



ANA GABRIELA DA SILVA CARVALHO

**MICROENCAPSULAÇÃO DE ÓLEO DE CAFÉ VERDE POR *SPRAY DRYING* A
PARTIR DE EMULSÕES ESTABILIZADAS POR LECITINA E QUITOSANA**

CAMPINAS

2013



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS**

ANA GABRIELA DA SILVA CARVALHO

**MICROENCAPSULAÇÃO DE ÓLEO DE CAFÉ VERDE POR *SPRAY DRYING* A
PARTIR DE EMULSÕES ESTABILIZADAS POR LECITINA E QUITOSANA**

Orientadora: Profa. Dra. Miriam Dupas Hubinger

Co-orientadora: Dra. Vanessa Martins da Silva

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós Graduação em Engenharia de Alimentos da Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas para obtenção do título de Mestre em Engenharia de Alimentos.

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA TESE
DEFENDIDA PELA ALUNA ANA GABRIELA DA SILVA CARVALHO
E ORIENTADA PELA PROFA. DRA. MIRIAM DUPAS HUBINGER

ASSINATURA DO ORIENTADOR

CAMPINAS

2013

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA POR
CLAUDIA AP. ROMANO DE SOUZA – CRB8/5816 - BIBLIOTECA DA FACULDADE DE
ENGENHARIA DE ALIMENTOS – UNICAMP

C253m Carvalho, Ana Gabriela da Silva, 1987-
Microencapsulação de óleo de café verde por spray
drying a partir de emulsões estabilizadas por lecitina e
quitosana / Ana Gabriela da Silva Carvalho. -- Campinas,
SP: [s.n.], 2013.

Orientador: Miriam Dupas Hubinger.
Coorientador: Vanessa Martins da Silva.
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de
Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1. Óleo de café. 2. Deposição eletrostática camada
por camada. 3. Rancimat. 4. Spray dryer. I. Miriam
Dupas Hubinger. II. Silva, Vanessa Martins da. III.
Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de
Engenharia de Alimentos. IV. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em inglês: Microencapsulation of green coffee oil by spray drying
using emulsions stabilized by lecithin and chitosan

Palavras-chave em Inglês:

Coffee oil

Electrostatic layer by layer deposition

Rancimat

Spray dryer

Área de concentração: Engenharia de Alimentos

Titulação: Mestra em Engenharia de Alimentos

Banca examinadora:

Miriam Dupas Hubinger [Orientador]

Rosiane Lopes da Cunha

Izabela Dutra Alvim

Data da defesa: 11-04-2013

Programa de Pós Graduação: Engenharia de Alimentos

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Miriam Dupas Hubinger

Orientadora

Dra. Vanessa Martins da Silva

Co-orientadora - UNICAMP/FEA

Profa. Dra. Rosiane Lopes da Cunha

Membro titular - UNICAMP/FEA

Dra. Izabela Dutra Alvim

Membro titular - ITAL/CEREAL CHOCOTEC

Profa. Dra. Carmen Sílvia Fávaro Trindade

Membro suplente - USP/FZEA

Dra. Renata Valeriano Tonon

Membro suplente - EMBRAPA/AGROINDÚSTRIA DE ALIMENTOS

“Não importa se a estação do ano muda, se o século vira, se o milênio é outro, se a idade aumenta...

Conserve a vontade de viver, não se chega à parte alguma sem ela.

Abra todas as janelas que encontrar e as portas também.

Persiga um sonho, mas não o deixe viver sozinho.

Alimente sua alma com amor, cure suas feridas com carinho.

Descubra-se todos os dias, deixe-se levar pelas vontades, mas não enlouqueça por elas.

Procure, sempre procure o fim de uma história, seja ela qual for.

Dê um sorriso para quem se esqueceu como se faz isso.

Acelere seus pensamentos, mas não permita que eles te consumam.

Olhe para o lado, alguém precisa de você.

Abasteça seu coração de fé, não a perca nunca.

Mergulhe de cabeça nos seus desejos e satisfaça-os.

Agonize de dor por um amigo, só saia dessa agonia se conseguir tirá-lo também.

Procure os seus caminhos, mas não magoe ninguém nessa procura.

Arrependa-se, volte atrás, peça perdão!

Não se acostume com o quem não o faz feliz, revolte-se quando julgar necessário.

Alague seu coração de esperanças, mas não deixe que ele se afogue nelas.

Se achar que precisa voltar, volte!

Se perceber que precisa seguir, siga!

Se estiver tudo errado, comece novamente.

Se estiver tudo certo, continue.

Se sentir saudades, mate-a.

Se perder um amor, não se perca!

Se achá-lo, segure-o!”

(Fernando Pessoa)

*“Não faças do amanhã o sinônimo de nunca,
nem o ontem te seja o mesmo que nunca mais.
Teus passos ficaram.
Olhes para trás...
Mas vá em frente, pois há muitos que precisam
que chegues, para poderem seguir-te.”*

(Charles Chaplin)

*Dedico este trabalho aos meus
pais, Luiz e Lúcia e às minhas
irmãs, Lila e Lidinha por
todo amor, apoio e incentivo.*

AGRADECIMENTOS

Eu gostaria de agradecer primeiramente, aos meus pais, Luiz e Lúcia, pelo apoio nas minhas escolhas e decisões, pela educação e valores transmitidos e acima de tudo pela dedicação e amor incondicional, que sempre buscaram o melhor e sem medir esforços para a minha formação pessoal e profissional.

Às minhas irmãs, Lila e Lidinha, pelos momentos de alegria e de boas risadas, pelos conselhos, carinho, amizade, confiança, apoio e eterno companheirismo.

Aos meus amigos de Lavras, Aninha, Mari e a saudosa turma 2006/1 e aos meus amigos de Campinas, Cíntia, Thamires, Letícia, Paula, Ana, Phaollo, Vivian e Júlia, que com certeza fizeram parte desta caminhada e estiveram ao meu lado nos momentos alegres e difíceis também.

Ao Rodolfo, uma pessoa muito especial que conheci em Campinas e contribuiu para minha adaptação nessa cidade, estando sempre ao meu lado e apoiando a finalização deste trabalho.

À Vanessa Martins da Silva pela co-orientação, conselhos e ensinamentos, contribuindo sempre para melhoria e enriquecimento deste trabalho, além da amizade e disponibilidade com que sempre me recebeu.

À Professora Miriam Dupas Hubinger pela orientação, atenção, compreensão e confiança em meu trabalho.

Ao apoio financeiro da FAPESP e CNPq e à CAPES pela bolsa de mestrado.

Aos funcionários, professores e alunos do Departamento de Engenharia de Alimentos e do Laboratório de Engenharia de Processos pelo espaço aberto e auxílio, que tornou possível a execução deste trabalho. À Gláucia, Mari, Nirse e Emílio meus colegas de laboratório.

À professora Rosiane Lopes da Cunha, professora Carmem Fávares Trindade, Renata Tonon e Izabela Dutra Alvim pelas contribuições para melhoria do meu trabalho, por meio de sugestões, correções e por aceitarem participar da minha banca.

E por fim, gostaria de lembrar e agradecer a Deus que tornou tudo isso possível e real, guiando e abençoando meus passos. Com certeza, nada aconteceu por acaso ou por sorte, mas sim, por vontade Dele.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	XVII
LISTA DE TABELAS.....	XXI
RESUMO.....	XXIII
ABSTRACT	XXV
1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA.....	1
2 OBJETIVOS	3
2.1 OBJETIVO GERAL	3
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	3
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	5
3.1 ÓLEO DE CAFÉ VERDE	5
3.2 FATOR DE PROTEÇÃO SOLAR.....	6
3.3 LEGISLAÇÃO	8
3.4 EMULSÕES	9
3.4.1 <i>Emulsões formadas por multicamadas.....</i>	<i>10</i>
3.5 MICROENCAPSULAÇÃO POR <i>SPRAY DRYING</i>	13
3.6 AGENTES EMULSIFICANTE E ESTABILIZANTE	15
3.7 OXIDAÇÃO.....	17
4 MATERIAL E MÉTODOS	19
4.1 MATÉRIA-PRIMA	19
4.2 AGENTES ENCAPSULANTES E OUTROS MATERIAIS.....	19
4.3 CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO DE CAFÉ VERDE	20
4.4 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	20
4.4.1 <i>Preparo das emulsões estabilizadas por lecitina-quitosana</i>	<i>21</i>
4.4.2 <i>Preparo das emulsões estabilizadas por lecitina</i>	<i>23</i>
4.5 CARACTERIZAÇÃO DAS EMULSÕES	24
4.5.1 <i>Estabilidade</i>	<i>24</i>
4.5.2 <i>Distribuição de tamanho e diâmetro médio das gotas</i>	<i>25</i>
4.5.3 <i>Microscopia ótica.....</i>	<i>25</i>

4.5.4	<i>Densidade de carga superficial</i>	25
4.5.5	<i>Comportamento reológico</i>	26
4.6	SECAGEM POR ATOMIZAÇÃO.....	26
4.7	EFICIÊNCIA DE ENCAPSULAÇÃO	27
4.7.1	<i>Quantidade de óleo na superfície e eficiência de microencapsulação</i>	27
4.8	CARACTERIZAÇÃO DAS MICROPARTÍCULAS	28
4.8.1	<i>Conteúdo de umidade e atividade de água</i>	28
4.8.2	<i>Distribuição de tamanho e diâmetro médio de partículas</i>	28
4.8.3	<i>Microestrutura</i>	29
4.9	FATOR DE PROTEÇÃO SOLAR.....	29
4.10	ANÁLISE DE OXIDAÇÃO.....	30
4.11	ANÁLISE DE RESULTADOS	31
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
5.1	CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO DE CAFÉ DE VERDE	33
5.2	CARACTERIZAÇÃO DAS EMULSÕES PRODUZIDAS EM CADA ETAPA	34
5.2.1	<i>Estabilidade</i>	34
5.2.2	<i>Distribuição de tamanho e diâmetro médio das gotas</i>	35
5.2.3	<i>Microscopia ótica</i>	36
5.2.4	<i>Densidade de carga superficial</i>	38
5.3	ANÁLISE DAS EMULSÕES APÓS A ADIÇÃO DOS MATERIAIS DE PAREDE	41
5.3.1	<i>Estabilidade</i>	41
5.3.2	<i>Distribuição de tamanho e diâmetro médio das gotas</i>	44
5.3.3	<i>Microscopia ótica das gotas das emulsões</i>	49
5.3.4	<i>Densidade de carga superficial</i>	51
5.3.5	<i>Comportamento reológico</i>	53
5.4	PROCESSO DE SECAGEM.....	60
5.4.1	<i>Conteúdo de umidade e atividade de água</i>	60
5.4.2	<i>Distribuição de tamanho e diâmetro médio de partículas</i>	62
5.4.3	<i>Eficiência de Encapsulação</i>	64
5.4.4	<i>Morfologia das micropartículas</i>	67

5.5 FATOR DE PROTEÇÃO	79
5.6 ESTABILIDADE OXIDATIVA	83
6 CONCLUSÃO.....	89
7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	91
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	93

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1 Grão de café verde	5
Figura 3.2 Representação da técnica de produção de emulsões multicamadas. Fonte: Guzey e McClements (2006).	11
Figura 4.1 Diagrama de fluxo das etapas de preparação das emulsões de óleo de café verde em água.	21
Figura 4.2 Spray Dryer utilizado nos ensaios de secagem.	27
Figura 5.1 Avaliação da estabilidade das emulsões estabilizadas por lecitina (A) e por lecitina-quitosana (B) produzidas após cada etapa.	34
Figura 5.2 Distribuição do tamanho de gota das etapas de preparo de emulsificação do óleo de café verde após a adição de lecitina e quitosana.	36
Figura 5.3 Microscopia ótica das emulsões formada após cada etapa: Óleo+Lecitina (A) e Óleo+Lecitina+Quitosana (B).	37
Figura 5.4 Teste de estabilidade em provetas de emulsões estabilizadas por lecitina-quitosana.	42
Figura 5.5 Teste de estabilidade em provetas de emulsões estabilizadas por somente lecitina. HiCap 100 (A), Snow-Flake (B), xarope de milho/HiCap 100 (C) e xarope de milho/Snow-Flake (D).	42
Figura 5.6 Separação de fases entre os componentes: óleo de café verde+lecitina (A) e xarope de milho+tampão (B).	44
Figura 5.7 Distribuição do tamanho de gotas das emulsões estabilizadas por lecitina-quitosana (A) e por lecitina (B) obtidas a partir de diferentes combinações de materiais de parede.	47
Figura 5.8 Microscopia ótica das emulsões estabilizadas por lecitina-quitosana com aumento de 100 vezes. Xarope de milho (A), HiCap 100 (B), Snow-Flake (C), xarope de milho/HiCap 100 (D) e xarope de milho/Snow-Flake (E).	50

Figura 5.9 Microscopia ótica das emulsões estabilizadas por lecitina com aumento de 100 vezes. HiCap 100 (A), Snow-Flake (B), xarope de milho/HiCap 100 (C) e xarope de milho/Snow-Flake (D).....	51
Figura 5.10 Curva de escoamento para as emulsões estabilizadas por lecitina-quitosana.	56
Figura 5.11 Curva de escoamento para as emulsões estabilizadas por lecitina.....	56
Figura 5.12 Curva de viscosidade <i>versus</i> taxa de deformação para as emulsões estabilizadas por lecitina-quitosana.	58
Figura 5.13 Curva de viscosidade <i>versus</i> taxa de deformação para as emulsões estabilizadas por lecitina.	59
Figura 5.14 Comparação entre as distribuições médias das micropartículas estabilizadas por lecitina-quitosana (A) e por lecitina (B) obtidas a partir de diferentes combinações de materiais de parede.	64
Figura 5.15 Eficiência de encapsulação das micropartículas estabilizadas por lecitina-quitosana e por lecitina. Letras minúsculas: comparação entre micropartículas produzidas pela mesma técnica (barras de mesma cor) e letras maiúsculas: comparação entre micropartículas com mesmo material de parede, porém técnicas diferentes (barras com cores diferentes). Letras iguais são tratamentos estatisticamente iguais a $p \leq 0,05$	65
Figura 5.16 Microestrutura externa das micropartículas estabilizadas por lecitina-quitosana de xarope de milho (A), HiCap 100 (B), Snow-Flake (C), xarope de milho/Hicap 100 (D) e xarope de milho/Snow-Flake (E) com aumento de 1.000 vezes.	68
Figura 5.17 Microestrutura externa das micropartículas estabilizadas por lecitina-quitosana de xarope de milho (A), HiCap 100 (B), Snow-Flake (C), xarope de milho/Hicap 100 (D) e xarope de milho/Snow-Flake (E) com aumento de 3.000 vezes.	69
Figura 5.18 Microestrutura externa das micropartículas estabilizadas por lecitina-quitosana de xarope de milho (A), HiCap 100 (B), Snow-Flake (C), xarope de milho/Hicap 100 (D) e xarope de milho/Snow-Flake (E) com aumento de 7.000 vezes.	70

Figura 5.19 Microestrutura externa das micropartículas estabilizadas por lecitina com HiCap 100 (A), Snow-Flake (B), xarope de milho/Hicap 100 (C) e xarope de milho/Snow-Flake (D) com aumento de 1.000 vezes.....	71
Figura 5.20 Microestrutura externa das micropartículas estabilizadas por lecitina com HiCap 100 (A), Snow-Flake (B), xarope de milho/Hicap 100 (C) e xarope de milho/Snow-Flake (D) com aumento de 3.000 vezes.....	72
Figura 5.21 Microestrutura externa das micropartículas estabilizadas por lecitina com HiCap 100 (A), Snow-Flake (B), xarope de milho/Hicap 100 (C) e xarope de milho/Snow-Flake (D) com aumento de 7.000 vezes.....	73
Figura 5.22 Microestrutura interna das micropartículas estabilizadas por lecitina-quitosana com xarope de milho (A), HiCap 100 (B), Snow-Flake (C), xarope de milho/HiCap 100 (D) e xarope de milho/Snow-Flake (E).....	78
Figura 5.23 Microestrutura interna das partículas estabilizadas por lecitina com HiCap 100 (A), Snow-Flake (B), xarope de milho/HiCap 100 (C) e xarope de milho/Snow-Flake (D). ...	79
Figura 5.24 Comparação do FPS das micropartículas estabilizadas por lecitina-quitosana (A) e por lecitina (B) obtidas a partir de diferentes combinações de materiais de parede. $EE(\lambda) \times I(\lambda)$ x Absorbância versus comprimento de onda.....	81

LISTA DE TABELAS

Tabela 4.1 Especificações e características do óleo de café verde fornecidas pelo fabricante.	19
Tabela 4.2 Formulações e seus respectivos materiais de parede.	23
Tabela 4.3 Composição da emulsão formada na terceira etapa de processamento.	23
Tabela 4.4 Composição da emulsão formada.	24
Tabela 4.5 Relação entre o efeito eritemogênico e a intensidade da radiação solar em comprimento de onda variando de 290 a 320 nm (MANSUR et al., 1986).	30
Tabela 5.1 Composição em ácidos graxos presentes no óleo de café verde.	33
Tabela 5.2 Diâmetro médio de gota das emulsões produzidas após cada etapa: Óleo+Lecitina e Óleo+Lecitina+Quitossana.	35
Tabela 5.3 Densidade de carga superficial das dispersões de lecitina e quitossana e das emulsões produzidas nas primeiras etapas antes da adição dos materiais de parede.	38
Tabela 5.4 Densidade de carga superficial dos materiais de parede dispersos em tampão pH 3,0.	40
Tabela 5.5 Diâmetro médio das gotas (μm) através do diâmetro $D_{[3,2]}$ associado aos diferentes materiais de parede utilizados no preparo das emulsões.	45
Tabela 5.6 Densidade de carga superficial das emulsões estabilizadas por lecitina-quitossana e por somente lecitina.	52
Tabela 5.7 Valores dos parâmetros obtidos pelo ajuste dos dados experimentais das emulsões estabilizadas por lecitina-quitossana ao modelo da Lei da Potência e ao modelo Newtoniano.	54
Tabela 5.8 Valores dos parâmetros obtidos pelo ajuste dos dados experimentais das emulsões estabilizadas por lecitina ao modelo da Lei da Potência e ao modelo Newtoniano.	55
Tabela 5.9 Conteúdo de umidade (% b.u.) e atividade de água das partículas estabilizadas por lecitina-quitossana e por lecitina.	61

Tabela 5.10 Diâmetro médio das partículas através do diâmetro $D_{[4,3]}$ estabilizadas por lecitina-quitosana e por lecitina.....	62
Tabela 5.11 Fator de Proteção Solar das micropartículas estabilizadas por lecitina-quitosana e por lecitina.....	80
Tabela 5.12 Eficiência de encapsulação das micropartículas estabilizadas por lecitina-quitosana e por somente lecitina, selecionadas para análise de oxidação pelo método Rancimat.....	83
Tabela 5.13 Tempo de indução obtido pelo método Rancimat para as microesferas estabilizadas por lecitina-quitosana e por lecitina e o óleo de café verde como controle.	84

RESUMO

O óleo de café verde merece destaque na área cosmética por sua capacidade de bloquear a radiação solar UVB (290-320 nm) e por suas propriedades emolientes. Nesse contexto, para melhor aproveitar as propriedades desse óleo e aumentar a sua estabilidade oxidativa, pretendeu-se com este trabalho produzir micropartículas de óleo de café verde, pelo processo físico de *spray drying*. Como agentes encapsulantes foram utilizados lecitina, um fosfolípideo de caráter aniônico quando em pH 3,0, quitosana, um polissacarídeo de caráter catiônico também em pH 3,0 e solúvel somente em sistemas ácidos diluídos, além de sólidos de xarope de milho ou amidos modificados derivados do milho, HiCap 100 e Snow-Flake. O preparo das emulsões foi feito através da técnica de estabilização por atração eletrostática de cargas opostas entre a lecitina e a quitosana. Com o propósito de se obter emulsões com dupla camada estáveis à separação de fase, foi utilizado um rotor-estator e um homogeneizador a alta pressão. As emulsões foram analisadas quanto à estabilidade, distribuição de tamanho e diâmetro médio das gotas, microscopia ótica, potencial zeta e comportamento reológico. As emulsões preparadas com Snow-Flake e xarope de milho/Snow-Flake (50/50) apresentaram comportamento pseudoplástico, além de apresentarem os maiores diâmetros de gota variando de 3,70 a 5,19 μm . Contudo, as emulsões com xarope de milho, HiCap 100 e xarope de milho/HiCap 100 (50/50) apresentaram comportamento de fluidos Newtonianos e diâmetros menores de gota, entre 1,15 e 1,51 μm . Para o processo de secagem foi utilizado um secador laboratorial do tipo mini *spray dryer*, com temperatura do ar de secagem de 170 °C. As micropartículas obtidas foram caracterizadas em relação ao conteúdo de umidade, atividade de água, distribuição de tamanho e diâmetro médio de partículas e microestrutura. Além disso, foram também determinados: a eficiência de encapsulação, o fator de proteção solar *in vitro* das micropartículas e estabilidade oxidativa pelo método Rancimat. As micropartículas apresentaram diâmetro entre 14,51 e 29,19 μm e excelentes valores de eficiência de encapsulação, superiores a 84%. As partículas produzidas com os amidos modificados apresentaram formato esférico sem rachaduras ou poros, já as micropartículas produzidas com somente xarope de milho apresentaram alguns poros e rachaduras, que causaram a menor estabilidade oxidativa dessas micropartículas. As micropartículas produzidas com HiCap 100 e xarope de milho/HiCap 100 (50/50) estabilizadas por lecitina-quitosana apresentaram maior estabilidade oxidativa. O fator de proteção das partículas variou entre 1,37 e 2,45, sendo de 2,12 para o óleo de café verde puro.

Palavras-chave: óleo de café; deposição eletrostática camada por camada; Rancimat; *spray dryer*.

ABSTRACT

The green coffee oil stands out for its ability to block the UVB radiation (290-320 nm) and its emollient property. In this context, to improve the properties of this oil and increase its stability, the aim of this work was to produce microparticles of green coffee oil by spray drying. Encapsulating agents used were lecithin, a phospholipid with anionic character at pH 3.0, chitosan, a polysaccharide with cationic character also in pH 3.0 and soluble only in diluted acid solutions and corn syrup solids or corn modified starches as HiCap 100 and Snow-Flake. Emulsions preparation involved the technique of stabilization by electrostatic attraction between lecithin and chitosan. A rotor-stator homogenizer and a high pressure homogenizer were used in order to obtain stable emulsions by electrostatic layer-by-layer deposition. The emulsions were analyzed in relation to stability, size distribution and droplet diameter, optical microscopy, zeta potential and rheological behavior. The emulsions prepared with Snow-Flake and corn syrup/Snow-Flake (50/50) showed pseudoplastic behavior, besides having the biggest droplet diameters ranging from 3.70 to 5.19 μm . However emulsions prepared with corn syrup, HiCap 100 and corn syrup/HiCap 100 (50/50) showed Newtonian behavior and smaller droplet diameters ranging from 1.15 to 1.51 μm . For the drying process, a laboratory spray dryer and air temperature of 170 $^{\circ}\text{C}$ were used. Microparticles were characterized with respect to moisture content, water activity, particle size distribution and microstructure. Furthermore, encapsulation efficiency, sun protection factor *in vitro* and oxidative stability by the Rancimat method were determined. The microparticles had a diameter ranging from 14.51 and 29.19 μm and high values of encapsulation efficiency, above 84%. The particles produced with modified starches showed spherical shape without cracks or pores and those produced with only corn syrup showed some holes and cracks, that caused lower oxidative stability of these microparticles. The microparticles produced with HiCap 100 and corn syrup/HiCap 100 (50/50) stabilized by lecithin-chitosan showed the highest oxidative stability. The sun protection factor of particles ranged from 1.37 and 2.45 and 2.12 for the pure green coffee oil.

Keywords: coffee oil; electrostatic layer-by-layer deposition; Rancimat; *spray dryer*.

1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

O café apresenta uma posição de destaque entre os produtos agrícolas e representa o segundo maior gerador de riquezas do mundo, depois do petróleo (NAIDU et al., 2008). O óleo de café extraído do grão ainda verde vem sendo utilizado pela indústria cosmética devido às propriedades emolientes de sua matéria insaponificável, principalmente os esteróis. Esse óleo promove boa hidratação da pele humana, rápida penetração e boa aderência em aplicações cosméticas, além de possuir ácidos graxos essenciais e antioxidantes. A extração a frio pela prensagem dos grãos verdes é o método mais utilizado para obtenção desse óleo. No entanto, a extração por solventes químicos proporciona um teor de óleo cerca de 30% maior que o obtido no processo a frio (TURATI, 2001; WAGEMAKER, 2009; WAGEMAKER et al., 2011).

Uma importante propriedade do óleo de café verde é a sua capacidade de proteção contra as radiações UVB. Essas radiações solares compreendidas entre os comprimentos de onda de 290 a 320 nanômetros são prejudiciais à saúde da pele humana, provocando eritemas ou queimaduras. Nesse sentido, sugere-se a utilização de óleo de café verde em formulações de filtros ou bloqueadores solares. Os filtros solares são classificados de acordo com o Fator de Proteção de Solar (FPS), que é por sua vez definido em função da radiação UVB; logo quanto maior o FPS maior será a proteção oferecida pelo produto (GROLLIER; PLESSIS, 1988; WAGEMAKER, 2009).

Embora o óleo de café verde apresente propriedades de absorção das radiações ultravioleta, ele é um óleo viscoso e líquido na temperatura ambiente, o que dificulta a sua utilização pela desvantagem de difícil espalhamento sobre a pele e conseqüentemente, difícil aplicação em alguns tipos de cosméticos (GROLLIER; PLESSIS, 1988; WAGEMAKER, 2009). A microencapsulação pelo método físico de *spray drying* é uma alternativa para transformar esse óleo na forma líquida, em pó, sem contudo perder seus princípios ativos, além de facilitar sua manipulação e aplicação em diversos produtos. Observam-se, entre os setores farmacêuticos e de cosméticos, fortes investimentos nesta tecnologia e aplicação de uma variedade de compostos encapsulados na formulação de seus produtos (AZEREDO, 2005).

No presente trabalho, o processo de secagem por *spray drying* consistiu na atomização de uma emulsão com dupla camada estabilizada por lecitina-quitosana. Esse tipo de emulsão apresenta vantagens como melhor proteção contra oxidação lipídica e maior estabilidade contra estresses ambientais, devido ao aumento da espessura da parede da partícula (GUZEY; MCCLEMENTS, 2006; MCCLEMENTS, 2004).

A formação das camadas se baseia no princípio de deposição eletrostática, onde os biopolímeros carregados eletricamente são capazes de se ligar à superfície das gotas da emulsão, na presença de cargas opostas. Esta tecnologia permite um maior controle das propriedades das membranas interfaciais e também de suas espessuras, ocasionando um aumento de custo, devido à utilização de ingredientes adicionais e de algumas etapas de processamento. Contudo, a indústria cosmética geralmente investe na utilização de técnicas com custo elevado, devido às possíveis melhorias e benefícios que podem ser proporcionados ao mercado consumidor atingido (AZEREDO, 2005; GUZEY; MCCLEMENTS, 2006; OGAWA; DECKER; MCCLEMENTS, 2004).

Existem vários trabalhos na literatura relacionados à microencapsulação por *spray drying* de emulsões formadas por multicamadas (GHARSALLAOUI et al., 2012a; GHARSALLAOUI et al., 2010; GUZEY; MCCLEMENTS, 2007; KLINKESORN et al., 2005a,b; KLINKESORN et al., 2006; OGAWA; DECKER; MCCLEMENTS, 2004; SHAW; MCCLEMENTS; DECKER, 2007). Entretanto, existem poucos estudos comparativos em relação à eficiência de encapsulação e estabilidade oxidativa de micropartículas formadas por dupla camada e daquelas constituídas por monocamada. Além disso, verifica-se também, ausência de trabalhos que utilizam a técnica de dupla camada com amidos modificados, na forma pura ou combinados com xarope de milho. Dessa forma, verifica-se a importância do estudo do processo de microencapsulação por *spray drying* do óleo de café verde, através de emulsões estabilizadas por lecitina-quitosana e por somente lecitina, a fim de aumentar a estabilidade oxidativa desse óleo, além de melhorar a sua possível aplicação na área cosmética.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Esse trabalho teve como objetivo produzir micropartículas de óleo de café verde, através do método físico de secagem em *spray dryer*. Como agentes encapsulantes foram utilizados xarope de milho e amidos modificados derivados do milho (HiCap 100 e Snow-Flake) na forma combinada (50/50) e também na forma pura, além de lecitina de soja e quitosana.

