento de Alimentos e Nutrição da Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas, por ter me acolhido.

A Profa. Dra. Maria de Fátima Sonati, assessora do Pró-Reitor da Pró-Reitoria de Pós-graduação da UNICAMP, pela oportunidade de me deixar concretizar o mestrado na

Faculdade de Engenharia de Alimentos, por os auxílios prestados nesse período, pelos sábios conselhos e por acreditar em mim a pesar das circunstâncias.

Ao Prof. Dr. Carlos Raimundo Ferreira Grosso, pela oportunidade de trabalhar com ele, é uma imensa honra e orgulho tê-lo como orientador. Agradeço infinitamente a disposição, o tempo dispensado a esta pesquisa e os ensinamentos com suas argumentações científicas e sugestões, que enriqueceram o meu conhecimento. Obrigada pela compreensão, paciência e confiança depositada em mim, além de me ensinar com o seu exemplo a ser melhor pessoa, pelos sábios conselhos, ao longo destes anos tive a sorte de encontrar um professor que se comportou como um pai, brindando-me proteção e força, sempre estará no meu coração meu querido professor!.

Meus respeitosos agradecimentos pela contribuição da banca do exame de qualificação.

Aos membros da banca, Izabela Dutra Alvim, Lireny Aparecida Guaraldo Gonçalves, Ana Silvia Prata Soares e Chiu Chih Ming, pelas sugestões e importantes contribuições, pelo tempo e pela atenção dispensados a este trabalho.

Aos funcionários do DEPAN: Cidinha, Fátima, Chico, Eliana, Beth, pela colaboração e atenção.

Aos funcionários da Secretaria de Pós- Graduação, em especial ao Cosme, pela atenção.

A todos do Laboratório de Microscopia Eletrônica de Varredura do instituto de Biologia – UNICAMP.

Aos meus pais, Oscar Elías Anaya de Bracamonte e Silvia Rosa Fernández Soria, me deram a vida e me ensinaram a vivê-la com dignidade, pela sólida formação em valores e princípios morais responsáveis da minha personalidade forte, para saber afrontar os obstáculos que se foram apresentando, iluminaram o meu caminho com afeto e dedicação para que o trilhasse sem medo e cheio de esperança. A vocês, que se doaram inteiros e renunciaram a os seus sonhos, para que eu pudesse realizar os meus. Muito Obrigada!

Ao meu amor Renato, agradeço a Deus pela sua existência na minha vida, o companheiro ideal para construir uma vida e um destino com sucesso. Obrigada por ter gostado de mim do jeito que sou, por ter me aceitado com meus defeitos e saber elogiar minhas virtu-

des, e me ensinar que a cada dia podemos recomeçar na luta de alcançar a felicidade. Obrigada por estar do meu lado quando as coisas estiveram muito difíceis e quando parecera não ter mais soluções, pelo modo como me aturou, pelo modo como sempre me apoiou e acompanhou ao longo desta árdua e custosa caminhada. Obrigada pela paciência, compreensão, respeito, admiração, confiança, por acreditar em mim sempre, a pesar das minhas loucuras e desespero, e por deixar-te demonstrar que eu sou uma guerreira e lutadora.

Ao meu filhinho, Lucca Inácio, a maior benção que eu recebi do nosso Pai, meu anjinho mais lindo do mundo, meu motor e motivo de viver.

Ao meu irmão Oscar Gonzalo, pela compreensão, paciência, postergação de ter a sua vez e pelos sacrifícios passados nessa espera, espero ser exemplo de valor e perseverança para você, lembre sempre a semente boa que nossos pais plantaram em nossa infância e o apoio incondicional que eles nos deram, que nos impulsionou para a luta.

Em tão longa jornada, foi impossível não contar com o apoio incondicional de minhas queridas tias, Patrícia e Iliana, que acabaram dividindo comigo angustias e alegrias, lhes agradeço do fundo do meu coração o apoio financeiro, apoio emocional, os estímulos, as palavras de alento, a confiança depositada em mim. Eu sou tão batalhadora em quanto vocês são.

De maneira especial quero agradecer aos meus tios Julio e Cecilia, obrigada pelo seu apoio financeiro e moral, sem vocês tal vez teria sido muito mais difícil, alcançar este grande sonho.

Aos meus tios Jorge, Julia e Ana María, pelo apoio moral e por torceram por mim sempre.

Ao meu tio Bernie Koebele (*in memoriam*), eu sei que você esta do lado no nosso Deus, desde lá você me protege, obrigada por ter acreditado em mim, obrigada por o apoio financeiro, que foi fundamental para meu crescimento profissional.

Aos meus tios Giorgio, Andrés e José Trujillo, por estar sempre prestes a me ajudar de maneira incondicional.

A minha vovó Rosita, pela proteção mesmo estando longe, e pelas fortes orações.

Preciso homenagear, aos meus colegas de laboratório, hoje meus queridos amigos, que de uma forma ou de outra contribuíram com sua força e estímulo para que eu conse-

guisse completar este percurso, fazendo dele uma alegre convivência. Noemi, Andréa, Carol, Camila, Alda, Bárbara, Glaucia, Renata, Caro, Fernando, Diego e Aline. Em especial a Caroline Andreuccetti, por sempre me escutar, por me deixar disfrutar da sua amizade e por me acolher na sua casa de Campinas e Atibaia, e a Noemi, pela amizade e ajuda experimental.

A Marilene Ribeiro, pelas contribuições experimentais, pelas sugestões e por trabalhar em equipe em harmonia.

A Oscar Gamboa, pela valiosa ajuda dispensada nesta tese, por me ajudar no ajuste do aparelho *Spray Cooling*, e na produção das microcápsulas, e pela a sua amizade.

Um agradecimento especial e de coração a Katrina, excelente técnica, sempre me auxiliou nos experimentos com muita dedicação, trabalhou comigo inclusive os finais de semana.

A Yara, outra excelente técnica, que trabalhou comigo com grande profissionalismo, sempre pronta a auxiliar e participar durante este período de estudo.

As minhas companheiras da República das cucarachas, Beatriz, Mariana, Larissa, Marcela, Amanda, pela alegria de conhecê-las, foram como irmãs em Campinas, sempre me dando muita força no processo do vestibular, e pelas muitas alegrias compartilhadas no período do convívio.

Aos meus companheiros de República, Bárbara Mesquita, Lucie (minha francesa), Roberto, Paulo e Rogelio, pelos momentos lindos que passamos juntos, por estar sempre com um alto astral e por me transmitir energias positivas a toda hora. Obrigada Bárbara por ter sido como uma irmã, amiga, companheira e por ter estudado com alegria as disciplinas que compartilhamos.

As minhas queridas brasileiras, Malena, Livia Benetti, Isadora, Sara, Lucia, Taís, obrigada por ter me brindado a sua amizade e por me deixar experimentar o verdadeiro valor da mesma.

Ao meu amigo Rodrigo, pela sua amizade e disposição para me ajudar, mesmo tendo milhões de coisas para fazer.

A Noelia (peruana) e Paula (colombiana), pela sua amizade, por os momentos de felicidade e cumplicidade, e por me acompanhar largas horas na biblioteca.

A minha mãe brasileira, Miriam Sandrin, foi uma benção de Deus te encontrar, obrigada por ter me acolhido na sua casa, por ser a minha amiga, minha conselheira e por me disser e fazer sentir que você também ganhou uma filha.

A minha amiga Darinka, que mesmo longe me foi essencial. Obrigada pela amizade e cumplicidade que temos.

Enfim, a todos que direta ou indiretamente contribuíram para realização deste trabalho e para o meu crescimento pessoal e acadêmico.

RESUMO

Apesar da facilidade da produção e da possibilidade de fabricação em escala industrial, as micropartículas lipídicas apresentam desvantagens como a baixa capacidade de encapsulação e a possibilidade de expulsão do material de recheio durante o armazenamento.

Foram propostas micropartículas lipídicas contendo lipídios sólidos e líquidos como materiais de parede com o objetivo de minimizar a expulsão do material de recheio. Desta forma o presente trabalho teve como finalidade estudar a formação de microcápsulas lipídicas produzidas pelo processo *Spray Cooling*, compostas por misturas, em diferentes proporções de ácido oleico, linolênico e cera de carnaúba como matriz, lecitina de soja como surfactante e solução de glicose e glicose sólida como materiais de recheio. O objetivo foi aumentar a eficiência de encapsulação, avaliando e verificando o efeito da composição e estrutura da matriz lipídica, testando o comportamento da partícula com a inclusão de um novo componente na matriz lipídica como é a cera de carnaúba. Nas micropartículas foram avaliadas a morfologia de superfície e microestrutura por microscopia eletrônica de varredura, tamanho e distribuição de partícula, quantidade de glicose superficial (não encapsulada), eficiência de encapsulação e comportamento de liberação do recheio em solução aquosa. As micropartículas apresentaram formas esféricas com paredes rugosas, os diâmetros médios situaram-se numa faixa de 36 e 58 μm . Os resultados de eficiência de encapsulação nas misturas com a glicose em solução encontraram-se numa faixa de 52 a 62%, e nas misturas contendo o recheio sólido os valores de eficiência de encapsulação situaram-se numa faixa de 54 a 66%. As maiores quantidades de glicose superficial foram encontradas nas formulações nas quais foram adicionadas quantidades de recheio sólido. A liberação do recheio foi avaliada a cada 30 minutos durante 2 horas, observando-se que nos primeiros 30 minutos, as formulações que continham a glicose sólida apresentaram valores acima de 86% (*efeito burst*), enquanto que a liberação do recheio nas misturas contendo a glicose em solução apresentou valores de 22 a 72%. Ao término desse período, nestas misturas foi observado que a liberação de recheio ocorreu progressivamente. A utilização da matriz lipídica nas formulações

parece responsável pelos resultados, considerando que a adição do lipídio líquido à cera de carnaúba foi um fator determinante na modificação da cristalização da mistura lipídica proporcionando uma melhoria na eficiência de encapsulação destas partículas.

Palavras-chave: Micropartículas lipídicas; Cera de carnaúba; *Spray Cooling*; Liberação controlada.

ABSTRACT

The manufacturing and large scale production of micro particles is easy; however these products show some disadvantages such as poor encapsulation and deficient core material expulsion during storage. To avoid this problem the use of nanostructured lipids have been proposed with the purpose of minimizing the expulsion of core material. This work was conducted to study the formation of lipid microcapsules, produced during spray cooling, from mixtures which contained different proportions of: oleic acid and carnauba wax as matrices, soybean lecithin as a surfactant and glucose solution and solid glucose as core materials. The objective of this study was to increase the efficiency of encapsulation by assessing and verifying the effect of composition and structure of the lipid matrix. The performance was evaluated with the addition of a new compound, carnauba wax, in the lipid matrix. In the micro particles the following variables were assessed: superficial morphology and microstructure by electron microscopy, size and particle distribution, amount of superficial glucose (not encapsulated), efficiency of encapsulation and performance of releasing core material in an aqueous solution. The micro particles showed spherical shapes with rough walls, the average diameters varied from 36 and 58 μm . Results of encapsulation efficiency were from 52 - 62% for mixtures of glucose solution and from 54 - 66% for mixtures with solid core. More superficial glucose quantities were found in formulations in which solid cores were added. Core releasing was assessed every 30 minutes during 2 hours; during the first 30 minutes, the formulations containing solid glucose showed values > 86% (burst effect) while the releasing of core material from mixtures containing glucose solution varied from 22-72% where the release increased progressively during this time. The use of a lipid matrix in the formulations may be responsible for these results because the addition of a liquid lipid (AO) to carnauba wax was a crucial factor in the crystallization modification of the lipid mixture providing reasonable encapsulation efficiency.

Keywords: Lipid micro particles, carnauba wax, spray cooling; controlled release.

SUMÁRIO

RESUMO.....	xvii
ABSTRACT	xix
SUMÁRIO	xxi
ÍNDICE DE FIGURAS	xxv
ÍNDICE DE TABELAS	xxix
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	4
2.1. Objetivo Geral	4
2.2. Objetivos Específicos	4
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	5
3.1. Microencapsulação	5
3.1.1. Definição	5
3.1.2. Vantagens e desvantagens	6
3.1.3. Cronologia e Aplicação	7
3.1.4. Microencapsulação no setor alimentício.	8
3.1.5. Métodos para produção de Micropartículas.	11
3.1.6 Formação das Cápsulas	13
3.1.7 Materiais de Parede	14

3.1.7.1 Lipídios.....	16
3.1.7.1.1 Produção de partículas lipídicas sólidas por <i>Spray Cooling</i>	18
3.1.7.1.2 Cristalização.....	23
3.1.7.1.3 Ácido oleico.....	25
3.1.7.1.4 Ácido linolênico	26
3.1.7.1.5 Cera de Carnaúba	27
3.1.8 Tensoativos.....	29
3.1.8.1 Lecitina de soja.....	32
3.1.9 Material de Recheio.....	34
3.1.9.1 Glicose.....	35
3.2 Liberação do Recheio	36
4. MATERIAL E MÉTODOS	39
4.1. Material.....	39
4.2. Metodologia.....	39
4.2.1. Produção das Micropartículas.	39
4.2.1.1. Formulação das misturas lipídicas.....	39
4.2.1.2. Determinação das condições de preparação da emulsão	40
4.2.1.3. Produção de micropartículas lipídicas (MpL) por <i>Spray Cooling</i>	41
4.2.2. Métodos analíticos.....	44
4.2.2.1. Ponto de fusão “ <i>Slipping Point</i> ”	44

4.2.2.2. Determinação de glicose.....	45
4.2.2.3. Determinação da eficiência de encapsulação	45
4.2.2.3.1. Determinação da eficiência de encapsulação total (EET)	45
4.2.2.3.2. Determinação de glicose superficial (GS)	46
4.2.2.3.3. Determinação da eficiência de encapsulação efetiva (EEE)	46
4.2.2.4. Determinação da distribuição de tamanho e diâmetro médio das micropartículas .	46
4.2.2.5. Morfologia das micropartículas.....	47
4.2.2.6. Avaliação da liberação do recheio.....	47
4.3 Análise estatística	48
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	49
5.1. Determinação do ponto de amolecimento “ <i>Slipping Point</i> ”	49
5.2. Preparo e estabilidade das emulsões.....	50
5.3. Etapa 1 – Caracterização das micropartículas lipídicas	51
5.3.1. Produção das micropartículas	51
5.3.2. Determinação de glicose superficial e eficiência de encapsulação efetiva	52
5.3.3. Avaliação da liberação do recheio em meio aquoso.	55
5.3.4. Caracterização das micropartículas	60
5.3.4.1. Distribuição de tamanho e diâmetro médio das micropartículas.....	60
5.3.4.2. Morfologia das micropartículas.....	65

5.3.4.3 Microscopia Eletrônica de Varredura das micropartículas	69
6. CONCLUSÕES.....	77
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	79
8. ANEXOS	96

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 – Alguns modelos de microcápsulas. (A): matriz (microesfera); (B): microcápsula simples; (C): simples, irregular; (D): duas paredes; (E): Vários núcleos; (F): agrupamentos de microcápsulas	14
Figura 2 – Estrutura esquematizada do ácido oleico.	26
Figura 3 – Estrutura química do ácido linolênico.	27
Figura 4 – Palmeira produtora da cera da carnaúba: Copernicia Cerifera e a cera processada em escamas.	28
Figura 5 – Estrutura química da cera de carnaúba.	28
Figura 6 – Comparação proporcional dos tensoativos de alto e baixo HLB.	31
Figura 7 – Estrutura química da lecitina; R = Cadeia de ácido graxo.	32
Figura 8– Diagrama de representação do conteúdo do recheio: (A) microcápsula simples; (B) matriz microesfera.	35
Figura 9 – Estrutura química da glicose.	35
Figura 10 – Esquema do spray cooling para a produção das micropartículas.	44
Figura 11 – Liberação do recheio (média $\pm$ desvio padrão) em solução aquosa, em 120 minutos, analisada pós-produção.	58
Figura 12 – Distribuição de tamanho: F1 (solução de glicose 50%, proporção lipídio/solução de glicose 75/25 recheio líquido).	62
Figura 13 – Distribuição de tamanho: F2 (proporção lipídio/glicose sólida 75/25).	63

Figura 14 – Distribuição de tamanho: F3 (solução de glicose 50%, proporção lipídio/solução de glicose 85/15 recheio liquido).....	63
Figura 15 – Distribuição de tamanho: F4 (proporção lipídio/glicose sólida 85/15).....	64
Figura 16– Distribuição de tamanho: F5 (solução de glicose 50%, proporção lipídio/solução de glicose 95/5 recheio liquido).	64
Figura 17 – Distribuição de tamanho: F6 (proporção lipídio/glicose sólida 95/5).....	65
Figura 18 – Imagens obtidas por microscopia ótica das micropartículas lipídicas. F1 (solução de glicose 50%, proporção lipídio/solução de glicose 75/25). Aumento 12,5.....	66
Figura 19 – Imagens obtidas por microscopia ótica das micropartículas lipídicas. F2 (proporção lipídio/glicose sólida 75/25). Aumento 12,5.....	66
Figura 20 – Imagens obtidas por microscopia ótica das micropartículas lipídicas. F3 (solução de glicose 50%, proporção lipídio/solução de glicose 85/15). Aumento 12,5.....	67
Figura 21- Imagens obtidas por microscopia ótica das micropartículas lipídicas. F4 (proporção lipídio/glicose sólida 85/15). Aumento 12,5.....	67
Figura 22 – Imagens obtidas por microscopia ótica das micropartículas lipídicas. F5 (solução de glicose 50%, proporção lipídio/solução de glicose 95/5). Aumento 12,5.....	68
Figura 23 – Imagens obtidas por microscopia ótica das micropartículas lipídicas. F6 (proporção lipídio/glicose sólida 95/5). Aumento 12,5.....	68
Figura 24- Imagens captadas por microscopia eletrônica de varredura da formulação F1 (solução de glicose 50%, proporção lipídio/solução de glicose 75/25): (A) aumento de 150x, barra 100; (B) aumento de 350x, barra 100; (C) aumento de 500x, barra 10; (D) aumento de 1000x, barra 10.	70
Figura 25 - Imagens captadas por microscopia eletrônica de varredura da formulação F2 (glicose sólida, proporção lipídio/ glicose sólida 75/25): (A) aumento de 150x, barra 100;	

(B) aumento de 350x, barra 100; (C) aumento de 500x, barra 10; (D) aumento de 1000x, barra 10. 71

Figura 26 - Imagens captadas por microscopia eletrônica de varredura da formulação F3 (solução de glicose 50%, proporção lipídio/solução de glicose 85/15): (A) aumento de 150x, barra 100; (B) aumento de 350x, barra 100; (C) aumento de 500x, barra 10; (D) aumento de 1000x, barra 10. 72

Figura 27 - Imagens captadas por microscopia eletrônica de varredura da formulação F4 (glicose sólida, proporção lipídio/ glicose sólida 85/15): (A) aumento de 150x, barra 100; (B) aumento de 350x, barra 100; (C) aumento de 500x, barra 10; (D) aumento de 1000x, barra 10. 73

Figura 28 - Imagens captadas por microscopia eletrônica de varredura da formulação F5 (solução de glicose 50%, proporção lipídio/solução de glicose 95/5): (A) aumento de 150x, barra 100; (B) aumento de 350x, barra 100; (C) aumento de 500x, barra 10; (D) aumento de 1000x, barra 10. 74

Figura 29 - Imagens captadas por microscopia eletrônica de varredura da formulação F6 (glicose sólida, proporção lipídio/ glicose sólida 95/5): (A) aumento de 150x, barra 100; (B) aumento de 350x, barra 100; (C) aumento de 500x, barra 10; (D) aumento de 1000x, barra 10. 75

Figura 30 – Liberação de recheio: F1 → Formulação 1 (solução de glicose 50% proporção lipídio/solução de glicose 95/5 recheio líquido). 97

Figura 31 – Liberação de recheio: F2 → Formulação 2 (proporção lipídio/glicose sólida 95/5). 97

Figura 32 – Liberação de recheio: F3 → Formulação 3 (solução de glicose 50% proporção lipídio/solução de glicose 75/25 recheio líquido). 98

Figura 33 – Liberação de recheio: F4 → Formulação 4 (proporção lipídio/glicose sólida 75/25).....	98
Figura 34 – Liberação de recheio: F5 → Formulação 5 (solução de glicose 50% proporção lipídio/solução de glicose 85/15 recheio líquido).....	99
Figura 35 – Liberação de recheio: F6 → Formulação 6 (proporção lipídio/glicose sólida 85/15).....	99

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 – Trabalhos recentes sobre microencapsulação.....	8
Tabela 2 – Instituições sobre encapsulação de aditivos alimentícios.....	10
Tabela 3 – Métodos de encapsulação.....	12
Tabela 4 – Tipos de material de parede.....	15
Tabela 5– Classificação dos lipídios.....	17
Tabela 6 – Composição da cera de carnaúba.....	28
Tabela 7 – Faixa de HLB e aplicações.....	31
Tabela 8 – Composição geralmente admitida para a lecitina de Soja.....	33
Tabela 9 – Algumas propriedades da glicose.....	36
Tabela 10 – Composição das misturas lipídicas cujos pontos de amolecimento foram analisados.....	40
Tabela 11 – Composição das formulações com o recheio líquido (%).	42
Tabela 12 – Composição das formulações com o recheio sólido (%).	43
Tabela 13 – Temperatura de amolecimento das misturas analisadas para a produção das micropartículas lipídicas.....	49
Tabela 14 – Quantidade de glicose superficial (%) e eficiência de encapsulação efetiva (%) determinadas um dia após a produção.....	54
Tabela 15 – Liberação do recheio (média $\pm$ desvio padrão) em solução aquosa, em 120 minutos, analisada pós-produção.....	58
Tabela 16 – Diâmetro médio das micropartículas (media $\pm$ desvio padrão).	62

1. INTRODUÇÃO

A tendência mundial está orientada à necessidade de que os alimentos sejam fornecidos aos consumidores como fonte de bem-estar e de saúde, essa perspectiva requer mudanças no desenvolvimento de novos produtos, aplicando-se métodos inovadores enfocados no controle da bioacessibilidade dos componentes ativos, e a microencapsulação é um meio efetivo de se alcançar tais objetivos (SANGUANSRI e AUGUSTIN, 2006). O estudo dessa tecnologia vem desde os anos 30 e foi aplicada pela primeira vez em 1954, num papel de cópia sem carbono (DZIEZAK, 1988). Na área de alimentos os estudos foram iniciados nos anos 60, pelo Instituto de Pesquisas Southwest (EUA), microencapsulando óleos essenciais para prevenir a oxidação e a perda de substâncias voláteis e controlar a liberação do aroma.

A microencapsulação é uma técnica de empacotamento com finas coberturas poliméricas aplicáveis em sólidos, gotículas de líquidos ou material gasoso, formando pequenas partículas denominadas microcápsulas, que podem liberar seu conteúdo sob velocidade e condições específicas (TODD, 1970). Por sua vez, ARSHADY (1993) descreveu as microcápsulas como embalagens extremamente pequenas, compostas por um polímero como material de parede e um material ativo chamado de recheio. Apresenta como objetivos reduzir as interações do recheio com fatores ambientais adversos, transformar sabores líquidos em pó, melhorar o tempo de retenção dos nutrientes em alimentos e permitir uma liberação modulada do recheio, estabilidade durante a armazenagem e em algumas aplicações, mascarar compostos de sabor indesejável (DEYPERE, 2005; PSZCZOLA, 1998; REINECCIUS, 1995)

O emprego de partículas lipídicas como matriz de substâncias ativas tem sido propostas como uma alternativa pela habilidade que apresentam de formarem uma variedade de estados morfológicos como emulsões, lipossomas e micropartículas sólidas (SIEKMANN & WESTESEN, 1992; MULLER *et al*, 2000), apresentando grande flexibilidade com respeito ao empacotamento e tamanho das partículas.

Apesar da importância dos lipídios para o transporte de bioativos, estes apresentam algumas desvantagens como a baixa capacidade de encapsulação e a instabilidade na retenção do recheio durante a armazenagem devido ao caráter polimórfico dos lipídios que pode produzir um alto grau de estruturação da parede da partícula através da cristalização lipídica e da conseqüente expulsão do recheio. Estudos de literatura observam que alguns tensoativos podem melhorar a eficiência de encapsulação e a utilização de diferentes tipos de lipídios conjuntamente podem dificultar a cristalização e a expulsão do recheio.

Na produção de micropartículas lipídicas por *Spray Cooling*, a massa do lipídio fundido junto com o material de recheio, é atomizada formando gotas que rapidamente solidificam-se em contato com o frio (MAGEE & OLSON, 1981a; 1981b). Na técnica *Spray Cooling*, os lipídios são usados como materiais de parede, para encapsular compostos hidrofílicos ou hidrofóbicos, os quais mantem-se acima da temperatura do ponto de fusão (45-85°C), com o recheio a ser emulsionado, solubilizado ou suspenso no material lipídico liquefeito e em seguida pulverizado em uma câmara fria (ar frio ou N₂ líquido) com uma temperatura mais baixa do que a do ponto de fusão dos lipídios. As desvantagens desta técnica incluem a baixa capacidade de encapsulação, a possibilidade de que parte do recheio seja localizada na superfície da partícula, e a possibilidade de expulsão do recheio devido ao rearranjo característico polimórfico dos materiais de lipídios, além do significativo encapsulamento de alto conteúdo de água no caso de emulsões (MEHNERT & MÄDER, 2001; MÜLLER *et al.*, 2002a, b).

A cristalização ocorre com mais intensidade quando moléculas de lipídios muito semelhantes são usados, com longas e perfeitas cadeias carbônicas. A inclusão de um lipídio líquido modifica a cinética de cristalização, alterando a organização da rede cristalina com o objetivo de aumentar a capacidade de encapsulação e diminuir a expulsão do recheio (MÜLLER *et al.*, 2002a). Durante a cristalização, o espaço disponível para a acomodação do recheio será reduzido, o que também pode causar a expulsão do mesmo. Estas desvantagens levaram ao desenvolvimento de uma nova forma de partículas lipídicas chamados carreadores lipídicos nanoestruturados (NLC), que são produzidos por uma mistura de lipídios sólidos e líquidos incompatíveis que produzem matrizes lipídicas menos ordenadas, resul-

tando em uma maior capacidade de encapsulamento e um melhor controle da liberação (MÜLLER *et al.*, 2002a).

Diferentes pesquisas analisaram a incorporação de lecitina na matriz lipídica para melhorar e aumentar a incorporação do recheio e concluíram que a incorporação do recheio aumentou linearmente com o aumento da concentração de lecitina presente até uma determinada porcentagem, e este efeito foi atribuído à formação de micelas no meio da matriz lipídica, o que permitiu incorporação adicional do recheio (SCHUBERT *et al.*, 2006).

GOUIN *et al.* (2004), afirmaram que pela propriedade de liberação controlada, a microencapsulação deixa de ser apenas mais um método de agregação de substâncias a uma formulação alimentícia, pois a liberação ajuda a evitar a utilização inefetiva e a perda de compostos durante o processamento onde os ingredientes ativos são liberados a razões controladas em períodos de tempo prolongados (SAVOLAINEN *et al.*, 2002).

Neste contexto este trabalho teve como objetivo produzir micropartículas lipídicas sólidas, preparadas pelo processo *Spray Cooling*, compostas por cera de carnaúba, ácido oleico e ácido linolênico como material de parede, lecitina de soja como tensoativo e solução de glicose e glicose sólida como material de recheio. Sendo que, com o ácido linolênico como parte da parede, não se atingiu o objetivo do trabalho quanto à produção das micropartículas, já que não apresentou as características favoráveis após a realização os testes de produção das mesmas. As micropartículas lipídicas produzidas foram analisadas com relação à morfologia de superfície, tamanho de partícula, eficiência de encapsulação, glicose superficial e perfil de liberação do recheio em solução aquosa.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Estudar a produção de micropartículas lipídicas sólidas, preparadas por *Spray Cooling*, constituídas por cera de carnaúba/ácido oleico e cera de carnaúba/ácido linolênico como material de parede, lecitina de soja como tensoativo e solução de glicose e glicose sólida como material de recheio.

2.2. Objetivos Específicos

2.2.1. Preparar as misturas lipídicas contendo a cera de carnaúba (sólido), ácido oleico e ácido linolênico (lipídios líquidos).

2.2.2. Determinar as condições de processo na produção de micropartículas lipídicas (MpL) com recheio hidrofílico pelo método *Spray Cooling*.

2.2.3. Determinar as características morfológicas e de distribuição de tamanho das micropartículas lipídicas.

2.2.4. Determinar a porcentagem de glicose superficial, eficiência de encapsulação total e efetiva e a liberação porcentual do recheio, liberado em duas horas.

2.2.5. Determinar o comportamento do recheio hidrofílico (líquido e sólido) e o efeito da adição da cera de carnaúba na matriz lipídica, relacionado à eficiência de encapsulação e liberação do recheio.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Microencapsulação

3.1.1. Definição

Microencapsulação é definida como um processo no qual uma membrana envolve pequenas partículas de sólido, líquido ou gás com o objetivo de proteger o material encapsulado de condições adversas do meio, tais como luz, umidade, oxigênio e interações com outros compostos, estabilizando o produto e promovendo a liberação controlada em condições específicas (SHAHIDI *et al.*, 1993).

O tamanho das micropartículas pode variar de poucos nanômetros chamados assim de nanopartícula, a muitos milímetros chamados assim de micropartícula, a microcápsula pode ter diferentes formas tais como esféricas, retangulares ou irregulares, monolíticas ou podem formar um conglomerado (DZIEZAK, 1988; JACKSON & LEE, 1991; NORI, 1996); podem também ser mononucleadas, na qual o recheio é envolvido por uma única camada de parede ou multinucleadas na qual o recheio é distribuído por toda a extensão da matriz (THIES, 1995).

O modelo mais bem sucedido de microencapsulação é observado nas células vivas, nas quais uma membrana natural protege os componentes celulares, e exerce uma função importante no metabolismo, controlando seletivamente a entrada e saída de substâncias das células que, de maneira similar, tem uma parede que isola o material ativo e controla a liberação sob estímulo específico. Portanto, o propósito da microencapsulação é proteger seu conteúdo do ambiente que pode ser destrutivo, permitindo trocas pela membrana (JIZOMOTO *et al.*, 1993).

3.1.2. Vantagens e desvantagens

A encapsulação pode ser usada com vários propósitos além da função de proteção do material encapsulado, quais sejam: (GOODWIN & SOMERVILLE, 1974; SHAHIDI & HAN, 1993; RÉ, 1998):

- Conversão de substâncias líquidas ou gasosas em pós, permitindo sua melhor utilização em sistemas desidratados.
- Mascaram propriedades indesejáveis do material encapsulado como sabor, odor, pH, propriedades catalíticas, dentre outras;
- Permitir mecanismos de liberação controlada das substâncias encapsuladas para fins específicos nos produtos onde está veiculada.
- Reduzir a toxicidade do material encapsulado.
- Separar compostos da formulação que são incompatíveis ou reativos.

Essas vantagens permitem que os produtos microencapsulados tenham melhor potencial de uso, tanto pela minimização na perda de suas características desejáveis (sejam estas nutricionais, sensoriais ou químicas) quanto pelo controle de sua ação no alimento, pela possibilidade de uma liberação controlada. A possibilidade de controle na taxa de liberação do material de recheio das cápsulas é uma das mais exploradas funções dessa tecnologia e está diretamente relacionada com características da parede formada como: estrutura química, espessura, tamanho, porosidade e solubilidade (FANGER, 1974). Por sua vez, essas características determinam a permeabilidade e a difusividade do recheio pela parede. As características funcionais das cápsulas produzidas dependem além do material de parede escolhido, das características do material de recheio, do método empregado na produção das microcápsulas e do meio onde serão utilizadas.

Existem algumas potentes limitações, como a capacidade limitada de eficiência de encapsulação, a possibilidade de expulsão do recheio durante o armazenamento e adicionalmente pode ocorrer incorporação de alto conteúdo de água na dispersão. (MEHNERT & MÄDER, 2001; MÜLLER *et al*, 2002a; MÜLLER *et al*, 2002b; HEURTAULT *et al*, 2003; WISSING *et al*, 2004).

3.1.3. Cronologia e Aplicação

O estudo da tecnologia de encapsulação começou nos anos 30 e foi aplicada pela primeira vez em 1954, num papel de cópia sem carbono, onde o papel recebia uma fina camada de micropartículas que se rompia com a pressão da ponta do lápis e liberava uma tinta incolor que, em contato com um reagente, tornava-se colorida e idêntica ao original (DZIEZAK, 1988). Na área de alimentos os estudos foram iniciados nos anos 60, pelo Instituto de Pesquisas Southwest (EUA), microencapsulando óleos essenciais para prevenir a oxidação e a perda de substâncias voláteis e controlar a liberação do aroma.

A microencapsulação não é um processo novo, mas sua aplicação em alimentos processados industrialmente é recente. No passado a encapsulação de ingredientes alimentícios representava elevação de custos e os técnicos não sabiam como lidar com o ingrediente encapsulado. Em função disto, este processo foi desacreditado e quase abandonado. Entretanto, gradualmente mostrou ser uma tecnologia de sucesso e atualmente gera 30% dos negócios anuais no setor de aditivos. É basicamente uma tecnologia transferida de produtos farmacêuticos para produtos alimentícios que só obteve credibilidade comercial quando foi aplicado sal encapsulado nos *hamburgers* da linha dos McLean Deluxe Hamburgers da empresa McDonald's, o que resultou na melhoria da aceitabilidade dos mesmos (DUXBURY & SWIENTEK, 1992).

Nos últimos anos os estudos e os aperfeiçoamentos dessa técnica permitiram a ampliação do seu uso para a indústria de alimentos, farmacêutica, aromas e sabores, tintas, química, agrícola, dentre outras (FANGER, 1974; POTHAKAMURY *et al*, 1995; RÉ 1998; WIELAND-BERGHAUSENS *et al*, 2002).

Na indústria de alimentos, a microencapsulação esta trazendo grandes benefícios no campo nutricional através da fortificação/suplementação de alimentos ou suplementação com medicamentos procurando-se prevenir as deficiências de vitaminas e minerais nos alimentos entre outras aplicações (JACKSON & LEE, 1991).

A Tabela 1 mostra diversos trabalhos publicados nos últimos anos sobre o uso de vários polímeros em microencapsulação de substâncias por diversas técnicas.

Tabela 1 – Trabalhos recentes sobre microencapsulação.

Material de parede	Recheio	Mét. de encapsulação	Autores
Isolado proteico de soja	Óleo de peixe	Gelificação térmica e/ou enzimática	Cho <i>et al.</i> , 2003
Blenda de polímeros	Oleoresina de páprica	<i>Spray Dryer</i>	Rodriguez-Huezo <i>et al.</i> , 2004
Gelatina + G. Arábica	Óleos	Coacervação complexa	Lamprecht <i>et al.</i> , 2000,2001
Caseína	Fármacos	Coacervação simples	Santinho <i>et al.</i> , 1999
Goma Arábica	Óleos essenciais	<i>Spray Dryer</i>	Bertolini, 2001
Prot. De soro de leite	Fármacos	Dupla emulsificação e enrijecimento por calor	Lee & Rosenberg, 2000
Amido	Óleo de peixe	<i>Spray Dryer</i>	Cardoso, 2000
Lipídios (ponto de fusão > temp. Ambiente)	Total o parcialmente solúveis em água	<i>Spray Chilling</i>	Langdon <i>et al.</i> , 1998,2004, 2005
Alginato, goma gelatina e pectina	Óleo e proteínas	Gelificação iônica	Mukai-Corrêa <i>et al.</i> , 2004, 2005
Leite desnatado reconstituído (LDR), inulina, oligofrutose e oligofrutose enriquecida com inulina	Bifidobacterium BB-12	<i>Spray drying</i>	Fritzen-Freire <i>et al.</i> (2012)
Gordura interesterificadas com palma e óleo de palmiste	Bifidobacterium lactis e Lactobacillus acidophilus	<i>Spray Chilling</i>	Pedroso <i>et al.</i> (2012)
Ácido esteárico e gordura vegetal	fitosteróis	<i>Spray Chilling</i>	ALVIM, Izabela Dutra <i>et al.</i> (2013)

3.1.4. Microencapsulação no setor alimentício.

A aplicação mais conhecida da encapsulação em alimentos é a proteção de compostos de aroma, que podem ser perdidos por evaporação, oxidação ou interações com outros compostos. Uma grande preocupação é que os compostos de aroma sejam liberados de forma rápida e efetiva apenas quando o alimento entrar em contato com a boca, do contra-

rio a encapsulação não teria sentido. Assim, são utilizados matérias de parede bastante hidrossolúveis, como amido e dextrinas (ARSHADY, 1993).

Entre os produtos alimentícios que são encapsulados podem-se incluir: ácidos, bases, aminoácidos, corantes, enzimas, microrganismos, óleos essenciais, gorduras, vitaminas e minerais, sais, açúcares e gases (JACKSON & LEE, 1991).

A encapsulação protegeu e aumentou a estabilidade das vitaminas em alguns extremos de umidade e de temperatura, permitiu à liberação controlada no trato intestinal, melhorou suas propriedades e retardou a perda da cor e a rancidez oxidativa na produção dos aromas encapsulados. No caso de proteção entérica foram usados materiais hidrofóbicos, como ceras, embora muitos derivados de celulose e proteínas com ligações cruzadas possam também promover liberação entérica (JANOVSKY, 1993; TRINDADE & GROSSO, 2000).

DZIEAK (1988a) reportou que a encapsulação de acidulantes como o ácido ascórbico, cítrico, fumárico e láctico foi realizada para evitar que os mesmos fossem dissolvidos em condições específicas de temperatura e a dos aromatizantes foi realizada com a finalidade de aumentar significativamente sua vida de prateleira. A dos agentes de fermentação, para que os mesmos tivessem um espectro maior de aplicações, principalmente em pizzas, onde, estando encapsulados, evitavam o endurecimento da massa e em salgadinhos extrusados aumentavam o escoamento da massa; a dos adoçantes foi realizada objetivando diminuir a higroscopicidade; a de vitaminas e minerais, para que pudessem ser incorporados aos alimentos com a finalidade de fortificação dos mesmos (LABELL 1993).

DUXBURY & SWIENTEK (1992), reportaram que nos USA, 100% da granola em barra é fortificada através da incorporação de minerais e vitaminas encapsulados atendendo às recomendações de uma dieta balanceada.

HELGUERA (2000) fez referência à utilização de especiarias encapsuladas para conferir aroma e cor de produto caseiro (recém produzido) ao produto assado industrializado, tais como pães e bolos.

GIESE (1993) reportou a aplicação de condimentos, aromatizantes, corantes e ingredientes nutritivos encapsulados, contidos em sachês feitos de filmes comestíveis, que se dissolvem instantaneamente em macarrões e sopas de preparo rápido.

Microorganismos têm sido microencapsulados para protegê-los contra a presença de oxigênio (KIM *et al.*, 1988), contra as baixas temperaturas de congelamento (SHEU *et al.*, 1993), contra o efeito bactericida do suco gástrico e outros meios ácidos (RAO *et al.*, 1989; FÁVARO-TRINDADE & GROSSO, 2000; FÁVARO-TRINDADE & GROSSO, 2002; HANSEN *et al.*, 2002).

A encapsulação de ácidos orgânicos utilizados como conservantes em panificação, como o ácido sórbico, evita uma queda prematura do pH, que poderia comprometer o crescimento das leveduras. A liberação desses ácidos, por outro lado é requerida durante a estocagem, quando sua ação contra o crescimento de fungos é necessária.

Uma aplicação de crescente interesse industrial é a produção de sucos de frutas encapsulados em pó. Os sucos de frutas são produtos de alta demanda no mercado mundial, e sua produção sob a forma de pós tem sido muito visada. A alta higroscopicidade e a natureza termoplástica desses pós acarretam problemas como adesão às paredes do secador, aglomeração, o que pode ser controlado pela utilização de encapsulantes. No caso de maltodextrinas, as de menores valores de DE são mais adequadas, já que são menos higroscópicas. DIB TÁXI *et al.* (2003) observou que a estabilidade de suco de camu-camu microencapsulado por atomização foi bem superior à do produto liofilizado sem encapsulante, tomado como referência. A Tabela 2 mostra as diferentes áreas de investigação no setor da microencapsulação de alimentos.

Tabela 2 – Instituições sobre encapsulação de aditivos alimentícios.

INSTITUIÇÃO	PESQUISADOR	TIPO DE ATIVIDADE	AREA DE INVESTIGAÇÃO
ENITIAA (França)	Dr. Poncelet	Escola de Engenharia	Engenharia da encapsulação
ATO B.V (Holanda)	M.H. Vingerhoeds	Centro de Investigação	Aplicação em processos de alimentos, extrusão
Universidade de Birmingham (UK)	Dr. Z. Zhang	Centro de Investigação	Formulação de microcápsulas e sua caracterização
VTT Biotchnol (Finlandia)	Dr. P. Forssell	Centro de Investigação	Matrizes de encapsulação a base do amido
UPV/EHU LEIA Foundation (Espanha)	Prof. J.L. Pedraz	Fundação de Investigação	Aplicações em alimentos

INSTITUIÇÃO	PESQUISADOR	TIPO DE ATIVIDADE	AREA DE INVESTIGAÇÃO
GeniaLab Bio Technologie (Alemanha)	Dr. Ulrich Jahnz	Centro de Investigação	Tecnologia e materiais de encapsulação
CERTH/CPERIMPRE (Grécia)	Prof. Kostas Kiparissides	Instituto de Pesquisa	Liberação controlada de aditivos
ITZ - Bremerhaven (Alemanha)	Dr. C. Maehr	Centro de transferência de Tecnologia	Desenho de produto e de processos, secagem por aspersão
Università di Perugia (Itália)	Prof. C. Nas-truzzi	Universidade	Liberação controlada
Food reserarch and devel-opment center (Canadá)	Ph. D. Edward Fainworth	Centro de Investigação	Nutracéuticos, alimentos saudáveis
Memorial University of Newfoundland (Canadá)	Dr. Shahidi Fereidoon	Universidade	Aplicações em produtos comerciais
Southwest Research Insti-tute (USA)	Ph. D. Niraj Vasishtha	Centro de Investigação	Novas técnicas, extrusão
Eastern regional Research Center (USA)	Dr. Charles Onwulata	Centro de Investigação	Aplicação de produtos, derivados lácteos.
University of Rutgers (U-SA)	Ph. D. King	Universidade	Aplicação com hidrocoloides
University of Minnesota	Dr. G.A. Rei-neccius	Departamento de Ciên-cia, Alimentos e Nutri-ção	Encapsulação de sabores, principal-mente técnica de secagem por asper-são.
Universidade de Campinas (Brasil)	Dr. Carlos F. R. Grosso	Universidade	Microencapsulação de alimentos
Universidad Autónoma Metropolitana (México)	Dr. Eduardo Jaime Vernon Carter	Universidade	Formulação, estruturação e estudo da estabilidade de sistemas dispersos alimentícios.

Adaptado de KAPUSNIAK (2006).

3.1.5. Métodos para produção de Micropartículas.

Segundo ARSHADY (1993) e NORI (1996), os pontos críticos da microencapsulação são: a composição correta entre o material encapsulante e o núcleo, a palatabilidade do

alimento que contém o ingrediente encapsulado, a escolha correta do material de parede da microcápsula (suas características físico-químicas, solubilidade, cristalinidade, capacidade de formação de filme e propriedades de barreira), o tamanho desejado da microcápsula, a sensibilidade do material encapsulado, o custo de operação, a aplicabilidade para produtos alimentícios e o mecanismo de liberação do material ativo. Porém, na prática, na maioria das vezes o critério decisivo na escolha é o custo do material de parede, que na encapsulação de óleos essenciais pode chegar até 95% do preço do produto final.

A escolha do método depende das propriedades do ativo (especialmente a solubilidade) e do tipo de partícula procurada, além da finalidade (morfologia, estabilidade, mecanismo de liberação) e das circunstâncias envolvidas na produção do produto.

Várias técnicas (Tabela 3) são utilizadas para encapsular princípios ativos podendo ser divididas em métodos:

1. Físicos: *Spray drying*, *spray cooling*, *spray chilling*, leite fluidizado, extrusão, centrifugação com múltiplos orifícios, co-cristalização, liofilização.
2. Químicos: Inclusão molecular e polimerização interfacial.
3. Físico-químicos: Coacervação simples ou complexa, separação por fase orgânica, envolvimento lipossômico, pulverização em agente formador de reticulação (JACKSON & LEE, 1991).

O processo físico envolve a combinação de recheio e material de parede por meios mecânicos em um ambiente em que o recobrimento do recheio pelo material de parede está favorecido (JACKSON & LEE, 1991), ao contrário do que acontece nos métodos químicos, nos quais existem forças químicas envolvidas.

Tabela 3 – Métodos de encapsulação.

Métodos de encapsulação	Materiais encapsuláveis	Faixa de tamanho (µm)
Métodos físicos		
Extrusão estacionária	Líquido/sólido/gás	1000 - 6000
Bocal submerso	Líquido/sólido/gás	700 - 6000
Extrusão centrífuga	Líquido/sólido/gás	125 - 3000

Bocal vibrante	Líquido/sólido/gás	500 - 2000
<i>Spray drying</i>	Líquido/sólido	5 - 150
Disco rotativo	Líquido/sólido	5 - 1000
<i>Pan coating</i>	Sólido	> 500
Suspensão por ar	Sólido	50 - 10000
<i>Spray chilling e spray cooling</i>	Líquido/sólido	20 - 200
Leito fluizado	Sólido	> 100
Co-cristalização	Sólido/líquido	-
Liofilização	Líquido	-
Métodos Químicos		
Polimerização interfacial	Líquido/sólido	1 - 500
Inclusão molecular	Líquido	5 - 500
Polimerização <i>in situ</i>	Líquido/sólido	1 - 500
Métodos físico-químicos		
Coacervação simples	Líquido/sólido	20 - 500
Coacervação complexa	Líquido/sólido	1 - 500
Lipossomas	Líquido/sólido	0,02 - 3
Lipoesferas (partículas sólido-líquido e carregadores lipídicos nano-estruturados)	Líquido/sólido	0,02 - 10
Evaporação do solvente	Líquido/sólido	1 - 5000

Adaptado de SHAHIDI e HAN (1993); DESAI e PARK (2005); MADENE *et al.*, (2006).

3.1.6 Formação das Cápsulas

De modo geral a formação das cápsulas acontece em três etapas: 1) a preparação de uma suspensão ou solução com o material de parede e recheio seguido de homogeneização em geral produzindo uma emulsão; 2) deposição de material de parede ao redor do recheio; 3) fixação ou solidificação da estrutura da parede, que pode ser feita por aquecimento, ligações cruzadas ou retirada do solvente (BAKAN, 1973). Elas apresentam diferentes formas, conforme mostrado na Figura 1, entre esféricas, retangulares ou irregulares, monolíticas ou podem formar um conglomerado (DZIEZAK *et al.*, 1988).

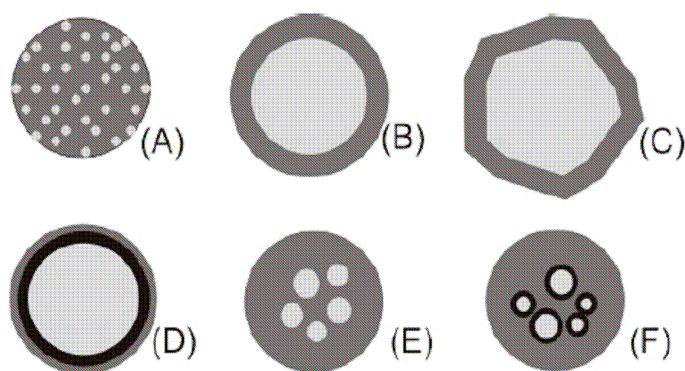


Figura 1 – Alguns modelos de microcápsulas. (A): matriz (microesfera); (B): microcápsula simples; (C): simples, irregular; (D): duas paredes; (E): Vários núcleos; (F): agrupamentos de microcápsulas

3.1.7 Materiais de Parede

O material de parede é usado para cobrir, dar forma à cápsula, reter o recheio e permitir a sua liberação quando desejado. Sua escolha está relacionada com as propriedades físicas e químicas do recheio, dos processos utilizados para formar as microcápsulas e das propriedades desejadas nas microcápsulas (JAKSON & LEE, 1991; NORI, 1996). Fundamentalmente, o material de parede não deve reagir com o recheio e nem ser solúvel neste, sendo que os dois muitas vezes têm polaridades opostas, ou seja, recheios de características apolares são microencapsulados por materiais de parede polares e vice-versa (JACKSON & LEE, 1991; SHAHIDI & HAN, 1993).

Segundo RÉ (1998) e CARDOSO (2000), o material de parede deve apresentar as seguintes características tecnológicas: 1) Boa propriedade emulsificante e de formação de filme; 2) Baixa viscosidade, mesmo em soluções com alta concentração de sólidos; 3) Baixa higroscopicidade e boas propriedades de secagem; 4) Estabilidade, ausência de sabores desagradáveis, e boa proteção ao recheio. Polímeros diversos como gomas, carboidratos, celuloses, lipídios, proteínas e alguns materiais inorgânicos (silicatos, argilas) apresentam as características supracitadas e são muito utilizados na microencapsulação de substâncias

(JAKSON & LEE, 1991; CARDOSO, 2000). Alguns materiais de parede utilizados na produção de micropartículas são apresentados na Tabela 4.

O material de parede representa de 1 a 70% do peso da microcápsula, com uma espessura de até 200 µm, a espessura pode ser manipulada de modo a promover alteração na permeabilidade e estabilidade da microcápsula (BAKAN, 1973 e SPARKS, 1981). A espessura da parede pode ser controlada para alterar a permeabilidade e estabilidade das microcápsulas. O conteúdo das microcápsulas pode ser liberado através de métodos mecânicos, como por exemplo, a mastigação, fusão por exposição ao calor ou solubilização quando colocados em solventes (JACKSON & LEE, 1991).

No desenvolvimento de sistemas de microcápsulas com liberação controlada, o grande desafio é a manutenção da integridade da parede que controla a saída do material. Isso exige, em muitos casos, que o material usado na confecção da parede seja insolúvel ou parcialmente solúvel. Várias proteínas, devido às suas propriedades físico-químicas e conseqüentes propriedades funcionais, como formação de gel e emulsificação, oferecem uma boa opção de material de cobertura (LEE & ROSENBERG, 2000).

Os agentes encapsulantes goma arábica e α -ciclodextrina tornaram as microcápsulas de aroma de pêra estáveis ao tratamento térmico (TOBITSUKA *et al.*, 2006). A vanilina encapsulada com β -ciclodextrina por liofilização se tornou mais solúvel em água e mais protegida contra oxidação (KARATHANOS *et al.*, 2007).

Tabela 4 – Tipos de material de parede.

Classes de material de recobrimento	Tipos específicos de recobrimento
Gomas	Goma arábica, agar, alginato de sódio, carragenina
Carboidratos	Amidos, maltodextrinas, sacarose, xarope de milho, ciclodextrinas
Celulose	Carboximetilcelulose, metilcelulose, etil celulose, nitrocelulose, acetilcelulose
Lipídios	Cera, parafina, triestearina, ácido esteárico, monogliceridos, digliceridos, cera de abelha, óleos, gorduras

Classes de material de recobrimento	Tipos específicos de recobrimento
Materiais inorgânicos	Sulfato de cálcio, silicato
Proteínas	Gluteína, caseína, gelatina, albumina.

Adaptado de KAPUSNIAK & TOMASIK (2006).

3.1.7.1 Lipídios

Lipídios consistem de um amplo grupo de compostos solúveis em solventes orgânicos e pouco solúveis ou insolúveis em água. Ésteres de glicerol com ácidos graxos, que perfazem 99% dos lipídios de plantas e animais, têm tradicionalmente sido chamados de óleos e gorduras, distinção que é baseada apenas no fato do material ser líquido ou sólido a temperatura ambiente. O estado físico do lipídio pode variar de líquido a fluido viscoso e de um sólido plástico a sólido flexível, e a organização da cadeia carbônica influencia fortemente o ponto de fusão, a estabilidade, a estrutura e a permeabilidade lipídica (DUNCAN, 1984; TIMMS, 1984). Existem várias classes de lipídios, conforme mostrado na Tabela 5.

Os ácidos graxos são caracterizados pela longa cadeia de átomos de carbono (geralmente de 12 a 22 átomos de carbono) com uma carboxila ao final. Podem apresentar cadeia saturada, insaturada, ramificada e oxigênio. Podem ser saturados de cadeia pequena e média ($C_4 - C_{14}$). As cadeias de $C_{20} - C_{30}$ estão presentes frequentemente em ceras. Os ácidos graxos insaturados apresentam tamanho de cadeia de $C_{10} - C_{30}$ e podem ter até seis duplas ligações, sendo C_{16} , C_{18} e C_{22} mais comuns. Mais de 1000 ácidos graxos naturais foram identificados, mas somente cerca de 30 estão presentes em óleos e gorduras (GUNTONE, 2003).

Os fosfolipídios, lipídios que contém o ácido fosfórico na composição, possuem uma cabeça polar e duas cadeias hidrocarbônicas. Estes compostos diferem um do outro em tamanho, forma e polaridade da parte polar. As duas cadeias carbônicas variam, mas geralmente uma é saturada e a outra insaturada, esta última localizada preferencialmente na posição 2 do glicerol (DUNCAN, 1984; NAWAR, 1996).

O uso de lipídios para a liberação prolongada de medicamentos é bem difundida na indústria farmacêutica. A tecnologia desenvolveu-se a partir da produção de micropartículas lipídicas por *spray cooling* (ELDEM *et al.*, 1991a). Houve quebra de continuidade de produção por diferentes motivos e a técnica reapareceu no mercado através do uso de homogeneizador por alta pressão ou por precipitação de uma micro-emulsão (MULLER & LUCKS, 1996., GASCO, 1993).

Os lipídios que contêm alto teor de ácidos graxos insaturados têm sido microencapsulados visando diminuir a susceptibilidade à oxidação. A encapsulação de lipídios em amidos de batata, tapioca e milho, foi bem sucedida, não havendo interação entre o encapsulado e o material de parede (KAPUSNIAK e TOMASIK, 2006).

Na microencapsulação de ácido linoleico conjugado, o agente encapsulante com o qual se obteve melhor morfologia das microcápsulas, menor degradação, menor oxidação do ácido e, maior eficiência de encapsulação, foi a proteína concentrada de soro de leite, em comparação com a goma arábica e blenda de proteína concentrada de soro de leite e maltodextrina (JIMENEZ *et al.*, 2006).

Tabela 5– Classificação dos lipídios.

Classe	Subclasse	Descrição
Lipídios simples	Acilgliceróis	Glicerol + ácidos graxos
	Ceras	Cadeia longa de álcool + cadeia longa de ácido graxo
Lipídios compostos	Glicerofosfolipídios	Glicerol + ácido graxo + fosfato + outro grupo geralmente contendo nitrogênio
	Esfingomielinas	Esfingosina + ácido graxo + fosfato + colina
	Cerebrosídeos	Esfingosina + ácido graxo + açúcar simples
	Gangliosídeos	Esfingosina + ácido graxo + carboidrato complexo
Lipídios derivados	Compostos que não se enquadram	Carotenóides, esteróides, vitami-

Classe	Subclasse	Descrição
	nas classificações de simples nem compostos	nas lipossolúveis

Adaptado de NAWAR (1996).

3.1.7.1.1 Produção de partículas lipídicas sólidas por *Spray Cooling*.

O *spray cooling* é um processo físico rápido, não utilizam solventes, é reproduzível, de baixo valor de produção e de fácil ajuste de tamanho de partícula (ALBERTINI *et al*, 2008). É semelhante ao *spray drying*, pois em ambos há uma dispersão/emulsão do recheio no material liquefeito e aplicação de condições controladas tais como temperatura, agitação e tempo, na fase de emulsão para a produção das micropartículas. Para a produção das partículas a diferença está na temperatura, no *spray drying* é alta, e no *spray cooling* a câmara é resfriada (ELDEM *et al*, 1991a).

O material do recheio é misturado à matriz fundida e atomizado por bicos dentro de uma câmara, onde as micropartículas se solidificam rapidamente ao entrar em contato com ar frio ou N₂ líquido na câmara em temperaturas abaixo do ponto de solidificação da gordura ou cera fundida. O rendimento do processo *spray cooling* depende da eficiência da atomização da mistura fundida, que pode ser pulverizada por diferentes diâmetros do bico atomizador, também é importante a viscosidade da mistura fundida. As distribuições homogêneas das partículas dependem de sua alimentação e a pressão utilizada no *spray*. Durante todo o processo de produção deve se manter a temperatura para evitar o polimorfismo em gorduras, o que irá afetar no perfil de liberação do material encapsulado. Diferentes taxas de resfriamento aplicadas podem resultar em cristalização da matriz em diferentes formas polimórficas. Especialmente taxas rápidas de resfriamento cristalizam muitos triacilglicérolis na sua forma α , assim depois esses lipídios podem se transformar em suas estruturas polimórficas mais estáveis (ELDEM *et al.*, 1991b; EMAS *et al.*, 2000).