2.2 Objetivos específicos

- Estudar as etapas de preparo das emulsões, seguindo a sequência de estabilização do óleo de café verde por lecitina e quitosana, antes da adição dos materiais de parede;
- Produzir emulsões estabilizadas por lecitina-quitosana e sólidos de xarope de milho ou os amidos modificados HiCap 100 e Snow-Flake, usando como material de recheio, óleo de café verde;
- Caracterizar as emulsões produzidas em relação à estabilidade, distribuição de tamanho e diâmetro das gotas, microscopia ótica, densidade de carga superficial e comportamento reológico;
- Estudar comparativamente o processo de produção das micropartículas estabilizadas por lecitina-quitosana e somente por lecitina;
- Caracterizar as micropartículas de óleo, em relação à umidade, atividade de água, distribuição de tamanho e diâmetro de partículas, eficiência de encapsulação e microestrutura;
- Avaliar o fator de proteção solar *in vitro* das micropartículas produzidas com óleo de café verde;
- Avaliar a estabilidade à oxidação do óleo de café puro (controle) e das micropartículas.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Óleo de café verde

O cafeeiro é originário da Etiópia, centro da África, e foram os árabes os responsáveis pela propagação da cultura do café pelo mundo. Segundo dados da Associação Brasileira da Indústria de Café (ABIC, 2011), o Brasil é atualmente o maior produtor mundial de café, seguido pelo Vietnã e Colômbia. Os principais países importadores de café torrado e moído são os Estados Unidos e Itália e de café verde não torrado são os Estados Unidos e Alemanha.

A planta do café pertence à família Rubiaceae e ao gênero *Coffea*, o qual é composto por várias espécies (NAIDU et al., 2008). No entanto, as espécies responsáveis por quase 100% da produção de café no mundo e também pela maior preferência de consumo são *Coffea arabica*, aproximadamente 70%, e *Coffea canephora*, cerca de 30%, espécies popularmente conhecidas como café Arábica e café Robusta, respectivamente (WAGEMAKER et al., 2011).



Figura 3.1 Grão de café verde

O óleo de café verde extraído do grão não torrado (Figura 3.1) é um produto originalmente feito no Brasil, no entanto pouco divulgado, mas já utilizado na fabricação de cosméticos por empresas americanas e canadenses. A sua colheita é ainda verde, sendo o óleo obtido do grão por prensagem a frio e isento de solventes, para manter as suas características e compostos ativos (TURATTI, 2001). É um produto composto

principalmente por triglicerídeos e uma grande quantidade de matéria insaponificável, os diterpenos cafestol e caveol e ésteres (GROLLIER; PLESSIS, 1988; SPEER; KOLLING-SPEER, 2006). A fração lipídica do óleo é caracterizada principalmente por ácido palmítico (30,2% e 31,3%), ácido esteárico (8% e 5,9%), ácido oléico (10,6% e 12,5%) e ácido linoléico (46,3% e 44%), extraídos das espécies *C. arabica* e *C. canephora*, respectivamente (WAGEMAKER et al., 2011).

Devido à capacidade de absorção das radiações solares UVB, o óleo de café verde pode ser utilizado pela indústria cosmética na formulação de protetores ou filtros solares, porém quando torrado, esse complexo lipídico ativo perde um pouco dessa capacidade (GROLLIER; PLESSIS, 1988). A primeira referência que se conhece sobre o uso do óleo de café verde como protetor solar é a patente americana US 4793990 de Grollier e Plessis (1988).

De acordo com Turatti (2001), seria a matéria insaponificável presente no óleo o princípio ativo de propriedades cosméticas de penetração na pele, retenção de umidade e aderência. Contudo, quando aplicado na sua forma líquida na formulação de protetores solares apresenta dificuldade de espalhamento sobre a pele por ser um óleo viscoso e uma coloração escura inadequada para aplicação em cosméticos (GROLLIER; PLESSIS, 1988). Existe também outra patente do Instituto Nacional da Propriedade Industrial, código PI0304263-4, de Barrera-Arellano et al. (2003) sobre a utilização do óleo de grãos ou sementes de café (*Coffea arabica*) verde como potencializador da proteção solar em produtos cosméticos, capilares e farmacêuticos. Comparando as duas espécies mais populares, *C. arabica* e *C. canephora*, observou-se que a *C. arabica* é a mais indicada por apresentar o maior Fator de Proteção Solar (FPS) (WAGEMAKER, 2009; WAGEMAKER et al., 2011).

3.2 Fator de Proteção Solar

Conforme o regulamento técnico do Mercosul sobre protetores solares em cosméticos (ANVISA 2012 - RDC 30/12), define-se como Protetor Solar qualquer preparação cosmética produzida com a finalidade de entrar em contato com a pele e lábios para protegê-los contra a radiação UVB e UVA, absorvendo, dispersando ou refletindo a

radiação. Entende-se por Radiação Ultravioleta a região do espectro eletromagnético emitido pelo sol, compreendida entre os comprimentos de ondas de 200 a 400 nanômetros podendo ser dividida nas faixas UVC (200 – 290 nm), UVB (290 – 320 nm) e UVA (320 – 400 nm). Os protetores solares são compostos capazes de absorver as radiações ultravioletas, emití-las em outra forma, frequentemente na faixa do infravermelho, ocasionando a sensação de calor, e dessa forma, impedir a penetração dessas radiações na pele (RIBEIRO et al., 2004).

A radiação UVC apresenta efeito germicida, esterilizante e prejudicial à pele, no entanto essa radiação é quase totalmente absorvida na camada de ozônio. A radiação UVB é responsável por eritemas e queimaduras solares, no entanto, apenas uma pequena quantidade dessa radiação chega à superfície terrestre. Já a radiação UVA proporciona o bronzeamento da pele, não causa eritema e alcança a superfície terrestre em maiores quantidades do que a radiação UVB (FLOR; DAVOLOS; CORREA, 2007; RIBEIRO et al., 2004).

A eficiência de um protetor solar é medida por meio do Fator de Proteção Solar (FPS). Esse é definido através da capacidade de uma substância em absorver a radiação ultravioleta, especificamente a de bloquear os efeitos das radiações UVB, e prevenir eritemas. Sendo assim, o Fator de Proteção Solar (FPS) indica quantas vezes o tempo de exposição ao sol, com o uso do filtro, pode ser aumentado sem causar danos à pele humana (GÁLVEZ, 2010; WAGEMAKER et al., 2011).

Os componentes dos protetores solares são normalmente classificados em agentes orgânicos e agentes inorgânicos, filtros químicos e filtros físicos, respectivamente. Para uma eficiente proteção da pele contra danos solares é necessário que as loções protetoras sejam fotoestáveis, capazes de dissipar a energia absorvida através dos agentes físicos ou químicos, sem contudo, penetrar na pele e serem transportadas para dentro das células humanas, causando danos ao DNA. Além disso, devem reduzir a extensão das radiações solares UVA e UVB que podem alcançar e causar danos ao núcleo celular (SERPONE; DONDI; ALBINI, 2007).

3.3 Legislação

De acordo com o Guia para Avaliação de Segurança de Produtos Cosméticos fornecido pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2003), os produtos cosméticos podem ser formulados a partir de substâncias químicas, extratos de origem animal ou botânico, ou associação de ingredientes, como as fragâncias. Portanto, a avaliação de segurança do uso de qualquer um desses ingredientes, depende da categoria de risco oferecido por essas substâncias, podendo ser de grau 1, que são produtos com risco mínimo ou de grau 2, que são produtos com risco potencial. O produto cosmético deve ser seguro para o usuário nas condições normais ou previstas para sua utilização. Nesse sentido, a incorporação de um ingrediente na formulação de um cosmético deve ocorrer até o nível de concentração que ofereça uma margem de segurança adequada. As principais propriedades a serem avaliadas na segurança de um produto cosmético são: categoria do produto, condições de uso, concentração de cada ingrediente na formulação, quantidade de produto em cada aplicação, frequência de uso, tempo e local de contato direto do produto, consumidor alvo e possível utilização deste para outros fins. Em produtos com riscos desconhecidos são necessários testes *in vitro*, *in vivo*, seguido por testes clínicos.

Destaca-se também nesse guia a necessidade de se conhecer cada ingrediente utilizado na formulação dos cosméticos, no que diz respeito às suas características e dados toxicológicos, considerando-se os vários riscos potenciais associados a sua utilização, sendo essa uma medida para evitar possíveis problemas durante o seu desenvolvimento, bem como, com o produto final apresentado ao mercador consumidor. Além disso, deve-se atentar para três categorias de ingredientes, com relação à sua possibilidade de aplicação e nível aceitável de utilização, que são os corantes, conservantes e filtros solares.

De acordo com o *Food and Drug Administration* (FDA, 2005) de maneira geral, excluindo corantes e ingredientes que são proibidos ou restritos através de regulamentos para serem aplicados em cosméticos, pode-se utilizar qualquer ingrediente na formulação de um cosmético, desde que o ingrediente e o produto final apresentem-se seguros ao usuário.

De acordo com a ANVISA (2009), protetores ou bloqueadores solares são produtos de grau 2, ou seja, são produtos que possuem indicações específicas, cujas características

exigem comprovação de segurança e/ou eficácia, bem como informações e cuidados, modo e restrições de uso. Há no Brasil dois regulamentos técnicos específicos para protetores solares: a resolução - RDC n° 47, de 16 de março de 2006 que corresponde ao regulamento técnico “Lista de Filtros ultravioletas permitidos para produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes”; e a resolução n° 237, de 22 de agosto de 2002, correspondente ao regulamento técnico sobre protetores solares em cosméticos.

Segundo a ANVISA, em 2012, foram estabelecidas novas regras para os produtos de proteção solar seguindo os novos parâmetros adotados em todo MERCOSUL, sendo que os fabricantes terão o prazo de dois anos para se adequar à essas normas. O valor mínimo do Fator de Proteção Solar (FPS) antes considerado 2 aumentará para 6 e a proteção contra os raios UVA terá que ser pelo menos 1/3 do valor do FPS declarado no produto. Além disso, conforme a RDC 30/12, a ANVISA também estabeleceu o aumento nos níveis dos testes exigidos para comprovar a eficácia do protetor, como por exemplo, a resistência à água deverá ser comprovada por metodologias específicas, além das informações obrigatórias dos rótulos dos protetores, como a necessidade de reaplicação.

3.4 Emulsões

A formação de emulsões consiste na mistura de dois líquidos imiscíveis através do processo de homogeneização. A emulsão do tipo óleo em água (O/W) consiste em gotículas de óleo dispersas na fase aquosa, enquanto o contrário, ou seja, gotículas de água na fase dispersante de óleo consistem em uma emulsão de água em óleo (W/O) (MCCLEMENTS, 2005).

A estabilidade de uma emulsão é fortemente influenciada pelo tamanho das gotas formadas após o processo de homogeneização. As emulsões são frequentemente formadas por gotas de diferentes tamanhos, o que caracteriza a polidispersão. A separação gravitacional em emulsões pode ser caracterizada pelos mecanismos de cremação, onde as gotas de menor densidade tendem a se concentrar na superfície do líquido circundante e de sedimentação, onde as gotas de maior densidade que o líquido circundante tendem a se decantar. No entanto, há também outros processos de desestabilização de emulsões, como a coalescência que consiste na fusão de duas ou mais gotas acarretando a formação de uma

gota maior e a floculação, que ocorre quando duas ou mais gotas se juntam formando um aglomerado. Portanto, a incorporação de substâncias conhecidas como estabilizantes proporciona a obtenção de emulsões cineticamente estáveis e sem alterações de suas propriedades físico-químicas, durante o armazenamento por um período de tempo (MCCLEMENTS, 2007).

Para promover a estabilização das emulsões, geralmente são adicionados dois tipos de compostos: estabilizantes ou emulsificantes. Os emulsificantes são agentes tensoativos capazes de reduzir a tensão superficial na interface óleo-água e, ao adsorverem na superfície das gotas da emulsão, evitam o processo de agregação. Podem ser pequenas moléculas surfactantes, como os monoglicerídeos, polisorbatos ou macromoléculas, como as proteínas e lecitina. Os estabilizantes são componentes que conferem estabilidade às emulsões por longo período de tempo, como os polissacarídeos que possuem propriedade de modificação da viscosidade ou gelificação da fase contínua (DICKINSON, 2003; KLINKESORN et al., 2004; MCCLEMENTS, 2007).

3.4.1 Emulsões formadas por multicamadas

As emulsões convencionais apresentam uma tendência à instabilidade física diante de estresses ambientais, como aquecimento, refrigeração, congelamento, secagem, pH e força iônica, além de terem a capacidade de proteção e liberação controlada dos compostos funcionais comprometida pela fina espessura de sua membrana interfacial, proporcionando então, alta taxa de difusão molecular das substâncias encapsuladas (GHARSALLAOUI et al., 2012a). Emulsões formadas por multicamadas podem apresentar uma potencial aplicação pela indústria de alimentos e/ou cosméticos, pois este processo proporciona vantagens como a proteção das gotas da emulsão da oxidação lipídica ou agregação, o controle ou a liberação de ingredientes ativos, além de melhorar a estabilidade contra estresses do ambiente devido ao aumento da espessura da interface (GUZEY; MCCLEMENTS, 2006; MCCLEMENTS, 2004).

Entretanto, a técnica de preparo de emulsões com multicamadas ocasiona um aumento de custo do processo, devido à utilização de ingredientes adicionais às etapas de processamento. Estes custos adicionais podem ser justificados pela obtenção de produtos

com alto valor agregado e pelas melhorias da funcionalidade e/ou maior vida de prateleira que o processo pode proporcionar ao produto. É importante conhecer os princípios físico-químicos que direcionam a formação e propriedades nas interfaces das camadas da emulsão, para então, definir uma condição ideal de preparo para obter as propriedades desejadas nas emulsões com multicamadas (GUZEY; MCCLEMENTS, 2006).

Os biopolímeros carregados eletricamente são capazes de se ligar à superfície das gotas da emulsão na presença de cargas opostas (MCCLEMENTS, 2004). A adsorção de moléculas na emulsão, como proteínas, surfactantes iônicos, fosfolipídeos, alguns polissacarídeos ou pequenos íons faz com que a superfície das gotas formadas apresente uma carga elétrica. A presença desta carga na superfície determina a interação com outras substâncias ou o comportamento da emulsão diante de um campo elétrico (MCCLEMENTS, 2005).

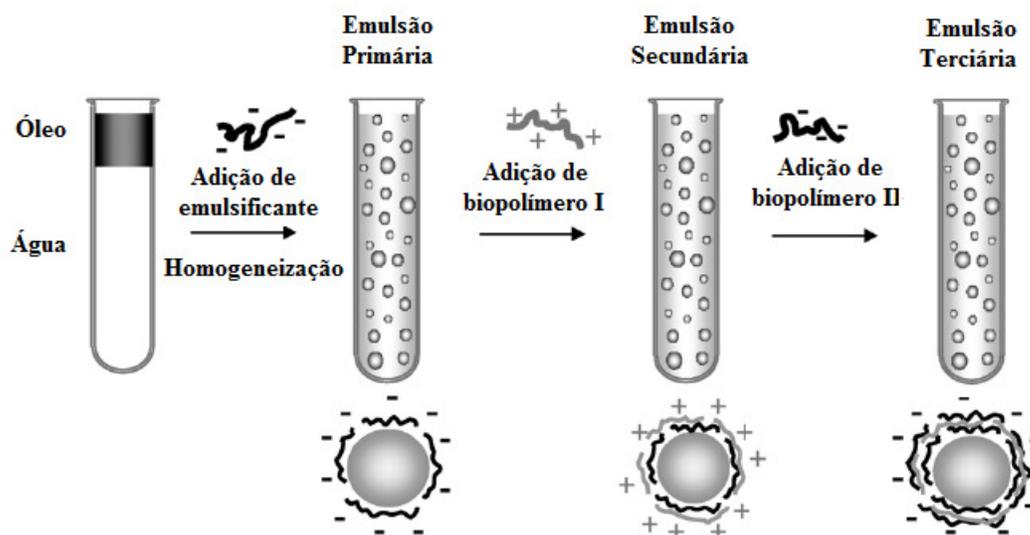


Figura 3.2 Representação da técnica de produção de emulsões multicamadas. Fonte: Guzey e McClements (2006).

Conforme pode ser visto na Figura 3.2, emulsões do tipo óleo em água (O/W) formadas com multicamadas são caracterizadas por gotas de óleo dispersas num meio

aquoso, onde cada gota é circundada por membranas constituídas normalmente por um emulsificante e um biopolímero carregado. Esta técnica tem como princípio a deposição eletrostática, onde a atração entre cargas opostas da solução e da superfície proporciona a formação das camadas (OGAWA; DECKER; MCCLEMENTS, 2004). Durante o processo de formação da emulsão é importante garantir que exista carga suficiente para cobrir toda a superfície das gotas e também que não haja excesso desta para promover a floculação, e além disso, que a adsorção seja mais rápida que a colisão entre as partículas do sistema. A formação e estabilidade das camadas dependem do tamanho e concentração do agente emulsificante e do biopolímero e também das condições de preparo da emulsão, como pH, força iônica, ordem de adição de seus componentes, temperatura e agitação (GUZEY; MCCLEMENTS, 2006).

Ogawa, Decker e McClements (2004) observaram através da medida do potencial zeta, que emulsões formadas por três camadas (lecitina/quitosana/pectina), em pH 3,0, tinham inicialmente uma carga positiva, devido à membrana formada por somente lecitina/quitosana, que foi alterada para negativa, à medida que a pectina era adicionada ao sistema. Ou seja, a emulsão primária formada por apenas óleo de milho e lecitina caracterizava uma superfície aniônica, que, com adição de quitosana se tornava catiônica, devido à interação lecitina-quitosana; a posterior adição de pectina na formação da terceira camada conferia caráter aniônico novamente.

A alteração do pH do meio aquoso interfere na presença das cargas na emulsão e na estabilidade das gotas. Quando se utilizam proteínas como emulsificantes, o ajuste do pH acima ou abaixo do ponto isoelétrico proporciona alteração do balanço total de cargas negativas ou positivas, respectivamente. Isto permite um controle na presença de cargas na superfície das camadas ou adaptação do emulsificante ao pH desejado da emulsão. É importante a escolha do emulsificante apropriado para a emulsão, pois sua estrutura, propriedades eletrostáticas, espessura e sensibilidade a fatores externos podem interferir na formação e estabilidade das camadas (GUZEY; MCCLEMENTS, 2006).

Diversas combinações de emulsões formadas por multicamadas estão descritas na literatura, destacando-se: lecitina/quitosana (SERFERT et al., 2011; SHAW; MCCLEMENTS; DECKER, 2007; KLINKESORN et al., 2005a,b; KLINKESORN et al.,

2006), lecitina/quitosana/pectina (OGAWA; DECKER; MCCLEMENTS, 2004), β -lactoglobulina/pectina (GUZEY; MCCLEMENTS, 2007) e caseinato de sódio/k-carragena (PERRECHIL; CUNHA, 2013).

Shaw, McClements e Decker (2007) produziram micropartículas de óleo rico em ω -3, a partir de emulsões com dupla camada de lecitina/quitosana e sólidos de xarope de milho, por *spray drying*. Os autores observaram maior estabilidade oxidativa das partículas produzidas por dupla camada reconstituídas, quando comparados com as partículas formadas por somente xarope de milho e lecitina. Além disso, verificaram também que as micropartículas formadas com emulsões de dupla camada, com maiores teores de sólidos de xarope de milho, apresentaram maior estabilidade física. Klinkerson et al. (2005b) verificaram que a adição de uma mistura de tocoferol e EDTA foi eficaz para aumentar a estabilidade oxidativa de óleo de atum microencapsulado por *spray drying*, obtido por emulsões estabilizadas por lecitina/quitosana, quando comparado sem o uso de antioxidantes. Em contrapartida, Serfert et al. (2011) produziram microesferas de óleo de peixe por *spray drying* usando somente uma camada de emulsão formada por lecitina e xarope de glicose, e observaram maior estabilidade oxidativa e eficiência de encapsulação destas microesferas, quando comparadas com aquelas produzidas a partir da emulsão com dupla camada estabilizada por lecitina/quitosana e xarope de glicose

Gharsallaoui et al. (2012a) verificaram que emulsões formadas com dupla camada de isolado protéico de ervilha/pectina e sólidos de xarope de milho (28 DE) foram capazes de reter maior *flavor* de morango (ésteres etílicos), durante o processo de secagem por *spray drying*, quando comparadas com emulsões formadas por somente isolado protéico de ervilha e xarope de milho (28 DE).

Dessa forma, de acordo com o que foi exposto anteriormente, a produção de emulsões constituídas por dupla camada pode vir a ser uma efetiva alternativa para melhorar a estabilidade de óleos microencapsulados (KLINKERSON et al., 2005a).

3.5 Microencapsulação por *spray drying*

Micropartículas são estruturas formadas por recheio, também denominado de material ativo, núcleo ou fase interna e pelo material de revestimento, conhecido também

por parede, carreador, membrana ou casca, que tem a finalidade de proteger o material de recheio através da encapsulação (GHARSALLAOUI et al., 2007; JYOTHI et al., 2010). O processo de microencapsulação permite que gotas ou partículas fiquem presas em um filme fino formado pelo material de parede, estabelecendo-se assim, uma barreira física entre o material ativo e os outros componentes do produto. O material ativo a ser encapsulado pode conter somente uma ou a combinação de várias substâncias, assim como o material de parede pode ser formado por uma ou mais camadas. A retenção de material ativo na micropartícula pode ser controlada por sua funcionalidade química, polaridade, solubilidade e volatilidade (GHARSALLAOUI et al., 2007).

Os métodos de encapsulação podem ser classificados em três grupos: métodos químicos (inclusão molecular e polimerização interfacial), físico-químicos (coacervação complexa ou simples) e métodos físicos (*spray drying*, *spray coating*, *spray chilling*, extrusão e leito fluidizado) (JAFARI et al., 2008; JYOTHI et al., 2010; SHAHIDI; HAN, 1993). A microencapsulação por *spray drying* é um processo relativamente barato e bastante utilizado para produção de micropartículas de fragrâncias, óleos, *flavors*, fármacos ativos, corantes e pigmentos. A aplicação deste processo proporciona melhor proteção de materiais sensíveis à alterações do ambiente, redução do conteúdo de umidade e atividade de água, proporcionando maior estabilidade microbiológica e química, redução de custos com transporte, obtenção de produtos com características desejadas como a solubilidade instantânea, mascaramento de propriedades sensoriais indesejadas como cor, odor ou sabor, controle liberado da substância de interesse, entre outras vantagens (GHARSALLAOUI et al., 2007; JYOTHI et al., 2010).

A operação unitária de secagem por *spray drying* consiste na atomização de uma emulsão, suspensão ou solução, em uma corrente de gás quente, geralmente ar ou gás inerte, onde ocorre a evaporação do solvente e o pó seco é obtido de maneira praticamente instantânea. O fluido de alimentação do secador *spray dryer* pode ser uma solução, emulsão ou suspensão e pode produzir um pó muito fino (10-50 μm) ou partículas de tamanho maior (2-3 mm), dependendo do tipo de material atomizado e das condições de operação de atomização. Em situações onde a viscosidade e a tensão superficial do material são altas favorecem a formação de partículas maiores. A transferência de calor ocorre devido à

diferença de temperatura entre o ar de secagem e o material alimentado no *spray dryer* e, em sentido oposto, devido à diferença de pressão de vapor, ocorre a transferência de umidade (GHARSALLAOUI et al., 2007).

De acordo com Jafari et al. (2008), a eficiência de encapsulação de um material é influenciada pelas propriedades dos materiais de revestimento ou do recheio, bem como pelas características da emulsão e parâmetros de secagem (temperatura do ar de entrada, tipo de bico atomizador, vazão da alimentação e características do material de recheio, entre outros).

A estabilidade da emulsão é um dos fatores mais importantes na eficiência do processo de encapsulação por *spray drying*, e vai depender da concentração de sólidos totais, da viscosidade da emulsão, do tamanho de gota e do método de emulsificação utilizado. Além disso, o tamanho das micropartículas, morfologia, porosidade, empacotamento do material ativo, retenção de voláteis e cinética de liberação do produto, após a secagem por *spray drying* dependem muito da estrutura original da emulsão (JAFARI et al., 2008; RÉ, 1998).

Portanto, para otimização do processo de microencapsulação por *spray drying* podem ser considerados quatro critérios: propriedades do material de parede, características do material ativo, constituição da emulsão e condições de operação do secador do tipo *spray dryer* (JAFARI et al., 2008).

3.6 Agentes emulsificante e estabilizante

A composição do material de revestimento é estabelecida principalmente pelo papel funcional da partícula e pela melhoria que este composto pode agregar a um ingrediente específico. As características desejáveis de um material de parede são: boas propriedades reológicas, como baixa viscosidade em alta concentração, capacidade para dispersar ou emulsificar o material de recheio e estabilizar a emulsão que será encapsulada, além da habilidade em manter e proteger o material ativo dentro da estrutura, durante o processamento ou estocagem, até o momento de sua liberação. Contudo, quase nenhum material de parede apresenta todas essas propriedades, então muitas vezes, são utilizados de maneira combinada. Entre os agentes encapsulantes, têm-se os carboidratos como os

amidos modificados e hidrolisados, maltodextrina, xarope de milho, quitosana e celulose, gomas como a goma arábica e a carragena e as proteínas como as proteínas do soro, caseinatos e gelatina (DESAI; PARK, 2005; JAFARI et al., 2008; SHAHIDI; HAN, 1993).

A lecitina, utilizada nesse trabalho como emulsificante, consiste numa mistura de fosfolípidios e apresenta um importante papel na estabilização de emulsões atuando na superfície da gota de óleo. Há décadas a lecitina proveniente da gema de ovo foi utilizada na fabricação de margarinas, entretanto, em nível comercial, o grão de soja corresponde à fonte mais comum de lecitina, nos dias de hoje (KRONG; SPARSO, 2004; SHAHIDI; HAN, 1993). Trata-se de um emulsificante que adquire caráter aniônico em sistema tamponado de pH 3,0, apresenta baixo peso molecular e quando presente em sistema óleo-água é rapidamente adsorvida, durante a homogeneização, pela superfície das gotas de óleo, conferindo uma interface de carga negativa (PARK et al., 2007; KLINKESORN et al., 2005a).

Quitina em sua forma comercial é obtida de crustáceos, como caranguejos e camarões. Quitina e quitosana são polímeros naturais que apresentam excelentes propriedades, como capacidade de absorção, biocompatibilidade, biodegradabilidade e não toxicidade, além de propriedades fungicidas e fungistática. Do processo de desacetilação da quitina obtêm-se a quitosana e como esse processo quase nunca é completo, verifica-se então, que a quitina apresenta o número de unidades de N-acetil-glicosamina maior que 50%; no entanto, se o número de unidades de N-glicosamina é maior que 50%, denomina-se quitosana. A quitina é bastante hidrofóbica, insolúvel em água e na maioria de ácidos orgânicos, entretanto, a quitosana apresenta-se solúvel em ácido diluídos, como o ácido acético (KHOR; LIM, 2003, MAJETI; KUMAR, 2000). A quitosana é um material bastante utilizado pelas indústrias farmacêutica, médica e alimentícia em processos de encapsulação ou imobilização de compostos ativos (ADAMIEC; MODRZEJEWSKA, 2005; SHAHIDI; HAN, 1993). Quando presente em sistemas ácidos de óleo-água emulsionados por lecitina, a quitosana por ser um polissacarídeo de caráter catiônico, é adsorvida à superfície das gotas da emulsão devido a atração eletrostática, formando então, uma membrana de carga positiva (PARK et al., 2007; SHAW; MCCLEMENTS; DECKER, 2007; KLINKESORN et al., 2005a; OGAWA; DECKER; MCCLEMENTS, 2004). Além disso, a quitosana não é

tóxica, apresenta boa compatibilidade com o organismo humano e vem sendo atualmente pesquisada para aplicações biomédicas (KHOR; LIM, 2003), além de capacidade de absorver radiações UV (ANUMANSIRIKUL et al., 2008).

Os produtos da hidrólise do amido são a maltodextrina e o xarope de milho, ambos utilizados como materiais de parede na microencapsulação por *spray drying* (HOGAN et al., 2001). Diferem entre si com relação ao peso molecular e são classificados de acordo com a dextrose equivalente (DE) que está relacionada ao grau de polimerização (DP), sendo $DE=100/DP$. A maltodextrina consiste em um oligossacarídeo formado por ligações α -(1-4) de D-glicose e apresenta DE menor que 20, no entanto se DE é maior que 20, tem-se o xarope de milho (SHAHIDI; HAN, 1993; BE MILLER; HUBER, 2008). De maneira geral, as maltodextrinas apresentam baixa higroscopicidade, não proporcionam sabor doce e são amplamente utilizadas para melhorar a viscosidade de produtos alimentícios. Já os xaropes de milho apresentam leve doçura e maior capacidade de absorver umidade (BE MILLER; HUBER, 2008).

Existem vários motivos que levam a modificação dos amidos de acordo com interesse para a sua aplicação. No caso dos amidos com poder emulsificante, são amidos quimicamente modificados onde foram incorporados grupos lipofílicos em sua estrutura, conferindo a esses materiais características de emulsificantes. Esses amidos têm apresentado excelente retenção de voláteis como matriz encapsulante para o processo de *spray drying*, além de apresentarem baixa viscosidade e promoverem excelente estabilidade às emulsões (SHAHIDI; HAN, 1993). De acordo com Ré (1998) a combinação de maltodextrina com amidos modificados, além de diminuir o custo do processo de encapsulação, melhora a capacidade de emulsificação do sistema.

3.7 Oxidação

Um dos processos mais importantes de deterioração de compostos lipídicos é a oxidação, tendo como principal consequência o desenvolvimento da rancidez pela formação de odores e *flavours* indesejáveis. Nesse sentido, garantir a estabilidade oxidativa é importante para a aceitação e qualidade de um produto ao longo de sua vida de prateleira (VERLEYEN; DYCK; ADAMS, 2005).

É importante conhecer os princípios e a complexidade das reações de oxidação lipídica e também os produtos dessas reações. A autooxidação é o processo mais comum em óleos e gorduras. O mecanismo de oxidação lipídica, baseado na teoria de radicais, começa com a presença de radicais livres de ácidos graxos insaturados e se inicia quando o radical livre ($R\bullet$) reage rapidamente com o oxigênio e forma os radicais de peróxidos ($ROO\bullet$). A partir de então, esses radicais de peróxidos se propagam em reação em cadeia com mais lipídios e levam à produção de hidroperóxidos ($ROOH$), os quais se decompõem rapidamente para formação de produtos de oxidação secundária (HALBAUT et al., 1997).

Os testes acelerados de oxidação baseados no aumento da temperatura e fluxo de oxigênio são bastante utilizados. Entre eles pode-se citar o método Rancimat que possibilita medir o índice de oxidação de lipídios, através dos ácidos voláteis formados durante a oxidação, que podem ser monitorados pela condutividade do meio composto por água destilada. O princípio do Rancimat basea-se no aquecimento do óleo ou partículas que contém óleo e passagem de ar que acelera o processo de oxidação. Primeiramente são formados os peróxidos, porém estes são instáveis e então são quebrados em produtos de oxidação secundária. A volatilização e condensação desses produtos em água fazem com que aumente a condutividade que está diretamente associada ao grau de oxidação (VERLEYEN; DYCK; ADAMS, 2005).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Matéria-prima

O óleo de café verde utilizado como material ativo foi adquirido da empresa Distriol Comércio de Insumos (São Paulo, Brasil). Segundo informações fornecidas pelo fabricante, este óleo foi obtido a partir do grão verde do café *Coffea arabica*, por prensagem a frio e posterior filtração. As características do óleo de café verde estão apresentadas na Tabela 4.1.

Tabela 4.1 Especificações e características do óleo de café verde fornecidas pelo fabricante.

Características	Valores
Densidade (25°C)	920 g/L
Índice de acidez (mg KOH/g)	5,61
Índice de peróxido (meq/kg)	2,51
Aspecto	Líquido viscoso
Cor	Marrom esverdeado
Odor	Característico

4.2 Agentes encapsulantes e outros materiais

Os materiais de parede utilizados foram: xarope de milho MOR-REX® 1930 (DE 26-30), HiCap 100® e Snow-Flake® E 6131 da empresa Ingredion Brasil Ingredientes Industriais Ltda (Mogi-Guaçu, Brasil); a lecitina de soja, como agente emulsificante, da empresa Sina Indústria de Óleos Vegetais Ltda (São Paulo, Brasil) e a quitosana de baixo peso molecular, da empresa Sigma-Aldrich Brasil Ltda (São Paulo, Brasil).

O xarope de milho MOR-REX® 1930 é um produto derivado do amido de milho e pode ser utilizado como umectante, agente de viscosidade ou controlador de dulçor. O Snow-Flake® E 6131 é um amido modificado obtido através da conversão química do amido de milho ceroso, caracterizado por um pó amarelo claro com propriedades hidrofílicas/lipofílicas, podendo ser utilizado na encapsulação de aromas e essências. Este amido é similar ao Capsul® que corresponde a um amido modificado também derivado do

milho ceroso. O HiCap 100® consiste em um amido modificado derivado também do milho, utilizado na encapsulação de óleos e *flavours*. Caracterizado por um pó fino e branco e que apresenta boa resistência à oxidação, além de boa capacidade de formar emulsões estáveis.

4.3 Caracterização do óleo de café verde

O óleo de café verde foi caracterizado em relação ao perfil de ácidos graxos. Para a determinação da composição do óleo em ácidos graxos foi adotada metodologia da AOCS (2004). As análises foram feitas utilizando um Cromatógrafo Gasoso Capilar CGC 68650 Series GC System (Agilent, EUA), equipado com uma coluna capilar DB-23 (50% cianopropil – metilpolisiloxano), com dimensões de 60 m x 0,25 mm x 0,25 µm (Agilent, EUA). A temperatura do forno foi mantida inicialmente à 110°C, por 5 min, depois programada com rampa de 5°C/min até 215°C, e depois mantida à temperatura de 215°C, por 24 min; a temperatura do injetor foi de 250 °C; a temperatura do detector de 280 °C; o volume de injeção foi de 1 µl e o fluxo do gás de arraste (hélio) de 1 mL/min. Essa análise foi realizada, em duplicata, no Laboratório de Óleos e Gorduras da Faculdade de Engenharia de Alimentos/Unicamp.

4.4 Procedimento experimental

Para melhor desenvolvimento do estudo da microencapsulação do óleo de café verde estabilizado por lecitina-quitosana ou por lecitina, bem como a avaliação da influência da utilização de diferentes combinações de materiais de parede na estabilidade oxidativa das microesferas, este projeto foi dividido em três etapas. A primeira etapa compreendeu o estudo de formação da dupla camada utilizando lecitina e quitosana. A segunda etapa consistiu no preparo, caracterização e secagem das emulsões e análise das micropartículas. Com base nos resultados obtidos nessa segunda etapa, foram selecionadas sete melhores formulações para realização da terceira etapa, caracterizada pela avaliação da estabilidade oxidativa pelo método Rancimat.

Os processos (preparo das emulsões e secagem) foram realizados em duplicata.

4.4.1 Preparo das emulsões estabilizadas por lecitina-quitosana

As emulsões estabilizadas por lecitina-quitosana foram preparadas com adaptações da metodologia de Klinkesorn et al. (2005b). Foram preparadas soluções tampão pela diluição em água de 2 mM de acetato de sódio e 98 mM de ácido acético e posterior ajuste do pH para 3,0.

A lecitina (3,72 % p/p) foi dispersa no tampão pH 3,0 e homogeneizada em rotor-estator (ULTRA TURRAX MA-102, Marconi, Piracicaba, Brasil), por aproximadamente 6 minutos ou até dispersão completa desse emulsificante a 16.000 rpm. A quitosana em pó foi dispersa em tampão em uma concentração de 1,2% (p/p). Os materiais de parede xarope de milho, HiCap 100, Snow-Flake, xarope de milho/HiCap 100 (50/50) e xarope de milho/Snow-Flake (50/50) na concentração de 64,8% p/p foram também dispersos em tampão pH 3,0. Posteriormente, os pH foram ajustados para 3,0 com HCl (0,02N) e mantidas por uma noite sob agitação magnética, para garantir completa dispersão.

As emulsões óleo em água foram produzidas em três etapas (Figura 4.1):

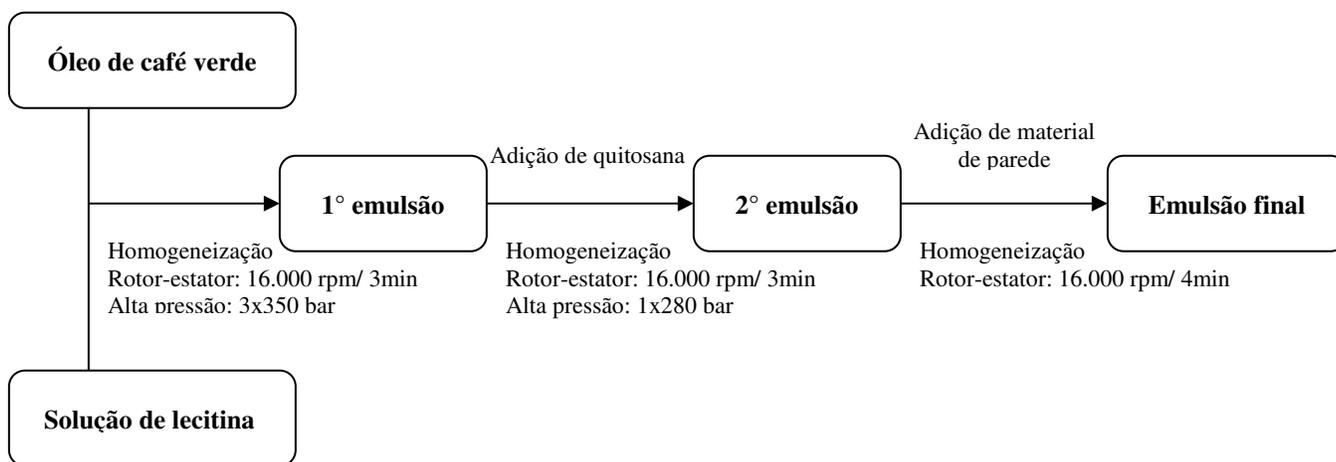


Figura 4.1 Diagrama de fluxo das etapas de preparação das emulsões de óleo de café verde em água.

Primeira etapa:

A partir da dispersão de lecitina preparou-se a emulsão inicial pela emulsificação de óleo de café verde 19,2% (p/p) em 80,80% (p/p) de dispersão de lecitina, a 3,72% (p/p). A homogeneização foi feita primeiramente em homogeneizador do tipo rotor-estator (ULTRA TURRAX MA-102, Marconi, Piracicaba, Brasil) por 3 minutos a 16.000 rpm, seguida por três passagens em homogeneizador de alta pressão (PANDA 2K - NS1001L, Niro Soave, Parma, Itália) a 350 bar (adaptações da metodologia de Klinkesorn et al., 2005b). Para realizar o processo de passagem da emulsão, uma parte da amostra coletada, após a primeira passagem, foi submetida ao processo de homogeneização mais duas vezes no mesmo nível de pressão. Dessa forma, a emulsão formada nessa etapa foi composta por 3% de lecitina e 19,2% de óleo de café verde, em relação à massa total de emulsão.

Segunda etapa:

Na sequência do processo de emulsificação, foi adicionada a dispersão de quitosana previamente preparada. Nessa etapa foi feita a diluição de 33,33% da dispersão de quitosana a 1,2% (p/p) em 66,67% (p/p) da emulsão formada na primeira etapa. A homogeneização foi feita em homogeneizador do tipo rotor-estator (ULTRA TURRAX MA-102, Marconi, Piracicaba, Brasil) por 3 minutos a 16.000 rpm, seguida por uma passagem em homogeneizador de alta pressão (PANDA 2K - NS1001L, Niro Soave, Parma, Itália) a 280 bar (adaptações da metodologia de Klinkesorn et al., 2005b). Dessa forma, a emulsão formada nessa etapa foi composta por 2% de lecitina, 0,4% de quitosana e 12,8% de óleo de café verde, em relação à massa total de emulsão.

Terceira etapa:

Essa última etapa foi feita pela diluição de 50% da emulsão formada na etapa anterior com 50% de cada dispersão de xarope de milho, HiCap 100 e Snow-Flake, sendo que os amidos modificados foram utilizados na forma pura ou combinada com xarope de milho (50/50) e homogeneizados em homogeneizador do tipo rotor-estator (ULTRA TURRAX MA-102, Marconi, Piracicaba, Brasil) por 4 minutos a 16.000 rpm (adaptações da metodologia de Klinkesorn et al., 2005b), como segue na Tabela 4.2:

Tabela 4.2 Formulações e seus respectivos materiais de parede.

Formulações	Materiais de Parede
I	Xarope de milho
II	HiCap 100
III	Snow-Flake
IV	Xarope de milho + HiCap 100 (50/50)
V	Xarope de milho + Snow-Flake (50/50)

A composição das emulsões obtidas na última etapa está apresentada conforme a Tabela 4.3.

Tabela 4.3 Composição da emulsão formada na terceira etapa de processamento.

Componentes	g/100 g de emulsão
Lecitina	1
Qitosana	0,2
Óleo de café verde*	6,4
Material de Parede	32,4

* óleo de café verde corresponde a 16% em relação a 40% de sólidos totais.

4.4.2 Preparo das emulsões estabilizadas por lecitina

As emulsões estabilizadas por lecitina foram produzidas seguindo o mesmo procedimento anterior, porém sem adicionar a dispersão de quitosana ao sistema. O óleo de café verde a 12,80% (p/p) foi emulsionado com a dispersão de lecitina a 2% e homogeneizado primeiramente no homogeneizador do tipo rotor-estator (ULTRA TURRAX MA-102, Marconi, Piracicaba, Brasil) por 3 minutos a 16.000 rpm, seguida por 3 passagens em homogeneizador de alta pressão (PANDA 2K - NS1001L, Niro Soave, Parma, Itália) a 350 bar. Na etapa seguinte 50% dessa primeira emulsão foi completada com 50% da dispersão de xarope de milho, HiCap 100 e Snow-Flake (65,2% p/p), na forma pura ou combinada (como mostrado na Tabela 4.2) e homogeneizada em homogeneizador

do tipo rotor-estator (ULTRA TURRAX MA-102, Marconi, Piracicaba, Brasil) por 4 minutos a 16.000 rpm. A composição da emulsão formada pode ser vista na Tabela 4.4.

Tabela 4.4 Composição da emulsão formada.

Componentes	g/100 g de emulsão
Lecitina	1
Óleo de café verde*	6,4
Material de Parede	32,6

* óleo de café verde corresponde a 16% em relação a 40% de sólidos totais.

4.5 Caracterização das emulsões

Inicialmente, foi feita a caracterização das emulsões a serem alimentadas no *spray dryer*. Essas emulsões foram caracterizadas quanto à estabilidade, distribuição de tamanho e diâmetro médio das gotas, microscopia ótica, densidade de carga superficial e comportamento reológico.

4.5.1 Estabilidade

Alíquotas de 25 mL de cada emulsão, imediatamente após a etapa de homogeneização, foram transferidas para provetas graduadas de 25 mL (diâmetro interno de 1,8 cm e altura de 16,5 cm), seladas e estocadas à temperatura ambiente por 24 horas. O volume da fase oleosa foi quantificado após 24 horas de preparo das emulsões. A estabilidade foi medida através da altura da fase superior em triplicata, sendo o índice de cremação (IC) descrito pela equação 4.1.

$$IC(\%) = \left(\frac{H}{H_0} \right) \times 100 \quad (4.1)$$

Onde: H_0 corresponde a altura inicial e H representa a altura da fase superior após 24 horas.

4.5.2 Distribuição de tamanho e diâmetro médio das gotas

A distribuição de tamanho e diâmetro médio das gotas de todas as emulsões foram determinadas pela utilização da técnica de espalhamento de luz por difração a laser, através do equipamento Mastersizer 2000 (Malvern Instruments Ltd, Malvern, Reino Unido). Essas medidas foram realizadas a 25 °C, logo após a homogeneização. O diâmetro médio foi determinado considerando-se o diâmetro médio de uma esfera de mesma área (Diâmetro médio superficial - $D_{[3,2]}$), apresentado na Equação 4.2. As amostras foram analisadas em quintuplicata, por via úmida, com dispersão em tampão pH 3,0, com índice de refração de 1,52.

$$D_{[3,2]} = \frac{\sum n_i d_i^3}{\sum n_i d_i^2} \quad (4.2)$$

Onde: d_i é o diâmetro das gotas e n é o número de gotas.

4.5.3 Microscopia ótica

Uma pequena porção da emulsão foi colocada em lâminas, as quais foram cobertas com lamínulas e observadas em um microscópio ótico Carl Zeiss (modelo Axio Scope A1, Gottingen, Alemanha) e visualizadas no aumento de 100x, com óleo de imersão.

4.5.4 Densidade de carga superficial

O potencial zeta (ζ) consiste na relação entre direção e velocidade do movimento das gotas da emulsão ou dispersão, em um campo elétrico bem definido. As emulsões e dispersões de lecitina, quitosana e materiais de parede foram diluídos em tampão pH 3,0, para uma concentração de aproximadamente 0,0025% (v/v) para a faixa de detecção do equipamento, segundo adaptações da metodologia de Ogawa, Decker e McClements (2004). A densidade de carga superficial das gotas das emulsões foi determinada através do medidor de potencial zeta (ζ), utilizando uma câmara de medição de microeletroforese (ZetaSizer Nano-ZS, Malvern Instruments Ltda, Worcestershire, Reino Unido). As medidas foram feitas em triplicata e em temperatura ambiente.

4.5.5 Comportamento reológico

A medida da viscosidade das emulsões foi feita através da determinação das curvas de escoamento. Os ensaios foram realizados em um reômetro Physica MCR301 (Anton Paar, Graz, Áustria). As medidas foram feitas em triplicata, em geometria de placa paralela de 75 mm de diâmetro e geometria lisa, com temperatura controlada em 25 °C por sistema Peltier e Gap de 0,5 mm. As emulsões foram avaliadas 24 horas após seu preparo. Os reogramas obtidos foram ajustados de acordo com modelos matemáticos empíricos para fluidos Newtonianos (Equação 4.3) e Lei da Potência (Equação 4.4). A viscosidade aparente das emulsões foi calculada como a relação entre a tensão de cisalhamento (σ) e a taxa de deformação ($\dot{\gamma}$).

$$\sigma = \dot{\gamma} \times \mu \quad (4.3)$$

$$\sigma = k \times \left(\dot{\gamma} \right)^n \quad (4.4)$$

Onde: μ corresponde à viscosidade (Pa.s); k corresponde ao índice de consistência (Pa.sⁿ) e n corresponde ao índice de comportamento.

4.6 Secagem por atomização

Foi utilizado um secador laboratorial com sistema de atomização (mini *spray dryer*) marca Labplant UK Ltd, modelo SD 06 (Hunmanby, Reino Unido), que possui uma câmara de secagem de 215 mm × 500 mm e um bico atomizador do tipo duplo fluido, com orifício de 0,5 mm de diâmetro (Figura 4.2). A alimentação do secador foi realizada através de uma bomba peristáltica, com vazão de 11,6 mL/min. A temperatura de saída do ar foi monitorada, para observar sua variação em função dos parâmetros adotados na alimentação do secador e das características do produto final. A vazão do ar de secagem foi de 300 m³/h, a pressão do ar comprimido variável de 2 a 4 bar e a vazão do ar comprimido de 2 a 1,7 m³/h, respectivamente. A temperatura do ar de secagem do equipamento é ajustável até 250 °C, porém para os ensaios foi utilizada a temperatura de 170 °C (FRASCARELI et al., 2012).



Figura 4.2 Spray Dryer utilizado nos ensaios de secagem.

4.7 Eficiência de encapsulação

Após a formação das partículas no *spray dryer*, determinou-se a eficiência de encapsulação, sendo que a quantidade de óleo total foi considerada igual à quantidade de óleo inicial na emulsão, pois trata-se de um óleo não volátil.

4.7.1 Quantidade de óleo na superfície e eficiência de microencapsulação

A quantidade de óleo não encapsulado presente na superfície das microesferas foi determinada através do método descrito por Bae e Lee (2008). Quinze mililitros de hexano foram adicionados a 1,5 g de pó em um frasco de vidro com tampa e agitado manualmente para extração do óleo livre, por dois minutos à temperatura ambiente. A mistura do solvente foi filtrada através de um filtro de papel Whatman número 1. O pó coletado no filtro foi “lavado” três vezes com 20 mL de hexano. Em seguida, foi realizada a evaporação do solvente primeiramente em temperatura ambiente, seguida por secagem em estufa a 60 °C até atingir peso constante. A quantidade de óleo não microencapsulada foi determinada pela diferença de massa antes e depois da extração com hexano e a eficiência de microencapsulação (EE) foi calculada a partir da Equação 4.5.

$$EE = \frac{(\text{Óleo}_{Total} - \text{Óleo}_{Superfície})}{\text{Óleo}_{Total}} \times 100 \quad (4.5)$$

Sendo que Óleo_{Total} é a quantidade de óleo total utilizado na emulsão e $\text{Óleo}_{Superfície}$ é a quantidade de óleo extraído da superfície das micropartículas.

4.8 Caracterização das micropartículas

As partículas foram caracterizadas de acordo com o conteúdo de umidade, atividade de água, distribuição de tamanho e diâmetro médio de partículas e microestrutura.

4.8.1 Conteúdo de umidade e atividade de água

O conteúdo de umidade das partículas foi determinado gravimetricamente, por secagem em estufa de circulação forçada a 105°C. A análise foi feita em triplicata, onde 1 g de amostra, por replicata, foi levada em estufa até atingir peso constante (AOAC, 1997). A atividade de água foi medida em um higrômetro digital Aqualab modelo series 3TE (Decagon, Pullman, EUA), a 25°C.

4.8.2 Distribuição de tamanho e diâmetro médio de partículas

A distribuição de tamanho e diâmetro médio de partículas foram determinadas por um analisador de tamanho de partículas por difração a laser no equipamento Mastersizer 2000 (Malvern Instruments Ltd, Malvern, Reino Unido). O diâmetro médio foi determinado baseando-se no diâmetro médio de uma esfera de mesmo volume, o diâmetro de De Brouckere $D_{[4,3]}$, conforme apresentado na Equação 4.6. As amostras foram analisadas em quintuplicata, por via úmida, com dispersão em etanol 99,5%.

$$D_{[4,3]} = \frac{\sum_{i=1}^n n \cdot d_i^4}{\sum_{i=1}^n n \cdot d_i^3} \quad (4.6)$$

Onde: d_i é o diâmetro das partículas e n é o número de partículas.

4.8.3 Microestrutura

As análises de microscopia eletrônica de varredura foram realizadas de acordo com os procedimentos descritos por Rosemberg e Young (1993). As amostras foram fixadas em porta-espécimes metálicos (*stubs*) de 12 mm de diâmetro e 10 mm de altura, através do uso de uma fita adesiva. Para obtenção de imagens do interior das paredes e dos poros das micropartículas foi feita uma raspagem manual em metade da amostra fixada no *stub*. Após essa etapa, seguiu-se para o recobrimento das amostras através do processo de evaporação de ouro a vácuo em um aparelho metalizador Sputter Coater POLARON SC7620, VG Microtech (Uckfield, Inglaterra.) à uma taxa de recobrimento de 0,17 Å/mA.volt.s, por 180 segundos, com corrente de 3 mA, 1 Volt, portanto espessura de 92 Å. As amostras metalizadas foram mantidas em um suporte fechado, dentro de um dessecador, até o momento da observação no microscópio eletrônico de varredura LEO 440i - 6070 (LEICA Electron Microscopy Ltd., Cambridge, Inglaterra), operando com 15 kV e corrente de feixe igual a 150 pA. A aquisição das imagens foi realizada pelo LEO software, versão 3.01.

4.9 Fator de Proteção Solar

O fator de proteção solar (FPS) *in vitro* das micropartículas de óleo de café verde foi determinado pelo método espectrofotométrico desenvolvido por Mansur et al. (1986), com modificações. O óleo de café puro foi dissolvido em álcool etílico na concentração de 0,2 µl/mL e as micropartículas (0,1187 g) sem remover o óleo superficial foram solubilizadas em 20 ml de água deionizada e depois dissolvidas em álcool em balão de 100 ml para obter a mesma concentração de óleo. Para extração do óleo presente nas microesferas, as amostras foram centrifugadas por 30 minutos a 10000 rpm e filtradas em papel de filtro quantitativo J. Prolab (JP42 - diâmetro de poros 8 µm) para remoção de todo material de parede. O material filtrado foi submetido à leitura espectrofotométrica em espectrofotômetro UV/VIS modelo SP-220 (Biospectro/Merse, São Paulo, Brasil) através de cubeta de quartzo de 1,0 cm de caminho óptico, na faixa de 290 a 320 nm, com intervalos de 5 nm. As absorbâncias obtidas foram adicionadas na Equação 4.7 (MANSUR et al., 1986) e então obtido o FPS espectrofotométrico *in vitro*. O álcool etílico absoluto foi utilizado como controle e o experimento foi realizado em duplicata.

$$FPS_{\text{espectrofotométrico}} = FC \cdot \sum_{290}^{320} EE(\lambda) \cdot I(\lambda) \cdot Abs(\lambda) \quad (4.7)$$

Onde: FC = fator de correção (FC=10), $EE(\lambda)$ = efeito eritemogênico da radiação; $I(\lambda)$ = intensidade do sol e $Abs(\lambda)$ = leitura espectrofotométrica da absorbância da solução do filtro solar. A relação $EE(\lambda) \times I(\lambda)$ está apresentada na Tabela 4.5:

Tabela 4.5 Relação entre o efeito eritemogênico e a intensidade da radiação solar em comprimento de onda variando de 290 a 320 nm (MANSUR et al., 1986).

Comprimento de onda (nm)	$EE(\lambda) \times I(\lambda)$
290	0,0150
295	0,0817
300	0,2874
305	0,3278
310	0,1864
315	0,0839
320	0,0180
Total	1,0002

4.10 Análise de oxidação

O método Rancimat é amplamente aceito para a determinação da estabilidade à oxidação de gorduras e óleos e também pode ser utilizado para determinar a estabilidade à oxidação de sólidos que contêm gorduras ou óleos. Os produtos voláteis da oxidação das micropartículas e do óleo de café verde foram avaliados de acordo com o tempo de indução mensurado pela condutividade proporcionada pelos produtos formados durante a oxidação. O sistema permite avaliar o período de indução da curva $K=f(t)$, onde K é a condutividade expressa em $\mu\text{S/cm}$ e o tempo em horas (t). O tempo de indução é definido pelo tempo necessário para atingir o ponto de inflexão na curva, o qual é calculado pela intersecção da reta tangente à curva projetada ao longo do eixo do tempo. As análises foram realizadas no equipamento Biodiesel Rancimat 873 (Metrohm, Herisau, Switzerland) em duplicata, utilizando-se cerca de 2 gramas de amostra (micropartículas e óleo de café verde), para

cada tratamento. A temperatura utilizada foi de 120 °C e o fluxo de ar foi de 20 litros/ hora. Essa análise foi realizada na Central Analítica da Faculdade de Química/UNICAMP.

4.11 Análise de resultados

Os resultados obtidos para as diferentes emulsões e microesferas foram analisados por Análise de Variância utilizando-se o Software Statistica 8,0 (Statsoft, Tulsa, EUA). O Teste de Tukey foi utilizado para a análise de diferença de médias, com $p \leq 0,05$.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização do óleo de café de verde

A caracterização do óleo de café verde foi feita através da determinação da composição de ácidos graxos presentes no óleo, de acordo com a metodologia descrita no item 4.3. Os ácidos graxos determinados estão apresentados na Tabela 5.1.

Tabela 5.1 Composição em ácidos graxos presentes no óleo de café verde.

Ácido graxo (% m/m)	Área (%)
C14:0 - Mirístico	0,09
C15:0 - Pentadecanóico	0,04
C16:0 - Palmítico	31,46
C16:1 - Palmitoléico	0,05
C17:0 - Magárico	0,13
C18:0 - Esteárico	7,82
C18:1 - Oléico	10,19
C18:2 - Linoléico	44,31
C18:3 - Linolênico	1,51
C20:0 - Araquídico	3,00
C20:1 - Gadoléico	0,32
C22:0 - Behênico	0,78
C24:0 - Lignocérico	0,30

*Cx:y - onde x número de carbonos e y número de ligações duplas.