No *spray cooling* são usados como matriz, lipídios com pontos de fusão que podem variar de 45°C a 122°C, incluindo triacilglicérolis, diacilglicérolis, monoacilglicérolis, ácidos

graxos livres e ceras naturais (TAYLOR, 1983; DZIEZAK, 1988; JACKSON & LEE, 1991).

Este processo é o menos custoso e é usado para encapsular sais orgânicos e inorgânicos, ingredientes de textura, *flavours*, para melhorar estabilidade em altas temperaturas e obter liberação modulada em ambientes aquosos. É usado também na conversão de ingredientes líquidos hidrofílicos em pós (GOUIN, 2004). As partículas assim produzidas podem ser aplicadas em produtos de forno, misturas de sopa com alto teor de lipídios e outros alimentos gordurosos (TAYLOR, 1983). As partículas produzidas por *spray cooling* podem conter quantidades de recheio não encapsulado, que se ligam à parte externa da matriz lipídica. Isto pode produzir uma elevada liberação inicial de recheio, seguida de uma liberação que pode ser por força osmótica, difusão, mesmo que pequena, do recheio pela matriz, rupturas mecânicas e também por fusão dos lipídios formadores da matriz (GOUIN, 2004).

NORI (1996) microencapsulou ácido cítrico utilizando o processo *spray cooling* e gorduras de diferentes pontos de fusão como agentes encapsulantes. Embora não tenha sido realizada uma avaliação sensorial com um painel de provadores, as microcápsulas obtidas foram consideradas eficientes na substituição da cultura *starter*, em salame.

WEGMULLER *et al*, (2006) desenvolveram microcápsulas pelo método de *spray cooling*, contendo ferro, iodo e vitamina A para fortificação de sal, utilizando óleo hidrogenado de palma como agente encapsulante. As microcápsulas obtidas eram altamente estáveis e não foram detectadas diferenças sensoriais.

Matrizes com lipídios sólidos são usadas há anos, principalmente na indústria farmacêutica (MÜLLER *et al*, 2002a). No início dos anos 90, uma nova forma de matriz lipídica surgiu produzida por homogeneização a alta pressão ou usando a técnica de precipitação de microemulsão, e foram chamadas de nanopartículas lipídicas sólidas (SLN), uma vez que são usados apenas lipídios sólidos a temperatura ambiente (MÜLLER *et al*, 2002a). A SLN combinava as vantagens de outros sistemas carreadores, como estabilidade física, proteção a recheios sensíveis contra degradação, modulação da liberação e excelente tolerabilidade enquanto ao mesmo tempo minimizava alguns problemas (MEHNERT & MÄDER, 2001; WISSING *et al*, 2004). A SLN, na área farmacêutica, teve desenvolvimento para aplicação por várias rotas, incluindo parenteral, oral, dérmica, ocular, pulmonar e

retal (WISSING *et al*, 2004). SLN são partículas feitas a partir de lipídios sólidos a temperatura ambiente, ou seja, podem ser usados triglicéridos altamente purificados, misturas de glicéridos, ácidos graxos, esteróides e ceras (MEHNERT & MÄDER, 2001; WISSING *et al*, 2004).

Posteriormente estas partículas sofreram algumas modificações e foram produzidos mais dois tipos de matrizes lipídicas, os carreadores lipídicos nanoestruturados (NLC) e as partículas lipídicas conjugadas com recheio (LCD), que vieram superar as desvantagens apresentadas pelas SLN (WISSING *et al*, 2004).

Além dos lipídios e do recheio, as partículas também possuem tensoativos (moléculas lipídicas como fosfolipídios ou também polímeros anfifílicos ou sais biliares), usados para auxiliar em sua estabilidade (HEURTAULT *et al*, 2003; WISSING *et al*, 2004).

O recheio pode ser incorporado entre as cadeias de ácidos graxos, entre as camadas lipídicas ou ainda nas imperfeições da matriz. Dependendo da composição da formulação, da razão lipídio/recheio, de suas solubilidades e dos parâmetros de produção, o recheio pode estar localizado no interior das partículas, na parte externa da parede ou também disperso em toda a matriz lipídica (MÜLLER *et al*, 2002b ; WISSING *et al*, 2004).

SLN, assim como lipossomas, micelas, nanoemulsões e microemulsões, têm uma série de vantagens sobre outras tecnologias, pois são preparadas com compostos que são bem tolerados, não apresentam toxicidade aguda ou crônica, é uma técnica com baixo custo de produção, podem ser encapsulados compostos hidrofílicos ou hidrofóbicos, as partículas apresentam liberação modulada e excelente estabilidade física e a produção em grande escala é possível. Contudo, há algumas potentes limitações, quais sejam: capacidade limitada de eficiência de encapsulação, expulsão do recheio durante o armazenamento e alto conteúdo de água na dispersão (MEHNERT & MÄDER, 2001; MÜLLER *et al*, 2002a; MÜLLER *et al*, 2002b; HEURTAULT *et al*, 2003; WISSING *et al*, 2004).

A expulsão do recheio durante o armazenamento pode ser explicada pelo polimorfismo dos lipídios. Estes passam de uma formação menos ordenada para uma com mais ordem, mais perfeita, aumentando a quantidade de cristais lipídicos e assim diminuindo os espaços disponíveis para a acomodação do recheio, levando-o a expulsão. Este mesmo fenômeno limita a eficiência de encapsulação, pelo mesmo motivo, pois uma estrutura crist-

lina com poucas imperfeições não pode acomodar grandes quantidades de recheio. A cristalização dos lipídios ocorre com mais intensidade quando são usadas moléculas lipídicas quimicamente idênticas e espacialmente compatíveis, com cadeias carbônicas longas e perfeitas, como no caso das SLN, onde são usados apenas lipídios sólidos (MÜLLER *et al*, 2002a; MÜLLER *et al*, 2002b; HEURTAULT *et al*, 2003; WISSING *et al*, 2004). Polimorfismo é uma das mais importantes alterações físicas que afeta a estabilidade das nanopartículas lipídicas, pois lipídeos que sofrem esta mudança têm propriedades físico-químicas diferentes como ponto de fusão e solubilidade (HEURTAULT *et al*, 2003).

Estas desvantagens levaram ao desenvolvimento de uma nova forma de nanopartículas lipídicas, chamadas de carreadores lipídicos nanoestruturados (NLC), que são produzidas por uma mistura de lipídios sólidos e líquidos, com cadeias carbônicas espacialmente incompatíveis, diferentes, que formam pequenas micelas espalhadas no interior da matriz sólida, dando às nanopartículas melhores eficiências de encapsulação e propriedades de liberação (MÜLLER, *et al*, 2002a; MÜLLER *et al*, 2002b; JORES *et al*, 2004). Como são usadas misturas de lipídios sólidos e líquidos, as cadeias de ácidos graxos são incompatíveis espacialmente, gerando maiores imperfeições nos cristais lipídicos, e também retardando a transformação lipídica para formas mais estáveis, assim aumentando a capacidade de encapsulação (pela presença dos lipídios líquidos) e as propriedades de liberação (pela modulação da matriz sólida). Com a mistura lipídica de sólidos e líquidos o produto final é sólido, mas não cristalino (JENNING & GOHLA, 2001; MÜLLER *et al*, 2002a; MÜLLER *et al*, 2002b; JORES *et al*, 2004; WISSING *et al*, 2004).

Existem três tipos de NLC: no primeiro tipo, são misturados lipídios com cadeias carbônicas espacialmente diferentes, o que leva a maior imperfeição na matriz lipídica e, assim, maiores espaços para acomodação do recheio. Maiores eficiências de encapsulação são conseguidas, assim, pela mistura de lipídios sólidos e pequenas quantidades de lipídios líquidos, apenas o suficiente para aumentar as imperfeições da matriz lipídica (MÜLLER *et al*, 2002b; WISSING *et al*, 2004).

No segundo tipo, é usada uma grande quantidade de lipídio líquido, e o recheio, que, em geral, tem solubilidade maior em lipídios líquidos, fica mais disperso, e, após a solidificação da emulsão, fica encapsulado por este e o lipídio sólido, por sua vez, encapsula as

micelas de lipídio líquido/recheio. Esta estrutura permite uma maior capacidade de encapsulação, pois são formadas várias micelas de lipídio líquido/recheio, e também permite melhores propriedades de liberação, principalmente uma liberação mais prolongada. Tais micelas não podem ser criadas por mecanismos químicos, elas são geradas pelo processo de separação de fases durante a produção das partículas (MÜLLER *et al*, 2002a; MÜLLER *et al*, 2002b; WISSING *et al*, 2004).

Finalmente no último tipo, misturas especiais de lipídios são usadas para evitar a cristalização dos lipídios após o resfriamento, uma vez que estas misturas produzem partículas sólidas, porém não cristalinas (MÜLLER *et al*, 2002b; WISSING *et al*, 2004).

Apesar de estudos revelarem que o lipídio líquido ficaria no interior do lipídio sólido e por seus numerosos defeitos na estrutura cristalina a incorporação do recheio seria facilitada (JENNING & GOHLA, 2000), dados de difração de raios-X, DSC e ressonância magnética nuclear indicaram que a distribuição dos lipídios líquidos dentro da matriz não é provável porque os lipídios sólidos apenas tolerariam pequenos defeitos em seus cristais, e então o lipídio líquido seria expulso durante o processo de cristalização (JORES *et al*, 2003).

SLN são úteis para a incorporação de recheios lipofílicos e em baixas quantidades. Para superar esta limitação, foi desenvolvida mais uma geração de nanopartículas, as nanopartículas lipídicas conjugadas com recheio (LCD), que podem encapsular mais de 33% de recheio. Em sua produção, o lipídio e o recheio, insolúveis entre si, são preparados pela formação de um sal ou por uma ligação covalente (por exemplo, de éster ou éter). Na formação do sal, um recheio livre (básico) e um ácido graxo são dissolvidos em um solvente adequado, que é evaporado, depois, sob baixa pressão. Na ligação covalente, o recheio (um sal) e o lipídio, na forma de álcool graxo, reagem na presença de um catalisador, e o produto é então purificado por recristalização. Este produto obtido é então processado com tensoativo para formação das nanopartículas usando a homogeneização a alta pressão. Com LCD também podem ser encapsulados recheios hidrofílicos com grande eficiência (WISSING *et al*, 2004).

3.1.7.1.2 Cristalização

A formação de um sólido a partir de uma emulsão ou de um lipídio fundido é um processo complicado no qual, moléculas devem primeiro entrar em contato, se orientarem e então interagirem para formar estruturas altamente ordenadas, conhecidas como núcleos, este processo pode ser estimulado por agitação da substância. A nucleação pode ser homogênea (ou espontânea), que não acontece em condições usuais, ou pode ser heterogênea, que é induzida na superfície, dando orientação e ordem ao sistema (LARSSON, 1993; NAWAR, 1996).

Como nas reações químicas, existe uma barreira de energia para iniciar o processo, e quanto mais complexa e estável é a forma polimórfica da molécula, mais difícil será a nucleação. Na forma α a nucleação se dará em maior quantidade e com núcleos de pequeno tamanho, enquanto na forma β este processo será em pequeno número com grandes núcleos (NAWAR, 1996; MARANGONI, 2002).

No estado cristalino, átomos e moléculas assumem posições rígidas formando repetições das unidades celulares, altamente organizadas, em padrão tridimensional. O resultado desta organização tridimensional no espaço é conhecido como blocos estruturais. Esta rede de pontos se entrelaça nas propriedades simétricas do cristal, com os pontos unidos, uma série de unidades celulares é produzida, formando um cristal completo. Existem sete diferentes formas destas unidades, incluindo: formas triclínica, monoclínica, ortorrômbica, tetragonal, trigonal, hexagonal e cúbica (LARSSON, 1993; SUN, 2004).

Formas polimórficas são fases cristalinas de uma mesma composição química que diferem entre elas mesmas na estrutura pela inclinação da ligação química ou pela variação de organização da cadeia carbônica, mas apresentam fases líquidas idênticas sob fusão. Cada forma polimórfica é caracterizada por propriedades específicas, como espaçamento observado por Raios-X, volume específico e ponto de fusão. Muitos fatores determinam a forma polimórfica assumida, como pureza, temperatura, razão de resfriamento, presença de núcleos de cristalização e tipo de solvente (LARSSON, 1993; NAWAR, 1996).

Dependendo da estabilidade da molécula, a transformação de uma forma polimórfica em outra pode acontecer no estado sólido, sem fusão. Em compostos com longas cadei-

as, o polimorfismo é associado com diferentes formas de organização das cadeias carbônicas ou com diferentes ângulos de inclinação (NAWAR, 1996; MARANGONI, 2002).

Ácidos graxos ocorrem em um de três tipos polimórficos básicos, designados α (forma hexagonal), β' (forma ortorrômbica) e β (forma triclínica). A forma α é a menos estável e com menor ponto de fusão, e a forma β é a mais estável e apresenta o maior ponto de fusão. Transformações das formas α para β' para β acontecem nesta ordem e são irreversíveis. O ponto de fusão da forma β é mais ou menos 10°C acima do valor apresentado pela forma α , e a estabilidade desta última aumenta com o tamanho da cadeia carbônica apresentada pelo ácido graxo. Toda a organização das cadeias dos ácidos graxos pode ser determinada por medidas de difração de raios-X (TIMMS, 1984; LARSSON, 1993; JORES *et al*, 2003).

Um lipídio pode cristalizar em diferentes formas polimórficas quando são aplicados, nele já fundidos diferentes razões de resfriamento. Por exemplo, em razões de resfriamento rápido, o lipídio fica preferencialmente na forma instável α , e quando o resfriamento é lento a tendência é o aparecimento da forma β (ELDEM *et al*, 1991a).

Uma composição mais complexa de lipídios aumenta o número de defeitos na estrutura, levando a uma organização menos estável e menor empacotamento das cadeias carbônicas. Isto leva ao fato de não haver, modificação polimórfica para a forma β . É uma alternativa para o controle das alterações que ocorrem na organização lipídica (OLLIVON, 2005).

A inclusão de alguns tipos de tensoativos como lecitina e monoacilgliceróis, pode ser usada para controlar a viscosidade do meio, e assim prevenir ou retardar a transição polimórfica de lipídios para formas mais estáveis. Alguns tensoativos têm a habilidade de se incorporarem no interior dos cristais, eles se comportam como parte desta estrutura e conservam a forma α . Podem ainda interferir nos processos de solidificação e fusão sem que nenhuma alteração seja detectada na organização dos cristais (ELDEM *et al*, 1991a).

Quando uma mistura complexa de triacilgliceróis no estado líquido é resfriada, moléculas com maior ponto de fusão terão a tendência de se unirem para formarem cristais. O processo é complexo, os cristais vão estar em equilíbrio com o óleo ao redor, e quando a

proporção da parte cristalina se exceder em mais ou menos 10% um material semi-sólido é obtido; a parte líquida, então, é imobilizada pela matriz cristalina (LARSSON, 1993).

Quando os lipídios estão no estado líquido, as forças intermoleculares estão enfraquecidas e as moléculas adquirem liberdade de movimento e assumem um estado de desordem. Adicionalmente, fases com propriedades intermediárias entre estados cristalinos e líquidos ocorrem, e estas fases são chamadas de cristais líquidos. Isto ocorre com compostos anfífilos, uma vez que, sob aquecimento, um triacilglicerol, por exemplo, têm suas ligações entre as cadeias carbônicas (apolares) desfeitas mais rapidamente do que as ligações entre as cabeças polares. Cristais assim formados são ditos termotrópicos. Na presença de água, por outro lado, a temperaturas acima do ponto de fusão, a cadeia carbônica do triacilglicerol passa a um estado de desordem e a água penetra entre os grupos polares; cristais formados desta maneira são chamados liotrópicos. Para que um ou outro cristal seja formado, fatores como concentração e estrutura química do composto, conteúdo de água, temperatura e presença de outros componentes na mistura, precisam ser levados em conta (NAWAR, 1996).

SHI *et al* (2005) estudaram misturas de sistemas lipídicos contendo classes de lipídios de alto (C16 a C18) a baixo ponto de fusão (C10). Estas misturas foram cristalizadas e obtidas imagens por microscopia para análises de morfologia do cristal e microestrutura. Dependendo das diferentes densidades de empacotamento de cristal e pontes de ligação, foram identificados dois sistemas diferentes, em termos de microestrutura do tipo móvel e imóvel, no qual a mobilidade relativa dos componentes microestruturais tinha diferentes níveis. Estes níveis de mobilidade levaram a diferentes respostas reológicas.

3.1.7.1.3 Ácido oleico

O ácido oleico, denominado também ácido *cis*-9-octadecenoico, é um ácido graxo insaturado, de cadeia longa, denominado ômega 9, possui uma dupla ligação na sua estrutura, conforme apresentado na Figura 2, e a sua fórmula química é $C_{18}H_{34}O_2$. É obtido a partir da hidrólise da gordura animal e de certos vegetais onde, após a separação da glicerina, ele

é submetido a uma destilação sob alto vácuo e separado por cristalização fracionada da estearina, através do abaixamento da temperatura. Para obter um ácido oleico altamente puro é preciso que seja bidestilada e fracionada até chegar à concentração acima de 95% (JORES, 2003).

É um líquido oleoso, com odor a manteiga, com uma cor característica amarelo e vira acastanhado quando entra em contato com o oxigênio do ar. É insolúvel em água, solúvel em benzeno, álcool, éter e outros dissolventes orgânicos. Mediante hidrogenação o ácido oleico converte-se em ácido esteárico (saturado). Solidifica-se quando resfriado e liquefaz-se a 14 °C, o seu isômero trans (ácido elaídico) é sólido e liquefaz-se a 51°C; podendo ser obtido aquecendo o ácido oleico, com a presença de um catalisador (JORES, 2004).

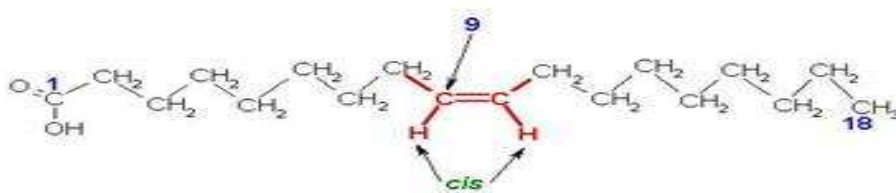


Figura 2 – Estrutura esquematizada do ácido oleico.

3.1.7.1.4 Ácido linolênico

O ácido linolênico denominado também *cis,cis,cis-9-12-15-octadecatrienoico*, é um ácido graxo essencial omega-3 (isômero α) ou ômega-6 (isômero γ), formado por uma cadeia de 18 átomos de carbono com três duplas ligações nas posições 9, 12 e 15. Devido ao elevado número de insaturações que apresenta, trata-se de um ácido graxo facilmente oxidável. A reatividade de um ácido graxo insaturado é consequência da posição e o número de ligações duplas aumenta com a distancia ao longo da cadeia.

Para a comercialização de óleos ricos neste ácido graxo, muitas vezes é adicionado antioxidante, como vitamina E, polifenóis. A sua estrutura química mostra-se na Figura 3 (JORES, 2004).

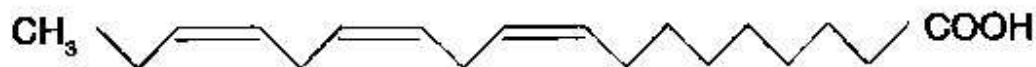


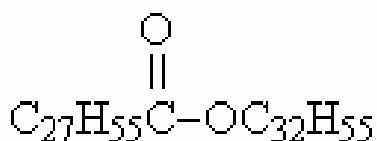
Figura 3 – Estrutura química do ácido linolênico.

3.1.7.1.5 Cera de Carnaúba



Figura 4 – Palmeira produtora da cera da carnaúba: *Copernicia Cerifera* e a cera processada em escamas.

A cera é extraída das folhas da palma da carnaúba, uma planta natural do nordeste do Brasil. Apresenta-se em forma de escamas duras, de cor amarela-marrom, conforme ilustrado na Figura 4, e a sua composição química está apresentada na Tabela 6. É obtida coletando-se as folhas da palma de carnaúba, batendo-as para a extração da cera, passando pela refinação e branqueamento. O ponto de fusão é de 78° a 85°C, sendo o mais alto entre as ceras naturais além de ser extremamente dura. Sua estrutura básica mostra-se na Figura 5.

**Figura 5** – Estrutura química da cera de carnaúba.

É insolúvel em água, álcool etílico, solúvel em xileno a temperatura elevada.

A cera é um insumo valioso que entra na composição de diversos produtos industriais como cosméticos, cápsulas de remédios, componentes eletrônicos, produtos alimentícios, ceras polidoras e revestimentos (EMAS, 2000).

Tem aplicação em embalagens de alimentos, é utilizada também na conservação de frutas, formando uma película protetora que impede a ação oxidante do oxigênio e evita a perda de água com a evaporação. Estudos demonstram que a aplicação dessa proteção em tomates, mangas, pode prolongar o seu tempo de vida útil, melhorando também sua apresentação por realçar o brilho em relação a uma fruta ou vegetal que não recebeu essa aplicação (PARROQUIA, 2002).

Tabela 6 – Composição da cera de carnaúba.

Componentes	Porcentagens (%)
-------------	------------------

Componentes	Porcentagens (%)
Ésteres de ácidos graxos	80 - 85
Alcoóis graxos	10 - 15
Ácidos	3 - 6
Hidrocarbonetos	1 - 3
Dioles esterificados graxos	20
Ácidos graxos hidroxilados	6
Ácido cinâmico	10

Adaptado de PARROQUIA *et al.* (2002).

3.1.8 Tensoativos

Tensoativos são adicionados na produção das microcápsulas em situações onde o material de parede e o recheio, apresentam polaridades opostas, visando melhorar a incorporação do recheio. Os tensoativos são substâncias anfifílicas caracterizadas por possuírem duas regiões estruturais; uma região apolar (hidrofóbica) constituída, por uma cadeia carbônica extensa, e uma região polar (hidrofílica), constituída por grupos iônicos ou não iônicos. Estes compostos são absorvidos nas interfaces ar-água, óleo-água ou sólido-líquido, mudando as propriedades entre duas fases imiscíveis. Em função da presença de grupos hidrofílicos e hidrofóbicos na mesma molécula, os tensoativos atuam em dois meios distintos: polar – com afinidade pela porção ou cabeça polar e, não polar – com afinidade pela porção o cauda apolar. A formação de um filme molecular, ordenado nas interfaces, reduz a tensão interfacial e superficial, sendo responsável pelas propriedades únicas dos tensoativos (MANIASSO, 2001).

Os tensoativos apresentam duas propriedades fundamentais, a capacidade de absorção nas interfaces e a tendência de associação para formarem estruturas organizadas (POR-

TER, 1991), e são classificados em função da carga da região hidrofílica como: aniônicos, catiônicos, não iônicos ou neutros e zwitteriônicos. Um tensoativo, devido à dupla característica de afinidade presente na molécula, tende a se concentrar na interface de um sistema. A molécula com a parte hidrófila orienta-se voltada para água, e a parte hidrófoba orienta-se voltada para o ar ou outra substância que tenha pouca afinidade com a água. Esta característica de orientação da molécula é a principal diferença dos tensoativos em relação a outros solutos, como os sais inorgânicos que tendem a se distribuir igualmente por toda a solução (NOVAES DOS REIS, 2007).

A medida da afinidade de um tensoativo para óleo ou água pode ser identificada através do HLB (Balanço Hidrofílico/Hidrofóbico), valor que pode ser calculado ou determinado experimentalmente. Tensoativos com HLB de 3-6 são considerados tensoativos hidrofóbicos e são melhores em emulsões água em óleo, já tensoativos com HLB de 8-18 são hidrofílicos e são mais usados em emulsões óleo em água. A Tabela 7 mostra as faixas de HLB requerido para vários sistemas (BECHER, 1957).

A adição de tensoativos à água tende a saturar todas as interfaces, de modo que a partir de uma concentração denominada concentração micelar crítica (CMC) há a saturação do meio e a formação de micelas. A micela é a forma que o tensoativo assume para melhorar a estabilidade na solução colocando, voltadas para o mesmo lado, as cadeias hidrófobas; e voltadas para a água, às cadeias hidrófilas (NOVAES DOS REIS, 2007).

A formação e estabilização da emulsão ocorrem em três estágios: no primeiro há a aproximação das moléculas de tensoativo na interface óleo/água; no segundo há uma mistura das moléculas na interface e no terceiro, acontece a estabilização interfacial, com formação de filme (VILLAMAGNA *et al*, 1995).

A escolha do tensoativo depende dos compostos usados na produção das micropartículas e também da aplicação do produto final.

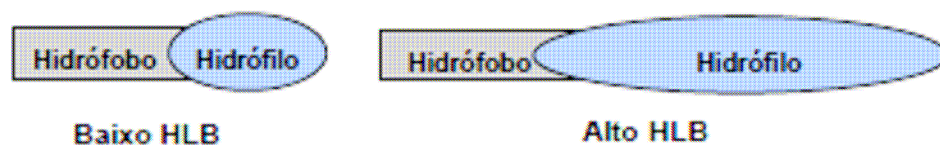


Figura 6 – Comparação proporcional dos tensoativos de alto e baixo HLB.

A representação na Figura 6 mostra proporcionalmente, os tamanhos da cadeia hidrófoba e hidrófila. Num tensoativo de alto HLB há uma molécula, por exemplo, mais etoxilada (maior cadeia hidrófila) do que em um tensoativo de baixo HLB.

Tabela 7 – Faixa de HLB e aplicações.

Faixa de HLB	Aplicação
4 – 6	Emulsionante A/O
7 – 9	Umectante
8 – 18	Emulsionante O/A
13 – 15	Detergentes
10 – 18	Solubilizantes

Adaptado de KOGA *et al.*, (2000).

HLB > 6 – maior solubilidade em água, tensoativo é mais hidrófilo (emulsões O/A).

HLB < 6 – menor solubilidade em água, tensoativo é mais lipofílico (emulsões A/O).

Os tensoativos têm grande importância na estabilidade das micropartículas lipídicas, além da escolha apropriada do material lipídico, sua composição afeta o tamanho da partícula, a estabilidade física durante a estocagem e também o perfil de liberação. Os tensoativos mais usados incluem: sais biliares, polisorbatos (triestearato de sorbitana, trioleato de sorbitana), lecitina e fosfolipídios em geral. (MAGEE JR. & OLSON, 1981a; SIEKMANN & WESTESEN, 1992; SCHUWARZ *et al.*, 1994; MEHNERT & MÄDER, 2001; FRIEDRICH & MÜLLER-GOYMANN, 2003; HEURTAULT *et al.*, 2003).

3.1.8.1 Lecitina de soja

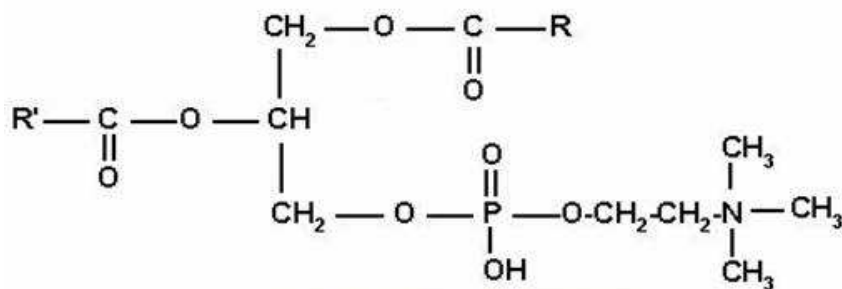


Figura 7 – Estrutura química da lecitina; R = Cadeia de ácido graxo.

A lecitina comercial é uma mistura de diglicerídios, predominantemente de ácido esteárico, palmítico e oleico, que são ligados com éster colina no ácido fosfórico (VILLAMAGNA *et al*, 1995), a sua composição pode ser observada na Tabela 8, e a sua estrutura química pode ser observada na Figura 7. É encontrada em todos os organismos vivos, tanto de plantas e animais, com uma presença significativa nas membranas das células no tecido nervoso, pulmão e baço. Lecitina é produzida naturalmente pelo fígado e pode ser obtido a partir de alguns alimentos, tais como a soja e a gema de ovo.

A lecitina de soja é uma complexa mistura de fosfolipídios (ca.51%), lipídeos naturais, ácidos graxos livres (38%), glicolipídios (ca.7%), carboidratos (ca.3%) e 1% de água. Lecitina de soja comercial contém 18% de fosfatidilcolina (PC), 15% de fosfatidil etanolamina (PE), 11% de fosfatidil inositol (PI), 9% de lipídios polares e 12% de esteróis glicosídeos (GARTI e YANO, 2001).