Os dados apresentados na Tabela 5.1 mostram que o óleo de café verde apresenta um alto teor de ácidos graxos saturados e insaturados, onde o ácido graxo insaturado em maior proporção corresponde ao ácido linoléico (44,31%), seguido pelo ácido palmítico (31,46%) que corresponde a um ácido graxo saturado e em menores proporções os ácidos oléico (10,19%) e esteárico (7,82%). Esses dados estão de acordo com os apresentados por Wagemaker et al. (2011) e Turatti (2001) para o óleo de café verde, onde as proporções de

ácidos graxos encontradas foram próximas dos valores descritos na Tabela 5.1, considerando que as pequenas variações podem ter sido ocasionadas por variações nas condições das colheitas dos grãos de café e também pelo método de extração.

5.2 Caracterização das emulsões produzidas em cada etapa

As emulsões produzidas nas diferentes etapas foram caracterizadas de acordo com a estabilidade, distribuição de tamanho e diâmetro médio das gotas, microscopia ótica e densidade de carga superficial.

5.2.1 Estabilidade

A estabilidade das emulsões produzidas em cada etapa, primeira etapa óleo e lecitina e segunda etapa óleo, lecitina e quitosana, foi avaliada conforme descrito no item 4.5.1 e pode ser observado na Figura 5.1.

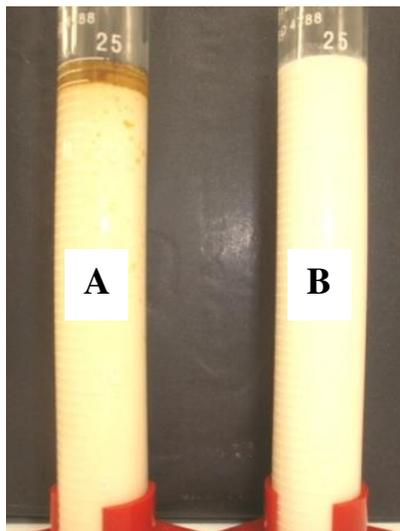


Figura 5.1 Avaliação da estabilidade das emulsões estabilizadas por lecitina (A) e por lecitina-quitosana (B) produzidas após cada etapa.

De acordo com a Figura 5.1, o óleo de café verde emulsionado somente por lecitina apresentou uma separação de fase ($IC=8,1\% \pm 0,2$), após 24 horas de preparo. No entanto, a adição de quitosana no sistema inicial formado pelo óleo+lecitina, proporcionou maior

estabilidade a essa primeira etapa; dessa forma, não foi verificada nenhuma separação de fase (IC=0,0) nessa segunda etapa. É interessante observar a influência da quitosana no processo de estabilidade das emulsões, pois após a segunda etapa, houve uma terceira etapa onde foram adicionados os seguintes materiais de parede: xarope de milho, HiCap 100, Snow-Flake, na forma pura ou combinados.

O índice de cremeação fornece informações indiretas sobre a extensão de agregação da emulsão, sendo que, maiores índices de cremeação, indicam que ocorreu maior agregação das gotas de óleo (GHARSALLAOUI et al., 2012b).

5.2.2 Distribuição de tamanho e diâmetro médio das gotas

As emulsões produzidas nas duas primeiras etapas, antes da adição dos materiais de parede, foram submetidas à análise de distribuição de tamanho e diâmetro médio das gotas conforme descrito no item 4.5.2. Na Tabela 5.2 estão descritos os valores dos diâmetros e na Figura 5.2 estão apresentadas as curvas da distribuição do tamanho das gotas, nas duas etapas de preparo da emulsão.

Tabela 5.2 Diâmetro médio de gota das emulsões produzidas após cada etapa:

Óleo+Lecitina e Óleo+Lecitina+Quitosana.	
Etapas de preparo	Diâmetro médio de gota [μm]
Óleo+Lecitina	3,63 \pm 0,30 ^a
Óleo+Lecitina+Quitosana	1,44 \pm 0,02 ^b

Inicialmente o óleo de café verde foi emulsionado por lecitina, através do homogeneizador rotor-estator, seguido por três passagens em homogeneizador de alta pressão a 350 bar (Klinkesorn et al., 2005b), sendo então, medido o diâmetro médio das gotas após esse procedimento. Observou-se que as gotas de óleo apresentaram maior diâmetro (3,63 μm) quando comparadas com a etapa seguinte (1,44 μm), na qual foi adicionada a quitosana (Tabela 5.2). O maior diâmetro médio das gotas da primeira etapa constituída por óleo+lecitina está relacionado à maior instabilidade da emulsão, proporcionando a rápida coalescência das gotas logo após o processo de homogeneização.

No entanto, a adição da quitosana à primeira etapa, seguida por uma passagem em homogeneizador de alta pressão a 280 bar (Klinkesorn et al., 2005b), resultou na formação de gotas com menor diâmetro, além de manter o sistema mais estável como apresentado na Figura 5.1.

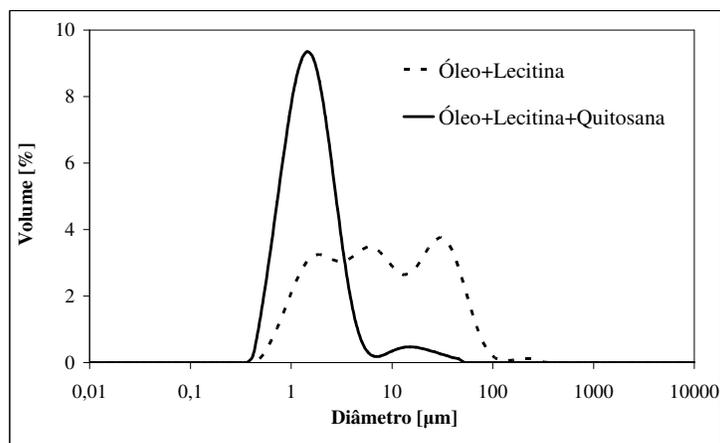


Figura 5.2 Distribuição do tamanho de gota das etapas de preparo de emulsificação do óleo de café verde após a adição de lecitina e quitosana.

Observa-se que a distribuição do tamanho das gotas obtida pela etapa formada por óleo+lecitina+quitosana (Figura 5.2) apresentou comportamento bimodal. O pico maior apresenta a maior fração volumétrica de gotas caracterizada pelo diâmetro médio com valor próximo a 1 µm e o pico menor caracteriza uma fração volumétrica menor com gotas maiores. A ocorrência desse segundo pico pode ser relacionada ao processo de coalescência ou floculação das gotas, em virtude do baixo teor de sólidos dessa pré-emulsão (0,4% de quitosana e 2% de lecitina). No caso da distribuição do tamanho das gotas obtidas da emulsão constituída pelo óleo+lecitina verifica-se uma grande distribuição de tamanho, variando de 1 a 100 µm, o que era esperado, devido à alta instabilidade dessa etapa.

5.2.3 Microscopia ótica

A microscopia ótica das emulsões formadas na primeira e segunda etapa foi realizada para melhor caracterização dessas etapas, antes da adição dos materiais de parede.

As imagens apresentadas na Figura 5.3 ilustram as gotas de óleo estabilizadas por lecitina (A) e por lecitina-quitosana (B), através das microscopias óticas, conforme apresentado no item 4.5.3.

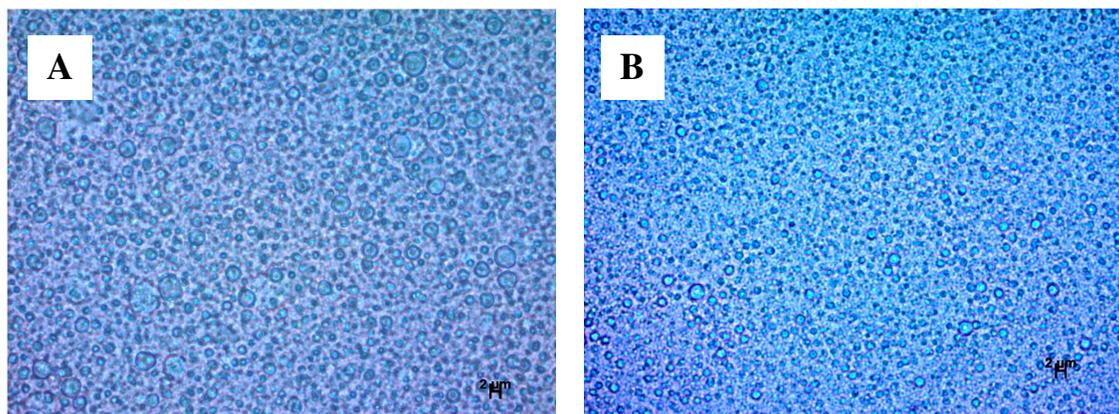


Figura 5.3 Microscopia ótica das emulsões formada após cada etapa: Óleo+Lecitina (A) e Óleo+Lecitina+Quitosana (B).

Como já exposto na Tabela 5.2, pode-se visualizar na Figura 5.3 a diferença de diâmetro das gotas entre as duas etapas de preparo das emulsões. Observou-se a formação de gotas maiores e de tamanhos variados na etapa em que o óleo foi estabilizado por somente lecitina a 350 bar (Figura 5.3 A) e gotas menores e uma distribuição mais homogênea na etapa em que o óleo foi estabilizado por lecitina e quitosana a 280 bar (Figura 5.3 B).

Mantovani (2012) trabalhando com emulsão composta por óleo de soja estabilizada por lecitina e isolado protéico de soro de leite observou que o aumento da pressão de homogeneização de 250 para 600 bar proporcionou uma diminuição do diâmetro $D_{[3,2]}$ das gotas, contribuindo assim, para maior estabilidade da emulsão. Já as emulsões estabilizadas por somente lecitina homogeneizadas a 600 bar apresentaram maior polidispersão e maiores diâmetros de gota. Além disso, as emulsões estabilizadas por somente isolado protéico de soro de leite apresentaram gotas com diâmetros maiores na maior pressão de homogeneização (600 bar). Dessa forma, a pressão de homogeneização está diretamente relacionada aos mecanismos de desestabilização de sistemas emulsionados, visto que a

ocorrência de coalescência ou floculação é mais intensa em condições mais severas de processamento.

5.2.4 Densidade de carga superficial

A densidade de carga superficial das etapas de preparo foi determinada de acordo o descrito no item 4.5.4 e está apresentada na Tabela 5.3.

Tabela 5.3 Densidade de carga superficial das dispersões de lecitina e quitosana e das emulsões produzidas nas primeiras etapas antes da adição dos materiais de parede.

Materiais	Potencial zeta (mV)
Dispersão de lecitina (0,0025 % v/v, pH 3,0)	-19,50±0,40
Dispersão de quitosana (0,0025 % v/v, pH 3,0)	+33,0±0,70
Emulsão óleo+lecitina (0,0025 % v/v, pH 3,0)	-29,6±0,70
Emulsão óleo+lecitina+quitosana (0,0025 % v/v, pH 3,0)	+66,70±0,80

De acordo com a Tabela 5.3, observa-se que a dispersão da lecitina e quitosana, em tampão pH 3,0, proporcionou a formação de cargas negativas e positivas, respectivamente. Esse comportamento era esperado, pois a lecitina corresponde a um fosfolípido iônico e seu comportamento de dissociação varia em função do pH do meio em que está dispersa (FELLOWS, 2006). Além disso, sabe-se que o pKa do grupo fosfato da lecitina encontra-se em torno de 1,5 e que o pKa da quitosana entre 6,2 e 7,0 e estando esses dois compostos em meios ácidos, como em pH 3,0, é possível garantir a protonação do grupo amino da quitosana (NH_3^+) apresentando assim, caráter catiônico e a completa dissociação da lecitina, mantendo então, caráter aniônico por estar acima do seu valor de pKa (Chuah et al., 2009). Mantovani (2012) avaliou o potencial zeta da lecitina dispersa em água (0,05%) em diferentes valores de pH (3; 5,5 e 7) e observou que a lecitina apresentou caráter aniônico, em torno de -40 mV, em todos os pH avaliados.

Além disso, verificou-se também que as gotas de óleo de café verde mantiveram a superfície com carga negativa, mesmo após o primeiro processo de emulsificação com a lecitina, o que pode estar relacionado com presença de ácidos graxos livres e também com a

adsorção de fosfolipídio aniônico sobre as gotas. No entanto, ao adicionar a solução de quitosana na sequência do processo de emulsificação, a superfície das gotas adquiriu caráter positivo. A mudança de cargas de negativa para positiva sugere que as moléculas catiônicas de quitosana se aderiram à superfície aniônica das gotas de óleo por atração eletrostática, constituindo, portanto uma segunda camada.

Através do potencial zeta pode-se inferir sobre a estabilidade dos sistemas emulsionados, dispersões ou suspensões. Trata-se de uma medida baseada na repulsão ou atração entre as cargas das partículas, trazendo, portanto, dados relacionados à agregação ou floculação. Um sistema pode ser considerado estável em potenciais zeta maiores que -30 mV e +30 mV. Logo, como mostrado na Figura 5.1, o sistema constituído por óleo+lecitina+quitosana, apresentou-se bastante estável, fato esse comprovado pelo potencial zeta (+66,70). De acordo com Chuah et al. (2009), em valores de potencial zeta acima de +60 mV pode-se dizer que o sistema apresenta excelente estabilidade.

Ogawa, Decker e McClements (2004) observaram que a emulsão primária constituída por óleo de milho estabilizada por lecitina, apresentava cargas negativas na faixa de pH de 3 a 8. No entanto, com a adição de quitosana o potencial zeta da emulsão foi para +38 mV, estando o meio em pH 3,0. Esses autores verificaram que à medida que aumentava o valor do pH do meio, o balanço global de cargas da emulsão diminuía as cargas positivas, de maneira que acima do pH 5, o balanço global se tornava negativo. Além disso, observaram também, que ao adicionar pectina, o potencial zeta da emulsão em pH 3,0 foi ligeiramente positivo (+8 mV) sugerindo que as cargas negativas da pectina foram insuficientes para superar a alta carga positiva da superfície lecitina-quitosana.

A escolha do emulsificante é que determina a característica elétrica da primeira camada nas gotas da emulsão, pois suas propriedades elétricas variam e influenciam a formação dessas interfaces. A forte atração eletrostática permite a formação de camadas seguintes, devido à adsorção de polieletrólitos de cargas opostas presentes na superfície das gotas. Sendo o número de polieletrólitos maior do que o necessário para neutralizar os da superfície, isso induz, conseqüentemente, à inversão de cargas (GUZEY; MCCLEMENTS, 2006).

O comportamento dos materiais de parede na forma pura e combinada também foi analisado, em tampão pH 3,0, com relação à densidade de carga superficial, conforme apresentado na Tabela 5.4. Todos os materiais de parede apresentaram comportamento semelhante quando dispersos em tampão, ou seja, apresentaram cargas negativas.

Os amidos modificados são polissacarídeos com propriedades emulsificantes e quando utilizados proporcionam a formação de uma interface negativa na emulsão, entretanto não são compostos com forte superfície ativa, sendo necessária então, uma alta proporção entre polissacarídeo:óleo na formação da mesma (GUZEY; MCCLEMENTS, 2006).

Tabela 5.4 Densidade de carga superficial dos materiais de parede dispersos em tampão pH 3,0.

Materiais de parede	Potencial zeta (mV)
Xarope de milho (0,0025 % v/v, pH 3,0)	-2,80±0,20
HiCap 100 (0,0025 % v/v, pH 3,0)	-2,80±0,20
Snow-Flake (0,0025 % v/v, pH 3,0)	-2,60±0,30
Xarope de milho/HiCap 100 50/50 (0,0025 % v/v, pH 3,0)	-2,70±0,30
Xarope de milho/Snow-Flake 50/50 (0,0025 % v/v, pH 3,0)	-2,60±0,10

De acordo com Klinkesorn et al. (2005a) sólidos de xarope de milho são considerados oligossacarídeos hidrofílicos não iônicos e não contribuem, portanto, na formação de uma superfície ativa ou na absorção de cargas. No entanto, observou-se no presente trabalho que o xarope de milho apresentou um comportamento aniônico, em tampão pH 3,0, sendo que a densidade de carga superficial apresenta uma forte relação com o pH e a força iônica da fase aquosa. Klinkesorn et al. (2004) também observaram comportamento semelhante com óleo de milho emulsionado com Tween 80 e sólidos de maltodextrina, embora esse surfactante seja não iônico, ele proporcionou a formação de interface com cargas negativas.

5.3 Análise das emulsões após a adição dos materiais de parede

As emulsões preparadas com óleo de café verde e os materiais de parede xarope de milho e os amidos modificados, estabilizadas por somente lecitina e por lecitina-quitosana foram preparadas conforme os itens 4.4.1 e 4.4.2 e caracterizadas de acordo com a estabilidade, distribuição de tamanho e diâmetro médio das gotas, microscopia ótica, densidade de carga superficial e comportamento reológico.

5.3.1 Estabilidade

As emulsões preparadas com as diferentes combinações de materiais de parede foram avaliadas através do índice de cremação por um período de 24 horas, de acordo com a metodologia apresentada no item 4.5.1.

Para a secagem em *spray drying* as emulsões devem se manter estáveis pelo tempo necessário para que ocorra o processo de secagem de toda a emulsão preparada, lembrando que é praticamente instantâneo o processo de atomização da emulsão no *spray dryer*. Durante esse período, todas as emulsões estabilizadas por lecitina-quitosana e por lecitina se mostraram estáveis e nenhuma separação de fase foi observada. Sendo assim, com o propósito de avaliar o comportamento das emulsões estabilizadas por lecitina-quitosana e por lecitina com diferentes combinações de materiais de parede, o tempo avaliado foi de 24 horas.

Foi observado que a maioria das emulsões se apresentou estável, durante o tempo de observação de 24 horas, como pode ser verificado nas Figuras 5.4 e 5.5. Entretanto, a emulsão formada por xarope de milho/HiCap 100 estabilizada por lecitina, conforme mostrado na Figura 5.5 (C), apresentou em sua superfície material suspenso, o que pode ser lecitina ou material de parede que se separou em virtude da ausência de quitosana. É importante destacar, que a substituição de 50% de HiCap 100 e Snow-Flake nas emulsões, por xarope de milho, não afetou a estabilidade das mesmas.

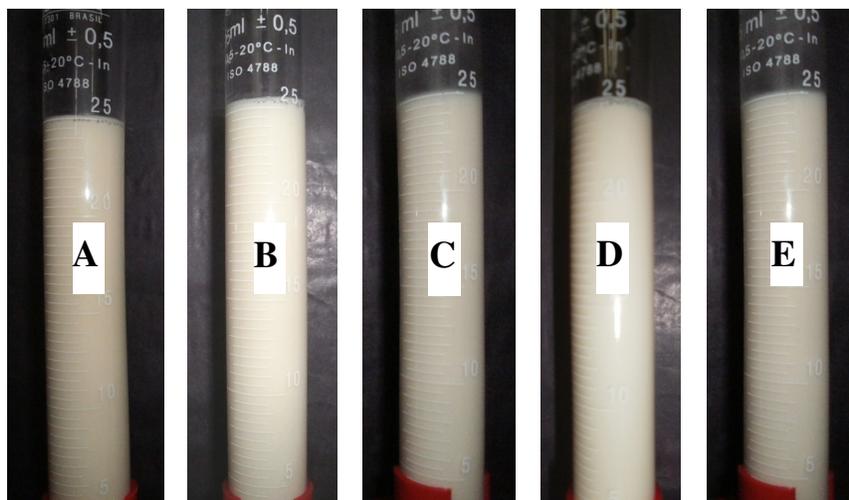


Figura 5.4 Teste de estabilidade em provetas de emulsões estabilizadas por lecitina-quitosana. Xarope de milho (A), HiCap 100 (B), Snow-Flake (C), xarope de milho/HiCap 100 (D) e xarope de milho/Snow-Flake (E).

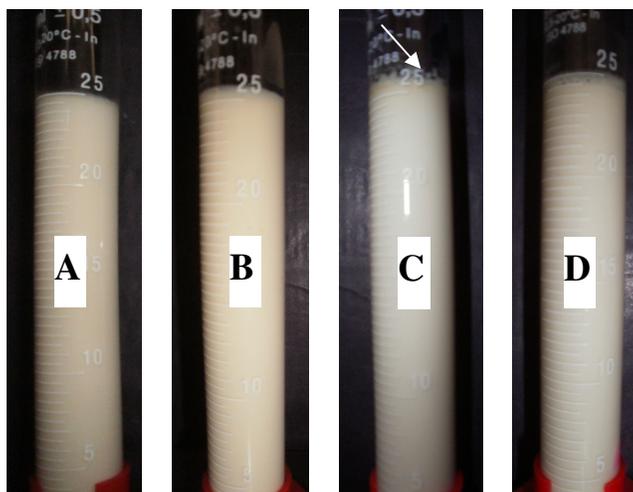


Figura 5.5 Teste de estabilidade em provetas de emulsões estabilizadas por somente lecitina. HiCap 100 (A), Snow-Flake (B), xarope de milho/HiCap 100 (C) e xarope de milho/Snow-Flake (D).

A adição de polissacarídeos em emulsões do tipo óleo/água permite aumentar a viscosidade da fase aquosa, além de evitar a cremação das gotas de óleo. Em

concentrações médias de polissacarídeos pode ocorrer um aumento da gota e consequentemente a cremeação, pois a quantidade de polissacarídeos não foi suficiente para aumentar a viscosidade. No entanto, em altas concentrações proporciona uma alta viscosidade impedindo a movimentação das gotas e a cremeação (MCCLEMENTS, 2000).

Klinkesorn et al. (2004) analisaram a concentração crítica para floculação, isto é, a quantidade mínima de maltodextrina para promover a cremeação de óleo de milho emulsionado com Tween 80. Esses autores verificaram que a concentração crítica para floculação diminui com a redução dos valores de dextrose equivalente (DE) e consequentemente, com o aumento do peso molecular, ou seja, para xarope de milho com DE=36 foi necessário 35% comparado à 13% para maltodextrina com DE=10. Resultados similares foram encontrados por Gharsallaoui et al. (2012b).

Klinkesorn et al. (2005a) avaliaram a influência da adição de diferentes concentrações de xarope de milho em emulsões estabilizadas por lecitina-quitosana e verificaram que o xarope de milho não afetou a adsorção da quitosana e não alterou, portanto, a carga elétrica da superfície das gotas da emulsão. Esses autores observaram também que as diferentes concentrações de xarope de milho não afetaram o índice de cremeação da emulsão (IC=0%), não ocasionando assim, a coalescência ou floculação da emulsão.

De acordo com Guzey e McClements (2006), as emulsões estabilizadas por lecitina-quitosana apresentam uma melhor estabilidade à agregação das gotas, quando comparadas às emulsões estabilizadas por somente lecitina, principalmente quando maltodextrina é incorporada no sistema.

Como pode ser observado na Figura 5.6, a preparação da emulsão com xarope de milho estabilizada por lecitina não foi possível, pois ao se adicionar o xarope na sequência do processo de emulsificação do óleo de café verde pela lecitina ocorreu uma separação de fase, caracterizada pela floculação das gotas de óleo.

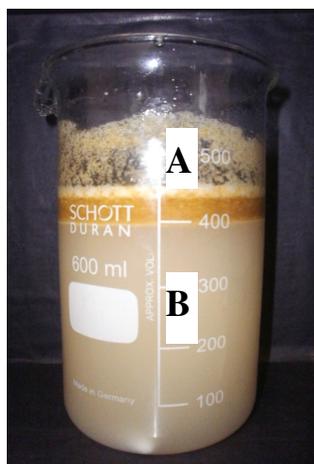


Figura 5.6 Separação de fases entre os componentes: óleo de café verde+lecitina (A) e xarope de milho+tampão (B).

A adição de polissacarídeos, como maltodextrina e xarope de milho, promove uma diferença no potencial osmótico favorecendo a movimentação do solvente e essa força motriz favorece a agregação das gotas. Logo, essa força atrativa aumenta de acordo com o incremento da concentração desses biopolímeros, até o momento em que se torna suficientemente alta para superar as forças repulsivas entre as gotas de óleo e promover a floculação devido ao efeito osmótico (MCCLEMENTS, 2000; KLINKESORN et al., 2004). Isso pode ser relacionado ao fato ocorrido com a emulsão estabilizada por lecitina e sólidos de xarope de milho, onde o efeito osmótico da alta concentração desse composto levou à floculação das gotas de óleo.

Vale ressaltar que as concentrações utilizadas de todos os materiais de parede (xarope de milho, HiCap 100 e Snow-Flake, na forma pura ou combinada) foram iguais. No entanto, os amidos modificados HiCap 100 e Snow-Flake apresentam capacidade emulsificante, diferentemente do xarope de milho que não apresenta essa propriedade em sua estrutura.

5.3.2 Distribuição de tamanho e diâmetro médio das gotas

A distribuição de tamanho e diâmetro médio das gotas das emulsões foi determinada de acordo com o item 4.5.2. As emulsões estabilizadas por lecitina-quitosana

e por lecitina foram avaliadas com relação ao diâmetro médio das gotas através do diâmetro $D_{[3,2]}$ conforme pode ser visto na Tabela 5.5.

Tabela 5.5 Diâmetro médio das gotas (μm) através do diâmetro $D_{[3,2]}$ associado aos diferentes materiais de parede utilizados no preparo das emulsões.

Materiais de parede	Diâmetro médio de gota [μm]	
	Estabilizadas por lecitina- quitosana	Estabilizadas por lecitina
Xarope de milho	1,51 \pm 0,03 ^c	-
HiCap 100	1,35 \pm 0,100 ^{d,A}	1,15 \pm 0,04 ^{d,B}
Snow-Flake	5,19 \pm 0,03 ^{a,A}	4,54 \pm 0,13 ^{a,B}
Xarope de milho/HiCap 100	1,37 \pm 0,13 ^{d,A}	1,36 \pm 0,01 ^{c,A}
Xarope de milho/Snow Flake	3,70 \pm 0,07 ^{b,A}	3,76 \pm 0,06 ^{b,A}

Letras minúsculas: comparação entre diâmetro médio das gotas da mesma coluna e letras maiúsculas: comparação entre diâmetro médio das gotas da mesma linha.

Letras iguais são tratamentos estatisticamente iguais a $p \leq 0,05$.

Os tamanhos das gotas das emulsões estabilizadas por lecitina-quitosana e por lecitina preparadas com os amidos modificados em sua forma pura foram estatisticamente diferentes. Verificou-se a formação de gotas maiores nas emulsões adicionadas de quitosana sobre as gotas de óleo estabilizadas por somente lecitina. Gharsallaoui et al. (2010) obtiveram resultados similares aos apresentados nesse trabalho, onde verificaram que a adição de pectina na emulsão primária proporcionou um aumento no diâmetro das gotas estabilizadas por isolado protéico de ervilha.

No entanto, isso não foi observado entre as partículas estabilizadas por lecitina-quitosana e por lecitina na mistura xarope de milho/HiCap 100 e xarope de milho/Snow-Flake, onde os resultados foram estatisticamente iguais. Klinkesorn et al. (2004) avaliaram a influência da concentração de maltodextrina (0-35% p/p) e dextrose equivalente (DE=10-36) sobre a estabilidade e reologia de 5% p/p de óleo de milho-em-água estabilizadas por

Tween 80. Esses autores não observaram mudança significativa no diâmetro de gota com aumento da concentração de maltodextrina de 0 a 35% e com a variação do número de dextrose equivalente (DE=10-36), após 24 horas de armazenamento de emulsão.

É importante destacar também que as emulsões formadas por Snow-Flake apresentaram grandes diâmetros de gota, comparadas aos demais materiais de parede. Vale ressaltar que esse material de parede proporcionou a formação de emulsões mais viscosas. Além disso, foi possível verificar a presença de grandes aglomerados nas microscopias óticas, o que confirma a presença de gotas com diâmetros maiores do que as demais. De acordo com McClements (2007), o diâmetro médio das gotas em emulsões está intimamente relacionado à estabilidade e reologia do sistema.

Em produtos emulsionados o diâmetro médio das gotas de óleo varia normalmente entre 0,1 e 100 μm (MCCLEMENTS, 2007). No presente trabalho, o diâmetro de gotas das emulsões estabilizadas por lecitina-quitosana variou entre 1,35 e 5,19 μm . Entretanto, Klinkesorn et al. (2006) obtiveram diâmetro de gota entre 0,2 e 1,0 μm de emulsões de óleo de atum estabilizadas por lecitina-quitosana e sólidos de xarope de milho (DE=36).

O tamanho de gota obtido em processos que utilizam alta energia, como o homogeneizador de alta pressão, depende não apenas do tipo de homogeneizador, mas também das condições de processo, como intensidade de energia, tempo, temperatura, composição da amostra, como tipo de óleo e emulsificante; além das propriedades físico-químicas, como tensão superficial e viscosidade da fase contínua e dispersa (QIAN; MCCLEMENTS, 2011).