Comparada com outros tensoativos, à lecitina, têm sido atribuídos menores efeitos de ligação, de ação como tensoativo, por causa da sua baixa mobilidade, de seu alto peso molecular e da sua estrutura molecular, energeticamente estável (VILLAMAGNA *et al*, 1995). A lecitina é estável sob condições normais de armazenamento, tendo controlado após 8-9 anos originam apenas alterações insignificantes no percentual de insolúvel em acetona (GARTI e YANO, 2001).

Em relação ao uso de emulsificantes, em biscoitos diversas pesquisas foram efetuadas e demonstrou-se que é possível reduzir o teor de gordura total de uma formulação em

15-20% através do uso de 0,75% de emulsificante. As características de complexação desses compostos com o amido e proteína são as responsáveis por melhorias na laminação da massa, textura e expansão do biscoito (KLEIN, 2008). A lecitina hidrofóbica com conteúdo reduzido de fosfatidilcolina (PC) pode atuar como emulsificante em sistemas A/O (JOHANSSON *et al*, 1995) e que estes sistemas também apresentam potencial em perfil de liberação prolongado para componentes hidrofílicos (BJERREGAARD *et al*, 2001).

Tabela 8 – Composição geralmente admitida para a lecitina de soja.

Ingredientes	Lecitina de soja fluida	Lecitina de soja pura
Fosfolipídios como insolúvel em acetona, %	63	97
Óleo de soja, %	36	2
Umidade, %	1	1
Gordura, %	93	90
Kcal/kg	7600	7000
Ácidos graxos, g/100 g de gordura	68	54
Composição em ácidos graxos dos ácidos graxos totais		
Ácido esteárico, %	5	5
Ácido palmítico, %	16	20
Ácido oleico, %	18	9
Ácido linoleico, %	54	59
Ácido linolênico, %	7	7
Principais fosfolipídios		
Fosfatidil colina (PC), %	14	23
Fosfatidil Etanolamina (PE), %	12	20
Fosfatidil Inositol (PI), %	9	14
Ácido fosfatídico (PA), %	5	8
Colina, %	2.1	3.1
Inositol, %	1.8	3.4

Adaptado de LI & PEISKER, 2005

3.1.9 Material de Recheio

Na micropartícula, a parte interna é chamada de recheio, e em função de sua distribuição a microencapsulação pode produzir dois tipos básicos de estruturas, conforme mostrado a Figura 8a, é do tipo reservatório e apresenta uma partícula mononucleada com uma quantidade de recheio envolvida por uma película de parede. A Figura 8b, mostra uma estrutura do tipo esponja ou matriz, apresentando uma partícula multinucleada, na qual o recheio se distribui ao longo da matriz (DUTRA, 2004).

Entre os materiais que podem ser encapsulados, para aplicação na indústria alimentícia, incluem-se ácidos, bases, óleos, vitaminas, sais, gases, aminoácidos, óleos e essências, corantes, antioxidantes, preservantes e microorganismos (DESAI e PARK, 2005). Tem sido encapsuladas solução de glicose, bacto-peptona e enzimas produtoras de *flavour* na maturação de queijos (MAGEE e OLSON, 1981b).

A microencapsulação de ácido ascórbico em goma arábica e grânulos porosos de amido não resultaram em uma maior estabilidade da cor característica do produto cárneo curado em relação ao produto elaborado com ácido ascórbico livre, embora o processo de microencapsulação tenha sido bem sucedido (TRINDADE, 1998; TRINDADE e GROSSO, 2000).

Os aromatizantes e óleos essências são encapsulados com a finalidade de aumentar a vida de prateleira, uma vez que a encapsulação pode prevenir a oxidação, a volatilização e a aglomeração destes, além de possibilitar a liberação controlada e a conversão de aromatizantes líquidos em sólidos (DZIEZAK, 1998; BRANNON-PEPPAS, 1993; BERTOLINI *et al.*, 2001).

Os edulcorantes são microencapsulados objetivando diminuir a higroscopicidade (DZIEZAK, 1988), aumentar a fluidez, a resistência a altas temperaturas e prolongar a sensação de doçura (JACKSON e LEE, 1991).

A encapsulação protegeu e aumentou a estabilidade das vitaminas em alguns extremos de umidade e de temperatura, além disso, permitiu a liberação controlada no trato intestinal (JANOVSKY, 1993).

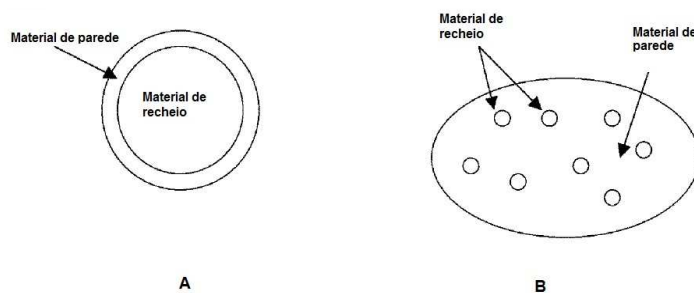


Figura 8– Diagrama de representação do conteúdo do recheio: (A) microcápsula simples; (B) matriz microesfera.

3.1.9.1 Glicose

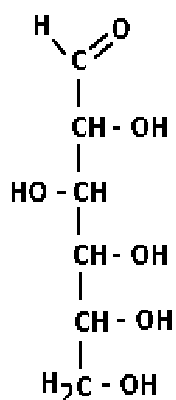


Figura 9 – Estrutura química da glicose.

No metabolismo a glicose é uma das principais fontes de energia e fornece 4 calorias de energia por grama. A sua fórmula química é $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ (Figura 9) e a Tabela 9 mostra algumas propriedades da glicose. A molécula é uma aldohexose (aldeído pentahidroxilado) e um monossacarídeo.

A glicose líquida (xarope de glicose) como a dextrose (glicose em pó) se obtém a partir da hidrólise enzimática do amido de cereais (geralmente trigo ou milho) e é encontrado em mel e frutas (JACKSON e LEE, 1991).

VOGEL (2010) menciona que o índice de refração de uma solução de açúcar (30%) é de 1.38, enquanto em uma solução de açúcar (80%) é de 1.49.

Tabela 9 – Algumas propriedades da glicose.

PROPRIEDADES	
Fórmula molecular	$C_6H_{12}O_6$
Massa molar	180.16 g/mol
Aparência	Cristalina
Densidade	1,5620 g.cm ⁻³
Ponto de fusão	146°C
Solubilidade em água	470 g.l ⁻¹ a 20°C
Solubilidade em metanol	0,037 M
Solubilidade em etanol	0,006 M
Solubilidade em tetrahydrofurano	0,016 M

Adaptado de VOGEL (2010).

3.2 Liberação do Recheio

A encapsulação permite que o núcleo seja isolado do ambiente externo até que a liberação seja conseguida. A liberação no local e no momento adequado é uma propriedade de extrema importância nos processos de encapsulação, melhorando a efetividade e reduzindo as doses requeridas de aditivos e ampliando o espectro de aplicações de compostos de interesse (GOUIN, 2004).

Os mecanismos de liberação controlada dos materiais ativos microencapsulados, variam de acordo com: a natureza do agente encapsulante, variação de temperatura e de pH, solubilidade do meio, biodegradação, difusão, ruptura mecânica, permeabilidade seletiva e gradiente de concentração existente em relação ao meio de liberação (BAKAN, 1973;

BRANNON-PEPPAS, 1993). Além disso, outras variáveis influenciam a liberação, tais como: volatilidade do núcleo (DE ROOS, 2000), proporção entre o núcleo e encapsulante (ZINUTTI, *et al.*, 1994), tamanho das partículas (SEVGI, 1994) e grau de viscosidade do polímero encapsulante (DASHEVSKY e ZESSIN, 1997).

Em geral, o tipo e geometria das partículas do núcleo e, principalmente, do material encapsulante determinam o mecanismo de liberação do núcleo. A maioria dos compostos usados como encapsulantes são carboidratos, tipicamente hidrofílicos e amorfos, capazes de formar uma estrutura vítrea por meio da remoção de água (KAREL e LANGER, 1988). Os processos que utilizam encapsulantes hidrofílicos resultam geralmente em liberação mais rápida do núcleo, enquanto o uso de gorduras ou ceras como materiais encapsulantes tendem a retardar a liberação (WHORTON, 1995).

Os mecanismos de controle envolvidos incluem a liberação controlada por difusão, liberação ativada por degradação, liberação ativada por solvente, liberação controlada por pH, liberação ativada por temperatura, liberação ativada por pressão. Embora sejam apresentados separadamente, na prática é comum uma combinação de mecanismos (POTHAKAMURY *et al.*, 1995).

A maioria dos encapsulantes libera o núcleo rapidamente após hidratação, as matrizes podem ser modificadas para liberar o núcleo em um determinado momento (AZEREDO, 2005). A liberação pode ocorrer subitamente ou, alternativamente pode ser controlada por mudanças nos parâmetros no processo que regulam o tamanho das partículas, o volume ou diâmetro dos poros ou a área de superfície da cápsula, variações na composição, modificações químicas (como ligações cruzadas) ou adição de grupos funcionais podem ser também usadas para controlar a liberação (WHORTON, 1995).

A liberação do material encapsulado segue uma série de etapas: absorção de solvente (muitas vezes a água) pela cápsula, dissolução ou erosão da parede, dissolução do recheio, permeação do recheio pela parede, difusão do recheio no solvente. A liberação de compostos das micropartículas pode ser representada por uma cinética de ordem zero, de primeira ordem ou em função da raiz quadrada do tempo (HEGER, 2001).

A liberação pode ocorrer de diferentes formas, podendo-se representar quatro modelos teóricos de liberação: a) o primeiro considera a existência de um mecanismo de disparo

pela presença de uma força externa ou fatores como luz, calor, pH e degradações químicas da microcápsula; b) o segundo mecanismo assume que a parede da cápsula atua como reservatório, supondo-se que a taxa de liberação é constante; c) o terceiro modelo pressupõe a migração através da parede, mas considera um efeito adicional de liberação ocasionado por pequenos rompimentos na estrutura da microcápsula; d) o quarto modelo considera a parede como uma membrana semipermeável, seletiva a diferentes massas moleculares (THIES, 1995).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Material

Ácido oléico (Synth, São Paulo, Brasil); Ácido linolênico (Synth, São Paulo, Brasil); Cera de carnaúba (Chemco, Campinas, Brasil); Lecitina de soja (E322, Caramuru, São Simão, GO); D-glicose anidra (Synth, São Paulo, Brasil); Kit Enzimático para determinação de glicose (Laborlab, São Paulo, Brasil); Tween 80 – Monooleato de sorbitana etoxilado (Synth, São Paulo, Brasil); Clorofórmio (F. Maia, São Paulo, Brasil).

4.2. Metodologia

4.2.1. Produção das Micropartículas.

4.2.1.1. Formulação das misturas lipídicas

Foram formados dois grupos de misturas lipídicas binárias (Tabela 10), sendo o material de parede: cera de carnaúba com lipídios insaturados (ácido oleico e ácido linolênico), na qual o ácido oleico e linolênico foram utilizados como fonte de lipídio líquido nas formulações e a cera de carnaúba usada como ajustador da temperatura de *melting*, baseada no princípio que a matriz da partícula obtida deverá ser mantida no estado sólido. As proporções testadas para a mistura composta com a cera de carnaúba/ácido oleico foram: 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, onde na proporção 1:4 (20% de carnaúba e 80% de ácido oleico) atingiu o ponto de amolecimento procurado.

No caso da mistura composta com a cera de carnaúba/ácido linolênico, as proporções testadas foram: 1:1, 1:2, 1:3, 1:4 e assim em diante avaliando, até atingir o ponto de amolecimento procurado, encontrando-se na proporção 1:25 (3,8% de carnaúba e 96,2% de ácido linolênico). As misturas foram selecionadas com base nos pontos de fusão apropriados.

dos para a produção das micropartículas, pelo processo *spray cooling*, conforme a faixa de ponto de fusão entre 50-60 °C.

Tabela 10 – Misturas lipídicas cujos pontos de amolecimento foram analisados.

Mistura lipídica	Cera de Carnaúba (%)	Ácido Oleico (%)	Ácido Linolênico (%)
1	50	50	-
2	33,3	66,6	-
3	25	75	-
4	20	80	-
5	50	-	50
6	33,3	-	66,7
7	25	-	75
8	20	-	80
9	3,8	-	96,2

4.2.1.2. Determinação das condições de preparação da emulsão

Foram selecionadas para avaliação das condições de preparação da emulsão, as misturas dos dois grupos de acordo com a faixa de ponto de fusão, com aspecto e consistência adequados à produção das micropartículas (Tabela 10). A partir da mistura lipídica 4 (cera de carnaúba e ácido oleico), e a mistura lipídica 9 (cera de carnaúba e ácido linolênico), foram preparadas as emulsões água em óleo com a solução de glicose a 50%, na proporção de lipídio/solução de glicose de 75/25 e 5% de lecitina de soja como surfactante (HLB=4,0) p/p em relação à quantidade de lipídio total utilizada. Os parâmetros acima foram fixados tendo como referencia o trabalho de LEONEL (2008), conforme seleção do melhor resultado dos estudos propostos pela autora.

Cada mistura de lipídios e lecitina de soja foram pesadas e aquecidas a 70°C até a fusão completa (aquecendo-se a 10°C acima do ponto de fusão da mistura lipídica). Acres-

centou-se a solução de glicose e esta emulsão foi homogeneizada em Ultraturrax IKA T 18 Basic (Rio de Janeiro, Brasil) por um tempo de 5 minutos a 10.000 rpm, mantendo o sistema em banho-maria na mesma temperatura.

A estabilidade das emulsões foi observada visualmente por 30 minutos numa proveta em banho-maria na mesma temperatura do sistema, em quanto à formação de duas fases distintas entre os líquidos de polaridades opostas, e também foi observada a formação (presença e quantidade) de bolhas de ar em cada emulsão.

As análises foram feitas em triplicata. Emulsões totalmente estáveis foram quantificadas como 100% de estabilidade e aquelas que se desfizeram completamente no tempo de observação foram denominadas 0% de estabilidade. A escala graduada da proveta foi utilizada para conversão em porcentagem de estabilidade.

4.2.1.3. Produção de micropartículas lipídicas (MpL) por *Spray Cooling*.

Para a produção das micropartículas lipídicas foram selecionadas duas misturas lipídicas binárias que, na avaliação do ponto de amolecimento, apresentaram as maiores temperaturas de *melting*. Para a produção das microcápsulas foram preparadas emulsões água em óleo, usando como material de parede, a mistura lipídica composta pela cera de carnaúba-ácido oleico (proporção 1:4), e cera de carnaúba-ácido linolênico (proporção 1:25), utilizou-se estas misturas lipídicas, com a adição de uma solução de glicose a 50% (75%/25%) e lecitina de soja como surfactante (5%, definida peso/peso em relação à quantidade lipídica presente), bem como velocidade (10000 rpm) e o tempo de agitação (5 minutos), parâmetros fixados conforme seleção do melhor resultado dos estudos propostos por LEONEL (2008).

A mistura lipídica composta pela cera de carnaúba-ácido linolênico como material de parede foi processada no *Spray Cooling*, com o objetivo de confirmar após a pulverização, se a formulação apresentava as características mínimas exigidas para ser considerada uma microcápsula estável, já que esta formulação, na avaliação da preparação da emulsão apresentou formação de bolhas de ar.

Baseado no estudo proposto por LEONEL (2008), após a pulverização no *Spray Cooling*, foi selecionada a formulação que apresentou boas microcápsulas, mantendo a sua característica de pó fluido a temperatura ambiente. Tendo em vista esse requerimento, a proporção lipídio/solução de glicose variou de acordo com o planejamento experimental, apresentado na Tabela 11, avaliando-se também porcentagens de mistura lipídica/solução de glicose de 85/15 e 95/5, com a adição da mesma quantidade de lecitina de soja como tensoativo e mantendo constante a solução de glicose 50% como material de recheio.

Este trabalho permite uma comparação em quanto à eficiência de encapsulação e perfis de liberação de recheio, entre dois tipos de recheios (líquido e sólido) na produção das micropartículas lipídicas. Nas formulações contendo o recheio sólido conforme Tabela 12, utilizaram-se as mesmas porcentagens de mistura lipídica/glicose de 75/25, 85/15 e 95/5, adicionando a glicose sólida previamente peneirada numa peneira (abertura média, 250 microns), nos seguintes pesos 25g, 15g e 5g respectivamente.

Tabela 11 – Composição das formulações analisadas com o recheio líquido (%).

Formulações	Proporção lipí- dio/solução de glicose	Concentração da solução de glicose (%)	g de glicose/100g de mi- cروpartículas
F1	75/25	50	12,5
F3	85/15	50	7,5
F5	95/5	50	2,5

F1 → 75/25 (mistura lipídica/solução de glicose a 50%) + 5% de lecitina.

F3 → 85/15 (mistura lipídica/solução de glicose a 50%) + 5% de lecitina.

F5 → 95/5 (mistura lipídica/solução de glicose a 50%) + 5% de lecitina.

Tabela 12 – Composição das formulações analisadas com o recheio sólido (%).

Formulações	Proporção lipídio/ glicose sólida	Glicose sólida (g)	g de glicose/100g de mi- cropartículas
F2	75/25	25	25
F4	85/15	15	15
F6	95/5	5	5

F2 → 75/25 (mistura lipídica/glicose sólida) + 5% de lecitina.

F4 → 85/15 (mistura lipídica/glicose sólida) + 5% de lecitina.

F6 → 95/5 (mistura lipídica/glicose sólida) + 5% de lecitina.

As micropartículas foram produzidas a nível laboratorial, conforme esquema do *S-pray Cooling* apresentado na Figura 10.

Os lipídios e a lecitina de soja foram pesados e aquecidos a 10°C acima do ponto de fusão da mistura lipídica e após a total fusão, foi acrescentada a solução de glicose ou a glicose sólida. Esta emulsão, mantida a esta temperatura em banho-maria, foi homogeneizada em Ultraturrax Ika T18 Basic (Rio de Janeiro, Brasil) por cinco minutos a 10000 rpm, em seguida foi adicionada no tanque com aquecimento e mantida à mesma temperatura do sistema durante a pulverização. A válvula foi aberta e a emulsão adicionada ao atomizador duplo fluído de diâmetro de 0,7 mm (Labmaq – SP, Brasil) aquecido também a 70°C e pressão de ar de 0.25 MPa, sendo atomizada numa câmara resfriada a 10°C (Ultratorac, LKB-Bromma, Alemanha).

As amostras obtidas da mistura lipídica cera de carnaúba- ácido linolênico como material de parede foram descartadas; enquanto que as microcápsulas obtidas da mistura lipídica cera de carnaúba- ácido oleico como material de parede, foram armazenadas em recipientes fechados a temperatura de 4°C. Nas partículas produzidas foi quantificada a glicose superficial, a eficiência de encapsulação total e efetiva, a liberação do recheio em duas horas, e também foi efetuada a caracterização morfológica, a distribuição de tamanho e a medida do diâmetro médio das micropartículas, imediatamente após a sua produção.

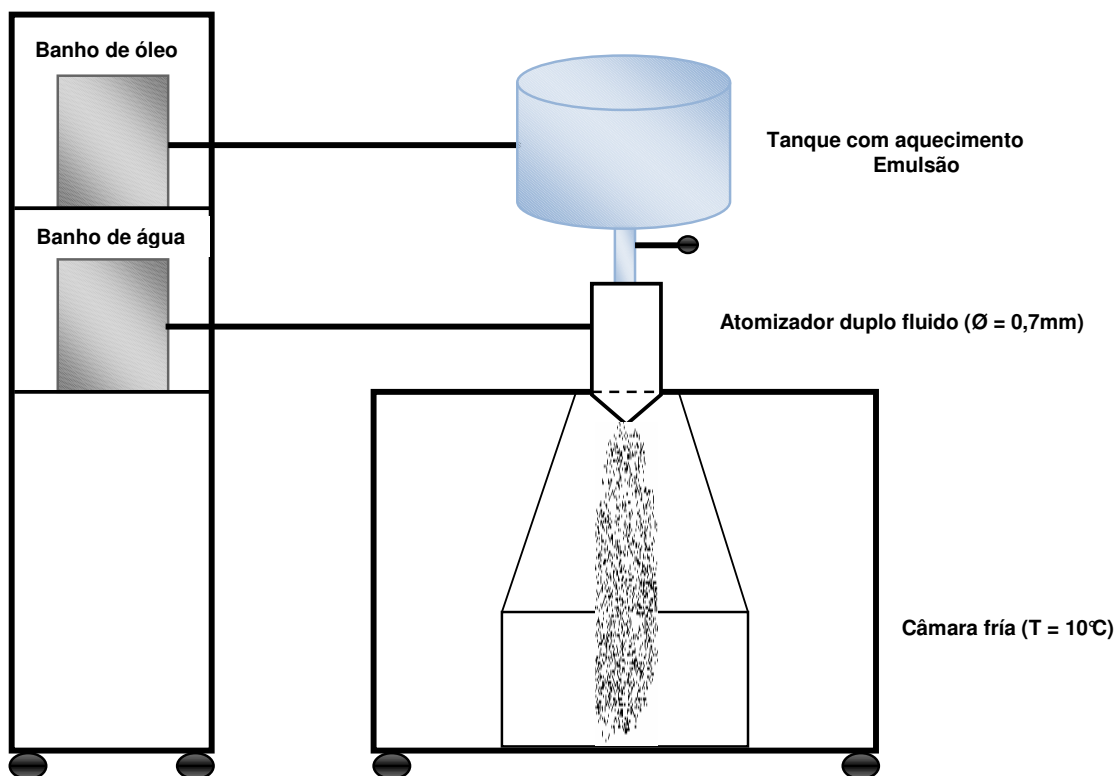


Figura 10 – Esquema do *Spray Cooling* para a produção das micropartículas.

4.2.2. Métodos analíticos

4.2.2.1. Ponto de fusão “*Slipping Point*”

O ponto de fusão das misturas de lipídios foi determinado pelo método do tubo capilar aberto, de acordo com a metodologia oficial da *American Oil Chemists’ Society*, método Cc 3-25 da AOCS (2009). As amostras em triplicata foram acondicionadas em tubos na temperatura de 4°C a 10°C, deixadas por 16h e retiradas para serem imersas em banho de água sob agitação constante e aquecimento de 1°C.min⁻¹

4.2.2.2. Determinação de glicose

As quantidades de glicose presentes nas amostras estudadas foram determinadas pelo método enzimático, com leitura num espectrofotômetro Beckman DU-70 (CA, USA) com comprimento de onda de 505 nm, segundo HENRY *et al* (1974). A quantificação da glicose foi obtida através da equação de uma curva padrão, com uma faixa de 150-950 uL, construída previamente utilizando o referido método e o Kit Enzimático-Laborlab para a determinação de glicose. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

4.2.2.3. Determinação da eficiência de encapsulação

4.2.2.3.1. Determinação da eficiência de encapsulação total (EET)

A eficiência de encapsulação total das microcápsulas foi determinada segundo a metodologia, de MASCHKE *et al*, (2007), ajustando as massas das amostras de cada formulação, com o objetivo de que as leituras das absorbâncias ficassem dentro da curva padrão da glicose. Nas formulações: F1, F3, F5, F6, foram pesadas 0,1g de amostra, na formulação F2 pesou-se 0,02g de amostra, e na formulação F4 pesou-se 0,04g de amostra, em seguida foi acrescentado 12,4 mL de clorofórmio e agitando num super mixer Cole-Parmer por 10 segundos e com repouso de 10 minutos, por duas vezes; após o descanso, foram acrescentados 12,4 mL de água destilada e agitou-se novamente no super mixer por 1 minuto com repouso de 10 minutos, repetindo-se este passo por mais duas vezes; após o descanso, os tubos foram centrifugados em centrífuga Sorvall Instruments RC-5C (USA) por 10 minutos a 15000 rpm,. Ao final, foram retiradas alíquotas de 20µL da parte aquosa da mistura e foi determinada a concentração da quantidade de glicose presente, segundo HENRY, R. J.; CANNON, D. C.; WILKEMAN, J., (1974).

4.2.2.3.2. Determinação de glicose superficial (GS)

Foi determinada a quantidade de glicose presente segundo HENRY *et al*, (1974), ajustando as massas das amostras de cada formulação, com o propósito de que as leituras das absorbâncias ficaram dentro da curva padrão. Nas formulações: F1, F3, F5, F6 foram pesadas 0,2g de micropartículas em tubo de ensaio com tampa, na formulação F2 pesou-se 0,05g de amostra, e na formulação F4 pesou-se 0,07g de amostra, em seguida foi adicionada 10 mL da solução de Tween 80 a 0,1%. Os tubos foram agitados num agitador rotativo de tubos Phoenix AP-22 (São Paulo, Brasil) por 5 minutos, e este conteúdo foi filtrado em papel filtro. Nas alíquotas deste filtrado foi determinada a quantidade de glicose.

4.2.2.3.3. Determinação da eficiência de encapsulação efetiva (EEE)

A eficiência de encapsulação efetiva foi calculada subtraindo-se a quantidade de glicose superficial (GS), da quantidade total de glicose determinada por grama de amostra (EET). O valor obtido foi comparado à quantidade inicialmente pesada para a produção das micropartículas. O quociente expresso em porcentagem representa o valor da eficiência de encapsulação efetiva, conforme demonstrado na equação abaixo.

$$EEE (\%) = \frac{EET - GS}{g \text{ de glicose pesada}} \times 100$$

4.2.2.4. Determinação da distribuição de tamanho e diâmetro médio das micropartículas

As micropartículas foram avaliadas quanto ao tamanho médio e a distribuição de tamanho, as amostras de cada formulação foram suspensas em solução de Tween, deixando-o por 2 minutos para estabilização e observadas em microscópio ótico Nikon Eclipse

E800 (Tokyo, Japan). Foram coletadas imagens, através do programa Image Pro Plus 4.0, utilizando-se lente optovar de 1,25x e objetiva 12,5x/0,25 ∞ /-A, e realizadas medidas de diâmetro médio de 500 partículas, com auxílio deste mesmo programa.

As médias, desvio padrão e os histogramas destas medidas foram feitos com auxílio do programa Microcal Origin 8.0 (Microcal Software, Inc., MA, USA).

4.2.2.5. Morfologia das micropartículas

Para observação da morfologia por microscopia eletrônica de varredura, as amostras foram fixadas em stubs de alumínio com uma fita de cobre dupla face e cobertas com uma fina camada de ouro em sputter Baltzer (Baltec SCD50, Áustria) com corrente de 40 mA por 180 segundos. As imagens foram feitas em microscópio eletrônico de varredura Jeol JMS-T300 (Tokyo, Japan), com aceleração de voltagem de 10 kV e aumentos de 150x, 300x, 500x, 750x e 1000x.

4.2.2.6. Avaliação da liberação do recheio

A porcentagem de recheio liberado foi determinada em duas horas nos intervalos de tempo 0, 30, 60, 90 e 120 minutos. Nas formulações F1 e F3 foram pesadas 0,1g de micropartículas lipídicas, na formulação F2 foi pesada 0,02g de micropartículas, na formulação F4 foi pesada 0,05g de micropartículas, e nas formulações F5 e F6 foram pesadas 0,2g de micropartículas, em tubo de ensaio com tampa, em seguida foram adicionadas 10 mL de solução de Tween 80 a 0,1%. Os tubos foram colocados sob agitação em agitador rotativo de tubos Phoenix AP-22 (São Paulo, Brasil) e, em cada intervalo de tempo, a solução foi filtrada em papel filtro e nas alíquotas destes filtrados foi determinada a quantidade de glicose presente, segundo HENRY, R. J.; CANNON, D. C.; WILKEMAN, J., (1974).

4.3 Análise estatística

As diferenças entre os valores de médias para os perfis de liberação de glicose em micropartículas lipídicas foram avaliadas por análise de ANOVA e teste de TUKEY a 5% de significância, com o auxílio do software Statistica 6.0 for Windows (STATSOFT, INC.,1995).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Determinação do ponto de amolecimento “*Slipping Point*”

Foi escolhida para a formação do material de parede, a cera de carnaúba por ser sólida a temperatura ambiente e dois lipídios líquidos a temperatura ambiente: ácido linolênico e, o ácido oleico por ser um lipídio que apresenta estabilidade oxidativa superior quanto aos outros lipídios líquidos, o que conferiria maior segurança às microcápsulas obtidas.

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 13, observa-se que os grupos que apresentaram uma faixa razoável de ponto de fusão nas misturas binárias foram, a mistura 4 composto pela cera de carnaúba e ácido oleico, apresentando um ponto de fusão de 58,3°C, e a mistura 9 composto pela cera de carnaúba e ácido linolênico apresentando um ponto de fusão de 60,6°C é por isso que foram escolhidas por ter atingido o ponto de amolecimento adequado para a realização do estudo das melhores condições para o preparo e a estabilidade das emulsões, anterior à produção das micropartículas. As duas misturas foram utilizadas para testar a produção das micropartículas.