Ao analisar a Figura 5.7 verificou-se que o comportamento das emulsões preparadas com o xarope de milho combinado com o HiCap 100 e Snow-Flake apresentaram comportamentos semelhantes das emulsões preparadas com os amidos modificados na forma pura, ou seja, prevaleceu o comportamento de distribuição do diâmetro médio de gotas do HiCap 100 e Snow-Flake.

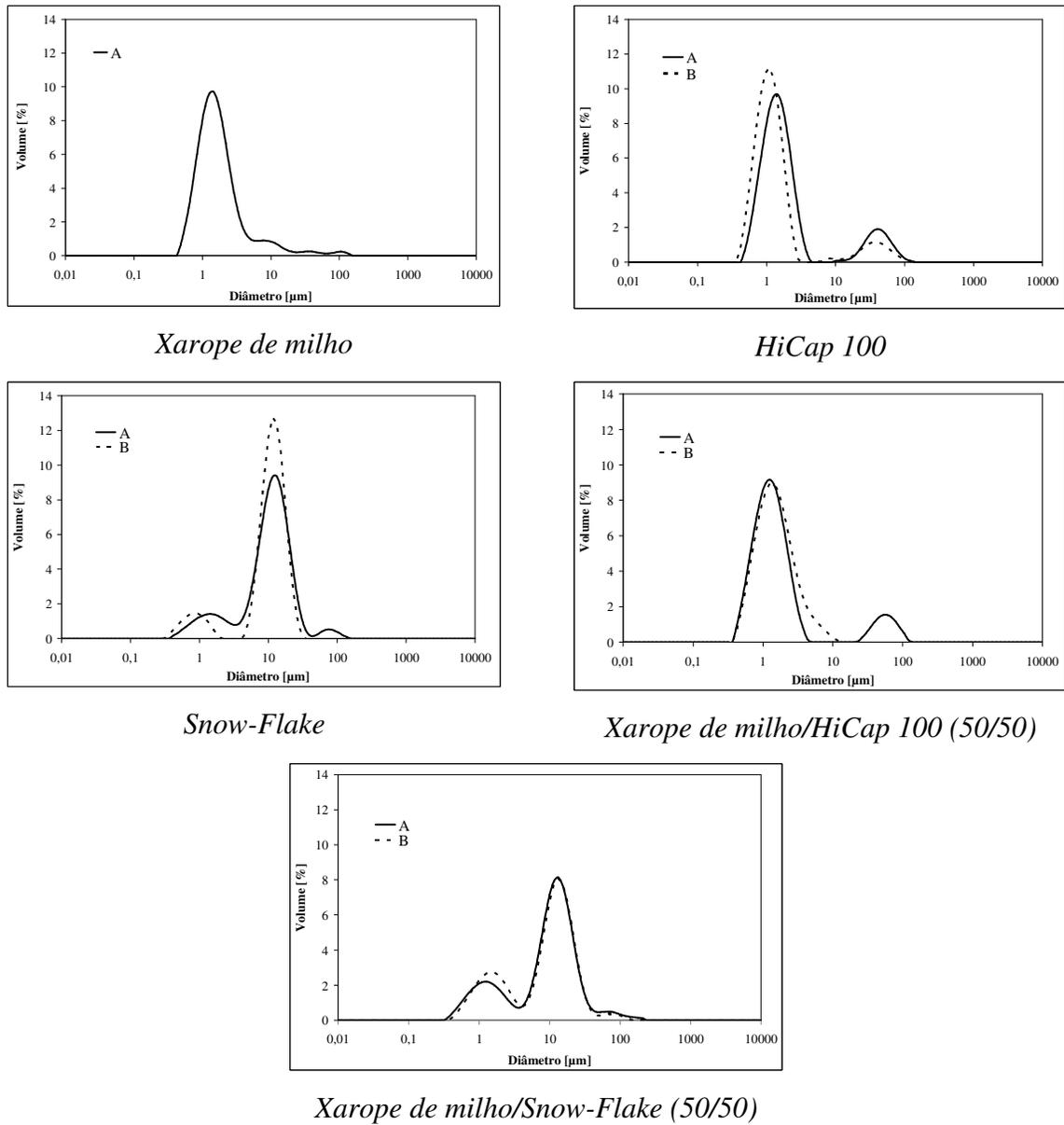


Figura 5.7 Distribuição do tamanho de gotas das emulsões estabilizadas por lecitina-quitosana (A) e por lecitina (B) obtidas a partir de diferentes combinações de materiais de parede.

De maneira geral, observou-se também que a presença da quitosana proporcionou maior floculação das gotas da emulsão, comparada com as emulsões estabilizadas por somente lecitina, como pode ser verificado na presença de um pico menor representado por uma menor fração volumétrica por volta de 100 µm de diâmetro (Figura 5.7). Além disso,

analisando o comportamento dos amidos modificados HiCap 100 e Snow-Flake, pode-se dizer que o HiCap 100 permitiu maior estabilidade das gotas da emulsão, proporcionando uma fração volumétrica maior de gotas com diâmetro médio de 1 μm , comparado ao Snow-Flake que apresentou uma fração volumétrica maior de gotas com diâmetro médio de 10 μm .

Quando as gotas apresentam o mesmo tamanho tem-se um sistema monodisperso, porém a polidispersão é caracterizada por gotas com tamanhos variados distribuídos por uma faixa (MCCLEMENTS, 2007), como encontrado no presente trabalho. Na Figura 5.7 pode-se observar a distribuição de tamanho das gotas da emulsão. De maneira geral, verificou-se comportamento bimodal nas emulsões estabilizadas por lecitina-quitosana e por lecitina, caracterizada pela presença de dois picos os quais representam os dois tamanhos distintos predominantes.

Chung, Degner, McClements (2012) analisaram o tamanho de gota de óleo de canola (15%) na forma de emulsão, emulsão com amido e somente grânulos de amido em suspensão. Esses autores observaram de maneira separada, que as gotas de óleo na emulsão apresentaram um único pico com tamanho de aproximadamente 2 μm , enquanto os grânulos de amido em suspensão apresentaram um pico de aproximadamente 40 μm . No entanto, quando combinados, formou-se um sistema bimodal, sendo que as gotas de óleo representavam os picos de menor tamanho e os grânulos de amido o pico de maior tamanho. De acordo com esses autores, embora as gotas de óleo estejam presentes em alta concentração, os grânulos de amido por serem maiores apresentam um mais alto índice de refração e ocorre, portanto, uma dispersão de luz mais forte. Além disso, diâmetros maiores de gota levam a maior fração volumétrica.

É interessante observar que as micropartículas formadas com Snow-Flake e xarope de milho/Snow-Flake apresentaram comportamento semelhante de distribuição, um pequeno pico de partículas na faixa de 3-5 μm e um pico maior próximo de 10 μm . Já no caso do HiCap 100 e xarope de milho/HiCap 100 as partículas apresentaram um grande pico próximo de 1 μm e um pico menor na faixa de 10 a 100 μm . Esse comportamento bimodal, conforme discutido anteriormente, pode ser atribuído aos materiais de parede

Snow-Flake e HiCap 100, que provavelmente apresentaram partículas maiores do que as gotas de óleo da emulsão.

5.3.3 Microscopia ótica das gotas das emulsões

As microscopia ótica das emulsões foi realizada para melhor caracterização dessas. As imagens apresentadas nas Figuras 5.8 e 5.9 mostram as gotas das emulsões estabilizadas por lecitina-quitosana e por lecitina, respectivamente, através das microscopias óticas conforme apresentada no item 4.5.3.

De acordo com as Figuras 5.8 e 5.9, pode-se observar que as gotas das emulsões produzidas com HiCap 100, tanto estabilizadas por lecitina-quitosana (Figura 5.8 B) como por lecitina (Figura 5.9 A), apresentaram-se mais dispersas, menores e com maior homogeneidade de diâmetro. Já as emulsões preparadas com Snow-Flake em sua forma pura (Figura 5.8 C e Figura 5.9 B) apresentaram gotas similares e menos dispersas na fase aquosa, caracterizadas pela presença de aglomerados formados por esse material que interferiu no diâmetro médio de gotas (Tabela 5.5). De acordo com as Figuras 5.8 D e 5.9 C, a combinação de xarope de milho com HiCap 100 proporcionou a formação de gotas com diâmetro similares. Verificou-se também a presença de gotas maiores e formato arredondado, porém mais dispersas, nas emulsões preparadas com xarope de milho/Snow-Flake (Figura 5.8 E e Figura 5.9 D). De modo geral, pode-se dizer que houve coerência entre os diâmetros médios apresentados na Tabela 5.5 com as imagens da microestrutura das gotas das emulsões analisadas.

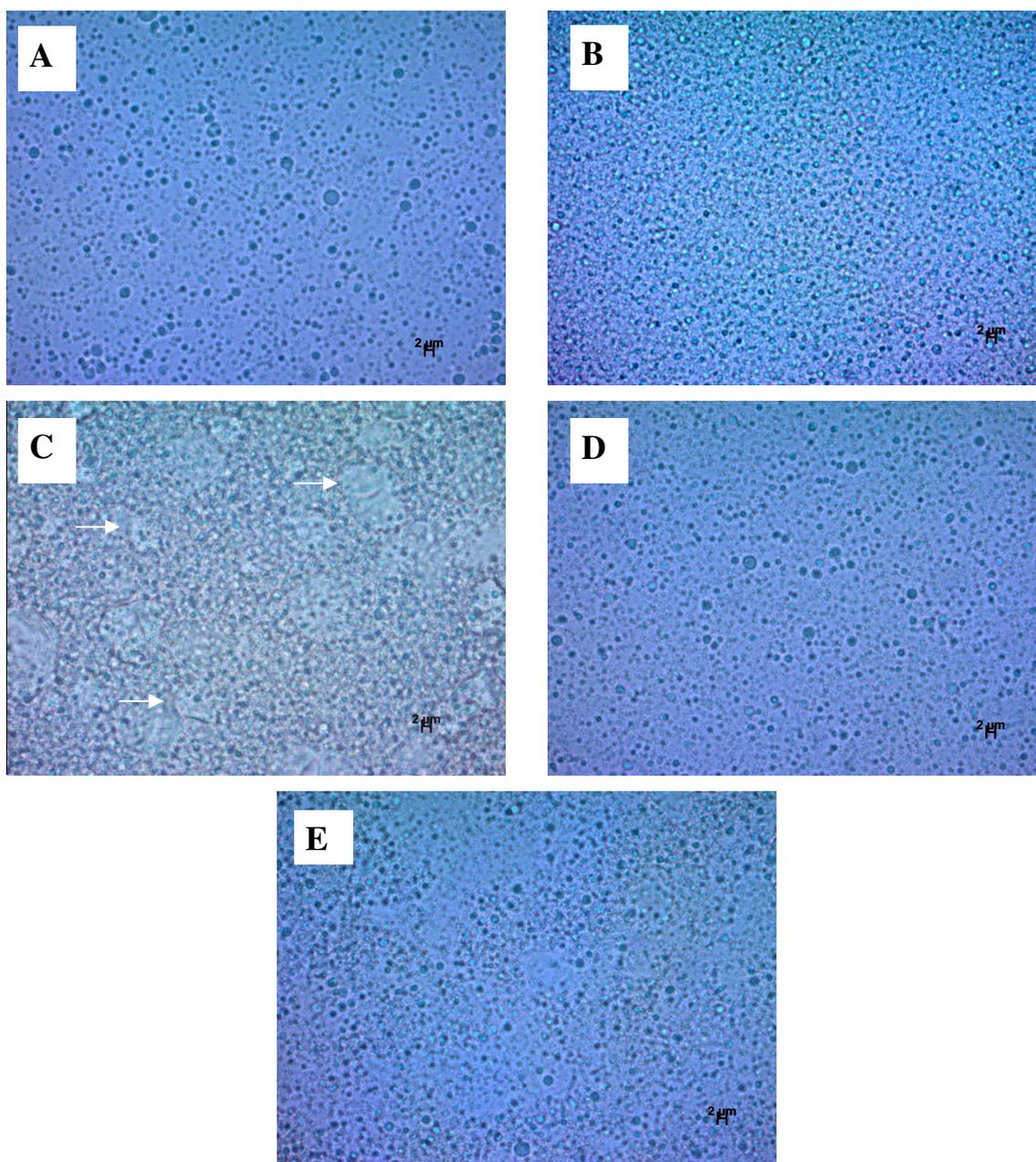


Figura 5.8 Microscopia ótica das emulsões estabilizadas por lecitina-quitosana com aumento de 100 vezes. Xarope de milho (A), HiCap 100 (B), Snow-Flake (C), xarope de milho/HiCap 100 (D) e xarope de milho/Snow-Flake (E).

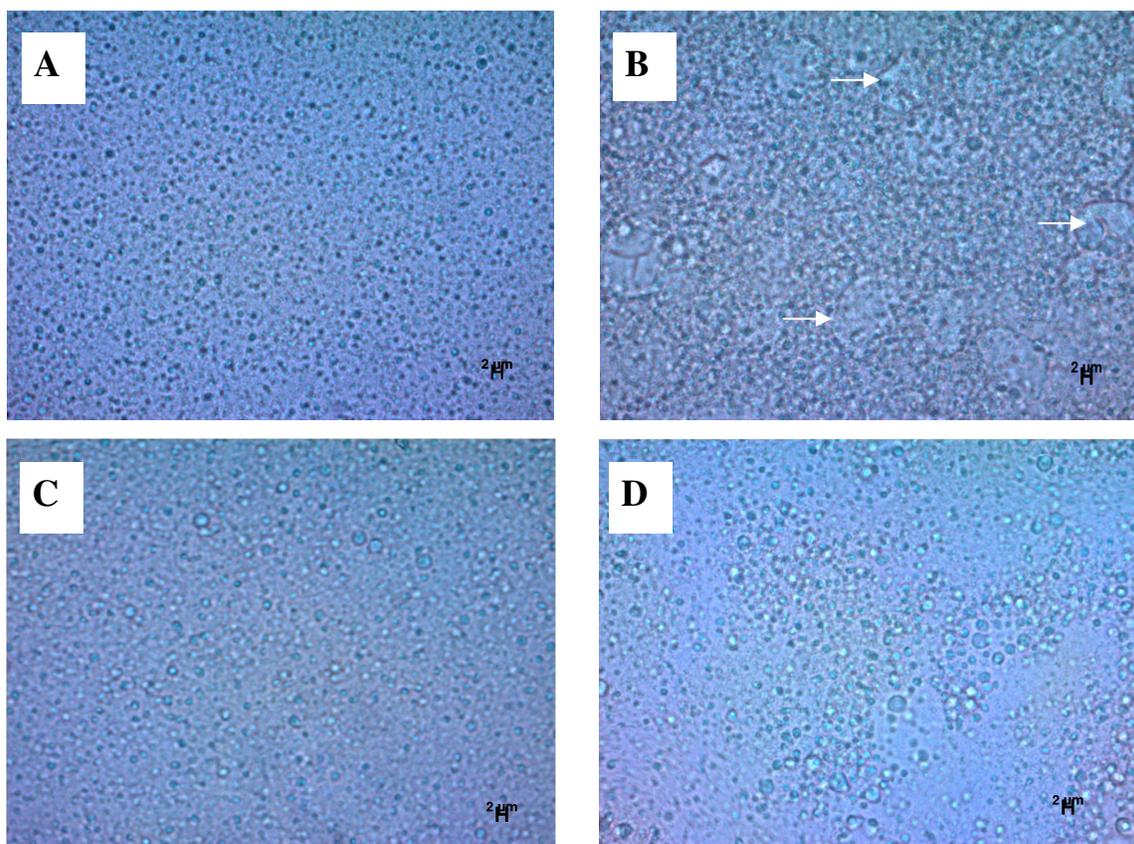


Figura 5.9 Microscopia ótica das emulsões estabilizadas por lecitina com aumento de 100 vezes. HiCap 100 (A), Snow-Flake (B), xarope de milho/HiCap 100 (C) e xarope de milho/Snow-Flake (D).

5.3.4 Densidade de carga superficial

Após o preparo das emulsões essas foram avaliadas com relação à densidade de carga superficial conforme descrito no item 4.5.4. Na Tabela 5.6 encontram-se os valores de potencial zeta das emulsões estabilizadas por lecitina-quitosana e por lecitina, combinadas aos diferentes materiais de parede.

Como pode ser observado na Tabela 5.6, todas as emulsões estabilizadas somente por lecitina apresentaram carga superficial negativa. O preparo das emulsões ocorre em etapas como a etapa contendo óleo de café verde/lecitina apresenta caráter aniônico e os materiais de parede se comportaram de maneira semelhante em tampão pH 3,0; então, as emulsões finais, mantiveram-se, conseqüentemente, com cargas negativas. Vale ressaltar,

que os amidos modificados apresentam grupos hidrofílicos e lipofílicos em sua estrutura, esse fato pode ter contribuído para a formação da emulsão, impedindo, portanto, a repulsão eletrostática com a presença das cargas negativas da lecitina e a separação de fases.

Tabela 5.6 Densidade de carga superficial das emulsões estabilizadas por lecitina-quitosana e por somente lecitina.

Materiais de parede	Potencial zeta (mV)	
	Estabilizadas por lecitina-quitosana	Estabilizadas por lecitina
Xarope de milho	+40,40±0,53 ^a	-
HiCap 100	-2,24±0,06 ^{e,B}	-3,64±0,15 ^{c,A}
Snow-Flake	+20,87±0,59 ^{c,A}	-14,41±0,20 ^{b,B}
Xarope de milho/HiCap 100	+13,41±0,23 ^{d,A}	-3,88±0,15 ^{c,B}
Xarope de milho/Snow-Flake	+24,32±0,62 ^{b,A}	-16,90±0,30 ^{a,B}

Letras minúsculas: comparação entre emulsões da mesma coluna e letras maiúsculas: comparação entre emulsões da mesma linha.

Letras iguais são tratamentos estatisticamente iguais a $p \leq 0,05$.

Com relação às emulsões estabilizadas por lecitina-quitosana, pode-se inferir a possível formação de uma dupla camada devido à atração eletrostática entre o óleo de café verde/lecitina, com caráter aniônico, e a quitosana, com cargas catiônicas. A adição dos materiais de parede, com cargas negativas, não proporcionou a inversão de fase nas emulsões com xarope de milho, xarope de milho/HiCap 100, Snow-Flake e xarope de milho/Snow-Flake, mantendo portanto as emulsões com caráter positivo.

Serfert et al (2011) verificaram que emulsões de óleo de peixe com xarope de glicose, lecitina e quitosana apresentaram potencial zeta de +41 mV, valor próximo ao encontrado no presente trabalho, com a emulsão produzida com somente xarope de milho.

A emulsão preparada com HiCap 100 estabilizada por lecitina-quitosana apresentou-se, diferentemente das outras emulsões, com superfície com cargas negativas.

Acredita-se que pode ter ocorrido inversão de fase nessa emulsão, onde o número de cargas negativas desse material de parede foi superior às necessárias para neutralizar as positivas da quitosana.

A intensidade e sinal das cargas das gotas da emulsão dependem do tipo e da concentração de moléculas adsorvidas, além das condições de preparo. O pH da solução é um importante parâmetro que deve ser mantido durante e após formada a dupla camada, pois é possível misturar partículas coloidais e moléculas de polieletrólitos ambos de mesma carga e que podem adquirir cargas opostas e se atrair, devido à mudança de pH do meio (GUZEY; MCCLEMENTS, 2006).

5.3.5 Comportamento reológico

Foram determinadas as curvas de escoamento para todas as emulsões produzidas. As análises foram realizadas em três etapas consecutivas, sendo a primeira com taxa de deformação crescente de 0 a 300 s⁻¹ (subida 1), a segunda com taxa decrescente de 300 a 0 s⁻¹ (descida) e a terceira novamente com taxa crescente de 0 a 300 s⁻¹ (subida 2), a fim de eliminar possíveis efeitos de tixotropia. As curvas de escoamento ajustadas pelos modelos matemáticos empíricos para fluidos Newtoniano e Lei da Potência foram as correspondentes à subida 2.

Como pode ser observado nas Tabelas 5.7 e 5.8, os dados experimentais apresentaram bons ajustes aos modelos Lei da Potência e Newtoniano, com valores de R² superiores a 99% para as emulsões produzidas com xarope de milho, HiCap 100, xarope de milho/HiCap 100 e xarope de milho/Snow-Flake e para as emulsões produzidas por somente Snow-Flake foi superior a 88,92 %. Como os valores de n para o modelo da Lei da Potência foram próximos de 1 para as emulsões com xarope de milho, HiCap 100 e xarope de milho/HiCap 100, tanto para as estabilizadas por lecitina-quitosana como também por somente lecitina, essas amostras foram consideradas fluidos Newtonianos. Já as emulsões preparadas com Snow-Flake e xarope de milho/Snow-Flake apresentaram valores de n inferiores a 1, sendo, portanto, consideradas como fluidos pseudoplásticos.

Tabela 5.7 Valores dos parâmetros obtidos pelo ajuste dos dados experimentais das emulsões estabilizadas por lecitina-quitosana ao modelo da Lei da Potência e ao modelo Newtoniano.

Emulsões	Lei da Potência			Newtoniano	
	k (Pa.s ⁿ)	<i>n</i>	R ² (%)	μ (Pa.s)	R ² (%)
Xarope de milho	0,014±0,00	0,993±0,002	99,99	0,013±0,000	99,99
HiCap 100	0,063±0,007	0,996±0,014	99,99	0,062±0,010	99,99
Snow Flake	2,467±0,112	0,569±0,006	99,74	0,247±0,019	88,92
Xarope de milho/HiCap 100	0,026±0,001	0,999±0,004	99,999	0,026±0,000	99,99
Xarope de milho/Snow Flake	0,128±0,005	0,840±0,013	99,99	0,054±0,002	99,24

Onde: μ corresponde à viscosidade (Pa.s); k corresponde ao índice de consistência (Pa.sⁿ); *n* corresponde ao índice de comportamento e R² corresponde ao coeficiente de determinação.

Tabela 5.8 Valores dos parâmetros obtidos pelo ajuste dos dados experimentais das emulsões estabilizadas por lecitina ao modelo da Lei da Potência e ao modelo Newtoniano.

Emulsões	Lei da Potência			Newtoniano	
	k (Pa.s ⁿ)	<i>n</i>	R ² (%)	μ (Pa.s)	R ² (%)
HiCap 100	0,076±0,009	1,014±0,019	99,99	0,081±0,002	99,97
Snow Flake	1,251±0,082	0,669±0,007	99,94	0,221±0,013	94,97
Xarope de milho/HiCap 100	0,024±0,001	0,998±0,005	99,99	0,024±0,001	99,99
Xarope de milho/Snow Flake	0,136±0,019	0,827±0,013	99,99	0,053±0,004	99,09

Onde: μ corresponde à viscosidade (Pa.s); k corresponde ao índice de consistência (Pa.sⁿ); *n* corresponde ao índice de comportamento e R² corresponde ao coeficiente de determinação.

As Figuras 5.10 e 5.11 apresentam as curvas de escoamento (taxa de deformação *versus* tensão de cisalhamento). Observa-se que as emulsões preparadas com Snow-Flake estabilizadas por lecitina-quitosana e por lecitina necessitaram de uma alta tensão de cisalhamento, pelo fato dessas emulsões serem mais viscosas que as demais. A utilização do xarope de milho em alta concentração de sólidos não alterou consideravelmente a viscosidade, além de proporcionar a diminuição da tensão de cisalhamento das emulsões preparadas com os amidos modificados em sua forma pura, diminuindo, portanto, a viscosidade das soluções desses polímeros.

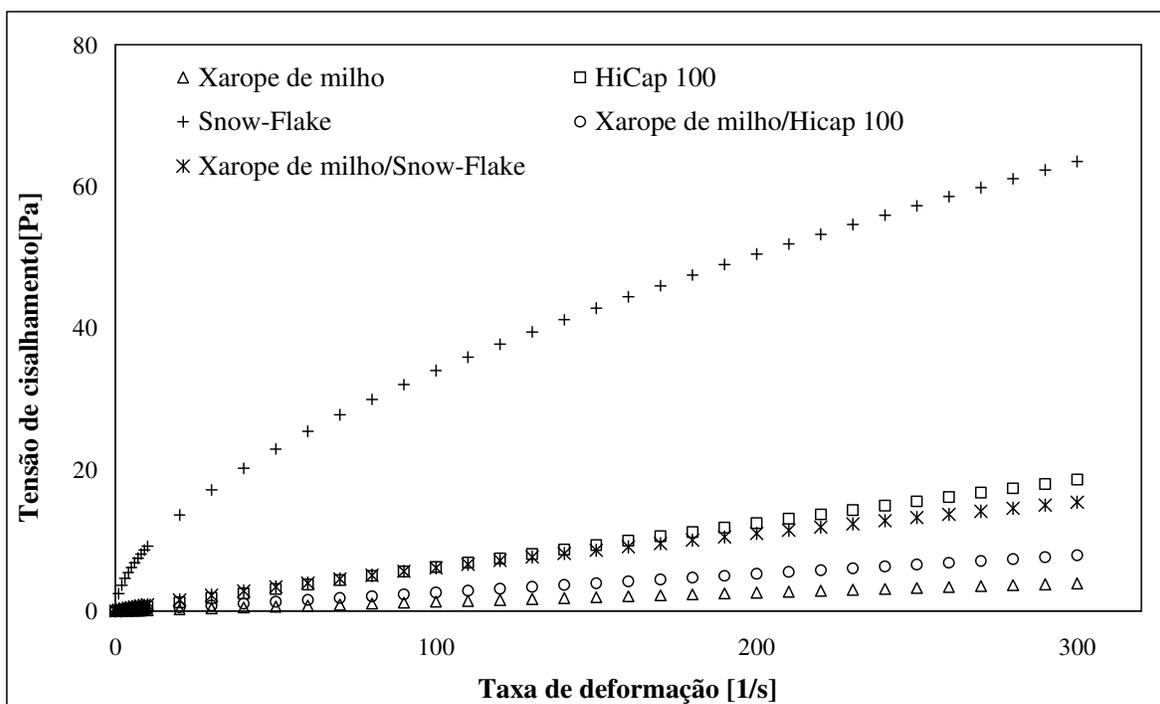


Figura 5.10 Curva de escoamento para as emulsões estabilizadas por lecitina-quitosana.

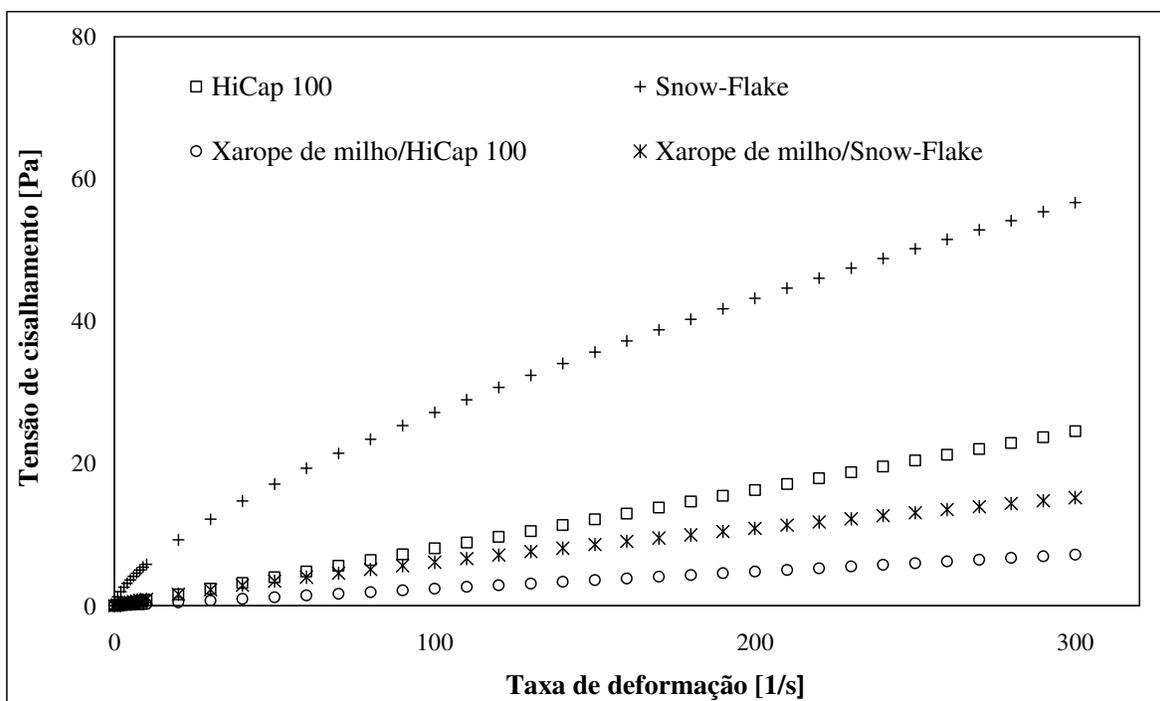


Figura 5.11 Curva de escoamento para as emulsões estabilizadas por lecitina.