As demais proporções das misturas binárias foram descartadas, por apresentarem um ponto de amolecimento alto e, portanto não poderiam ser usadas na formação da matriz da mistura lipídica adequada para a produção das micropartículas lipídicas, por apresentarem uma viscosidade alta a 70°C semelhante a um creme, o que poderia limitar sua utilização no processo no *Spray Cooling*.

Tabela 13 – Temperatura de amolecimento das misturas testadas, e ponto de fusão ótimo das misturas binárias selecionadas para a produção das micropartículas lipídicas.

Mistura lipídica	Cera de Carnaúba (%)	Ácido Oleico (%)	Ácido Linolênico (%)	Temperatura de amolecimento (°C) $\pm$ desvio padrão
1	50	50	-	73,7 $\pm$ 0,3
2	33,3	66,6	-	72,0 $\pm$ 0,5
3	25	75	-	70,3 $\pm$ 0,3
4	20	80	-	58,3 $\pm$ 0,7
5	50	-	50	79,2 $\pm$ 0,3
6	33,3	-	66,7	77,5 $\pm$ 0,4
7	25	-	75	77,3 $\pm$ 0,3
8	20	-	80	76,2 $\pm$ 0,3
9	3,8	-	96,2	60,6 $\pm$ 0,9

*Mistura lipídica 4 e 9, selecionadas como as melhores frações.

5.2. Preparo e estabilidade das emulsões

Nesta etapa foram preparadas as emulsões com as misturas do material de parede selecionadas na Tabela 10, conforme item 4.2.1.2 (matérias e métodos) e observadas as estabilidades durante 30 minutos a 70°C, tomando como referência o processo utilizado por LEONEL (2008), onde a autora identificou que a emulsão com 5% de lecitina e agitação por 5 minutos a 10000 rpm apresentou a melhor condição quanto a estabilidade da emulsão, bem como viscosidades ideais para processamento no equipamento *Spray Cooling* e a produção de micropartículas com aspecto não aglomerado e sem adesão a temperatura ambiente.

KNOTH, A.; SCHERZA, I.; MUSCHIOLIK, G. (2005) estudou emulsões água em óleo (30:70) preparadas com lecitina com baixo teor de fosfatidilcolina como emulsificante em óleo de girassol, variando-se a fase aquosa com a adição de caseinato de sódio, proteína isolada do soro, gelatina e ou goma xantana investigando-se o tamanho de partícula, bem como estabilidade da emulsão. Emulsões mais estáveis e de tamanho menor de partícula foram obtidas com adição da proteína isolada do soro em água.

A mistura lipídica 4 composta pela cera de carnaúba e ácido oleico, numa proporção 1:4, nesta proporção atingiu o ponto de amolecimento requerido para as condições de pro-

cessamento no *Spray Cooling*, apresentou uma emulsão completamente estável e sem presença de bolhas de ar, o que não aconteceu com a mistura lipídica 9 composta pela cera de carnaúba e ácido linolênico, numa proporção 1:25, nesta proporção atingiu o ponto de amolecimento requerido para as condições de processamento no *Spray Cooling*, apresentou uma emulsão menos estável ao longo do tempo, com alta viscosidade a 70°C semelhante a um creme e formação de bolhas de ar, o que poderia influir negativamente na produção das micropartículas lipídicas, mais mesmo assim obtendo estes resultados, se optou por processar no equipamento *Spray Cooling* para observar o comportamento como micropartículas a temperatura ambiente.

A emulsão preparada com a mistura lipídica cera de carnaúba e ácido oleico e demais condições determinadas segundo Leonel (2008) apresentaram boa estabilidade sendo então considerada adequada para continuidade do trabalho, na etapa de produção das micropartículas lipídicas (Tabela 11 e Tabela 12).

5.3. Etapa 1 – Caracterização das micropartículas lipídicas

5.3.1. Produção das micropartículas

Analisando-se as micropartículas produzidas com as duas misturas lipídicas binárias escolhidas, observou-se que, durante a produção da mistura cera de carnaúba/ácido linolênico após a pulverização as micropartículas apresentaram-se visualmente muito aglomeradas, com aspecto instável, não suportaram ficar expostas por muito tempo à temperatura de ambiente, começando a se derreter e por tanto foram reprovadas e sem condições de continuar a avaliação, com as posteriores análises desta pesquisa.

Este comportamento não foi observado na mistura lipídica contendo cera de carnaúba/ácido oléico, e, portanto, somente as micropartículas produzidas com esta mistura lipídica, tanto como com recheio de glicose sólida ou solução de glicose de acordo com a Tabela 11 e Tabela 12, foram analisadas quanto à quantidade de recheio superficial, eficiência de encapsulação, liberação do recheio e caracterização morfológica. Pode-se afirmar que esta

mistura lipídica de cera de carnaúba/ácido oleico, apresentou excelente estabilidade a temperatura 4°C (pouca aglomeração), após 30 dias. Durante o processamento das micropartículas tomou-se cuidado com as temperaturas das amostras e do banho de água do atomizador que foram ajustadas devido à altura da câmara fria, com a finalidade de evitar que as cápsulas aderissem ao coletor. Devido à composição da mistura lipídica da parede, durante o processo, as cápsulas desprenderam um cheiro muito forte atribuído à cera de carnaúba durante o processamento, mas mesmo assim obtiveram microcápsulas adequadas.

5.3.2. Determinação de glicose superficial e eficiência de encapsulação efetiva

A Tabela 14 apresenta as porcentagens de glicose superficial e de eficiência de encapsulação efetiva determinadas nas formulações estudadas. Os resultados mostraram que a melhor eficiência de encapsulação foi obtida na formulação 4 (proporção lipídio/glicose sólida 85/15), e a menor foi obtida na formulação 5 (solução de glicose 50%, proporção lipídio/solução de glicose 95/5 recheio líquido), na qual foi incluída a menor quantidade de glicose (5%). Baseado nos resultados pode-se observar que na mistura lipídica/recheio, na proporção 75%/25%/5% de lecitina, tanto na encapsulação do recheio hidrofílico líquido como sólido, apresentaram resultados de eficiência de encapsulação próximos, mais quando diminuiu a quantidade de recheio notaram-se diferenças entre as formulações líquidas e sólidas, sendo que as sólidas apresentaram maior porcentagem de eficiência de encapsulação, este comportamento pode ter sido devido ao fato da quantidade de recheio colocada na emulsão (expressa em base seca de sólidos) foi maior e influenciou fortemente na capacidade de encapsulação da formulação em relação às formulações contendo os recheios líquidos.

Todas as formulações apresentaram eficiências de encapsulação efetiva razoável, variando de 51 a 65%. Estes resultados indicam que a mistura contendo um ácido graxo líquido, nas condições de temperatura dos experimentos, contribuiu para formar uma micropartícula estável frente às diferentes proporções entre mistura lipídica e solução de glicose utilizada. Pode-se concluir que a presença de ácido oleico a temperatura ambiente po-

de ter auxiliado na retenção do recheio por dificultar a organização cristalina e a alteração polimórfica, resultando em maior espaço para a acomodação do recheio. Este lipídeo pode também ter produzido pequenas micelas com o recheio, distribuídas no interior da matriz sólida. (JENNING *et al*, 2000b; MÜLLER *et al*, 2002a; MÜLLER *et al*, 2002b; SCHUBERT & MÜLLER-GOYMANN, 2005); e por tanto; CHAMBI *et al*, (2008); e os maiores teores de glicose não encapsulada foram encontradas nas formulações com maiores teores de recheio.

As porcentagens de glicose superficial nas formulações contendo o recheio líquido foram baixas, variando de 1,88 a 7,04%, e adicionalmente essas formulações apresentaram valores de eficiência de encapsulação razoáveis. Podendo- se afirmar que alguma quantidade do recheio foi perdida durante o preparo da emulsão por se tratar de glicose em solução, e a retenção da glicose fica condicionada à estabilidade da emulsão, e também durante o processamento da produção das micropartículas lipídicas no *spray cooling*. Nas formulações contendo o recheio sólido as porcentagens de glicose superficial foram maiores, variando de 20 a 35%, este comportamento esta associado à presença de cristais de glicose grandes demais para serem microencapsulados nas amostras produzidas com esse ativo na forma sólida. Esses cristais podem ter ficado pendurados para fora das partículas e podem ter sido facilmente dissolvidos pelo solvente na análise, pois não estão protegidos adequadamente pela matriz lipídica. Também pode se dever à quantidade pesada inicialmente expressa em base seca de sólidos. CHAMBI *et al* (2008) avaliaram a encapsulação de solução de caseína e glicose em duas diferentes matrizes lipídicas: ácidos esteárico/ácido oleico e ácido esteárico/ácido láurico; observando que a primeira matriz foi muito mais eficiente na retenção da glicose, enquanto que a segunda matriz reteve melhor a caseína e seu hidrolisado. Posteriormente, LEONEL (2008) obteve valores de eficiência de encapsulação superiores a 70% em todos os experimentos, e as maiores quantidades de glicose não encapsulada foram encontradas nas formulações nas quais foram adicionadas maiores quantidades de recheio. RIBEIRO, M (2009) obteve o melhor resultado de eficiência de encapsulação na sua mistura de ácido esteárico e ácido oleico acima de 75%; e o menor resultado foi de 9% nas misturas do álcool cetoestearílico. RODRIGUEZ *et al*. (1999) desenvolveu um novo atomizador ultrasônico para o processo *spray congealing* formulando micropartículas com

ácido esteárico, óleo de mamona hidrogenado, behenato de glicerila e cera de carnaúba como matrizes lipídicas de teofilina e fenbufen como recheio. A menor eficiência de encapsulação foi obtida com o ácido esteárico e a melhor eficiência com a cera de carnaúba. Matrizes lipídicas compostas por triacilgliceróis de cadeia média encapsulando isoflavonas apresentaram eficiências de encapsulação variando de 57 a 70%, sendo que este aumento acompanhou um simultâneo aumento da proporção de lipídio em relação à quantidade de recheio no meio (JEON *et al*, 2005), resultados semelhantes de encapsulação foram obtidos nesta pesquisa. Matrizes lipídicas compostas por ácido esteárico e diferentes quantidades de ácido oleico indicaram que a eficiência de encapsulação aumentou de 47 para 70% quando a concentração de oleico no meio passou de 0 para 30%. Isto foi justificado pelo maior grau de distúrbio nos cristais lipídicos, aumentando as imperfeições e assim criando mais espaço para a acomodação do recheio dentro da matriz lipídica (HU *et al*, 2005). Do mesmo modo o ácido oléico aumentou as imperfeições nos cristais lipídicos da cera de carnaúba fornecendo a melhor capacidade de encapsulação.

Tabela 14 – Quantidade de glicose superficial (%) e eficiência de encapsulação efetiva (%) determinadas um dia após a produção.

Formulações	Glicose superficial (%)	Eficiência de encapsulação efetiva (%)
-------------	-------------------------	--

F1 - 75/25 RL	1,88 ± 0,01 ^f	62,13 ± 1,74 ^b
F2 – 75/25 RS	34,63 ± 0,70 ^a	61,99 ± 0,39 ^b
F3 – 85/15 RL	7,04 ± 0,27 ^d	58,26 ± 0,30 ^c
F4 – 85/15 RS	20,64 ± 0,42 ^c	65,57 ± 0,51 ^a
F5 – 95/5 RL	3,73 ± 0,35 ^e	51,78 ± 1,53 ^d
F6 – 95/5 RS	32,76 ± 1,31 ^b	54,14 ± 1,28 ^d

Letras iguais, na mesma coluna, não apresentam diferença estatística a $p < 0,05$

F1 → Formulação 1 (solução de glicose 50%, proporção lipídio/solução de glicose 75/25 recheio líquido).

F2 → Formulação 2 (proporção lipídio/glicose sólida 75/25).

F3 → Formulação 3 (solução de glicose 50%, proporção lipídio/solução de glicose 85/15 recheio líquido).

F4 → Formulação 4 (proporção lipídio/glicose sólida 85/15).

F5 → Formulação 5 (solução de glicose 50%, proporção lipídio/solução de glicose 95/5 recheio líquido).

F6 → Formulação 6 (proporção lipídio/glicose sólida 95/5). 5% de lecitina em todas as formulações.

5.3.3. Avaliação da liberação do recheio em meio aquoso.

Avaliou-se a liberação do recheio a cada 30 minutos durante 2 horas (Figura 11 e Tabela 15), observou-se que nos primeiros 30 minutos, as formulações que contém a glicose sólida apresentaram valores acima de 86% de liberação, isto se deve a que uma parte considerável de recheio encontrava-se na superfície e, portanto facilmente liberável para o meio aquoso onde as partículas foram colocadas acarretando liberação com acentuado efeito “*burst*”. JENNING & GOHLA (2001), determinaram que um fator que alterou a liberação do recheio foi o tamanho da partícula e estes dados são mostrados neste trabalho a posteriori. Outro fator que alterou a liberação do recheio foi a forma física da glicose, que sólida contém uma fração de cristais que podem ser maiores até que as partículas produzidas. Considera-se também um fator determinante que a quantidade de glicose sólida utilizada inicialmente (que foi maior que nas formulações contendo o recheio líquido) superou a capacidade de incorporação adequada do recheio na matriz. O aumento da quantidade de material de recheio acima da capacidade de retenção do material de parede pode provocar uma liberação acentuada do material encapsulado, indicando que parte do recheio se encontra na

superfície da partícula, sendo facilmente removido na liberação. CHAMBI *et al.*, (2008) avaliaram a encapsulação de solução de glicose em duas diferentes matrizes lipídicas, neste estudo foi encontrado um valor de T50, tempo necessário para a liberação de 50% de recheio, 4,3 vezes maior na mistura esteárico/oléico em relação ao uso da mistura esteárico/láurico na produção das micropartículas. Estes resultados indicaram que a mistura contendo um ácido graxo em estado líquido nas condições de temperatura dos experimentos contribuiu para formar uma partícula mais estável frente a variações na concentração de tensoativo ou quando diferentes proporções entre mistura lipídica e solução de glicose foram usadas. LEONEL (2008) obteve resultados de liberação de recheio em 120 minutos, de até 30%, a autora menciona que um fator determinante nos resultados obtidos foi a quantidade de glicose presente no recheio, uma vez que as formulações contendo a solução de glicose mais concentrada apresentaram maiores quantidades liberadas inicialmente (efeito *burst*) e também no final do experimento, enquanto aquelas com solução de glicose menos concentrada apresentaram as menores liberações e mais bem moduladas entre todas as formulações testadas, resultados semelhantes obteve-se nesta pesquisa. Por outro lado, RIBEIRO, M (2009), avaliou a liberação de recheio a cada 30 minutos por 2 horas, obtendo valores de 28 a 89% ao término deste período para as misturas do ácido esteárico e óleo de soja totalmente hidrogenado, observando-se nestas misturas que a liberação do recheio foi inversamente proporcional à quantidade de ácido oléico na mistura lipídica. Nas misturas do álcool cetoestearílico a liberação foi próxima de 100%, resultados semelhantes aos obtidos no presente trabalho. Na liberação de compostos solúveis em água, encapsulados em partículas compostas de cera de carnaúba ou óleo vegetal com lecitina como tensoativo em meio aquoso com ou sem a presença de um sal, observou-se liberação mais rápida nas partículas com óleo vegetal em relação às partículas onde a cera foi utilizada como material de parede. Uma alternativa proposta foi a mistura destes dois materiais para a produção da matriz lipídica, ou seja, um lipídio líquido e outro sólido, o que melhoraria a liberação do recheio porque estes dois materiais tornariam as partículas menos rígidas em relação às produzidas com apenas cera, mas mais firmes do que com apenas a presença do óleo vegetal (MELLEMA *et al.*, 2006). RODRIGUEZ *et al.* (1999) observaram que no estudo de partículas de cera de carnaúba ou ácido esteárico contendo dois tipos de recheios, um hidrofíli-

co e outro hidrofóbico, observou-se que o perfil de liberação sofreu influência tanto da natureza da matriz lipídica quanto da característica de polaridade do recheio. Comparando a liberação do mesmo recheio nas duas matrizes, um aumento significativo ocorreu na matriz de ácido esteárico em relação à de cera de carnaúba, independente da natureza do recheio, sendo este comportamento atribuído às diferentes hidrofobicidades das duas matrizes lipídicas utilizadas. Em relação aos dois recheios testados, tanto na matriz de cera de carnaúba quanto na de ácido esteárico, a liberação do recheio hidrofílico foi maior do que a do recheio hidrofóbico, em decorrência de suas diferentes solubilidades em água.

A Figura 11 e a Tabela 15 mostram o perfil de liberação de glicose das micropartículas contendo a glicose em solução durante 120 minutos em água, apresentou valores de 22 a 72% ao término deste período. Nestas misturas foi observado que a liberação de recheio foi modulada se realizando progressivamente. DUNCAN (1984) menciona que a dobra forçada que ocorre na cadeia hidrocarbônica causada pela insaturação do ácido oléico, altera substancialmente a densidade na qual essas cadeias podem ser empacotadas, este efeito associado a possível estabilidade da emulsão solução de glicose em óleo, favorecendo a permanência do recheio no interior do material lipídico, parece ter contribuído para tornar a partícula mais estável, produzindo assim, uma liberação mais lenta e progressiva da glicose. MÜLLER *et al.* (2002a), mencionam que quando é usada uma grande quantidade de lipídio líquido, e um recheio que tem solubilidade maior em lipídios líquidos, fica mais disperso, e, após a solidificação da emulsão, fica encapsulado por este e o lipídio sólido, por sua vez, encapsula as micelas de lipídio líquido/recheio. Esta estrutura permite melhores propriedades de liberação mais prolongada.

HU *et al* (2005) explicam que durante o resfriamento o ácido esteárico, com ponto de fusão mais alto, poderia cristalizar primeiro, permitindo que o lipídio líquido ficasse mais livre ou pouco incorporado, localizando-se assim na parte mais externa das partículas e produzindo um enriquecimento do recheio próximo a superfície e portanto com maior facilidade de liberação; um efeito semelhante poderia ocorrer na cera de carnaúba que tem o ponto de fusão bem alto.

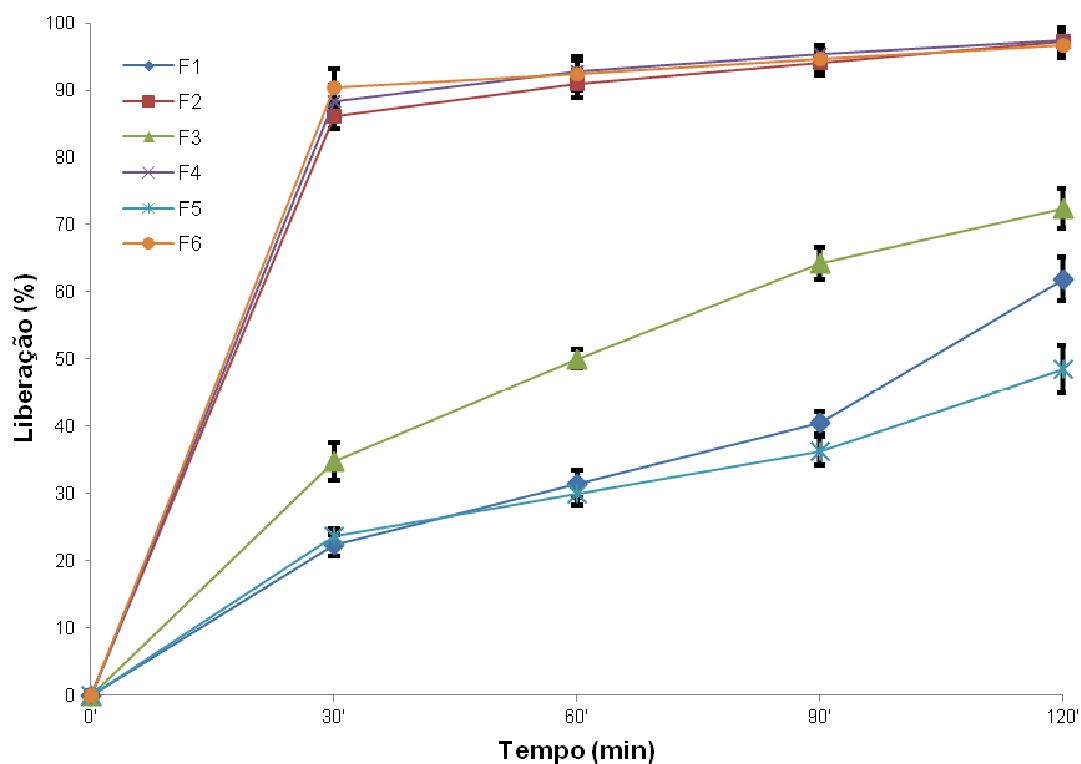


Figura 11 – Liberação do recheio (média $\pm$ desvio padrão) em solução aquosa, em 120 minutos, analisada pós-produção

F1 → Formulação 1 (solução de glicose 50%, proporção lipídio/solução de glicose 75/25 recheio líquido).

F2 → Formulação 2 (proporção lipídio/glicose sólida 75/25).

F3 → Formulação 3 (solução de glicose 50%, proporção lipídio/solução de glicose 85/15 recheio líquido).

F4 → Formulação 4 (proporção lipídio/glicose sólida 85/15).

F5 → Formulação 5 (solução de glicose 50%, proporção lipídio/solução de glicose 95/5 recheio líquido).

F6 → Formulação 6 (proporção lipídio/glicose sólida 95/5). 5% de lecitina em todas as formulações.

Tabela 15 – Liberação do recheio (média $\pm$ desvio padrão) em solução aquosa, em 120 minutos, analisada pós-produção.

Formulações	Liberação de recheio			
	30'	60'	90'	120'
F1 - 75/25 RL	22,29 $\pm$ 1,59 ^c	31,44 $\pm$ 2,09 ^c	40,48 $\pm$ 1,71 ^c	61,92 $\pm$ 3,26 ^c

F2 – 75/25 RS	86,19 ± 1,88 ^a	90,97 ± 2,02 ^a	94,02 ± 1,76 ^a	97,28 ± 2,04 ^a
F3 – 85/15 RL	34,71 ± 2,77 ^d	50,03 ± 1,42 ^b	64,21 ± 2,41 ^b	72,44 ± 3,00 ^b
F4 – 85/15 RS	88,27 ± 2,50 ^a	92,81 ± 1,63 ^a	95,36 ± 1,11 ^a	97,37 ± 1,45 ^a
F5 – 95/5 RL	23,64 ± 1,16 ^c	29,93 ± 1,59 ^c	36,34 ± 2,08 ^c	48,54 ± 3,51 ^d
F6 – 95/5 RS	90,36 ± 2,88 ^a	92,50 ± 2,55 ^a	94,63 ± 2,09 ^a	96,61 ± 1,71 ^a

F1 → Formulação 1 (solução de glicose 50%, proporção lipídio/solução de glicose 75/25 recheio líquido).

F2 → Formulação 2 (proporção lipídio/glicose sólida 75/25).

F3 → Formulação 3 (solução de glicose 50%, proporção lipídio/solução de glicose 85/15 recheio líquido).

F4 → Formulação 4 (proporção lipídio/glicose sólida 85/15).

F5 → Formulação 5 (solução de glicose 50%, proporção lipídio/solução de glicose 95/5 recheio líquido).

F6 → Formulação 6 (proporção lipídio/glicose sólida 95/5). 5% de lecitina em todas as formulações.

5.3.4. Caracterização das micropartículas

5.3.4.1. Distribuição de tamanho e diâmetro médio das micropartículas

Foram observadas diferenças nos diâmetros médios entre as micropartículas analisadas, tanto com recheio líquido como com o recheio sólido. Esta diferença pode ter sido decorrente ao conteúdo do recheio, quanto à concentração de sólidos das soluções/suspensões a serem aspergidas, do material de parede utilizado e da temperatura de entrada no *Spray Cooling* durante o processamento das cápsulas. Neste trabalho observou-se que o tamanho de partícula diminuía com o aumento da quantidade de recheio, devido à adição de sólidos nas formulações que contém a glicose sólida (Tabela 16). A distribuição de tamanho das micropartículas (Figuras 12 – 17) apresentaram distribuição unimodal para todas as formulações estudadas.

A Figura 12 mostra o histograma das micropartículas lipídicas da formulação 1 contendo o recheio líquido. A distribuição do tamanho de partícula apresentou uma extensa faixa compreendida entre 14 e 117 μm , com a maioria das partículas entre 30 – 70 μm . A Tabela 16 mostra que o valor de diâmetro médio encontrado foi 58,76 μm .

A Figura 13 mostra o histograma das micropartículas lipídicas da formulação 2 contendo o recheio sólido. A distribuição do tamanho de partícula apresentou uma extensa faixa compreendida entre 10 e 109 μm , com a maioria das partículas entre 20 – 50 μm . A Tabela 16 mostra que o valor de diâmetro médio encontrado foi 36,07 μm .

A Figura 14 mostra o histograma das micropartículas lipídicas da formulação 3 contendo o recheio líquido. A distribuição do tamanho de partícula apresentou uma extensa faixa compreendida entre 12 e 99 μm , com a maioria das partículas entre 40 – 70 μm . A Tabela 16 mostra que o valor de diâmetro médio encontrado foi 53,36 μm .

A Figura 15 mostra o histograma das micropartículas lipídicas da formulação 4 contendo o recheio sólido. A distribuição do tamanho de partícula apresentou uma extensa faixa compreendida entre 12 e 100 μm , com a maioria das partículas entre 20 – 70 μm . A Tabela 16 mostra que o valor de diâmetro médio encontrado foi 51,69 μm .

A Figura 16 mostra o histograma das micropartículas lipídicas da formulação 5 contendo o recheio líquido. A distribuição do tamanho de partícula apresentou uma extensa

faixa compreendida entre 12 e 97 μm , com a maioria das partículas entre 20 – 60 μm . A Tabela 16 mostra que o valor de diâmetro médio encontrado foi 46,14 μm .

A Figura 17 mostra o histograma das micropartículas lipídicas da formulação 6 contendo o recheio sólido. A distribuição do tamanho de partícula apresentou uma extensa faixa compreendida entre 17 e 99 μm , com a maioria das partículas entre 20 – 50 μm . A Tabela 16 mostra que o valor de diâmetro médio encontrado foi 38,28 μm .

RIBEIRO, M (2009) menciona que o tamanho da partícula pode ser manipulado pela variação do tamanho do orifício do bico pulverizador, pela taxa de fluxo de ar e da solução a ser pulverizada, e pela relação entre os mesmos.

RODRIGUEZ *et al* (1999) num estudo realizado em partículas contendo cera de carnaúba ou ácido esteárico e dois recheios, um hidrofílico e outro hidrofóbico, observarem que independente do recheio usado, o tamanho médio da partícula diminuía com o aumento da quantidade de recheio encapsulado. Os autores justificaram a diminuição pelo aumento do tempo e da energia no processo de produção por causa do aumento do peso da emulsão, e isto consequentemente implicaria em maior fragmentação final e menor tamanho médio das micropartículas, resultados similares obtiveram-se nesta pesquisa.

ALBERTINI *et al* (2008) produziram micropartículas com hidrocloreto de profeno-na e vitamina E em excipientes lipofílicos (cera de carnaúba, álcool estearílico e álcool ce-toestearílico), hidrofílicos (PEG 400) e lecitina de soja. A faixa de tamanho de partícula obtida foi de 75 – 150 μm .

ILIC *et al* (2009) estudaram a influência de vários parâmetros, na obtenção de tamanho de partículas, utilizando o processo de microencapsulação *Spray Cooling*. Ao variar a pressão de atomização e a velocidade de alimentação do líquido, reportaram que o tamanho de partícula obtido foi mediano, oscilando de 58 a 278 μm , e que o rendimento total do processo foi de 81 a 96%. Com o aumento da velocidade de alimentação de líquido, encontraram tamanho de micropartícula maiores, e com o aumento da pressão de atomização encontraram tamanho de micropartículas menores.

Tabela 16 – Diâmetro médio das micropartículas (média $\pm$ desvio padrão).

Formulações	Diâmetro médio (μm)
F1 - 75/25 RL	58,76 $\pm$ 23,97
F2 – 75/25 RS	36,07 $\pm$ 19,12
F3 – 85/15 RL	53,36 $\pm$ 19,75
F4 – 85/15 RS	51,69 $\pm$ 22,22
F5 – 95/5 RL	46,14 $\pm$ 17,89
F6 – 95/5 RS	38,28 $\pm$ 13,25

F1 → Formulação 1 (solução de glicose 50%, proporção lipídio/solução de glicose 75/25 recheio líquido).