As Figuras 5.12 e 5.13 mostram as curvas de viscosidade aparente *versus* a taxa de deformação, para as emulsões estabilizadas por lecitina-quitosana e por lecitina, respectivamente. Como pode ser observado, as emulsões preparadas com Snow-Flake e xarope de milho/Snow-Flake apresentaram comportamento característico de fluidos pseudoplásticos, ou seja, a viscosidade aparente diminuiu com o aumento da taxa de deformação. Já as emulsões com xarope de milho, HiCap 100 e xarope de milho/HiCap 100 apresentaram comportamento típico de fluidos Newtonianos, onde a viscosidade independe da taxa de deformação, mantendo-se, portanto, constante. O processo de *spray drying* envolve altas taxas de deformação, variando entre 10^3 e 10^5 s⁻¹, fato esse associado à passagem da emulsão pelo bico atomizador (STEFFE, 1996). Dessa forma é importante o conhecimento da viscosidade das emulsões produzidas nessas taxas de deformação.

Durante o processo de secagem por *spray drying* foi observado que as emulsões estabilizadas por lecitina-quitosana e por lecitina preparadas por somente Snow-Flake apresentaram dificuldade para serem secas nas condições aplicadas e tipo de *spray dryer* utilizado durante os experimentos. Verificou-se que essas emulsões foram extremamente viscosas, dificultando assim a passagem da emulsão pela bomba peristáltica e pelo bico atomizador. Logo, para melhores condições de operação no tipo de equipamento utilizado nesse trabalho, é ideal que as emulsões apresentem viscosidade média inferior a 0,247 Pa.s

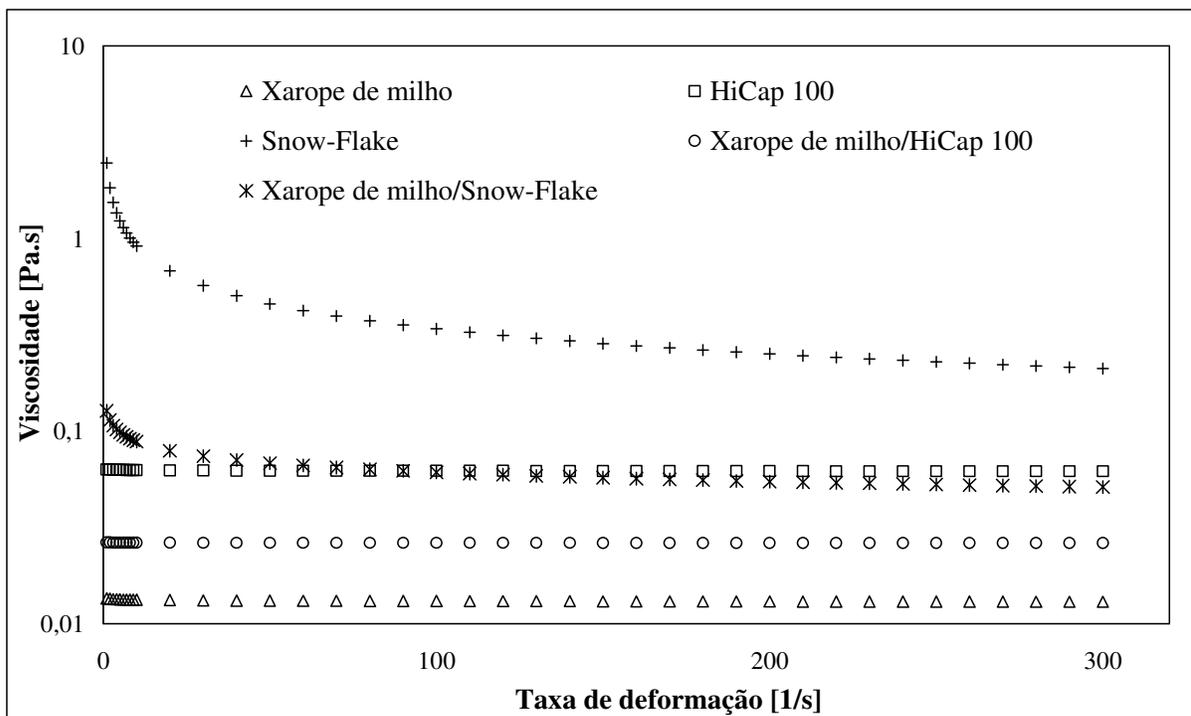


Figura 5.12 Curva de viscosidade *versus* taxa de deformação para as emulsões estabilizadas por lecitina-quitosana.

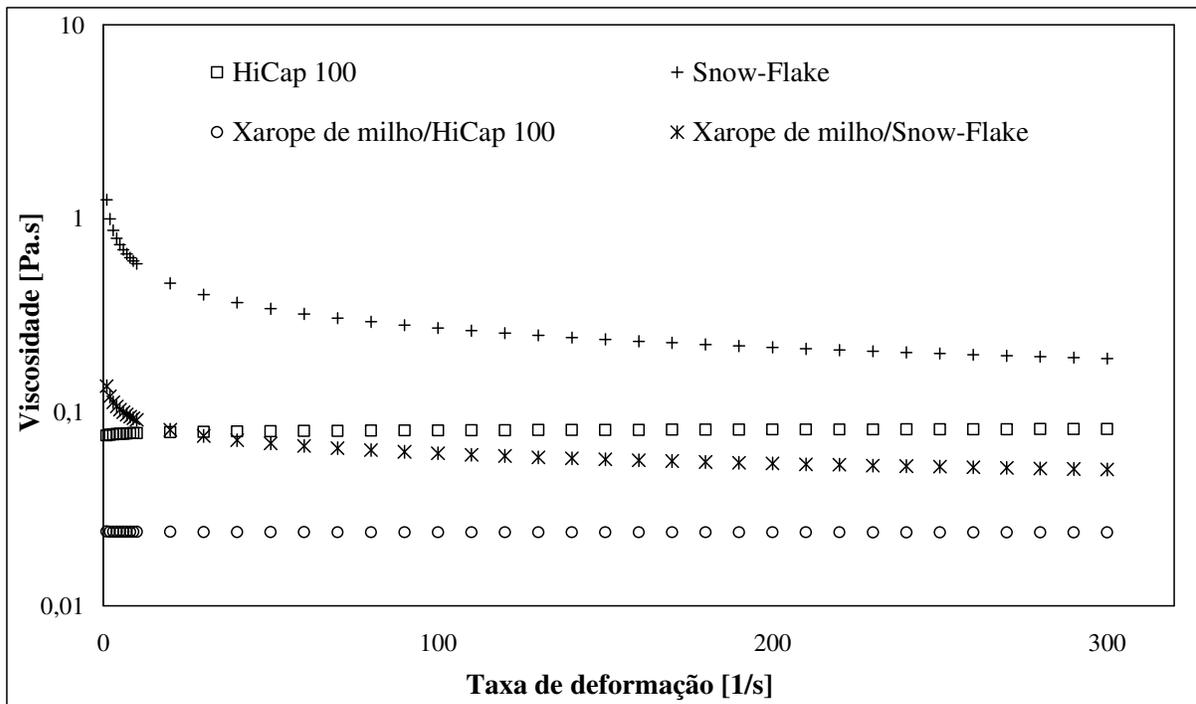


Figura 5.13 Curva de viscosidade *versus* taxa de deformação para as emulsões estabilizadas por lecitina.

Carneiro et al. (2012) avaliaram a microencapsulação de óleo de linhaça por *spray-drying* e observaram que as emulsões contendo 30% de sólidos totais preparadas com a mistura Maltodextrina/Capsul apresentaram comportamento pseudoplástico, com η inferior a 1 (0,830). O amido Snow-Flake é um amido modificado similar ao Capsul e esse comportamento não Newtoniano também foi encontrado no presente trabalho. A emulsão preparada com a forma pura do Snow-Flake estabilizada por lecitina-quitosana apresentou η igual 0,569 e a estabilizada por lecitina apresentou η igual a 0,669, a combinação Snow-Flake/xarope de milho estabilizada por lecitina-quitosana apresentou η igual 0,840 e estabilizada por lecitina apresentou η igual 0,827, para as emulsões preparadas com 40% de sólidos totais.

Hogan et al. (2001) analisaram óleo de soja encapsulado com caseinato de sódio combinado com maltodextrina ou sólidos de xarope de milho, com vários valores de DE e observaram que o aumento da DE dos carboidratos utilizados como materiais de parede resultava numa redução da viscosidade das emulsões. Esses autores relacionaram esse fato

ao tamanho molecular, pois carboidratos com maior DE apresentam moléculas menores, sendo, portanto, mais facilmente solúveis. No presente trabalho, a substituição de 50% dos amidos modificados HiCap 100 e Snow-Flake por xarope de milho promoveu a redução da viscosidade da emulsão, além de apresentar mais fácil solubilização durante o preparo da mesma.

5.4 Processo de secagem

A produção das micropartículas foi realizada em duplicata, seguindo a metodologia do item 4.6. O tempo de duração das secagens foi em média de 30 minutos com temperatura de entrada de 170 °C e temperatura de saída de 90 ± 1 °C. As partículas produzidas por *spray drying* foram caracterizadas de acordo com o conteúdo de umidade, atividade de água, distribuição de tamanho e diâmetro médio de partículas, eficiência de encapsulação e morfologia.

5.4.1 Conteúdo de umidade e atividade de água

O conteúdo de umidade não é um resultado único para se relacionar com a susceptibilidade à deterioração de um produto. Para tanto, a determinação da atividade de água, ou seja, a intensidade com a qual a água está associada com os constituintes da fase não aquosa apresenta uma importante relação com os possíveis processos de degradação ocasionados pelo crescimento de microrganismos e reações químicas (REID; FENNEMA, 2008).

A atividade de água mede, portanto, a disponibilidade de água para possíveis atividades microbiológicas, enzimáticas ou químicas. Abaixo de 0,6 quase todos os microrganismos tem seu crescimento inibido; no entanto, em valores baixos de atividade de água, ocorre mais facilmente a oxidação lipídica (FELLOWS, 2006)

De acordo com a Tabela 5.9, observa-se que a atividade de água das micropartículas foi inferior a 0,3. Verifica-se também que as partículas com xarope de milho apresentaram atividade de água inferior a 0,2, isso porque essas partículas ficaram retidas no ciclone e como essa região é mais quente que o pote coletor, acarretou então, menor atividade de água.

As amostras preparadas com xarope de milho e xarope de milho/Snow-Flake estabilizadas por lecitina apresentaram os menores valores de umidade e, também, os menores valores de atividade de água, indicando a relação entre essas duas propriedades das partículas. As demais partículas apresentaram umidade entre 2,16 e 2,64% e atividade de água entre 0,21 e 0,26.

Tabela 5.9 Conteúdo de umidade (% b.u.) e atividade de água das partículas estabilizadas por lecitina-quitosana e por lecitina.

Materiais de parede	Umidade (%)		Atividade de água	
	Lecitina- quitosana	Lecitina	Lecitina- quitosana	Lecitina
Xarope de milho	0,41±0,03 ^c	-	0,085±0,006 ^d	-
HiCap 100	2,42±0,13 ^{a,A}	2,49±0,09 ^{a,A}	0,224±0,007 ^{bA}	0,228±0,012 ^{bA}
Snow-Flake	2,33±0,13 ^{a,b,B}	2,64±0,12 ^{a,A}	0,210±0,011 ^{cB}	0,264±0,009 ^{aA}
Xarope de milho/ HiCap 100	2,41±0,03 ^{a,A}	2,17±0,08 ^{b,B}	0,263±0,004 ^{aA}	0,262±0,014 ^{aA}
Xarope de milho/ Snow- Flake	2,16±0,05 ^{b,A}	0,42±0,03 ^{c,B}	0,209±0,004 ^{cA}	0,153±0,005 ^{cB}

Letras minúsculas: comparação entre partículas da mesma coluna e letras maiúsculas: comparação entre partículas da mesma linha.

Letras iguais são tratamentos estatisticamente iguais a $p \leq 0,05$.

Klinkesorn et al. (2006) produziram partículas de óleo de atum pela técnica de dupla camada usando lecitina-quitosana e observaram que o conteúdo de umidade variou entre 3 e 1% e a atividade de água entre 0,25 e 0,1, com o aumento da temperatura de secagem de 165 para 180 °C. De maneira geral, foram obtidos valores semelhantes para o conteúdo de umidade e atividade de água no presente trabalho, porém na temperatura de 170 °C.

Hogan et al. (2001) observaram que óleo de soja encapsulado por *spray drying* a 180 °C, com caseinato de sódio combinado com maltodextrina e sólidos de xarope de

milho, com diferentes DE, apresentaram valores de umidade entre 1 e 3% e que esses valores não foram afetados pelos diversos materiais de parede.

5.4.2 Distribuição de tamanho e diâmetro médio de partículas

Todas as amostras de micropartículas foram analisadas quanto à distribuição de tamanho e diâmetro das partículas, conforme item 4.8.2. Na Tabela 5.10 está apresentado o diâmetro médio das partículas através do diâmetro $D_{[4,3]}$ e a Figura 5.14 mostra as curvas de distribuição das partículas estabilizadas por lecitina-quitosana e por lecitina nas combinações de materiais de parede estudados.

Tabela 5.10 Diâmetro médio das partículas através do diâmetro $D_{[4,3]}$ estabilizadas por lecitina-quitosana e por lecitina.

Materiais de parede	Diâmetro de partícula [μm]	
	Estabilizadas por lecitina-quitosana	Estabilizadas por lecitina
Xarope de milho	19,50±0,74 ^a	-
HiCap 100	16,41±0,95 ^{c,B}	24,40±0,67 ^{b,A}
Snow Flake	17,16±0,49 ^{b,c,A}	17,14±0,37 ^{c,A}
Xarope de milho/HiCap 100 (50/50)	17,31±0,59 ^{b,B}	29,19±0,84 ^{a,A}
Xarope de milho/Snow Flake (50/50)	14,51±0,35 ^{d,B}	16,40±0,59 ^{c,A}

Letras minúsculas: comparação entre partículas da mesma coluna e letras maiúsculas: comparação entre partículas da mesma linha.

Letras iguais são tratamentos estatisticamente iguais a $p \leq 0,05$.

Como pode ser observado na Tabela 5.10, as microesferas produzidas com HiCap 100, estabilizadas por lecitina-quitosana e por lecitina, apresentaram tendência de aumento no diâmetro médio com a adição de xarope de milho. Esse fato era esperado, pois as micropartículas produzidas por somente xarope de milho apresentaram maiores diâmetros comparadas com as micropartículas produzidas com o HiCap 100 puro, logo a substituição

de 50% desse amido por xarope de milho levou a um aumento no diâmetros das microesferas. Já as micropartículas produzidas com Snow-Flake apresentaram comportamento contrário, de forma que a adição de xarope de milho proporcionou a redução do diâmetro médio.

De maneira geral, as microesferas não apresentaram uma faixa grande de tamanho, com diâmetros variando entre 14,51 a 19,50 μm , para as emulsões estabilizadas por lecitina-quitosana e 16,40 a 29,19 μm , para emulsões estabilizadas por lecitina. Klinkesorn et al. (2006) observaram que as partículas produzidas de óleo de atum estabilizadas por lecitina-quitosana apresentaram diâmetros variando entre 5 e 30 μm . Os valores encontrados no presente trabalho estão dentro dessa faixa.

As partículas estabilizadas por somente lecitina produzidas por HiCap 100, xarope de milho/HiCap 100 e xarope de milho/Snow-Flake apresentaram diâmetros maiores que as estabilizadas por lecitina-quitosana. Esse fato pode ser associado à maior aglomeração dessas partículas após o processo de secagem observado durante a remoção das partículas do secador. É importante lembrar que a ausência de dados para as partículas produzidas com xarope de milho estabilizadas por somente lecitina ocorreu devido à não formação desse tipo de emulsão.

Como pode ser observado na Figura 5.14, a distribuição média de partículas apresentou a formação de um pico predominante de tamanho entre 10 e 20 μm , e picos menores constituídos por partículas com diâmetro de aproximadamente 1 μm e por partículas de tamanhos maiores variando entre 100 a 200 μm . Comportamento semelhante foi observado por Frascareli et al. (2012) que avaliaram a microencapsulação de óleo de café torrado por *spray drying* utilizando goma arábica como material de parede e a faixa de temperatura do ar de secagem entre 150 e 190 °C. Esses autores verificaram a formação de um pico caracterizado por partículas com diâmetro de aproximadamente 1 μm , um segundo pico caracterizado por partículas de 10 μm e um terceiro pico composto por partículas variando entre 40 e 100 μm . De acordo com esses autores, as partículas menores podem penetrar dentro dos espaços entre partículas maiores. Já a presença de partículas maiores pode estar associada a aglomerados, devido à formação de irreversíveis pontos de ligação, como consequência do óleo superficial presente nas micropartículas.

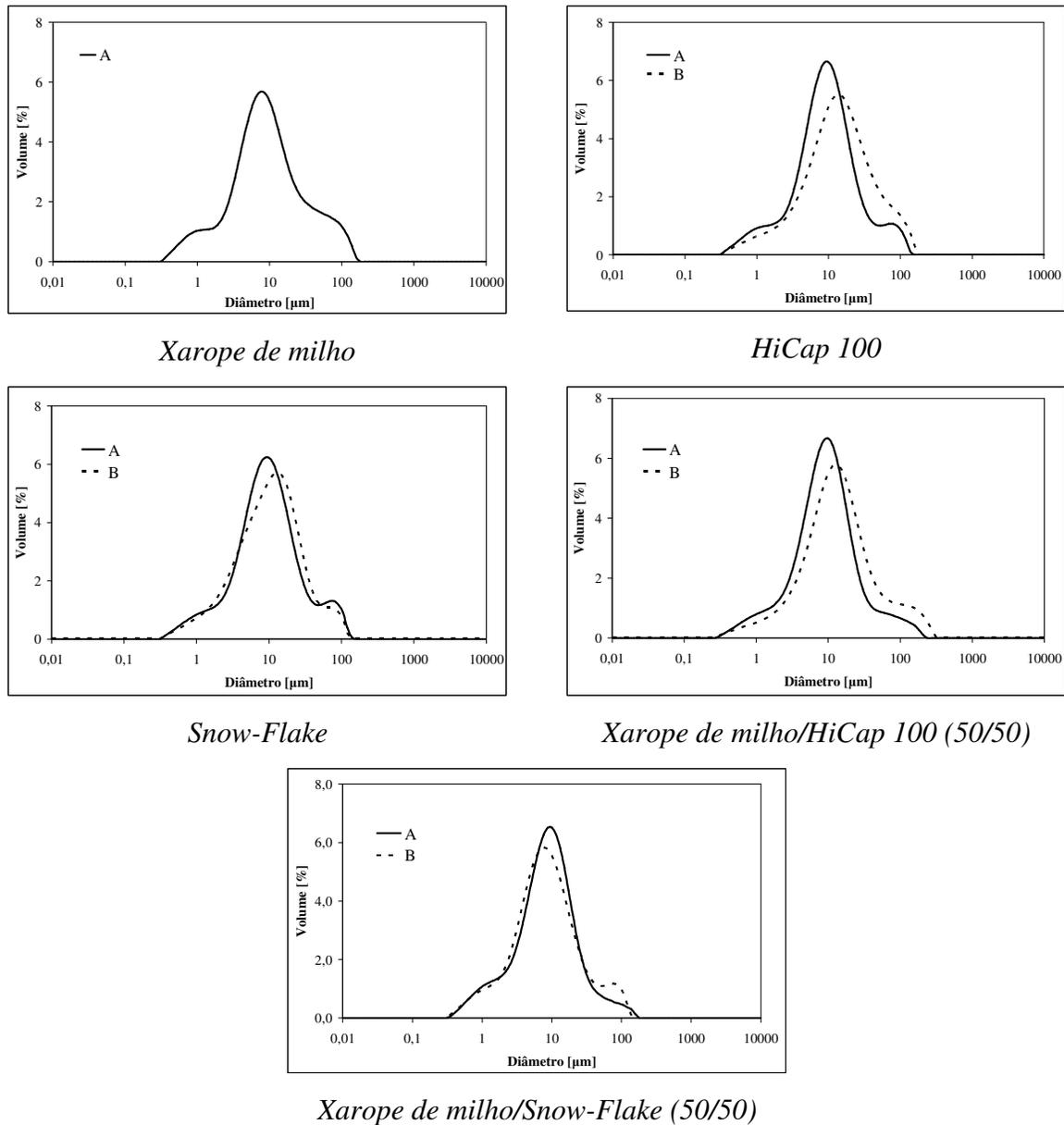


Figura 5.14 Comparação entre as distribuições médias das micropartículas estabilizadas por lecitina-quitosana (A) e por lecitina (B) obtidas a partir de diferentes combinações de materiais de parede.

5.4.3 Eficiência de Encapsulação

A eficiência de encapsulação das micropartículas foi avaliada conforme descrito no item 4.7.1 e pode ser observada na Figura 5.15.

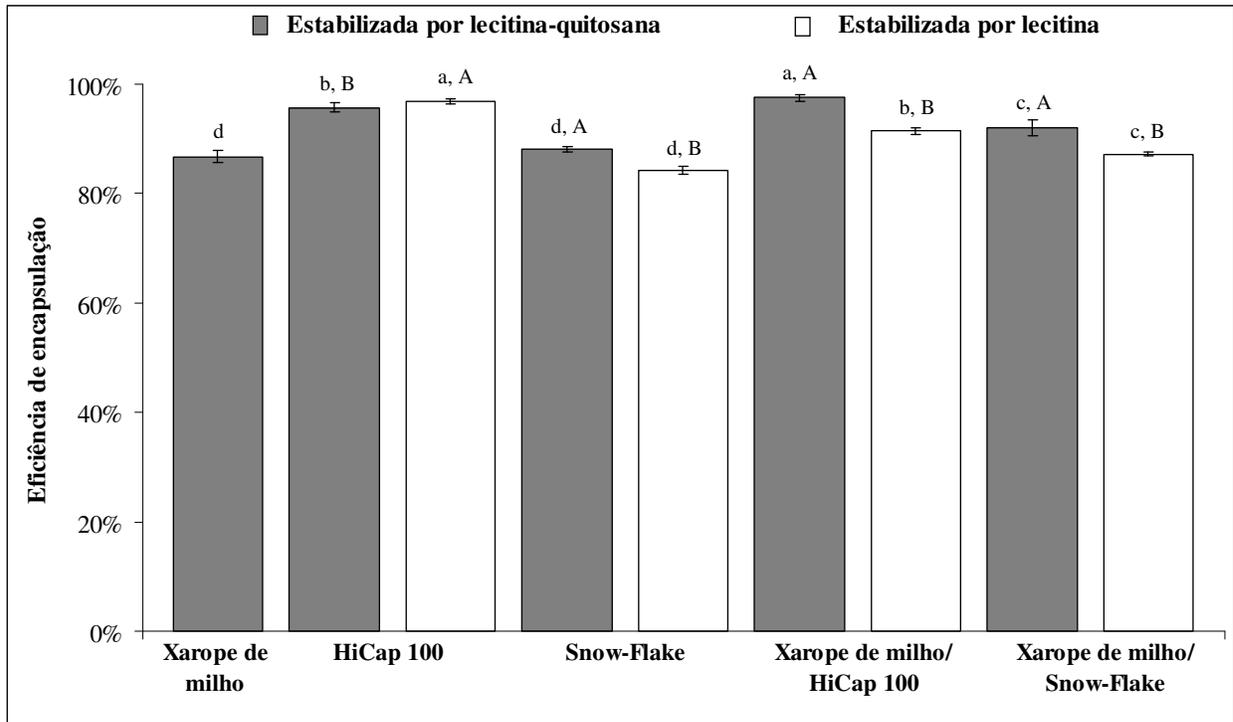


Figura 5.15 Eficiência de encapsulação das micropartículas estabilizadas por lecitina-quitosana e por lecitina. Letras minúsculas: comparação entre micropartículas produzidas pela mesma técnica (barras de mesma cor) e letras maiúsculas: comparação entre micropartículas com mesmo material de parede, porém técnicas diferentes (barras com cores diferentes). Letras iguais são tratamentos estatisticamente iguais a $p \leq 0,05$.

De maneira geral, conforme apresentado na Figura 5.15, os valores de eficiência de encapsulação foram altos para as micropartículas avaliadas, superiores a 84%. As micropartículas produzidas com Snow-Flake apresentaram a menor eficiência de encapsulação, seguidas pelas micropartículas com xarope de milho e a mistura xarope de milho/Snow-Flake. As melhores eficiências de encapsulação foram observadas com a mistura de xarope de milho/HiCap 100 e HiCap 100 puro, isso pode ser relacionado ao efeito surfactante do HiCap 100 devido a presença de grupos lipofílicos em sua estrutura. No caso do HiCap 100 puro, as micropartículas produzidas somente por lecitina apresentaram melhor eficiência de encapsulação do que as com lecitina-quitosana. Já para os demais tratamentos, verificou-se que as micropartículas produzidas com lecitina-quitosana apresentaram os maiores valores de eficiência de encapsulação.

A eficiência de encapsulação é influenciada tanto pelos materiais de parede como pelo material de recheio, assim como pelas características da emulsão e processo de secagem (JAFARI et al., 2008). A eficiência de encapsulação de microesferas é uma característica importante para avaliar a estabilidade do óleo encapsulado (AHN et al., 2008).

De acordo com Jafari et al. (2008), o tamanho da gota da emulsão pode interferir nas características das partículas produzidas por *spray drying*, como o conteúdo de óleo superficial e total, sendo que tamanhos menores de gota da emulsão promovem melhores eficiências de encapsulação.

Klinkesorn et al. (2006) observaram que microesferas de óleo de atum contendo 5% de óleo, 1% de lecitina, 0,2% de quitosana e 20% de sólidos de xarope de milho (DE 36) apresentaram eficiência de encapsulação entre 85-87% e que esses valores não foram afetados com a variação de temperatura de 165 para 180 °C. Serfert et al. (2011) verificaram que óleo de peixe (9%) encapsulado com xarope de glicose (35,2%), lecitina (1%) e quitosana (0,2%) apresentou uma eficiência de encapsulação de 83,1%. Valores próximos foram encontrados no presente trabalho para as micropartículas produzidas somente com xarope de milho estabilizadas por lecitina-quitosana.

Carneiro et al. (2012) encapsularam óleo de linhaça na concentração de 15%, com 30% de sólidos totais, utilizando maltodextrina (MD 10 DE) combinada com HiCap 100, concentrado protéico de soro de leite, goma arábica ou capsul (25/75). Verificaram que a eficiência de encapsulação foi influenciada pelos tipos de materiais de parede utilizados no preparo das emulsões. As micropartículas produzidas a partir das emulsões preparadas com HiCap 100/MD 10 DE apresentaram o menor conteúdo de óleo superficial e consequentemente maiores valores de eficiência de encapsulação, seguidas pelas partículas produzidas por Capsul/MD 10 DE. Resultados semelhantes foram obtidos nesse trabalho, onde as micropartículas produzidas com xarope de milho combinado com HiCap 100 (50/50) e somente HiCap 100 puro apresentaram os melhores valores de eficiência de encapsulação. Observa-se então, que a utilização de xarope de milho (DE 26-30) combinado com os amidos modificados afetou positivamente a eficiência de encapsulação do óleo de café verde.

Hogan et al. (2001) verificaram que melhores eficiências de encapsulação foram obtidas para encapsulação de óleo de milho com carboidratos de maiores valores de DE. Segundo esses autores, moléculas menores de carboidratos proporcionaram a formação de pós menos porosos e com matriz mais uniforme após o processo de secagem, oferecendo assim, uma melhor proteção ao material de recheio

5.4.4 Morfologia das micropartículas

A microscopia eletrônica de varredura é uma técnica que permite visualizar a estrutura das partículas, além de possibilitar a avaliação da capacidade de vários polímeros de formar boa barreira, por meio da análise da integridade e porosidade das partículas obtidas.

5.4.4.1 Microestrutura da superfície das micropartículas

A morfologia das partículas obtidas por *spray drying* foi avaliada através da microscopia eletrônica de varredura. Foram utilizadas três ampliações para cada combinação de material de parede, sendo elas de 1.000, 3.000 e 7.000 vezes. As imagens a seguir (Figuras 5.16 a 5.21) mostram as diferenças morfológicas entre as partículas, intactas, obtidas com os diferentes materiais de parede (xarope de milho, HiCap 100, Snow-Flake e xarope de milho/HiCap 100 e xarope de milho/Snow-Flake).