F2 → Formulação 2 (proporção lipídio/glicose sólida 75/25).

F3 → Formulação 3 (solução de glicose 50%, proporção lipídio/solução de glicose 85/15 recheio líquido).

F4 → Formulação 4 (proporção lipídio/glicose sólida 85/15).

F5 → Formulação 5 (solução de glicose 50%, proporção lipídio/solução de glicose 95/5 recheio líquido).

F6 → Formulação 6 (proporção lipídio/glicose sólida 95/5). 5% de lecitina em todas as formulações.

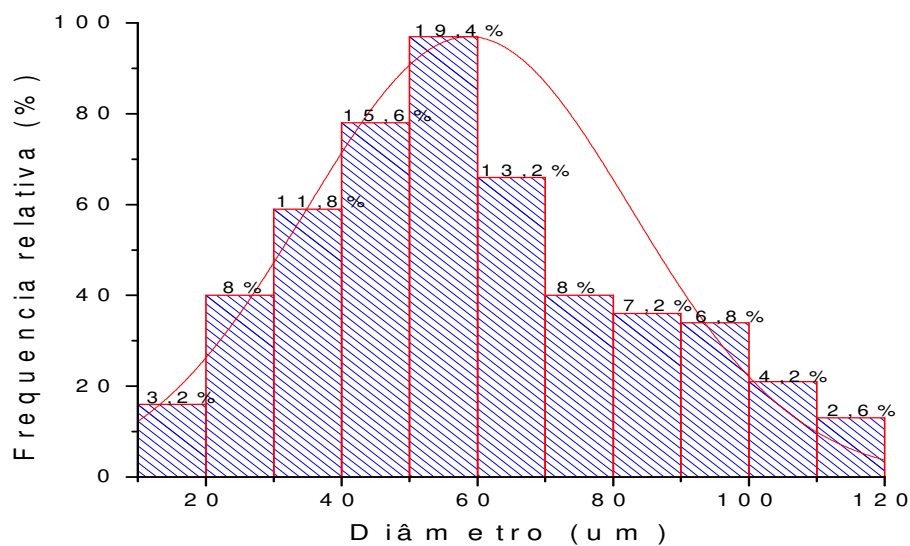


Figura 12 – Distribuição de tamanho: F1 (solução de glicose 50%, proporção lipídio/solução de glicose 75/25 recheio líquido)

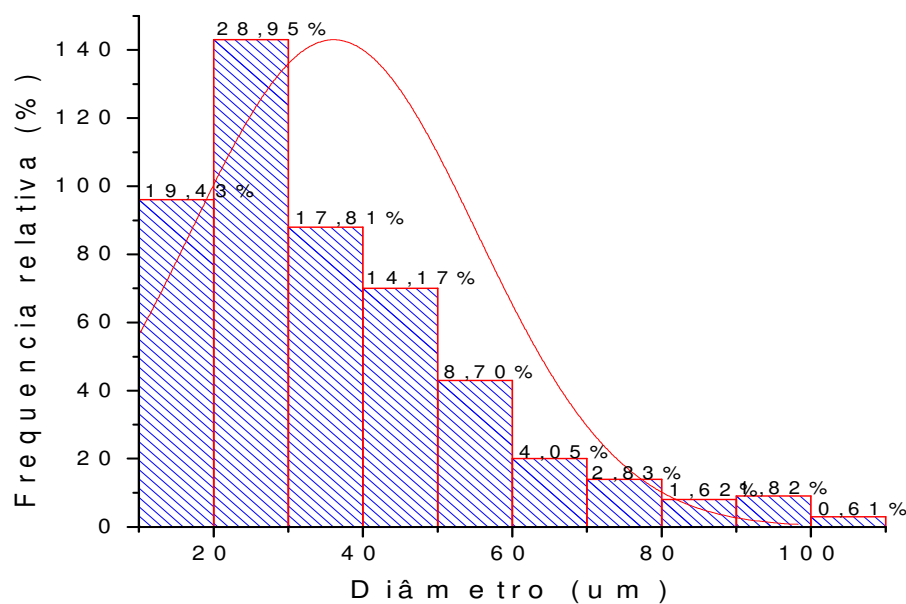


Figura 13 – Distribuição de tamanho: F2 (proporção lipídio/glicose sólida 75/25).

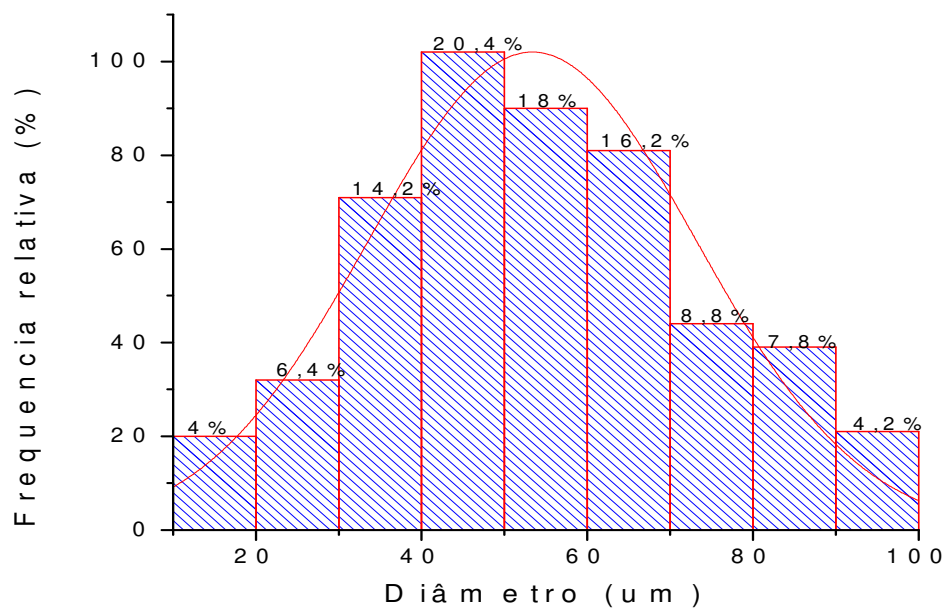


Figura 14 – Distribuição de tamanho: F3 (solução de glicose 50%, proporção lipídio/solução de glicose 85/15 recheio líquido).

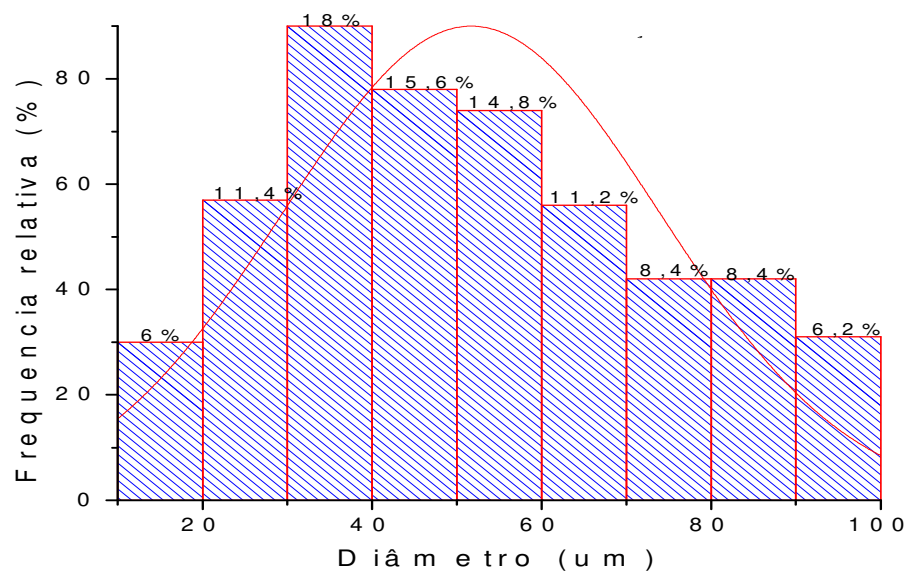


Figura 15 – Distribuição de tamanho: F4 (proporção lipídio/glicose sólida 85/15).

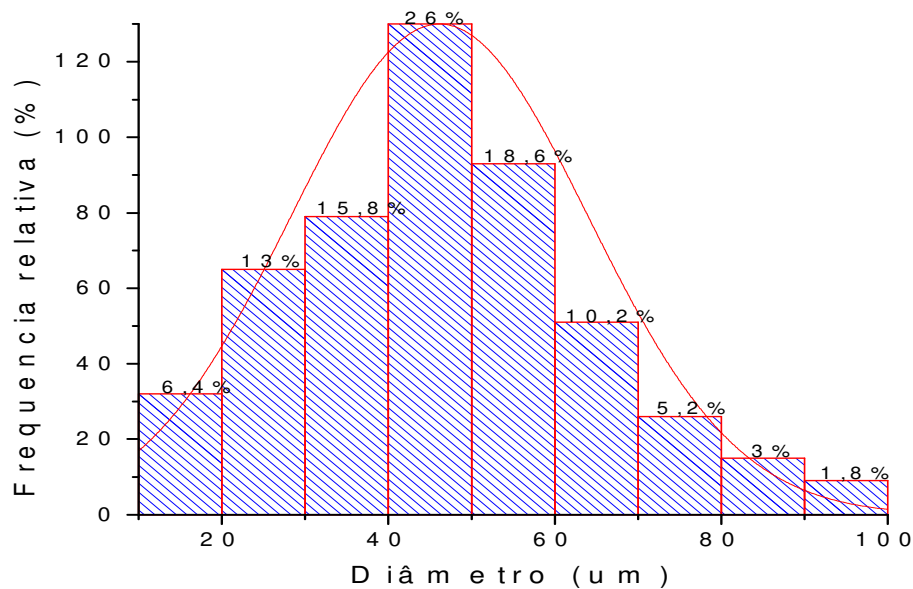


Figura 16– Distribuição de tamanho: F5 (solução de glicose 50%, proporção lipídio/solução de glicose 95/5 recheio líquido).

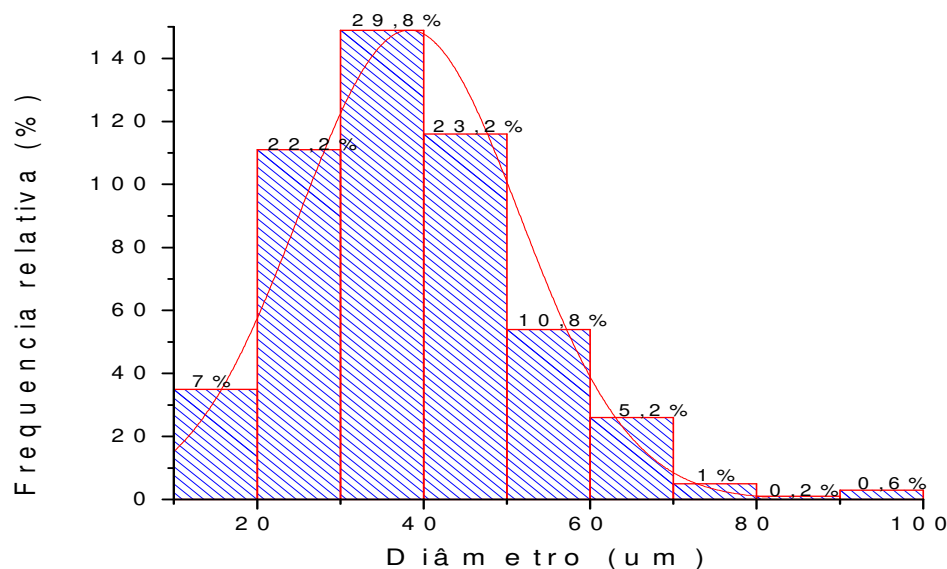


Figura 17 – Distribuição de tamanho: F6 (proporção lipídio/glicose sólida 95/5).

5.3.4.2. Morfologia das micropartículas

Inicialmente, na caracterização das micropartículas, o método empregado foi o da microscopia ótica, por ser um método simples e rápido, que forneceu as primeiras diretrizes sob o processo de encapsulação.

As Figuras 18 – 23 apresentam as imagens das micropartículas lipídicas das diferentes formulações e todas mostraram forma esférica. As formulações contendo o recheio líquido apresentavam partículas aglomeradas, enquanto às formulações contendo o recheio sólido apresentavam partículas mais soltas e melhor definidas.

CHAMBI *et al.* (2008) estudaram micropartículas lipídicas contendo como recheio compostos de diferentes massas molares solúveis em água e obtiveram partículas esféricas como tamanhos variáveis.

RIBEIRO, M (2009) afirma que a mistura lipídica/solução de glicose 40% na proporção 75%/25%/5% de lecitina de soja (HLB 4,7) é uma boa proporção para encapsular um recheio hidrofílico. ELDEM (1991a) verificou que a adição de lecitina melhora a morfologia de superfície da micropartícula, modificando a tensão superficial. Variações nos

parâmetros do processamento tais como temperatura e tipo de atomizador podem acarretar mudanças na morfologia das cápsulas que por sua vez podem interferir nas importantes características do produto final e na estabilidade das microcápsulas (ROSENBERG *et al.*, 1988).



Figura 18 – Imagens obtidas por microscopia ótica das micropartículas lipídicas. F1 (solução de glicose 50%, proporção lipídio/solução de glicose 75/25). Aumento 12,5.



Figura 19 – Imagens obtidas por microscopia ótica das micropartículas lipídicas. F2 (proporção lipídio/glicose sólida 75/25). Aumento 12,5.

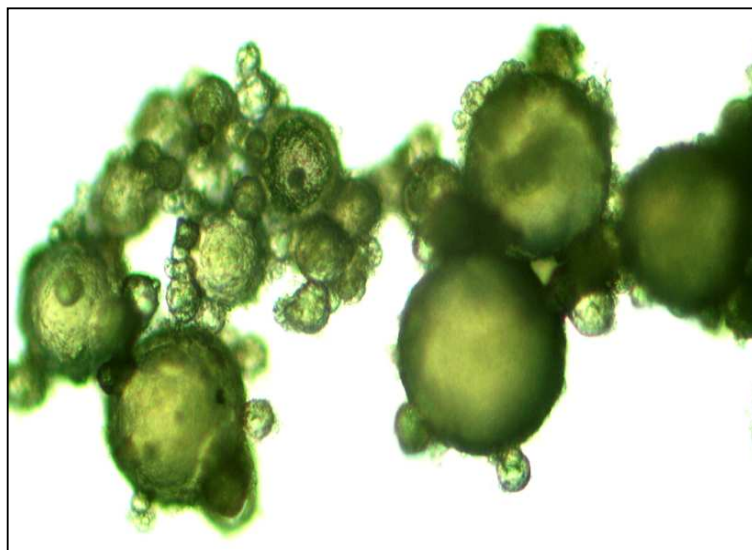


Figura 20 – Imagens obtidas por microscopia óptica das micropartículas lipídicas. F3 (solução de glicose 50%, proporção lipídio/solução de glicose 85/15). Aumento 12,5.

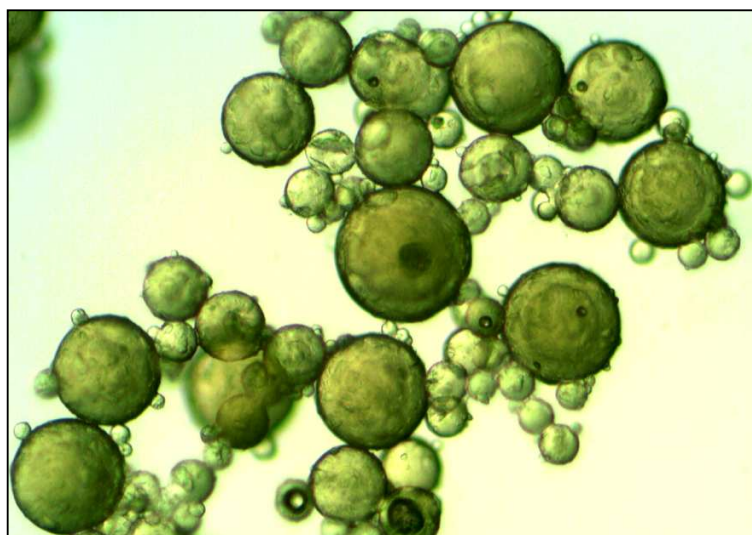


Figura 21- Imagens obtidas por microscopia óptica das micropartículas lipídicas. F4 (proporção lipídio/glicose sólida 85/15). Aumento 12,5.

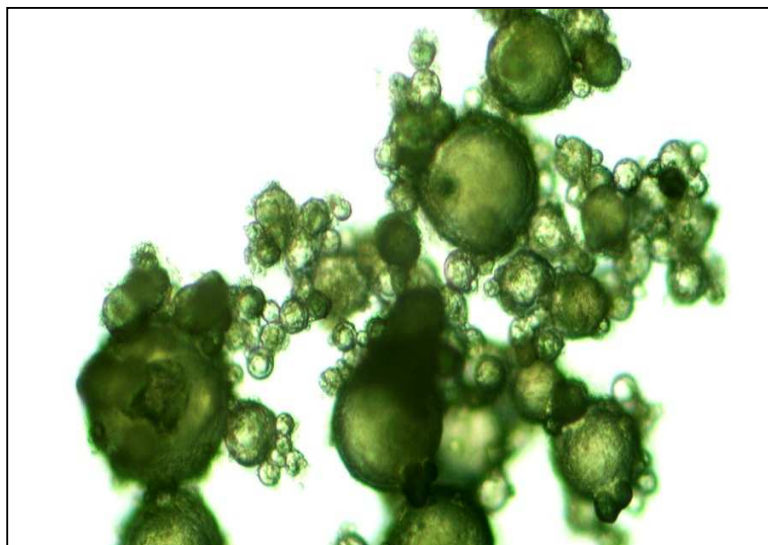


Figura 22 – Imagens obtidas por microscopia óptica das micropartículas lipídicas. F5 (solução de glicose 50%, proporção lipídio/solução de glicose 95/5). Aumento 12,5.



Figura 23 – Imagens obtidas por microscopia óptica das micropartículas lipídicas. F6 (proporção lipídio/glicose sólida 95/5). Aumento 12,5.

5.3.4.3 Microscopia Eletrônica de Varredura das micropartículas

As imagens das micropartículas obtidas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) das seis formulações estudadas estão apresentadas nas Figuras 24 a 29. Todas as formulações apresentam micropartículas com grande variação de tamanhos, confirmando os resultados observados na determinação do tamanho médio e distribuição de tamanho, obtidos por microscopia ótica; observando-se parede com rugosidade acentuada, devido à presença do ácido oleico, que é maior que a cera de carnaúba em todas as formulações, como observado anteriormente por RIBEIRO, M (2009) em sua pesquisa, que quanto menor a proporção do ácido oleico, a superfície tornava-se mais lisa. Também se observou superfícies contínuas e com pequenos furos os quais estão localizados somente na superfície da partícula, formas irregulares, não lisas. JORES *et al.* (2004) atribui as formas irregulares à presença do lipídio líquido que pode estar formando pequenas micelas no meio da matriz sólida. Além disso, é importante mencionar que as amostras obtidas das formulações contendo o recheio sólido apresentaram imagens de partículas mais aspergidas e soltas, enquanto que as micropartículas contendo o recheio líquido apresentaram-se relativamente aglomeradas.

Na Figura 29, as imagens mostram a particularidade de que o tamanho da partícula diminuiu em relação às demais, devido principalmente ao aumento na proporção de material de parede na formulação e também a variação das condições de processo de produção das micropartículas.

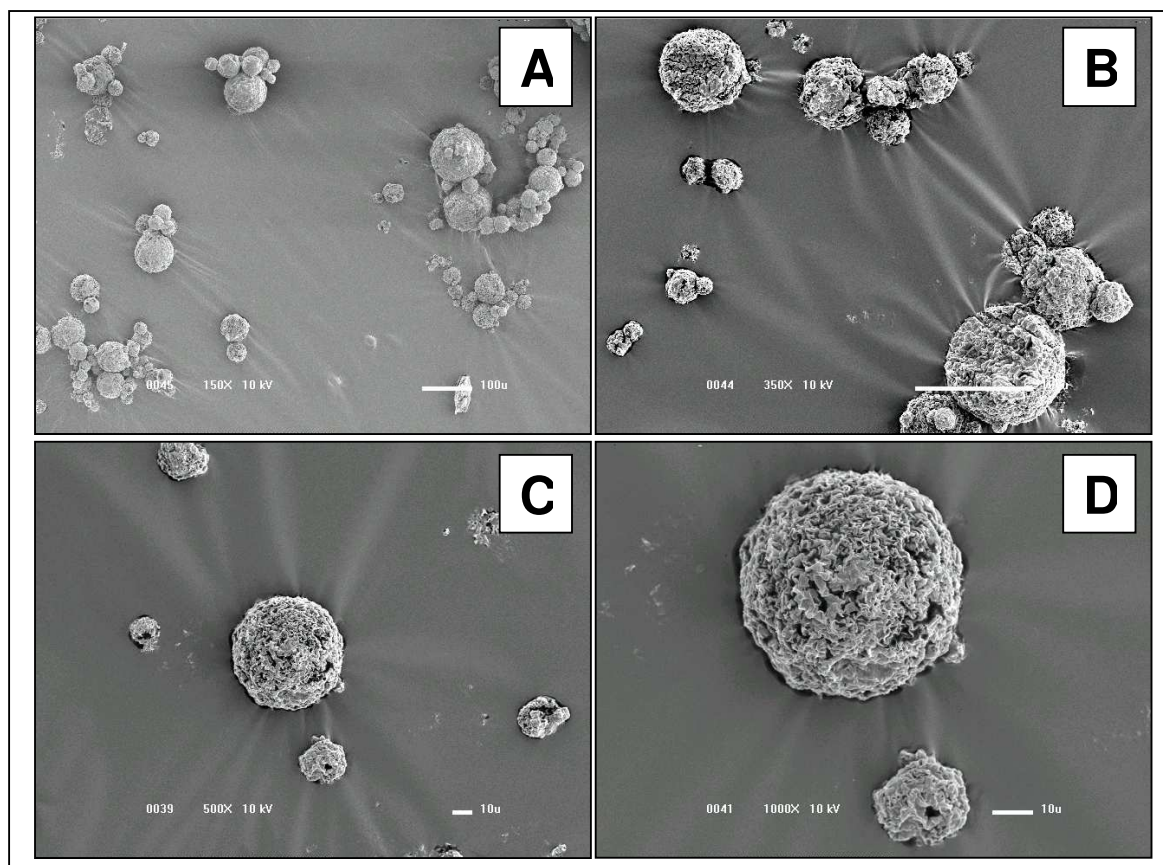


Figura 24- Imagens captadas por microscopia eletrônica de varredura da formulação F1 (solução de glicose 50%, proporção lipídio/solução de glicose 75/25): (A) aumento de 150x, barra 100; (B) aumento de 350x, barra 100; (C) aumento de 500x, barra 10; (D) aumento de 1000x, barra 10.

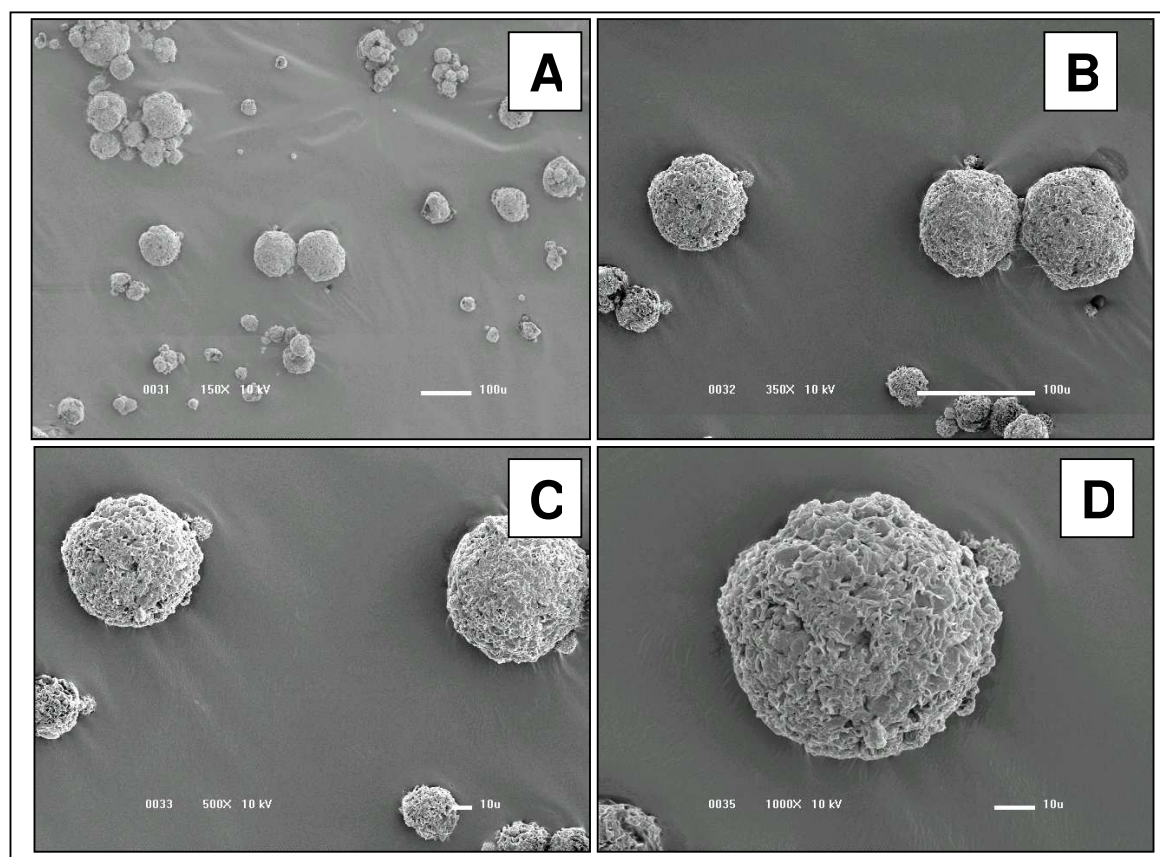


Figura 25 - Imagens captadas por microscopia eletrônica de varredura da formulação F2 (glicose sólida, proporção lipídio/ glicose sólida 75/25): (A) aumento de 150x, barra 100; (B) aumento de 350x, barra 100; (C) aumento de 500x, barra 10; (D) aumento de 1000x, barra 10.

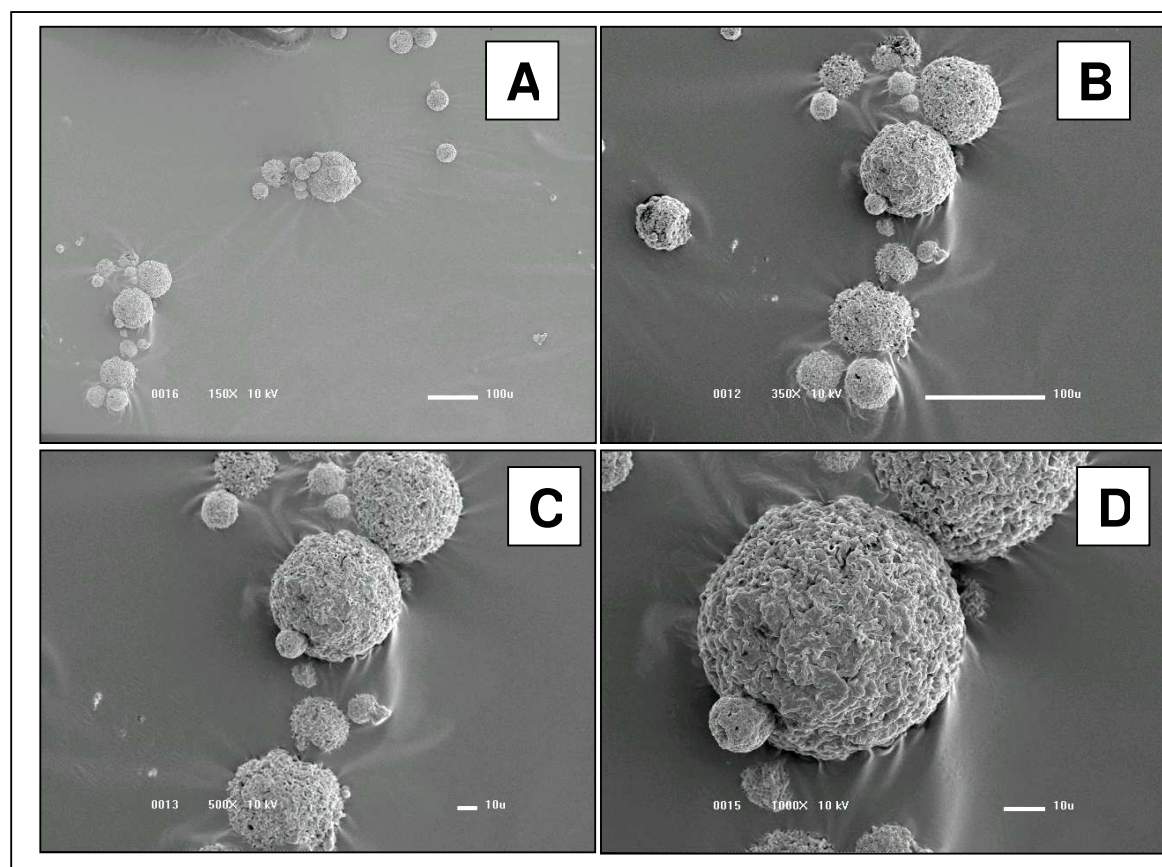


Figura 26 - Imagens captadas por microscopia eletrônica de varredura da formulação F3 (solução de glicose 50%, proporção lipídio/solução de glicose 85/15): (A) aumento de 150x, barra 100; (B) aumento de 350x, barra 100; (C) aumento de 500x, barra 10; (D) aumento de 1000x, barra 10.

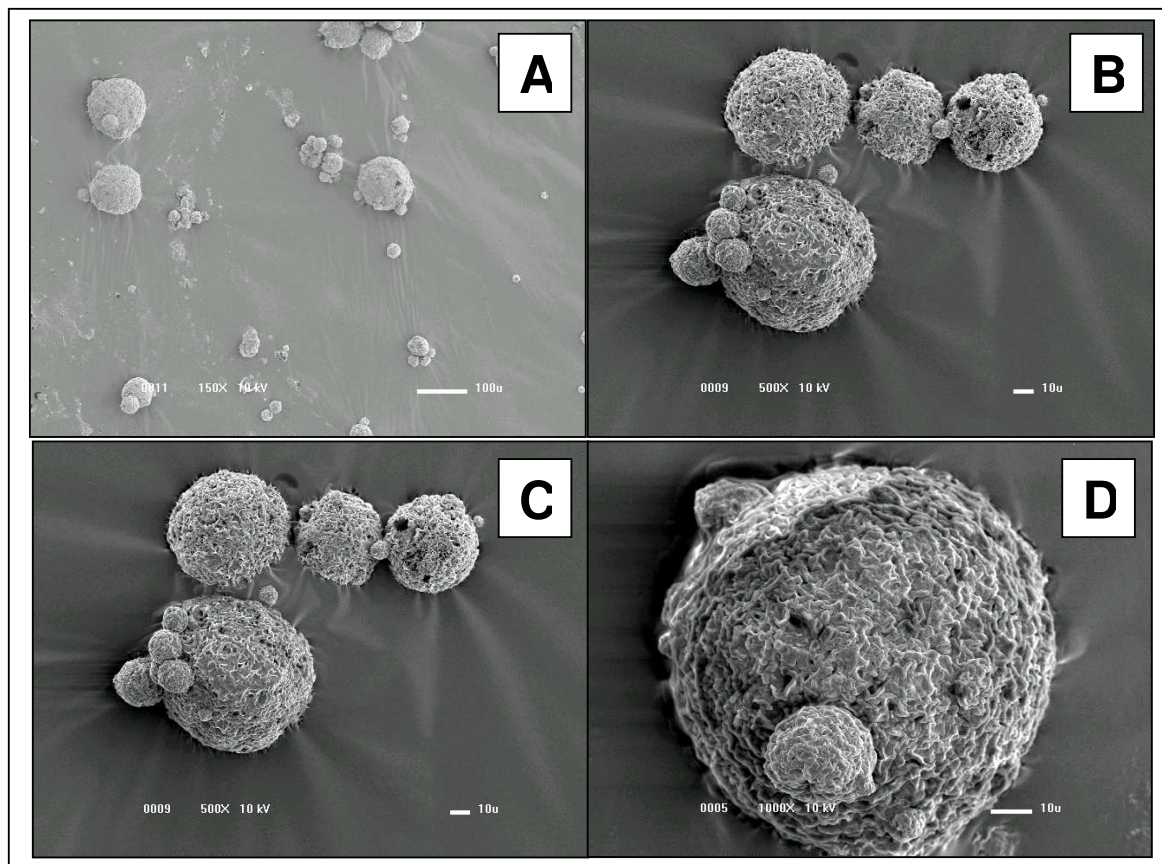


Figura 27 - Imagens captadas por microscopia eletrônica de varredura da formulação F4 (glicose sólida, proporção lipídio/ glicose sólida 85/15): (A) aumento de 150x, barra 100; (B) aumento de 350x, barra 100; (C) aumento de 500x, barra 10; (D) aumento de 1000x, barra 10.

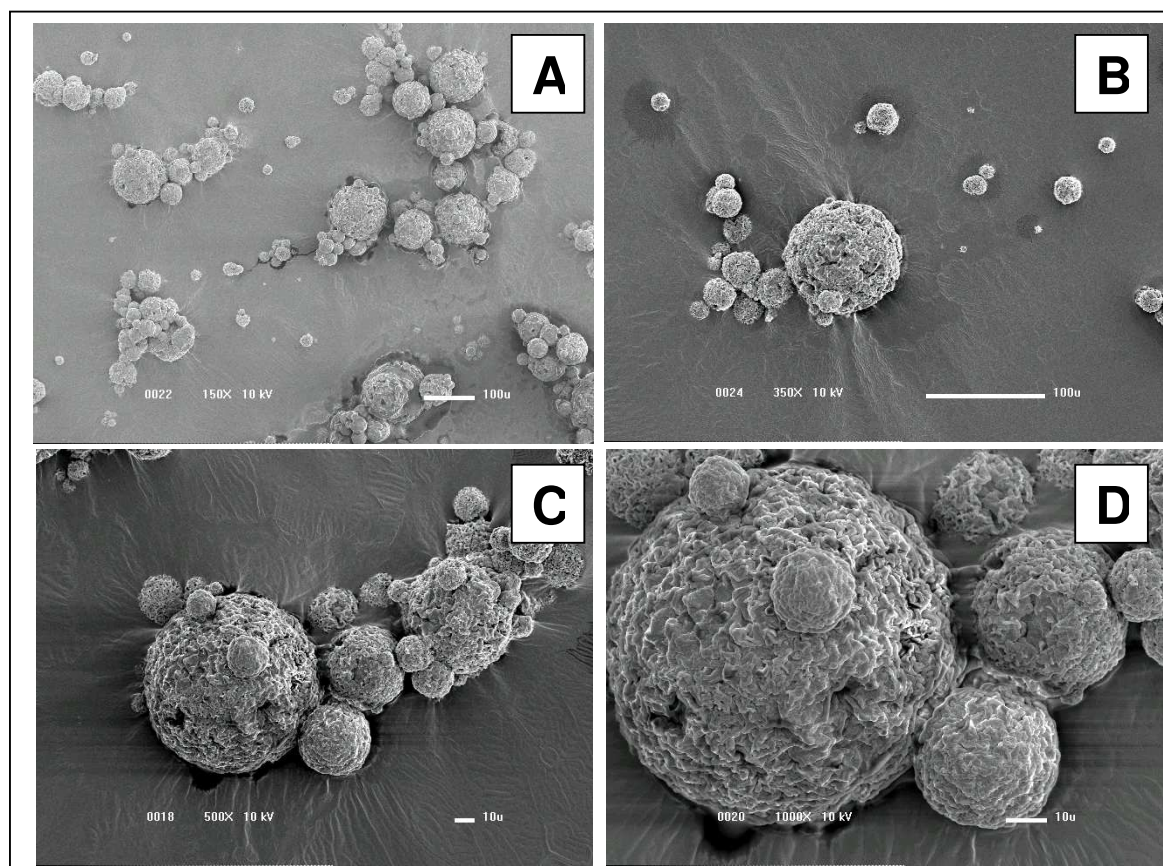


Figura 28 - Imagens captadas por microscopia eletrônica de varredura da formulação F5 (solução de glicose 50%, proporção lipídio/solução de glicose 95/5): (A) aumento de 150x, barra 100; (B) aumento de 350x, barra 100; (C) aumento de 500x, barra 10; (D) aumento de 1000x, barra 10.

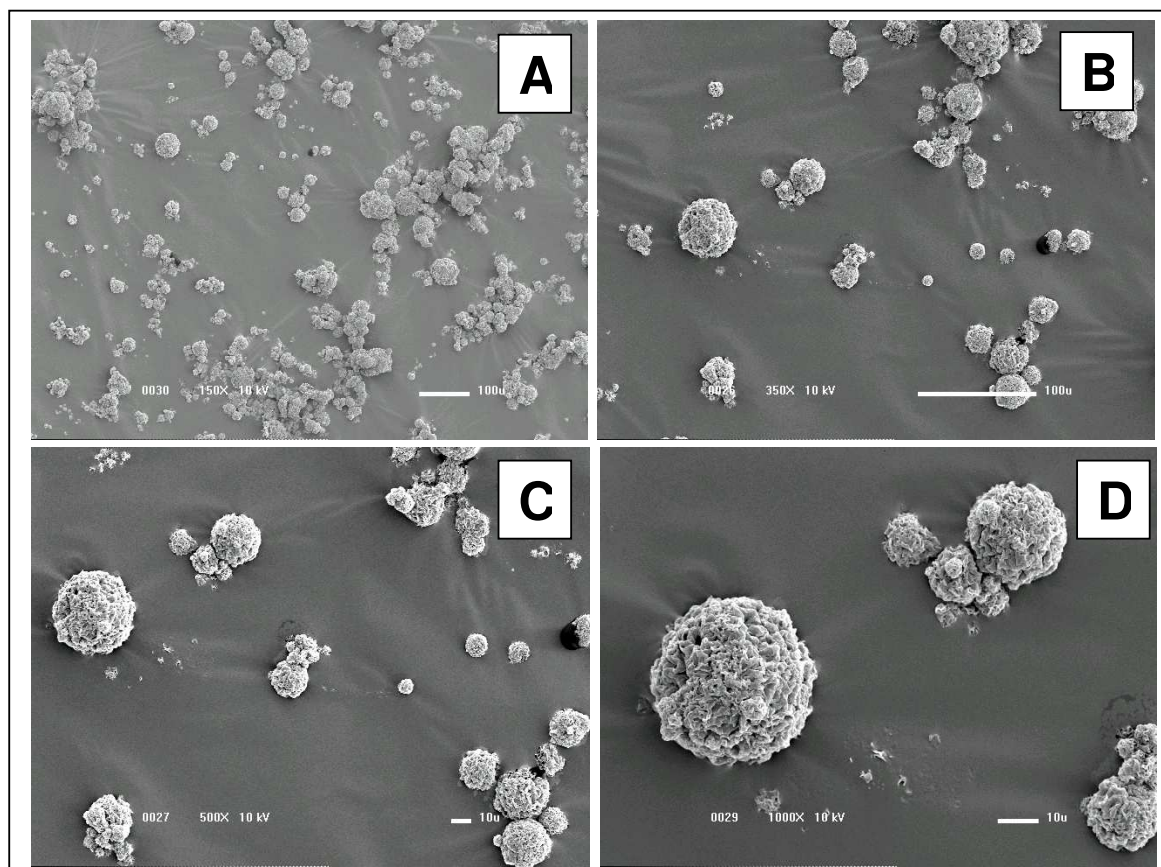


Figura 29 - Imagens captadas por microscopia eletrônica de varredura da formulação F6 (glicose sólida, proporção lipídio/ glicose sólida 95/5): (A) aumento de 150x, barra 100; (B) aumento de 350x, barra 100; (C) aumento de 500x, barra 10; (D) aumento de 1000x, barra 10.

ROSENBERG *et al* (1988), precursores importantes da avaliação morfológica das microcápsulas após um longo trabalho sobre a microestrutura de cápsulas, oriundas do processamento por atomização, concluíram que a microestrutura determina características do produto como, densidade, porosidade, e volatilidade do material retido, sendo uma análise fundamental para a avaliação e caracterização das cápsulas.

A rugosidade observada nas microcápsulas pode ser produzida pela presença da cera de carnaúba devido a suas características, efeito semelhante de rugosidade foi observado num estudo avaliando o ácido esteárico como material de parede realizado por outros autores (RODRIGUEZ *et al*, 1999; SAVOLAINEN *et al*, 2002).

Por outro lado RIBEIRO, M (2009) estudou micropartículas formadas por matrizes lipídicas contendo ácido esteárico, óleo de soja totalmente hidrogenada, ácido oléico e ál-

cool cetoestearílico, lecitina de soja como tensoativo e solução de glicose como recheio produzido por *spray cooling*, as partículas apresentaram uma morfologia com superfícies rugosa, esférica, contínua e com pequenos furos, semelhante aos resultados obtidos nesta pesquisa.

Do mesmo modo LEONEL (2008) estudou micropartículas de lipídios preparadas por *spray cooling* compostas por ácidos graxos (esteárico e oléico) e gordura vegetal hidrogenada como matriz, lecitina de soja como tensoativo e solução de glicose como material de recheio, as partículas apresentaram as mesmas características morfológicas observadas no presente trabalho.

6. CONCLUSÕES

As micropartículas lipídicas estudadas nesta pesquisa, apresentaram bons resultados de eficiência de encapsulação, apesar de ter apresentado a cera de carnaúba dificuldades no manuseio durante o processo no *spray cooling*, principalmente à hora de ajustar os parâmetros para este material de parede. Em quanto ao controle de liberação, só foi bom para o composto hidrofílico líquido utilizado como recheio, pois com o recheio sólido quase todo o conteúdo foi liberado em 2 horas.

A distribuição do tamanho de partícula, das micropartículas lipídicas das formulações contendo o recheio líquido, variou de 12 a 117 μm , com a maioria das partículas entre 20 – 70 μm e diâmetro médio de 46 – 58 μm , enquanto que a distribuição do tamanho de partícula nas formulações contendo o recheio sólido, variou de 10 a 109 μm , com a maioria das partículas entre 20 – 70 μm e diâmetro médio de 36 – 52 μm .

Na morfologia e microestrutura observou-se uma forma esférica, com rugosidade acentuada e considerável quantidade de recheio. As formulações contendo o recheio líquido apresentavam partículas aglomeradas, enquanto as formulações contendo o recheio sólido apresentavam partículas mais soltas e melhor definidas.

Em todas as formulações foi possível a encapsulação do recheio hidrofílico, tanto de glicose em solução como glicose sólida e os resultados apresentaram razoáveis eficiências de encapsulação efetiva. A adição do ácido oléico à cera de carnaúba foi um fator determinante na modificação da cristalização da mistura lipídica proporcionando uma eficiência de encapsulação variando de 50 a 65%. Maiores quantidades de glicose superficial foram observadas nas formulações com recheio sólido, onde maiores quantidades de recheio estavam presentes na composição das micropartículas, variando de 20 a 34%, enquanto que nas formulações com recheio líquido houve quantidades menores, variando de 2 a 7%.

A liberação de recheio nas formulações com o recheio líquido foi avaliada por duas horas em meio aquoso e apresentaram valores de 22 a 72%. Nas formulações com o recheio sólido, as curvas apresentaram liberação inicial alta (*efeito burst*) com maior valor de 86%, nos primeiros 30 minutos. Os resultados indicam que o mais provável foi a presença de cristais na superfície das micropartículas devido a problemas no processo como sedimentação no atomizador e tamanho de cristais de glicose.

A correta escolha da matriz lipídica nas formulações parece responsável pelos resultados, considerando que a adição do lipídio líquido (ácido oleico) à cera de carnaúba foi um fator determinante na modificação da cristalização da mistura lipídica proporcionando uma eficiência de encapsulação razoável.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALBERTINI, B.; PASSERINI, N.; PATTARINO, F.; RODRIGUEZ, L. *New spray congealing atomizer for the microencapsulation of highly concentrated solid and liquid substances*. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, v. 69, n. 1, p. 348-357, 2008.
2. AOCS. American Oil Chemists' Society. *Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society*. 6. Ed, campaign, 2009.
3. ARSHADY, R. *Microcapsules for food*. Journal of Microencapsulation, v.10, n. 4, p. 413-435, 1993.
4. AZEREDO, H.M.C. *Encapsulation: Applications to food technology*. Alim. Nutr., Araraquara, v.16, n.1, p. 89-97, jan./mar.2005.
5. BAKAN, J.A. *Microencapsulation of foods and related products*. Food Technology, Chicago, 34-44, 1973.
6. BECHER, P. *Emulsions – Theory and practice*. Reinhold Publishing Corporation. New York, USA, 1957.
7. BERTOLINI, A. C.; SIANI, A C.; GROSSO, C. R. F. *Stability of monoterpenes of encapsulated in gum arabic by spray- drying*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 49, n.2, p. 780-785, 2001.
8. BJERREGAARD, S.; PEDERSEN, H.; VEDSTESSEN, H.; VERMEHREN, C.; SÖDERBERG, I.; FROKJAER, S. *Parental water/oil emulsions containing hydrophilic compounds with enhanced in vivo retention: formulation, rheological characterization and*

study of in vivo fate using whole body gamma-scintigraphy. International Journal of Pharmaceutics, v. 215, p. 13-17, 2001.

9. BRANNON-PEPPAS, L. *Controlled release in the foods and cosmetics industries*. In: EL-NOKALY, M.; PIATT, D.; CARPENTER, B. *Polymer delivery systems*. Washington, DC: ACS, p. 42-52, 1993.

10. CARDOSO, F. S. N. *Produção de microencapsulados de amido com recobrimento em leite fluidizado*. Dissertação. Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 65p. 2000.

11. CHAMBI, H.N.M., ALVIM, I.D., BARRERA-ARELLANO, D., GROSSO, C.R.F., *Solid lipid micropartivles containing water-sluble compounds of different molecular mass: production, Characterisation and release profiles*, v.41, p.229-236, 2008.

12. CHO, Y.H.; SHIM, H.K.; PARK J. *Encapsulation of fish oil by an enzymatic gelation process using tranglutaminase cross-linked proteins*. Jounal of Food Science, v.68, n.9, p.2717-2723, 2003.

13. DASHEVSKY, A.; ZESSIN, G. *The effect of ethlycellulose molecular weight on the properties of theophylline microspheres*. J. Microencapsul., v. 4, n. 3, p. 273-280, 1997.

14. DEPYPERE, F. *et al. Food powder microencapsulation: principles, problems and opportunities*. Appl. Biotechnol. Food Sci. Pol., v. 1, n. 2, p. 75-94, 2003.

15. DESAI, K. G. H.; PARK, H. J. *Recent developments in microencapsulation of food ingredients*. Drying Technology. London, v. 23, n. 7, p. 1361-1394, 2005.

16. DE ROOS, K. B. *Physicochemical models of flavor release from foods*. In: ROBERTS, D. D.; TAYLOR, A. J. *Flavor release*. Washington, DC: ACS, p. 126-141, 2000.

17. DIB TAXI C, DE MENEZES H, SANTOS A, GROSSO C. “*Study of the microencapsulation of camu-camu (Myrciaria dubia) juice*”. J microencapsulation, 20:443-48. 2003
18. DUNCAN, D. P. *Practical implications of fatty acid topography modification by unsaturation*. JAOCS, v. 61, n. 2, p. 233-241, 1984.
19. DUTRA A. I. *Produção e caracterização de Micropartículas obtidas por spray drying e coacervação complexa e seu uso para alimentação de larvas de peixes - dissertação*. Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 20p., 2004.
20. DUXBURY. D.D.; SWIENTEK, R. J. *Encapsulated ingredients face healthy future*. Food Processing, February, p.38-46, 1992.
21. DZIEZAK, J. D. *Microencapsulation and encapsulated ingredients*. Food Technology, n. 42, p. 136-151, 1988.
22. ELDEM, T.; SPEISER, P.; HINCAL, A. *Optimization of spray-dried and –congealed lipid micropellets and characterization of their surface morphology by scanning electron microscopy*. Pharmaceutical Research, v. 8, n. 1, p. 47-54, 1991a.
23. ELDEM, T.; SPEISER, P.; ALTORFER, H. *Polymorphic behavior of sprayed lipid micropellets and its evaluation by differential scanning calorimetry and scanning electron microscopy*. Pharmaceutical Research, v. 8, n. 2, p. 178-184, 1991b.
24. EMAS, M.; NYQVIST, H. *Methods of studying aging and stabilization of spray-congealing solid dispersion with carnauba wax. 1. Microcalorimetric investigation*. International Journal of Pharmaceutics, v. 247, p. 117 – 127, 2000.

25. FANGER, G.O. *Microcapsulation: A brief history and introduction in: Microencapsulation: Processes and applications*. Vandegaer, J.E. ed Plenum Press, New York, p. 1-20., 1974.
26. FÁVARO-TRINDADE, C. S.; GROSSO, C. R. F. *The effect of the immobilization of L.acidophilus & B. lactis in alginate on their tolerance to gastrointestinal secretions*. Milchwissenschaft, v.55, n.9, p.496-499, 2000.
27. FÁVARO-TRINDADE, C. S.; GROSSO, C. R. F. *Microencapsulation of Lacidophilus (La-05) and B. Lactis (Bb-12) and evaluation of their survival at the pH values of the stomach and in bile*. Journal of Microencapsulation, v. 19, n. 4, p. 485-494, 2002.
28. FRIEDRICH, I.; MÜLLER-GOYMANN, C. C. *Characterization of solidified reverse micelar solutions (SRMS) and production development of SRMS-based nanosuspensions*. European Journal of Pharmaceutical Biopharmaceutics, n. 56, p. 111-119, 2003.
29. FRITZEN-FREIRE, C.B., PRUDENCIO, E.S., AMBONI, R.D.M.C., PINTO, S.S., NEGRAO-MURAKAMI, A.N., MURAKAMI, F.S., 2012. *A microencapsulação de bifidobactérias por secagem por pulverização, na presença de prebióticos*. Food Research International 45 (1), 306–312.
30. GAMBOA, O.D., GONÇALVES, L.G., GROSSO, C.R.F. *Microencapsulation of tocopherols in lipid matrix by spray chilling method*. Procedia Food Science, 1, 1732-1739, 2011.
31. GANDER, B. *et al. Thermodynamic approach to protein microencapsulation into poly (D,L-lactide) by Spray-drying*. Int. J. Pharm., v. 129, p. 51-61, 1996.

32. GARTI, N. YANO, J. *The role of emulsifier in fat crystallization*. In: GARTI, N. SATO, K. (Ed.). *Crystallization processes in fats and lipids systems*, cap. 6, p. 211-250, 2001.
33. GASCO, M.R., *Method for producing solid lipid microspheres having a narrow size distribution*. US Patent: 5250236, 1993.
34. GIBBS, B.F., KERMASHA, S., ALLI, I., & MULLIGAN, C.N.. *Encapsulation in the food industry: a review*. International Journal of Food Sciences and Nutrition, 50, 213-224, 1999.
35. GIESE, J. *Packaging, storage, and delivery of ingredients*. Food Technology, v. 47, n. 8, p. 54-63, 1993.
36. GOODWIN J.T.; SOMERVILLE G.R. *Physical methods for preparing microcapsules in: Microencapsulation: Processes and applications*. Vandegaer, J.E. ed Plenum Press, New York, p. 1-20, 1974.
37. GOUIN, S. *Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends*. Trends in Food Science & Technology, v. 15, p. 330-347, 2004.
38. GUNSTONE, F.D.. *Lipid Chemistry – a personal view of some developments in last 60 years*. Biochimica et Biophysica, Acta 1632, p. 207 – 217, 2003.
39. HANSEN, L.T.; WONJTAS, A.P.M.; JIW, Y.L.; PAULSON, A.T. *Survival of Ca-alginate microencapsulated Bifidobacterium spp. in milk and simulated gastrointestinal conditions*. Food Microbiology, v. 19, p. 35-45, 2002.
40. HEGER, R. *Release kinetics/mechanism in: Microencapsulation of Food Ingredients*, Vilstrup, P. Heatherhead publishing, p. 55 – 75, 255p., 2001.

41. HELGUERA, L. I. *Mejorando los sabores*. Alimentos Procesados, p. 47- 51, 2000.
42. HENRY, R. J.; CANNON, D. C.; WILKEMAN, J. *Clinical chemistry, principles and techniques*, 2^a ed. New York: Harper and Harper Row Publishes, 1974.
43. HEURTAULT, B.; SAULNIER, P.; PECH, B.; PROUST, J. E.; BENOIT, J. P. *Physico-chemical stability of colloidal lipid particles*. Biomaterials, n. 24, p. 4283-4300, 2003.
44. HU, F. Q. *et al. Preparation and characterization of estearic acid nanostructured lipid carriers by solvent diffusion method in an aqueous system*. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, v. 45, p. 167-173, 2005.
45. I. ILIC, R. DREU, M. BURJAK, M. HOMAR, J. KERC, S. SRCIC. *Microparticle size control and glimepiride microencapsulation using spray congealing technology*, Int. J. Pharm. 378, p. 176–183, 2009.
46. JACKSON, L. S.; LEE, K. *Microencapsulation and the food industry*. Lebensmittel-Wissenschaft Technologie. v. 24, n. 4, p. 289-297, 1991.
47. JANOVSKY, C. *Encapsulated ingredients for the baking industry*. Cereal Foods World, v. 38, n. 2, p. 85-87, 1993.
48. JENNING, V., *Feste Lipid-Nanopartikel (SLN) als Tragersystem fur die dermale Applikation von Retinol*. Ph.D. thesis, FU, Berlin. 1999.
49. JENNING, V.; GOHLA, S. H. *Comparison of wax and glyceride solid lipid nanoparticles (SLN)*. International Journal of Pharmaceutics, n. 196, p. 219-222, 2000.

50. JENNING, V.; GOHLA, S. H. *Encapsulation of retinoids in solid lipid nanoparticles (SLN)*. Journal of Microencapsulation, v. 18, n. 2, p. 149-158, 2001.
51. JIMENEZ, M.; GARCIA, H. S.; BERISTAIN, C. L. *Spray-dried encapsulation of conjugated linoleic acid (CLA) with polymeric matrices*. Journal of the Science of Food and Agriculture, Sussex, v. 86, n. 14, p. 2431-2437, 2006.
52. JIZOMOTO, H.; KANAOKA, E.; SUGITA, K.; HIRANO, K. *Gelatin-Acacia microcapsules for trapping micro oil droplets containing lipophilic dugs and ready disintegration in the gastrointestinal tract*. Pharmaceutical Research, v.10, n.8, p.1115-1122, 1993.
53. JOHANSSON, D.; BERGENSTAL, B. *Lecithins in oil-continuous emulsions. Fat crystal wetting and interfacial tension*. Journal of the American Oil Chemist's Society, v. 72, p. 295-211, 1995.
54. JORES, K.; MEHNERT, W.; MÄDER, K. *Physicochemical investigations on solid lipid nanoparticles and on oil-loaded solid lipid nanoparticles: a nuclear magnetic resonance and electron spin resonance study*. Pharmaceutical Research, v. 20, n. 8, p. 1274-1283, 2003.
55. JORES, K.; MEHNERT, W.; DRESHSLER, M.; BUNJES, H.; JOHANN, C.; MÄDER, K. *Investigations on the structure of solid lipid nanoparticles (SLN) and oil-loaded solid lipid nanoparticles by photon correlation spectroscopy, field-flow fractionation and transmission electron microscopy*. Journal of Controlled Release, v. 95, p. 217-227, 2004.
56. KAPUSNIAK, J.; TOMASIK, P. *lipid microencapsulation in starch*, Journal of Microencapsulation, London, v. 23, n. 3, p. 341-348, 2006.