De modo geral, o processo de secagem por *spray drying* consiste em três passos: inicialmente ocorre a atomização, seguida da vaporização da água e por último o transporte das partículas para o ciclone e a coleta do produto final (AMERI; MAA, 2006). Durante a formação das partículas ocorre a evaporação do solvente que leva ao desenvolvimento de rugosidade na superfície das micropartículas.

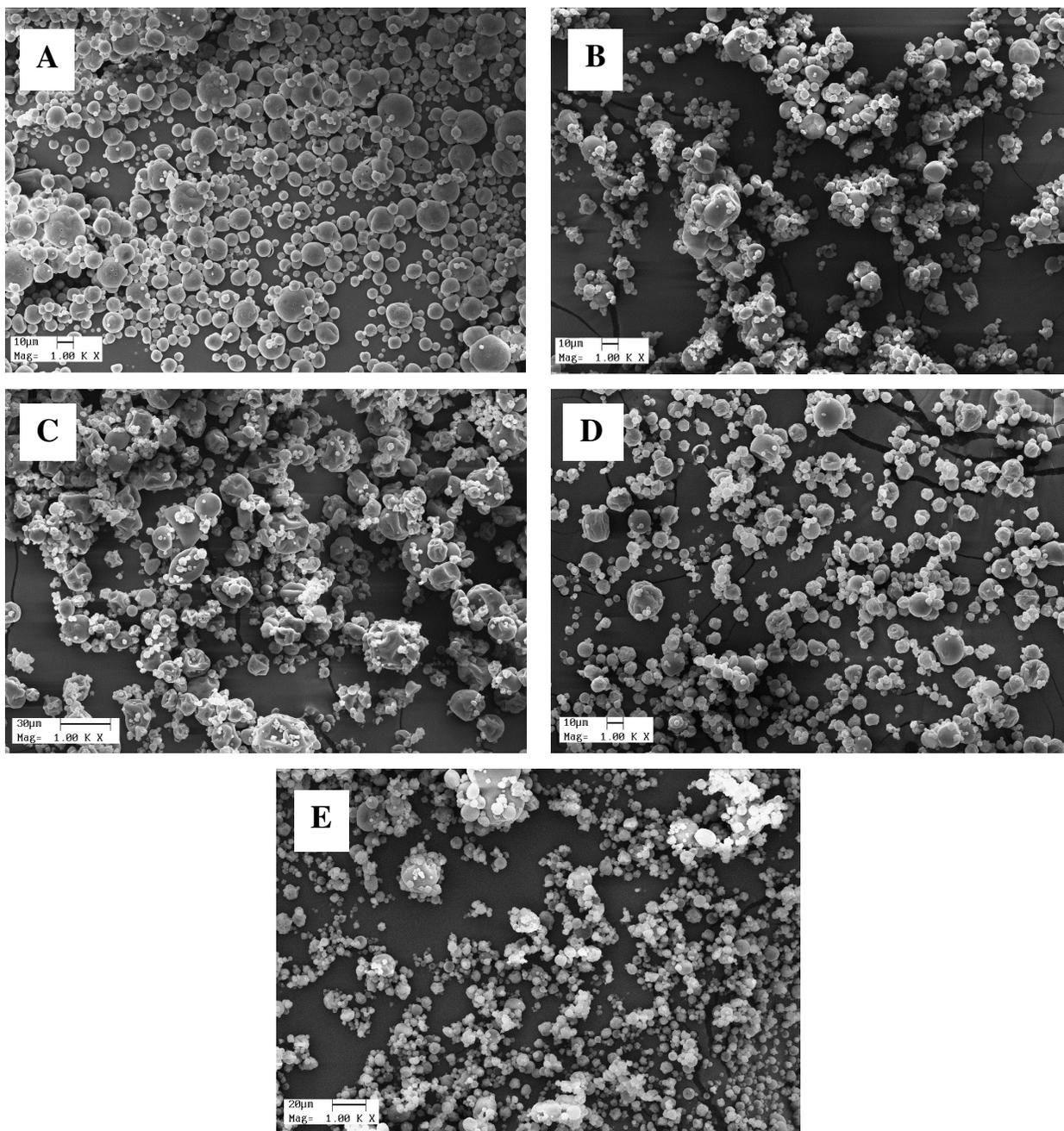


Figura 5.16 Microestrutura externa das micropartículas estabilizadas por lecitina-quitosana de xarope de milho (A), HiCap 100 (B), Snow-Flake (C), xarope de milho/HiCap 100 (D) e xarope de milho/Snow-Flake (E) com aumento de 1.000 vezes.

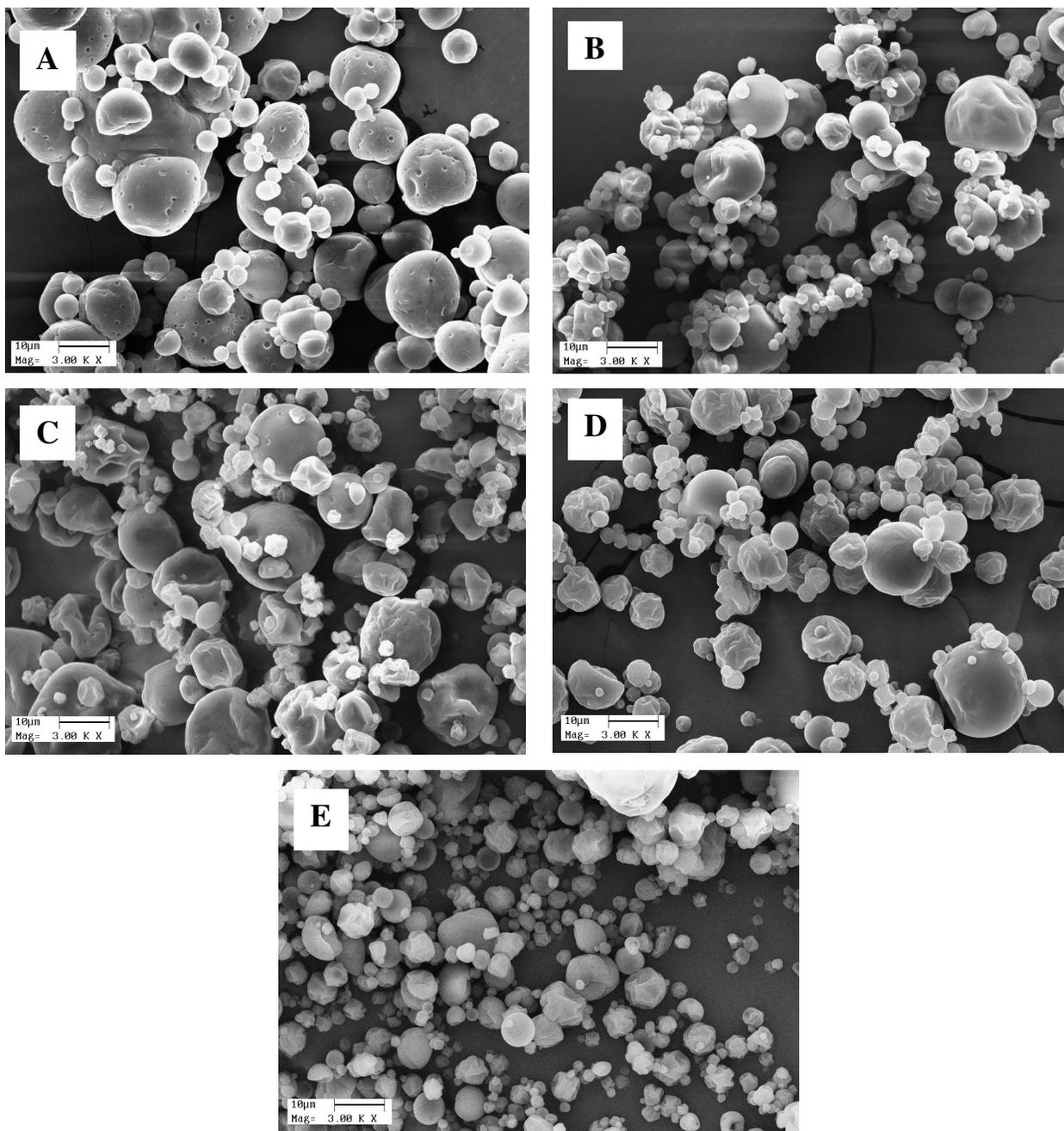


Figura 5.17 Microestrutura externa das micropartículas estabilizadas por lecitina-quitosana de xarope de milho (A), HiCap 100 (B), Snow-Flake (C), xarope de milho/Hicap 100 (D) e xarope de milho/Snow-Flake (E) com aumento de 3.000 vezes.

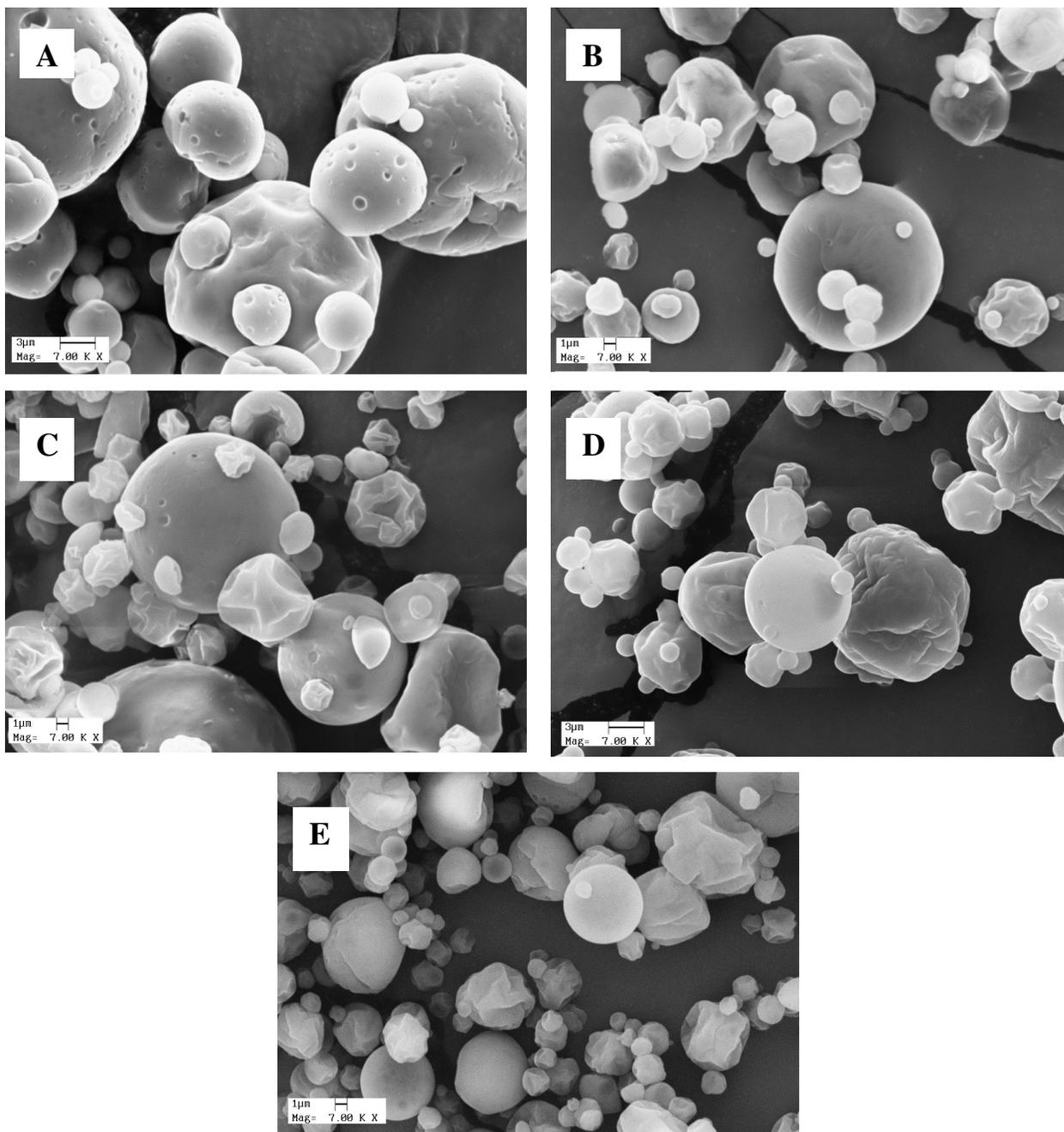


Figura 5.18 Microestrutura externa das micropartículas estabilizadas por lecitina-quitosana de xarope de milho (A), HiCap 100 (B), Snow-Flake (C), xarope de milho/HiCap 100 (D) e xarope de milho/Snow-Flake (E) com aumento de 7.000 vezes.

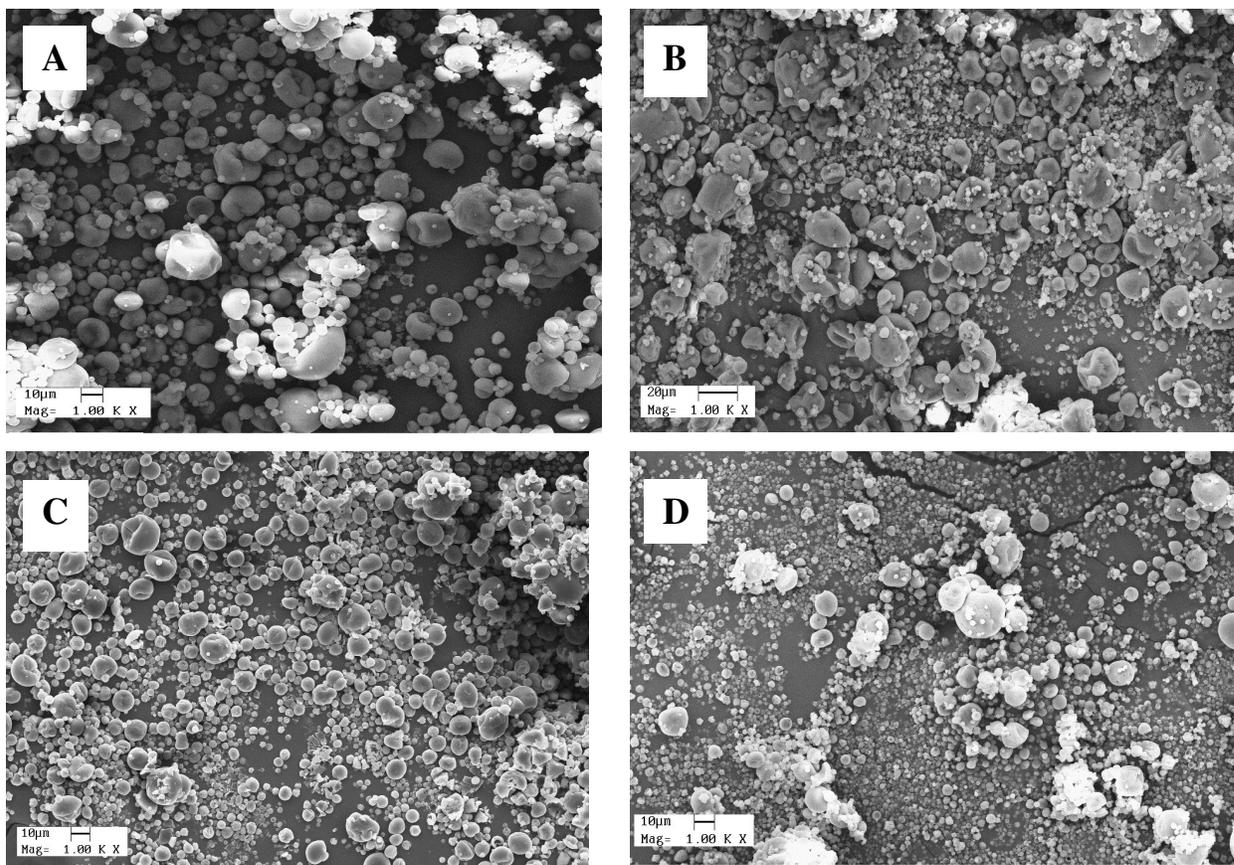


Figura 5.19 Microestrutura externa das micropartículas estabilizadas por lecitina com HiCap 100 (A), Snow-Flake (B), xarope de milho/HiCap 100 (C) e xarope de milho/Snow-Flake (D) com aumento de 1.000 vezes.

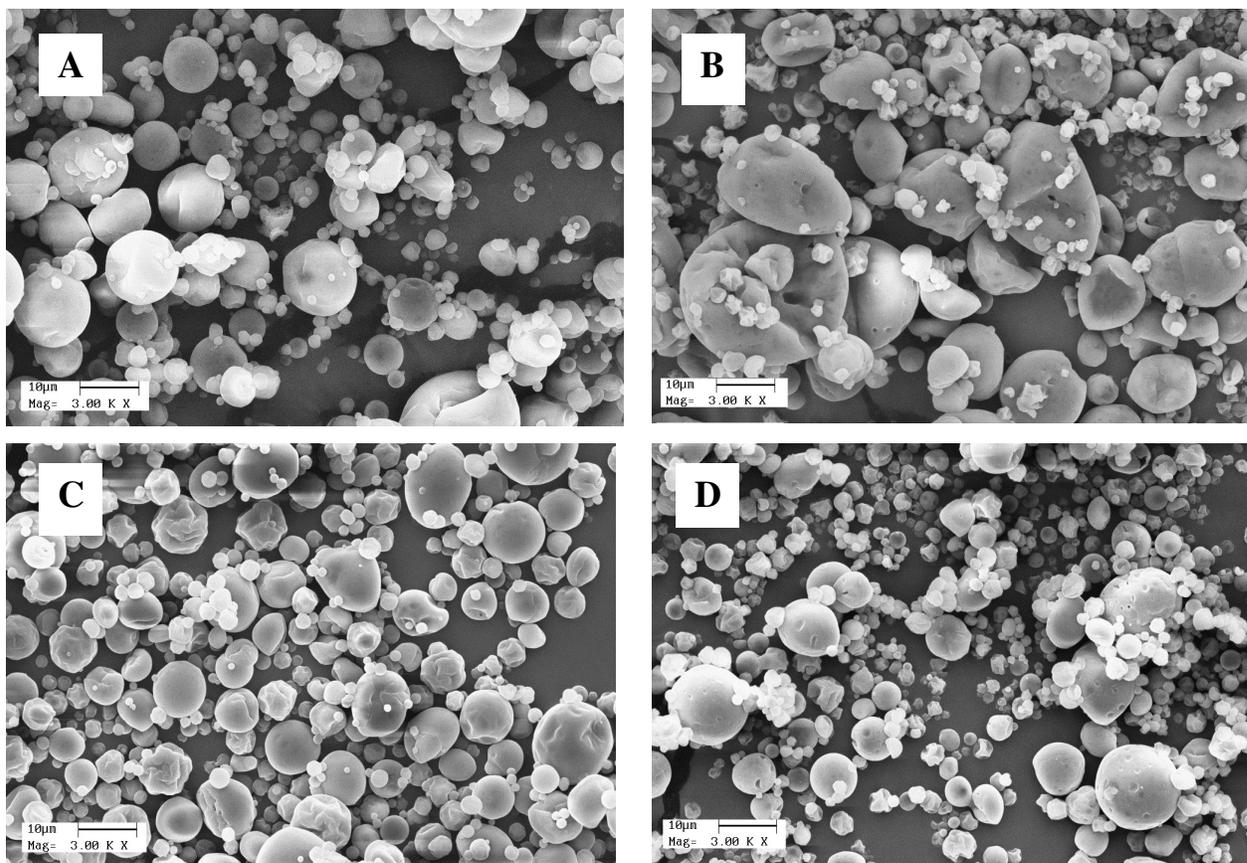


Figura 5.20 Microestrutura externa das micropartículas estabilizadas por lecitina com HiCap 100 (A), Snow-Flake (B), xarope de milho/Hicap 100 (C) e xarope de milho/Snow-Flake (D) com aumento de 3.000 vezes.

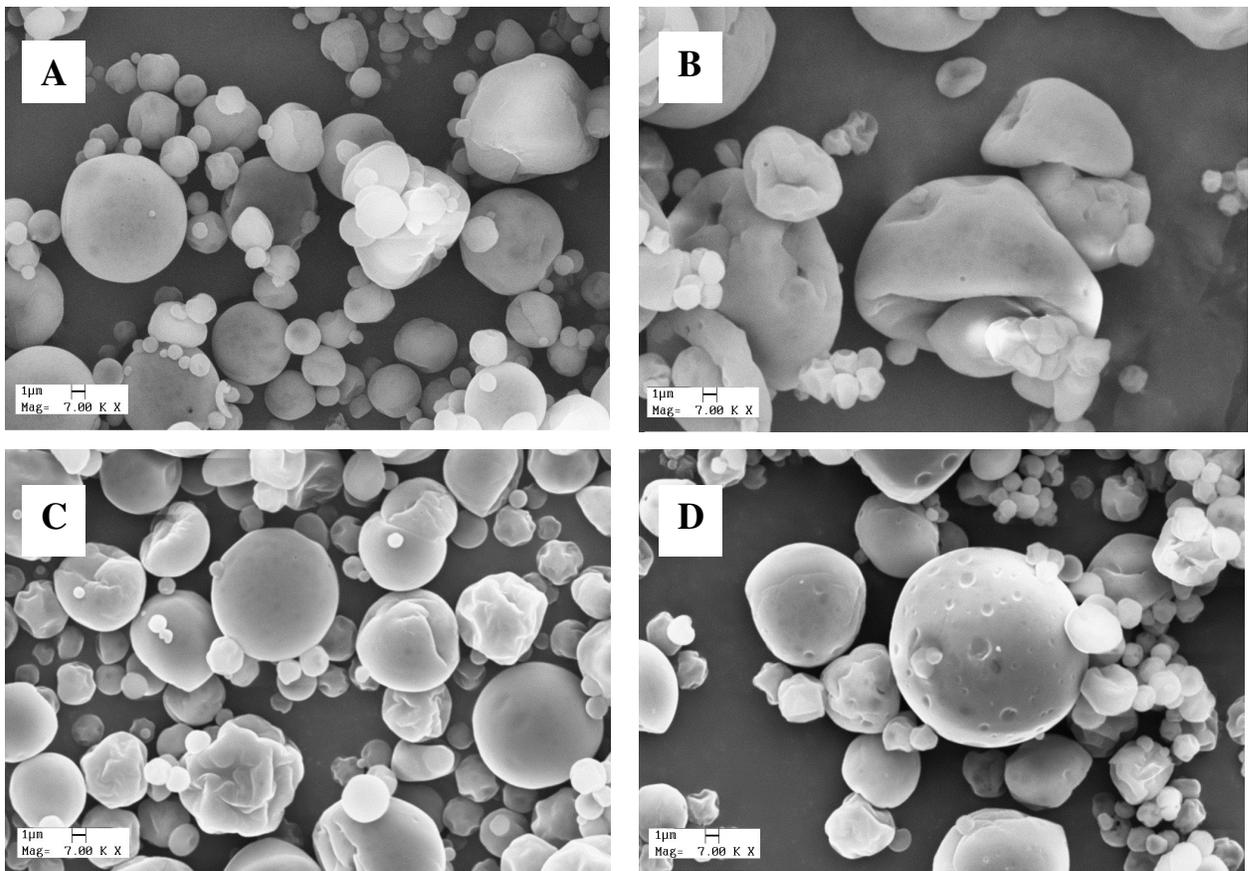


Figura 5.21 Microestrutura externa das micropartículas estabilizadas por lecitina com HiCap 100 (A), Snow-Flake (B), xarope de milho/Hicap 100 (C) e xarope de milho/Snow-Flake (D) com aumento de 7.000 vezes.

Como pode ser observado nas Figuras 5.16 a 5.21, as microesferas apresentaram, de maneira geral, formato esférico e superfície irregular, além de variedade em tamanho, sendo estas características típicas de partículas produzidas por *spray drying*.

As micropartículas produzidas com xarope de milho, visualizadas nas Figuras 5.16 (A), 5.17 (A) e 5.18 (A) apresentaram algumas rachaduras e alguns orifícios evidentes. Esse fato pode contribuir negativamente para maior permeabilidade de ar nas micropartículas, diminuindo, portanto, a proteção do material ativo. Serfert et al. (2011) obtiveram resultados semelhantes com micropartículas de óleo de peixe produzidas com a técnica de dupla camada utilizando lecitina-quitosana e xarope de glicose, sendo que esses autores observaram a presença de imperfeições e poros na superfície das micropartículas.

Gharsallaoui et al. (2012b) observaram que a superfície das partículas produzidas por *spray drying* apresentavam formato esférico e superfície mais lisa à medida que aumentava o grau de dextrose equivalente (DE) dos polissacarídeos. Eles verificaram que partículas com maltodextrina de menor valor de DE apresentaram uma superfície parcialmente esférica e com rugosidades, comparadas com as de xarope de glicose (DE 19 e 28). A ocorrência de menor rugosidade com polissacarídeos de maior DE pode ser correlacionada à menor viscosidade da emulsão, mas também à presença de moléculas de açúcar com pequena massa molecular, que podem atuar como plastificante, impedindo o encolhimento irregular durante a secagem.

Gharsallaoui et al. (2010) compararam microesferas de Miglyol® com xarope de milho (28 DE) constituídas pela dupla camada de isolado protéico de ervilha e pectina, com micropartículas produzidas por somente isolado protéico de ervilha. Verificaram, de modo geral, que as partículas apresentaram formato esférico e bem dispersas, diâmetros variando entre 2 e 10 µm e superfície lisa, sem a presença de rugosidades.

Klinkesorn et al. (2006) observaram que as partículas produzidas pelo processo de dupla camada constituídas de óleo de atum estabilizado por lecitina-quitosana e sólidos de xarope de milho apresentaram, após o processo de secagem em *spray drying*, formato esférico, além da presença de algumas depressões e poros, porém sem a ocorrência de rachaduras. Segundo esses autores, a quantidade de óleo superficial das microesferas pode estar relacionada à presença desses poros.

Ahn et al. (2008) encapsularam óleo de girassol isolado protéico de leite, dextrina e lecitina de soja como emulsificante. Esses autores verificaram que as microesferas com menor eficiência de encapsulação (70,2%) apresentavam em sua superfície poros e rachaduras, no entanto, as microesferas com maior eficiência de encapsulação (96,6%) apresentavam superfície lisa, livre de poros e rachaduras.

A presença de rachaduras e poros em partículas pode ocorrer no final do processo de secagem e pode ser relacionada à baixa propriedade viscoelástica da emulsão ou da capacidade emulsificante do material de parede (GARCIA et al., 2012).

As micropartículas produzidas com HiCap 100 (Figuras 5.16 B, 5.17 B, 5.18 B, 5.19 A, 5.20 A e 5.21 A) mostraram um formato esférico sem rachaduras ou poros

evidentes. Esse fato é importante para maior proteção do material ativo, pois diminui a possibilidade de permeação de gases através da cápsula. Soottitantawat et al. (2005) avaliaram a encapsulação de D-limoneno por *spray drying* e verificaram que as partículas produzidas por HiCap 100 apresentavam superfície mais lisa que os pós produzidos com goma arábica e maltodextrina 20 DE.

Já as micropartículas com Snow-Flake (Figuras 5.16 C, 5.17 C, 5.18 C, 5.19 B, 5.20 B e 5.21 B) apresentaram um comportamento típico de partículas produzidas por *spray drying*, com aspecto murcho e presença de rugosidades. Segundo Ré (1998) a presença das rugosidades em microesferas se deve provavelmente, ao encolhimento das gotas em estágios iniciais de secagem.

A combinação xarope de milho com os amidos modificados nas Figuras 5.16 (D e E), 5.17 (D e E), 5.18 (D e E), 5.19 (C e D), 5.20(C e D), e 5.21 (C e D) proporcionou a formação de micropartículas com formatos variados, microesferas com superfície mais lisa e também microesferas com superfície mais murcha. Hogan et al. (2001) verificaram que partículas produzidas com óleo de milho, caseinato de sódio e sólidos de xarope de milho (DE 28) apresentaram partículas com superfícies lisas e também partículas com superfícies rugosas.