57. KARABULUT, I.; TURAN, S.; ERGIN, G. *Effects of chemical interesterification on solid fat content and spli melting point of fat/oil blends*. European Food Research and Technology, Berlin, v. 218, p. 224-229, 2004.
58. KARATHANOS, V. T.; MOURTZINOS, I.; YANNAKOPOULOU, K.; ANDRIKOPOULOS, N. K. *Study of the solubility, antioxidant activity and structure of inclusión complex of vanillin with –cyclodextrin*. Fodd Chemistry, Oxford, v. 101, n. 2, p. 652 – 658, 2007.
59. KAREL, M.; LANGER, R. *Controlled release of food additives*. In: RISCH, S. J.; REINECCIUS, G. A. Flavor encapsulation. Washington, DC: ACS, p. 29-36, 1988.
60. KIM, H.S.; KAMARA, B.J.; GOOD, I.C.; ENDERS JR., G.L. *Method for the preparation of stable microencapsulated lactic acid bacteria*. Journal of Industrial Microbiology, v. 3, p. 253-57, 1988.
61. KLEIN, R. lecitina de soja (SOLOE) – *Obtenção, propriedades e aplicações em alimentos*. SLACA, Campinas, 2008.
62. KNOTH, A.; SCHERZA, I.; MUSCHIOLIK, G. *Stability of water-io-oil-emulsions containing phosphatidycholine-depleted lecithin*. Food Hydrocolloids, v. 19 p. 635-640, 2005.
63. KOGA, K.; OHYASHIKI, T.; MURAKAMI, M.; KAWASHIMA, S. *Modification of ceftibuten transport by the addition of non-ionic surfactants*. European Journal Of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, v.49, n.1, p. 17-25, 2000.
64. LABELL, F. *Gum arabic effective for dry flavors*. Food Processing, p. 82- 83, 1993

65. LAMPRECHT, A., SCHÄFER U. AND LEHR C.-M. *Influences of process parameters on preparation of microparticle used as a carrier system for ω 3 unsaturated fatty acid ethyl esters used in supplementary nutrition*. Journal of. Microencapsulation, v. 18, n. 3, p. 347-357, 2001.
66. LAMPRECHT, A.; SHÄFER, U.F.; LEHR, C.-M. *Characterization of microcapsules by confocal laser scanning microscopy: structure, capsule wall composition and encapsulation rate*. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, v.49, p. 1 – 9, 2000.
67. LANGDON, C.J.; BUCHAL, M.A. *Comparision of lipid-walled microcapsules and lipid spray beads for the delivery of water-soluble, low-molecular-weight materials to aquatic animals*. Aquaculture Nutrition, v.4, p. 275-284, 1998
68. LARSSON, K. *Lipids – molecular organization, physical functions and technical applications*. The Oily Press, Suécia, 237p., 1993.
69. LEE, S.J.; ROSENBERG, M. *Whey protein-based microcapsules prepared by double emulsification and heat gelation*. Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie, v. 33, p. 80-88, 2000.
70. LEONEL, A. J. *Produção e caracterização de partículas lipídicas constituídas por ácidos graxos, gordura vegetal hidrogenada e lecitina na encapsulação de um composto hidrofílico de baixa massa molar*. Tese de mestrado. Faculdade de Engenharia de Alimentos, da universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 2008.
71. DERSJANT-LI YM; PEISKER M. *Soybean lecithin in animal nutrition: an unmatched additive*. Kraftfutter. 2005; 88:28–34.
72. MADENE, A., JACQUOT, M., SCHER, J., AND DESORBRY, S. 2006. *Flavour encapsulation and control release — A review*. Intl. J. Food Sci.Technol. 41: 1-21.

73. MAGGE JR., E. L.; OLSON, N. F. *Microencapsulation of cheese ripening systems: formation of microcapsules*. Journal of Dairy Science, v. 64, p.600-610, 1981a.
74. MAGEE JR., E.L., & OLSON, N.F., *Microencapsulation of cheese ripening systems: stability of microcapsules*. Journal of Dairy Science, 64, 611-615, 1981b.
75. MANIASSO, N. *Quím. Nova*, 2001, 24,88.
76. MARANGONI, A. G. *Special issue of FRI – crystallization, structure and functionality of fats*. Food Research International, v. 35, p. 907-908, 2002.
77. MASCHKE, A.; BECKER, C.; EYRICH, D.; KIERMAIER, J.; BLUNK, T.; GÖPFERICH, A. *Development of a spray congealing process for the preparation of insulin-loaded lipid microparticles and characterization thereof*. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, v. 65, p. 175-187, 2007.
78. MEHNERT, W.; MÄDER, K. *Solid lipid nanoparticles – production, characterization and applications*. Advanced Drug Delivery Reviews, n. 47, p. 165-196, 2001.
79. MULLER, R.H., JENNING, V., *Zusammensetzung, Herstellung und Verwendung einer Suspension verfestigter, amorpher Öltropfen*. Deutsche Patentanmeldung 199 38 371.5, 1999.
80. MÜLLER, R.H., LUCKS, J.S., *Arzneistofftrager aus festen Lipidteilchen, Feste Lipid-nanosphären (SLN)*. European Patent EP0605497, 1996.
81. MÜLLER, R.H., MADER, K., & GOHLA S., *Solid lipid nanoparticles (SLM) for controlled drug delivery – A review of the state of the art*. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 50, 161-178, 2000

82. MÜLLER, R. H.; RADTKE, M.; WISSING, S. A. *Nanostructured lipid matrices for improved microencapsulation of drugs*. International Journal of Pharmaceutics, n. 242, p. 121-128, 2002a.
83. MÜLLER, R. H.; RADTKE, M.; WISSING, S. A. *Solid lipid nanoparticles (SLN) and nanostructured lipid carriers (NLC) in cosmetic and dermatological preparations*. Advanced Drug Delivery Reviews, n. 54, sup 1, p. S131-S155, 2002b.
84. MUKAI-CORRÊA, R., PRATA, A.S.; ALVIM, I.D.; GROSSO, C.R.F., "Controlled release of protein from hydrocolloid gel microbeads before and after drying", Current Drug Delivery, vol. 1, 2004, p.265-273.
85. MUKAI-CORRÊA R.; PRATA, A.S.; ALVIM I. D.; GROSSO, C. R. F. *Caracterização de Microcápsulas contendo caseína e gordura vegetal hidrogenada obtidas por geleificação iônica*. Brazilian Journal of Food Technology, v.8, n.1, p. 73-80, 2005.
86. NAWAR, W. W. Lipids. In: FENNEMA, O. R. *Food Chemistry*. 3º ed., Marcel Dekker, Inc. New York, 1996.
87. NICHOLS, D.S.; SANDERSON, K. *The nomenclature, structure, and properties of food lipids*. In; ZDZISLAW, E.; SIKORSKI, E.; KOLAKOWSKA, A. *Chemical and functional properties of food lipids*. 1 ed, New York: CRC Press, 2003., chap. 3.
88. NORI, M. A. *Produção de microcápsulas de ácido cítrico para utilização em produtos cárneos*. São Paulo, SP: USP, 79p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade de São Paulo, 1996.
89. NOVAES DOS REIS, R. C. *Síntese de surfactantes derivados da D – ribonolactona*. Dissertação. Universidade Federal de Juiz de Fora. Juiz de Fora, 162p. 2007

90. OLLIVON, M. *Lipid structure and fat crystallization*. European Journal of Lipid Science and Technology, v. 107, n. 9, p. 579-581, 2005.
91. PARROQUIA, EDWARD J.; TERRENCE L. BOOS; LI DE SHENGRONG. “*La química de ceras y de esteroides*”, en CASIMIR C. AKOH, DAVID B. MIN.: *Lípidos del alimento: química, nutrición, y bioquímica*, 2do ed., Nueva York: M. Dekker, 103. ISBN 0824707494. (2002).
92. PEDROSO, D.D.L., THOMAZINI, M., HEINEMANN, R.J.B., FAVARO-TRINDADE, C.S., 2012. *Proteção de Bifidobacterium lactis e Lactobacillus acidophilus por microencapsulação utilizando spray-chilling*. International Dairy Journal 26 (2), 127–132.
93. PEREZ-CHABELA, M.L., LARA-LABASTIDA, R., RODRIGUEZ-HUEZO, E., TOTSAUS, A., in press. *Effect of spray drying encapsulation of thermotolerant lactic acid bacteria on meat batters properties*. Food and Bioprocess Technology. <http://rd.springer.com/article/10.1007/s11947-012-0865-y>.
94. PORTER, M.R. *Handbook of surfactants*. New York: Chapman & Hall. p. 227, 1991.
95. POTHAKAMURY, U.R.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V. *Fundamental aspects of controlled release in foods*. Trends in Food Science & Technology, v. 6, p. 397-406, 1995.
96. PSZCZOLA, D. *Encapsulated ingredients: providing the right fit*. Food Technol., v. 52, n. 12, p. 70-77, 1998.

97. RAO, A.V.; SHIWNARAIN, N.; MAHARAJ, I. *Survival of microencapsulated Bifidobacterium pseudolongum in simulated gastric and intestinal juices*. Can. Inst. Food Science and Technology Journal, v. 22, n. 4, p. 345-49, 1989.
98. RÉ, M.I. *Microncapsulation by spray drying*. Drying Technology, v. 16, p. 1195-1236, 1998.
99. REINECCIUS, G. A. *Controlled release techniques in the food industry*. In: RISCH, S. J.; REINECCIUS, G. A.; *Encapsulation and controlled release of food ingredients*. Washington, DC: ACS, 1995. P. 8-25.
100. RIBEIRO, A. P.; BASSO, R. C.; GRIMALDI, R.; GIOELLI, L. A.; GONÇALVES, L. A. G. *Zero trans fats from soybean oil and fully hydrogenated soybean oil: physico-chemical properties and food applications*. Food research international, v. 42, p. 401-410, 2009.
101. RIBEIRO, M.D.M.M, ARELLANO, D.B., GROSSO, C.R.F. *The effect of adding oleic acid in the production of stearic acid lipid microparticles with a hydrophilic core by a spray-cooling process*. Food Research International, 47, 38-44, 2012.
102. RODRIGUEZ, L.; PASSERINI, N.; CAVALLARI, C.; CINI, M.; SANCIN, P.; FINI, A. *Description and preliminary evaluation of a new ultrasonic atomizer for spray-congealing processes*. International Journal of Pharmaceutics, v. 183, p. 133-143, 1999.
103. RODRIGUES-HUEZO M.E.; PREDROZA-ISLAS R.; PRADO-BARRAGAN L.A.; BERISTAIN C.I. VERNON-CARTER E.J. *Microencapsulation by spray drying of multiple emulsions containing carotenoids*. Journal of Food Science, v. 69, E351-E359, 2004.

- 104.ROSENBERG, M.; TALMON, Y.; KOPELMAN, I. J. *The microstructure of spray-dried microcapsules*. Food Microstructure, v. 7, p. 15-23, 1988.
- 105.SANGUANSRI, P.; AUGUSTIN, M. A. *Nanoscale materials development – a food industry perspective*. Trends in Food Science and Technology, London, v. 17, n. 10, p. 547-556, 2006
- 106.SANTINHO A. J.P., PEREIRA, N. L.; FREITAS O.; COLLETT, J.H. *Influence of formulation on the physicochemical properties of casein microparticles*. International Journal of Pharmaceutics, v. 186 p. 191-198, 1999.
- 107.SAVOLAINEN, M.; KHOO, C.; GLAD, H.; DAHLQVIST, C.; JUPPO, A. M. *Evaluation of controlled-release polar lipid microparticles*. International Journal of Pharmaceutics, v. 244, p. 151-161, 2002.
- 108.SCHUBERT, M. A.; HARMS, M.; MÜLLER-GOYMANN, C. C. *Structural investigations on lipid nanoparticles containing high amounts of lecithin*. European Journal of Pharmaceutical Sciences, n. 27, p. 226-236, 2006.
- 109.SCHUWARZ, C.; MENHERT, W.; LUCKS, J. S.; MÜLLER, R. H. *Solid lipid nanoparticles for controlled drug delivery. I. Production, characterization and sterilization*. Journal of Controlled Release, n. 30, p. 83-96, 1994.
- 110.SEVGI, F.; OZYAZICI, M.; GÜNERI, T. *sustained-release dosage form of phenylpropanolamine hydrochloride. Part II: Formulation and in vitro release kinetics from tableted microspheres*. J. Microencapsul., v. 11, p. 199-206, 2000.
111. SHAHIDI, F.; HAN, X.Q. *Encapsulation of food ingredients*. Critical Review in Food Science and Nutrition, vol. 33, p. 501 – 547, 1993.

112. SHEU, T.Y.; MARSHALL, R.T.; HEYMANN, H. *Improving survival of culture bacteria in frozen desserts by microentrapment*. Journal Dairy Science, v. 76, n. 7, p. 1902-1907, 1993.
113. SHI, Y.; LIANG, B.; HARTEL, R.W. *Crystal morphology, microestructure, and textural properties of model lipid systems*. Journal of American Oil Chemists' Society, v. 82, n.6, p. 399 – 408, 2005.
114. SIEKMANN, B.; WESTESEN, K. *Sub-micron sized parenteral carrier systems based on solid lipid*. Pharm. Pharmacological Lett., n. 1, p. 123-126, 1992.
115. SPARKS, R. E. *Microencapsulation*. In: *Encyclopedia of chemical technology*. Ed. Kirk-Othmer, 3ªed., vol. 15, p. 470, 1981.
116. STATSOFT, INC. *Statistica for Windows, Computer Program Manual*, Tulsa, 1995. Catalogue
117. SUN, S. F. *Physical chemistry of macromolecules: basic principles and issues*. John Wiley & Sons, Inc., New Jersey, 2ª ed, 2004.
118. TAYLOR, A. H. *Encapsulation systems and their applications in the flavour industry*. Food Flavours, Ingredients, Packaging and Processing, n. 5, p. 48, Sept, 1983.
119. THIES, C. *How to make microcapsules combined lecture and laboratory manual*. Thies Tecnology, St. Louis. Missouri, 1995.
120. TIMMS, R. E. *Phase behavior of fats and their mixtures*. Progress Lipid Research, v. 23, p. 1-38, 1984.

121. TOBITSUKA, K.; MIURA, M.; KOBAYASHI, S. *Retention of a European pear aroma model mixture using types of saccharides*, Journal of Agricultural and Food Chemistry, Washington, v. 54, n. 14, p. 5069-5076, 2006.
122. TODD, R. D. *Microencapsulation and flavor industry*. Flavor Industry, London, v. 1, n. 11, p. 768-771, 1970.
123. TRINIDADE M. A. *Microencapsulação de ácido ascórbico e avaliação de sua funcionalidade na estabilidade da core em produtos cárneos curados*. Campinas, 1998. 65 p. Tese – (Mestrado em Engenharia de Alimentos) Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP.
124. TRINDADE, M. A.; GROSSO, C. R. F. *The stability of ascorbic acid microencapsulated in granules of rice starch and in gum arabic*. Journal of Microencapsulation, v. 17, n.2, p.169-176, 2000.
125. VILLAMAGNA, F.; WHITEHEAD, M. A.; CHATTOPADYAY, A. K. *A molecular modelling approach to the analysis of present and design of future surfactants for water-in-oil emulsions*. Journal of Molecular Structure (Theochem), n. 343, p. 77-103, 1995.
126. WEGMULLER, R.; ZIMMERMANN, M. B.; BUHR, V. G.; WINDHAB, E. J.; HURREL, R. *Development, stability and sensory testing of microcapsules containing iron, iodine and vitamin A for use in food fortification*. Journal of Food Science. Chicago, v. 71, n. 2, p. 181-187, 2006.
127. WHORTON, C. *Factors influencing volatile release from encapsulation matrices*. In: RISCH, S. J.; REINECCIUS, G. A. *Encapsulation and controlled release of food ingredient*. Washington, DC: ACS, p. 134-142, 1995.

128. WIELAND-BERGHAUSENS, S., SCHOTE U., FREY M., SCHMIDT F. *Comparison of microencapsulation techniques for the water-soluble drugs nitenpyram and clomipramine HCl*. Journal of Controlled Release v. 85, n. 1-3, p. 35–43, 2002.
129. WISSING, S. A.; KAYSER, O.; MÜLLER, R. H. *Solid lipid nanoparticles for parenteral drug delivery*. Advanced Drug Delivery Reviews, n. 56, p. 1257-1272, 2004.
130. ZINUTTI, C.; KEDZIEEWICZ, F.; HOFFMAN, M.; MAINCENT, P. *Preparation and characterization of ethylcellulose microspheres containing 5-fluorouracil*. J. Microencapsul., v. 11, n. 5, p. 555-563, 1994.

8. ANEXOS

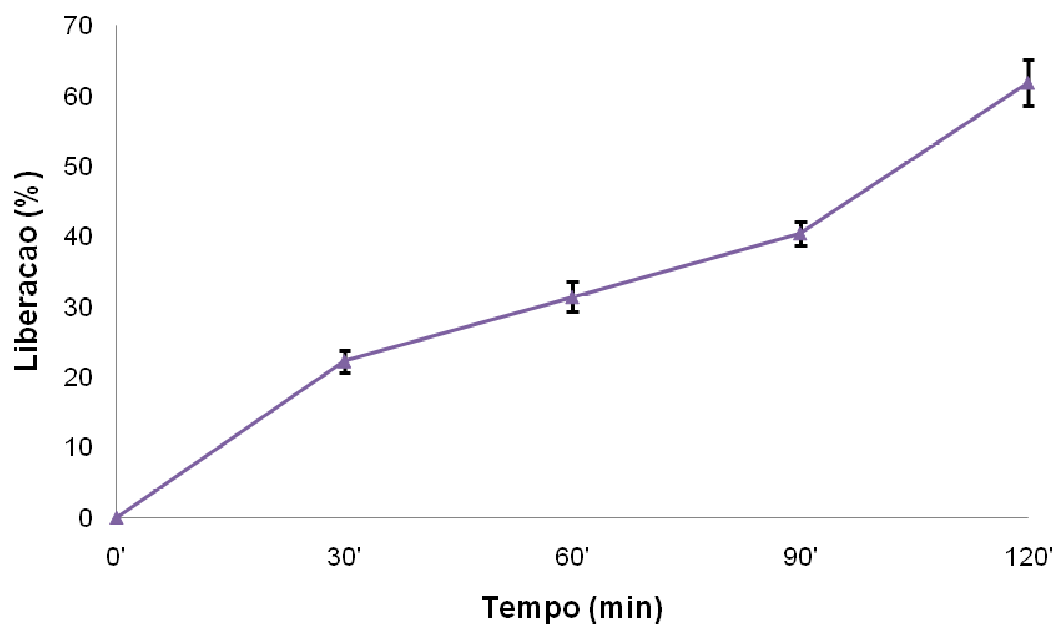


Figura 30 – Liberação de recheio: F1 → Formulação 1 (solução de glicose 50% proporção lipídio/solução de glicose 95/5 recheio líquido).

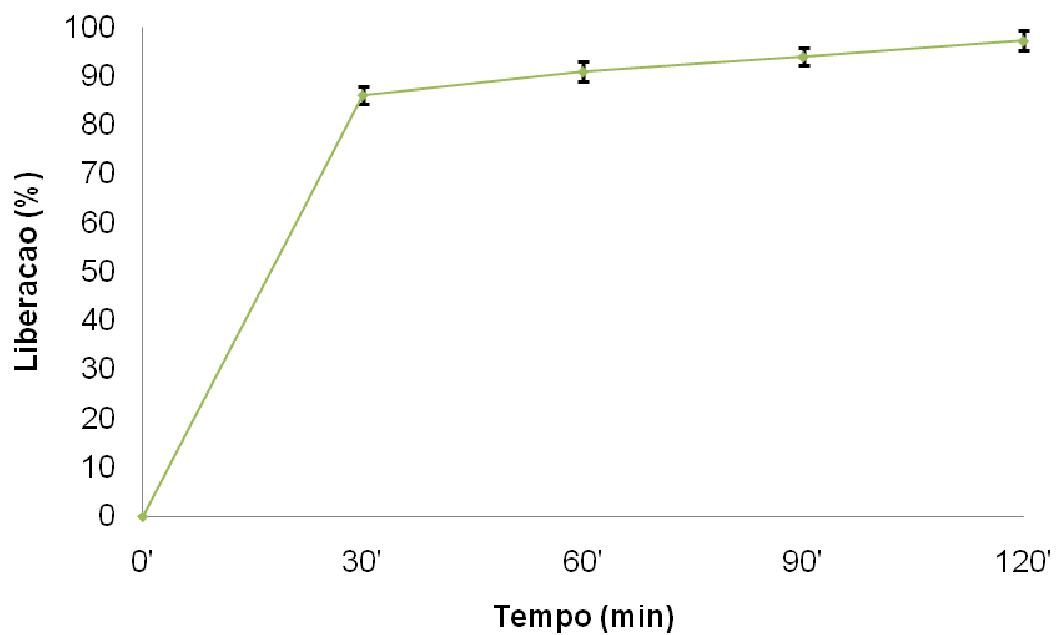


Figura 31 – Liberação de recheio: F2 → Formulação 2 (proporção lipídio/glicose sólida 95/5).

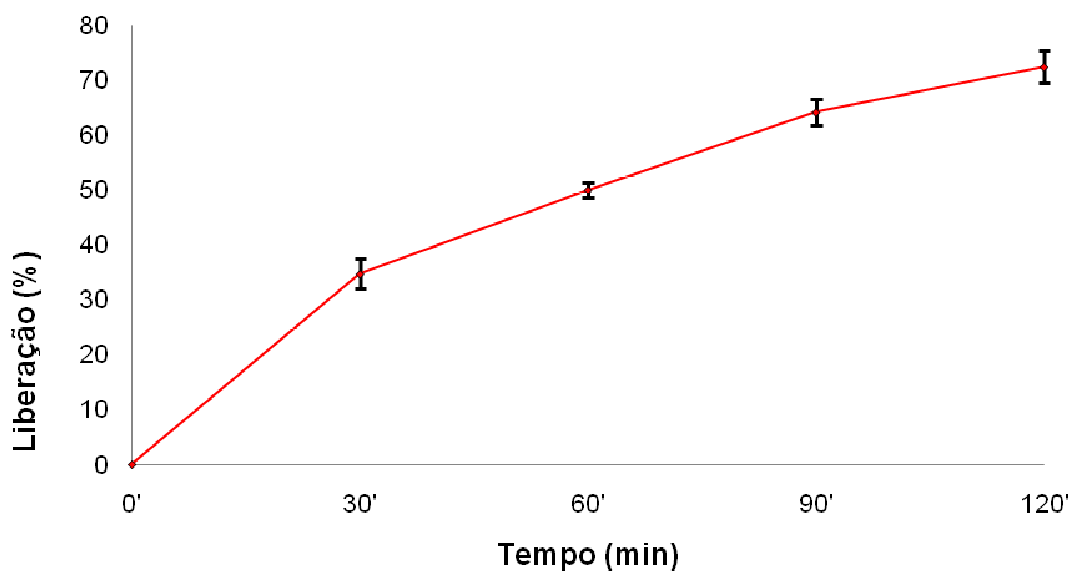


Figura 32 – Liberação de recheio: F3 → Formulação 3 (solução de glicose 50% proporção lipídio/solução de glicose 75/25 recheio líquido).

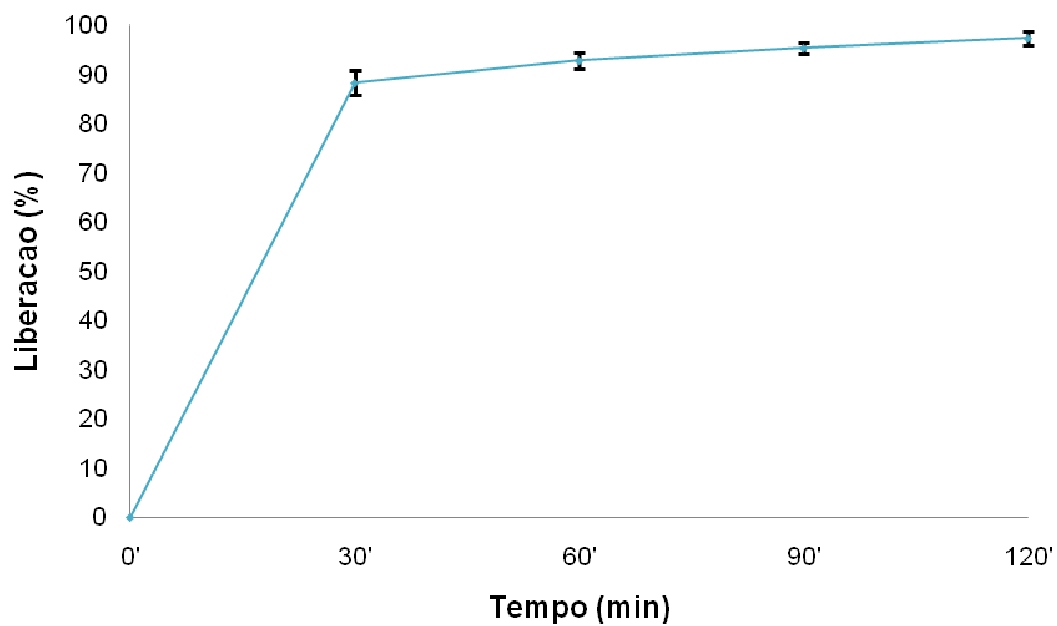


Figura 33 – Liberação de recheio: F4 → Formulação 4 (proporção lipídio/glicose sólida 75/25).

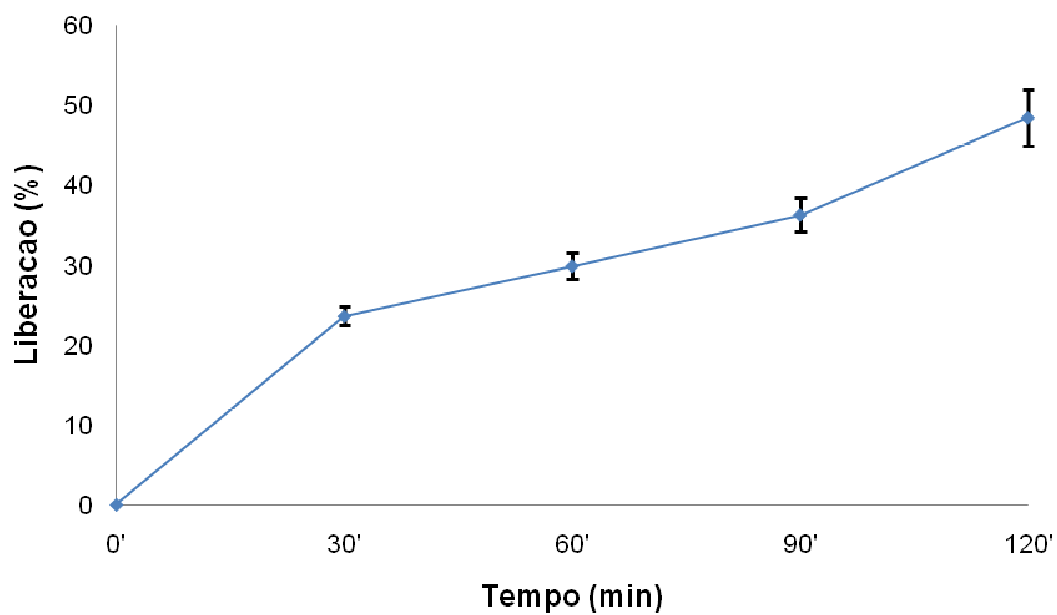


Figura 34 – Liberação de recheio: F5 → Formulação 5 (solução de glicose 50% proporção lipídio/solução de glicose 85/15 recheio líquido).

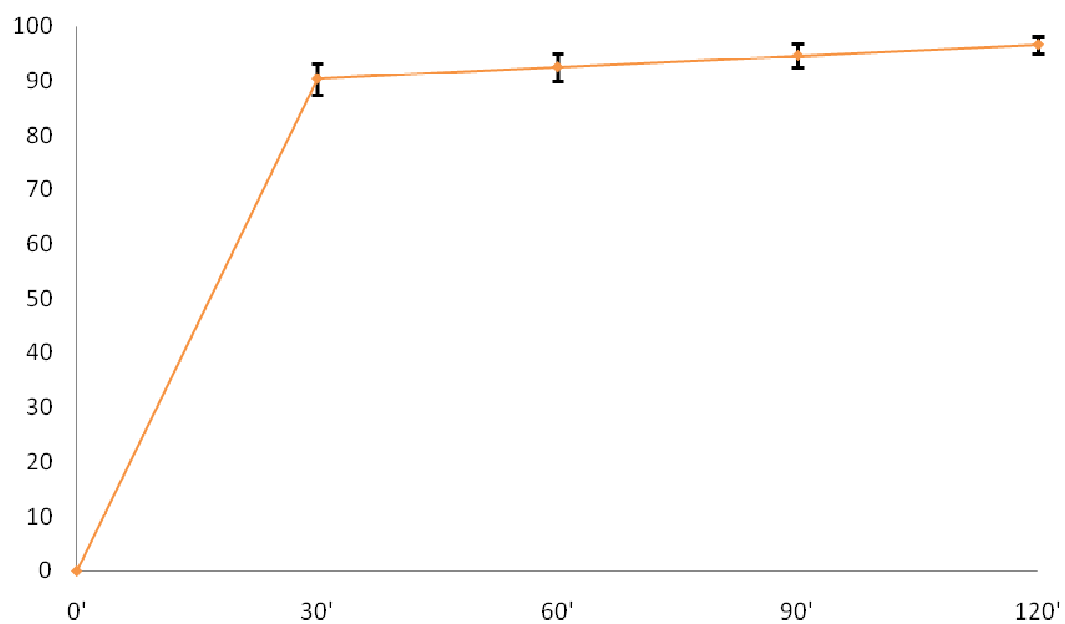


Figura 35 – Liberação de recheio: F6 → Formulação 6 (proporção lipídio/glicose sólida 85/15).