De acordo com Gharsallaoui et al. (2012b), carboidratos com menores valores de dextrose equivalente proporcionam emulsões com maiores viscosidades e isso faz com que, durante o processo de secagem, as partículas não sejam bem formadas, pois as partículas tendem a se agregar formando algumas pontes sólidas entre as partículas individuais. Além disso, acontece também a formação de agregados irregulares. De maneira geral, não foi observado a formação de pontes sólidas entre as micropartículas analisadas no presente trabalho. Outro ponto importante abordado por esses autores foi a prevalência de partículas com superfície mais rugosa entre partículas menores do que entre as maiores, sugerindo que a solidificação das paredes pode ocorrer antes do processo de expansão, devido ao efeito da taxa de secagem.

5.4.4.2. Microestrutura da superfície interna das micropartículas

As micropartículas foram quebradas para a observação do interior (recheios) de cada uma delas, conforme metodologia apresentada no item 4.8.3.

Nas Figuras 5.22 e 5.23 estão apresentadas a superfície interna das micropartículas preparadas com os materiais de parede (xarope de milho, HiCap 100, Snow-Flake, xarope de milho/HiCap 100, xarope de milho/Snow-Flake), sendo que as ampliações apresentadas são de 7.000 vezes, uma vez que foram as imagens que melhor mostraram a seção cortada da microesfera. Como pode ser observado nas Figuras 5.22 e 5.23, verifica-se uma típica estrutura interna de micropartículas, onde a presença de pequenos poros incorporados na matriz da parede fornecem indícios de que o material ativo está disperso na forma de pequenas gotículas, além de um grande vazio que ocupa a maior parte do volume da micropartícula. Esse fato pode ser relacionado a eficiência de encapsulação oferecida por estes materiais, que foram superiores a 84%.

Gharsallaoui et al. (2010) também verificaram a presença de óleo na forma de pequenos orifícios encontrados na matriz da parede de microesferas e a ocorrência de um vazio no centro da partícula, característico da expansão de bolhas de ar incorporadas dentro das gotas de microesferas produzidas de Miglyol® com xarope de milho (28 DE), constituídas pela dupla camada de isolado protéico de ervilha e pectina e micropartículas produzidas por somente isolado protéico de ervilha.

Embora tenha sido feita uma raspagem manual, o número de micropartículas quebradas foi pequeno; as micropartículas de modo geral, se mostraram bem resistentes à quebra. Essa resistência pode estar associada à espessura da parede das micropartículas. Nesse quesito destacam-se as microesferas de HiCap 100 e xarope de milho/HiCap 100 estabilizadas por lecitina-quitosana, que aparentemente se apresentaram mais espessas nas imagens de microscopia eletrônica de varredura, comparadas às demais.

É importante destacar a correlação entre os diâmetros das gotas obtidos nas microscopias óticas, com as imagens dos poros da microestrutura interna das micropartículas. Através das Figuras 5.22 e 5.23, destacam-se as micropartículas produzidas por somente xarope de milho estabilizadas por lecitina-quitosana (Figura 5.22 A) e as produzidas por xarope de milho/Snow-Flake estabilizada por lecitina (Figura 5.23

D), onde se pode verificar a presença de poros menores e poros maiores, respectivamente. Esse fato está de acordo com os diâmetros obtidos nessas micropartículas, sendo 1,51 μm para as micropartículas com xarope de milho e 3,76 μm , para as micropartículas com xarope de milho/Snow-Flake.

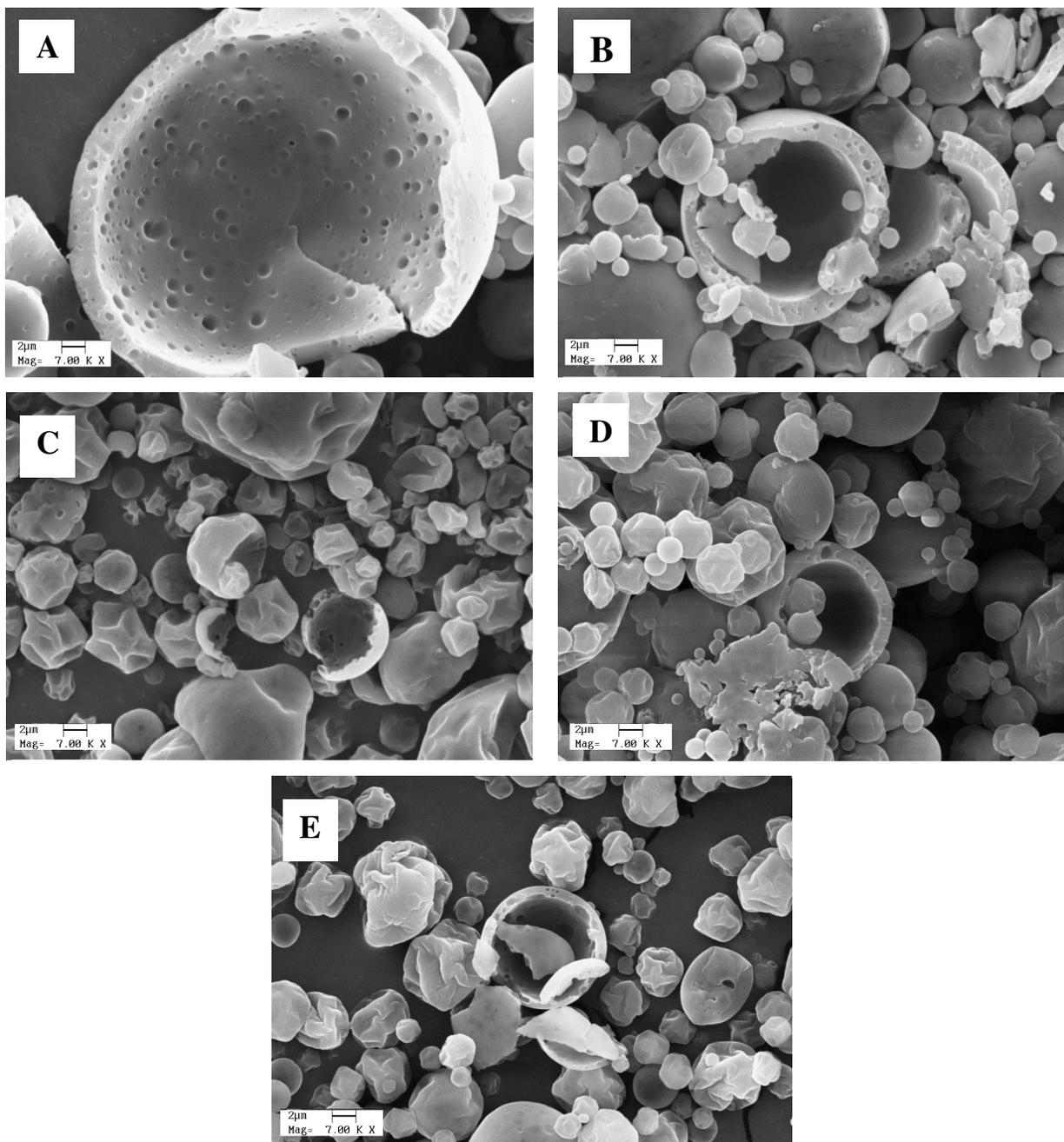


Figura 5.22 Microestrutura interna das micropartículas estabilizadas por lecitina-quitosana com xarope de milho (A), HiCap 100 (B), Snow-Flake (C), xarope de milho/HiCap 100 (D) e xarope de milho/Snow-Flake (E).

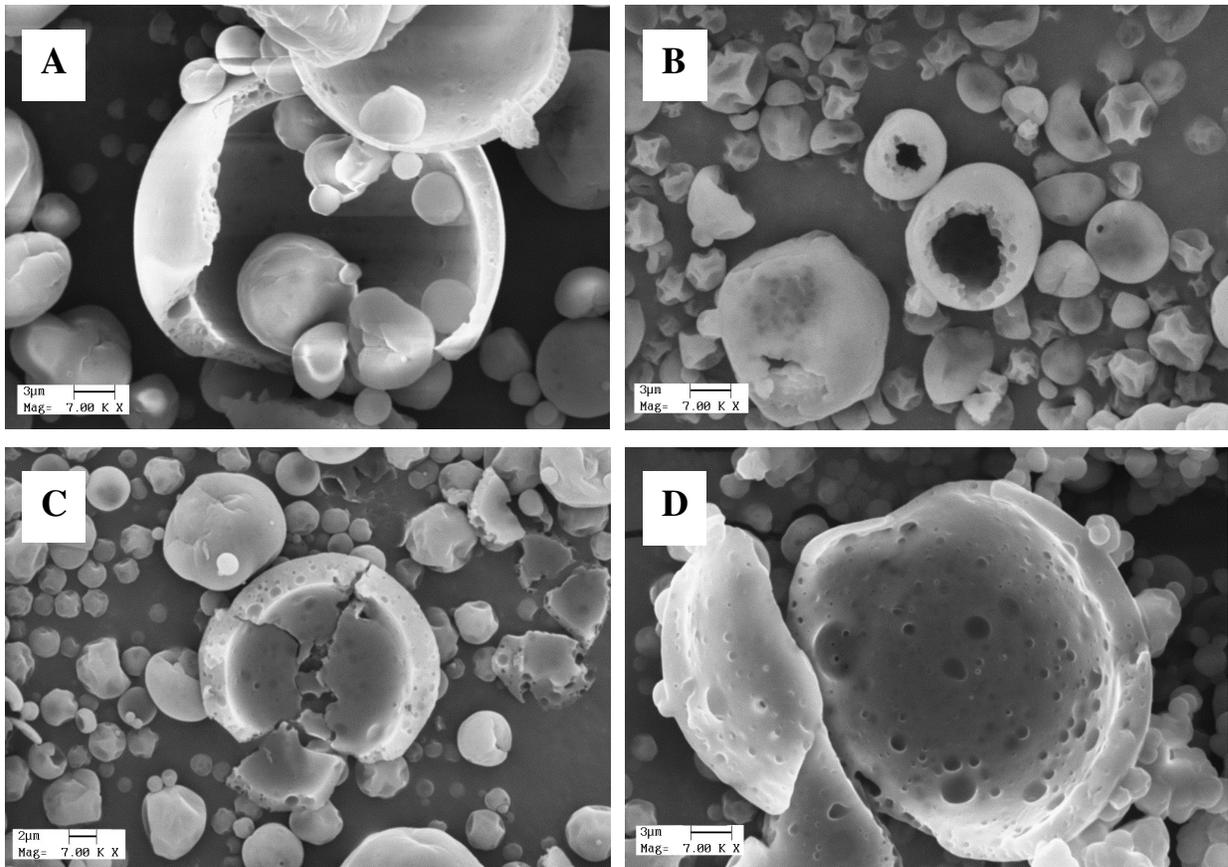


Figura 5.23 Microestrutura interna das partículas estabilizadas por lecitina com HiCap 100 (A), Snow-Flake (B), xarope de milho/HiCap 100 (C) e xarope de milho/Snow-Flake (D).

5.5 Fator de proteção

O fator de proteção solar (FPS) do óleo de café verde e das micropartículas foi determinado conforme a metodologia descrita no item 4.9. O óleo de café verde da espécie *C. arábica* apresentou FPS $2,12 \pm 0,06$, entretanto Wagemaker et al. (2011) determinou para essa mesma espécie de café valores de FPS variando entre 1,24 a 1,78. As variações encontradas podem ter sido ocasionadas pelas condições de colheita dos grãos verdes de café, método de extração ou condições das análises.

Na Tabela 5.11 estão apresentados os dados de fator de proteção das emulsões após processo de secagem por *spray drying*. E na Figura 5.24 está apresentada a curva de $EE(\lambda) \times I(\lambda) \times \text{Absorbância}$ versus comprimento de onda.

Tabela 5.11 Fator de Proteção Solar das micropartículas estabilizadas por lecitina-quitosana e por lecitina.

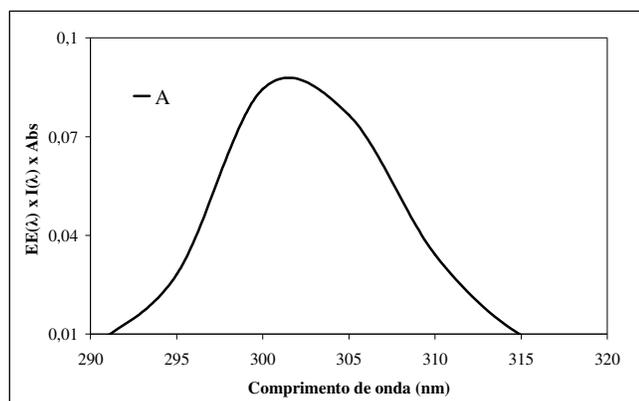
Materiais de parede	FPS	
	Estabilizadas por lecitina-quitosana	Estabilizadas por lecitina
Xarope de milho	2,45±0,15 ^a	-
HiCap 100	1,52±0,10 ^{c,B}	1,92±0,07 ^{a,A}
Snow-Flake	1,37±0,10 ^{c,A}	1,57±0,10 ^{b,A}
Xarope de milho/HiCap 100 (50/50)	1,92±0,06 ^{b,A}	1,98±0,01 ^{a,A}
Xarope de milho/Snow-Flake (50/50)	1,57±0,09 ^{c,A}	1,63±0,05 ^{b,A}

Letras minúsculas: comparação entre micropartículas da mesma coluna e letras maiúsculas: comparação entre micropartículas da mesma linha.

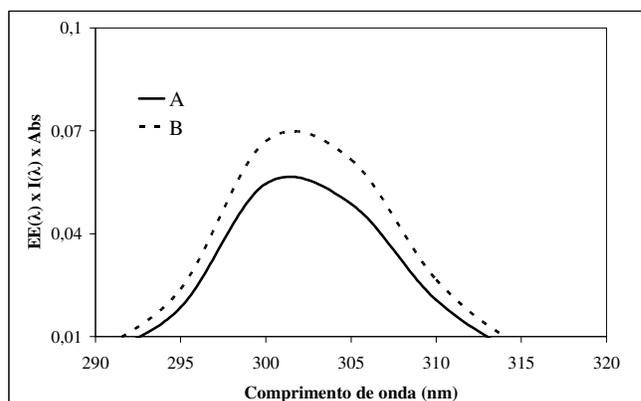
Letras iguais são tratamentos estatisticamente iguais a $p \leq 0,05$.

As micropartículas apresentaram FPS entre 1,37 e 2,45, estando esses valores dentro do esperado e próximos ao apresentado pelo óleo de café verde, que foi de 2,12. Observa-se que as micropartículas produzidas com o xarope de milho apresentaram um FPS mais alto quando comparadas com as micropartículas produzidas somente com os amidos modificados. Verifica-se então, que a combinação do xarope de milho com o HiCap 100 e Snow-Flake proporcionou um incremento no FPS, contribuindo assim, para melhorar o fator de proteção das micropartículas produzidas com o óleo de café verde.

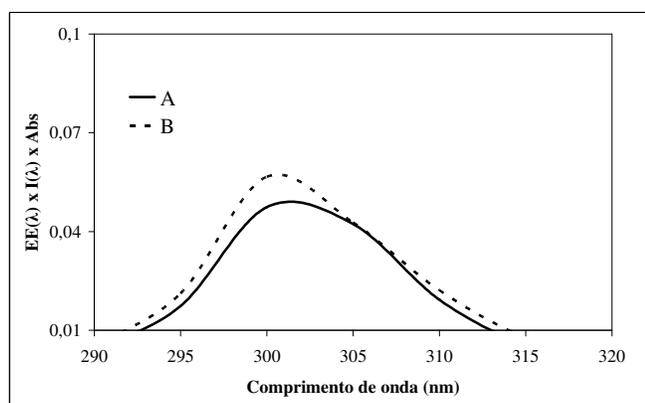
Como pode ser visualizado na Figura 5.24, a atuação do óleo de café verde como filtro solar pode ser classificada como um filtro orgânico devido a presença de compostos orgânicos e seu princípio de proteção se dá pela absorção das radiações ultravioletas na faixa do UVB de 290 a 320 nm (GROLLIER; PLESSIS, 1981).



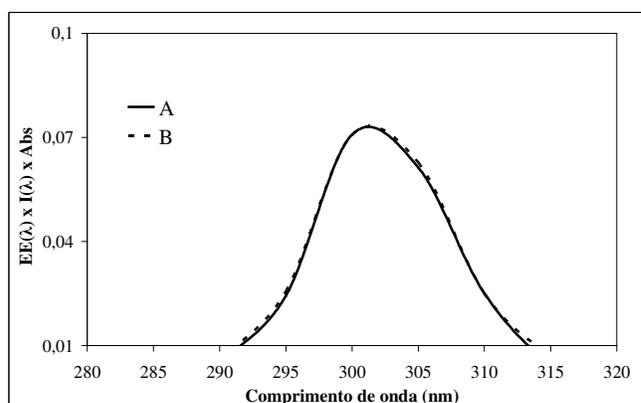
Xarope de milho



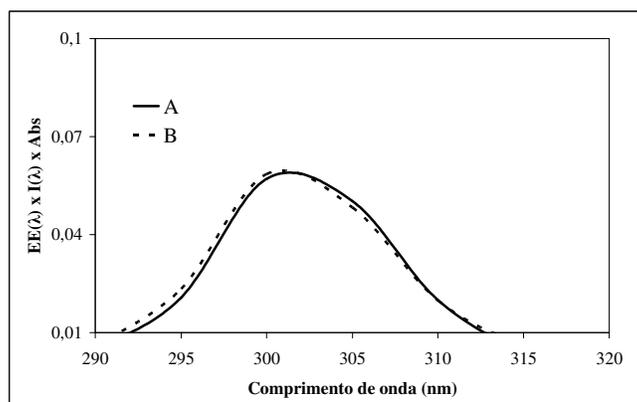
HiCap 100



Snow-Flake



Xarope de milho/HiCap 100 (50/50)



Xarope de milho/Snow-Flake (50/50)

Figura 5.24 Comparação do FPS das micropartículas estabilizadas por lecitina-quitosana (A) e por lecitina (B) obtidas a partir de diferentes combinações de materiais de parede.

$EE(\lambda) \times I(\lambda) \times$ Absorbância versus comprimento de onda.

Kolling-Speer, Strohschneider e Speer (1999) analisaram a torrefação de grãos verdes dos cafés Arábica e Robusta utilizando uma faixa de temperatura entre 233 e 257 °C durante três minutos e observaram uma diminuição significativa dos diterpenos cafestol e caveol. Segundo esses autores, esses diterpenos estão presentes na fração lipídica insaponificável e ocorrem apenas em cafés. Acredita-se que a função de absorver a radiação solar UVB (290 a 320 nm) do óleo de café verde é desempenhada pelos diterpenos cafestol, caveol e seus ésteres (GROLLIER; PLESSIS, 1988; KOLLING-SPEER; STROHSCHNEIDER; SPEER, 1999).

De acordo com Grollier e Plessis (1988) o óleo de café verde pode ser utilizado na composição de produtos apresentados na forma de dispersão, emulsão, creme ou gel, como produtos para tratamentos dos cabelos, como shampoos, loções e tinturas, ou produtos para cuidados da pele ou unhas, como sabonetes e maquiagem. Além disso, ele pode estar presente na composição de produtos que contém constituintes sensíveis às radiações ultravioletas no comprimento UVB, de maneira que o óleo irá proteger esses compostos da degradação.

Observa-se que além do aspecto mercadológico, o grande foco do setor dos protetores solares é sem dúvida, sua importância na fotoproteção. Sendo assim, verifica-se a necessidade de desenvolvimento de novos produtos com maior eficácia, mais eficientes na proteção e mais estáveis quimicamente, além de um melhor entendimento físico-químico dos antigos e novos filtros solares (FLOR; DAVOLO; CORREA, 2007).

O método de avaliação do Fator de Proteção (FPS) desenvolvido por Mansur et al. (1986) também foi utilizado em outros trabalhos (KAUR; SARAF, 2010; RIBEIRO et al., 2004; SANTOS et al., 1999; WAGEMAKER et al., 2011). O método *in vitro* de avaliação do FPS baseia-se nas propriedades absorptivas ou refletoras de filtros que podem ser utilizados no desenvolvimento de formulações de cosméticos. Apresenta vantagens por ser rápido, objetivo, além de ser uma ferramenta para identificar novos filtros, estudar combinações entre filtros já conhecidos e garantir maior segurança em testes *in vivo* (RIBEIRO et al., 2004; SANTOS et al., 1999).

No presente trabalho, o óleo de café verde foi avaliado pelo método *in vitro* desenvolvido por Mansur et al. (1986) para o FPS 2, pois sabe-se que para baixos valores

de FPS existe uma forte correlação entre o FPS *in vitro* com o FPS *in vivo*. Contudo, pela atual legislação definida pela ANVISA (2012), o valor mínimo do FPS antes considerado 2, será 6 e a proteção contra os raios UVA terá que ser pelo menos 1/3 do valor do FPS declarado no produto. Então, para atender à nova legislação, verifica-se que o Fator de Proteção Solar do produto elaborado com óleo de café verde pode ser aumentado pela adição de mais óleo, na forma pura ou em micropartículas.

5.6 Estabilidade oxidativa

As micropartículas produzidas por xarope de milho, HiCap 100 e Snow-Flake, de maneira combinada ou pura, estabilizadas por lecitina-quitosana e por somente lecitina foram levadas para estudo de estabilidade oxidativa. Essas micropartículas foram selecionadas para análise de estabilidade oxidativa pelo método Rancimat, conforme descrito no item 4.10, por apresentarem os maiores valores de eficiência de encapsulação, como apresentado na Tabela 5.12. Destacando que nessa etapa as micropartículas produzidas com Snow-Flake não foram selecionadas por terem apresentado os menores valores de eficiência de encapsulação.

Tabela 5.12 Eficiência de encapsulação das micropartículas estabilizadas por lecitina-quitosana e por somente lecitina, selecionadas para análise de oxidação pelo método Rancimat.

Micropartículas selecionadas	Eficiência de encapsulação (%)	
	Estabilizadas por lecitina-quitosana	Estabilizadas por lecitina
Xarope de milho	86,8±1,10 ^d	-
HiCap 100	95,7±0,80 ^{b,B}	96,8±0,50 ^{a,A}
Xarope de milho/HiCap 100 (50/50)	97,50±0,60 ^{a,A}	91,4±0,60 ^{b,B}
Xarope de milho/Snow-Flake (50/50)	91,9±1,4 ^{c,A}	87,2±0,40 ^{c,B}

Letras minúsculas: comparação entre micropartículas da mesma coluna e letras maiúsculas: comparação entre micropartículas da mesma linha.

Letras iguais são tratamentos estatisticamente iguais a $p \leq 0,05$.

Os valores do tempo de indução (h) das micropartículas produzidas por xarope de milho, HiCap 100, xarope de milho/HiCap 100 (50/50) e xarope de milho/Snow-Flake (50/50), estabilizadas por lecitina-quitosana e por somente lecitina e o óleo de café verde como controle, estão apresentados na Tabela 5.13. Admite-se que maior tempo de indução (h) resulta em maior estabilidade oxidativa das micropartículas, uma vez que esse tempo corresponde a uma resposta do processo de formação de compostos de oxidação do óleo, devido ao fluxo de ar e temperatura.

Conforme pode ser observado na Tabela 5.13, verifica-se que as microesferas produzidas com xarope de milho, HiCap 100, xarope de milho/HiCap 100 e xarope de milho/Snow-Flake apresentaram tempo de indução superiores ao óleo de café verde. Nesse sentido, pode-se dizer que o processo de microencapsulação do óleo de café verde foi efetivo, proporcionando uma maior estabilidade oxidativa desse óleo.

Tabela 5.13 Tempo de indução obtido pelo método Rancimat para as microesferas estabilizadas por lecitina-quitosana e por lecitina e o óleo de café verde como controle.

Controle	Tempo de indução (h)	
Óleo de café verde	2,36±0,08	
Microesferas	Estabilizadas por lecitina-quitosana	Estabilizadas por lecitina
Xarope de milho	6,90±0,14 ^c	-
HiCap 100	26,75±1,06 ^{a,A}	15,00±2,82 ^{a,B}
Xarope de milho/HiCap 100 (50/50)	17,50±0,70 ^{b,A}	13,50±0,70 ^{a,B}
Xarope de milho/Snow-Flake (50/50)	6,20±0,14 ^{c,B}	9,50±0,70 ^{a,A}

Letras minúsculas: comparação entre micropartículas da mesma coluna e letras maiúsculas: comparação entre micropartículas da mesma linha.

Letras iguais são tratamentos estatisticamente iguais a $p \leq 0,05$.

Halbaut et al. (1997), utilizando o método Rancimat obtiveram um tempo de indução para o óleo de milho de aproximadamente 2,26 horas. De acordo com esses

autores, este tempo curto de indução é característico de óleos poliinsaturados. No presente trabalho, o óleo de café verde apresentou um tempo de indução de aproximadamente 2,36 horas, semelhante ao encontrado para o óleo de milho. Esperava-se realmente um tempo curto de indução para óleo de café verde (controle), pois se encontra presente em sua composição, em maior quantidade (44,31%), o ácido graxo insaturado linoléico (C18:2).

O tempo de indução para as micropartículas variaram entre 6,20 e 26,75 horas, sendo que as micropartículas com xarope de milho/Snow-Flake estabilizadas por lecitina-quitosana apresentaram o menor tempo de indução (6,20 h) e as micropartículas produzidas com HiCap 100 estabilizadas por lecitina-quitosana apresentaram o maior tempo de indução (26,75 h).

Pelas Tabelas 5.12 e 5.13, verifica-se que as micropartículas produzidas com HiCap 100 e xarope de milho/HiCap 100 apresentaram os melhores valores de eficiência de encapsulação e, conseqüentemente, maiores tempos de indução, variando entre 13,50 e 26,75 h. Além disso, verifica-se também que as micropartículas estabilizadas por lecitina-quitosana apresentaram maior estabilidade oxidativa comparadas às micropartículas constituídas por apenas lecitina. Nota-se que a presença da quitosana nessas micropartículas com HiCap 100 e xarope de milho/HiCap 100 proporcionou uma melhor barreira à oxidação, em virtude da dupla camada formada pela atração eletrostática entre a lecitina e a quitosana, durante o preparo da emulsão.

As microesferas produzidas por xarope de milho/Snow-Flake estabilizadas por lecitina-quitosana e por somente lecitina apresentaram tempo curto de indução, comparado com o tempo obtido pelas micropartículas com HiCap 100, na forma pura ou combinado com xarope de milho. Esse fato pode ser relacionado ao menor diâmetro apresentado por essas microesferas (14,51 e 16,40 μm , respectivamente) contribuindo então, para maior área superficial e portanto, maior contato com oxigênio.

Além disso, sabe-se que a oxidação lipídica é mais estável em valores de atividade de água próximos a 0,3, no entanto, valores de atividade de água inferiores a 0,2 e acima de 0,5 aceleram a oxidação de lipídios (LABUZA et al., 1972). Logo, observa-se que as micropartículas preparadas com xarope de milho e a mistura xarope de milho/Snow-Flake apresentaram atividade de água igual ou inferior a 0,2, esse valor mais baixo de atividade

de água pode ter contribuído para menor estabilidade oxidativa como apresentado pelo tempo de indução (Tabela 5.13) dessas micropartículas.

Outro fato importante que pode ser analisado através da Tabela 5.13 é a influência do xarope de milho no tempo de indução das microesferas. A combinação do xarope de milho com HiCap 100 (50/50) proporcionou uma menor estabilidade oxidativa, comparada com as microesferas produzidas por somente HiCap 100. Esse fato era esperado, pois o xarope de milho apresentou um tempo menor de indução (6,90 h), logo a sua influência quando combinado com o amido modificado, acarretou conseqüentemente, uma menor estabilidade oxidativa. Vale ressaltar também que as microesferas produzidas com xarope de milho apresentaram uma menor eficiência de encapsulação (86,8%), dentre as microesferas analisadas pelo método Rancimat. Esse fato pode ser associado à presença dos orifícios e rachaduras visualizadas na análise de microestrutura, possibilitando, portanto, uma maior facilidade à oxidação.

Serfert et al. (2011) verificaram que micropartículas de óleo de peixe produzidas por dupla camada lecitina-quitosana e sólidos de xarope de glucose apresentaram menor estabilidade oxidativa comparadas às microesferas produzidas por somente lecitina e xarope de glicose. De acordo com esses autores, a presença de quitosana em excesso pode ter contribuído para menor estabilidade oxidativa das partículas formando micropartículas com furos, permitindo maior acesso do oxigênio ao óleo encapsulado.

Ahn et al. (2008) microencapsularam óleo de girassol com isolado protéico de leite e lecitina de soja e analisaram a oxidação do óleo pelo método Rancimat. Esses autores obtiveram tempo de indução correspondente a 20,80 horas para micropartículas produzidas nas condições otimizadas, com eficiência de encapsulação de 96,6%, comparado com o tempo de 12,70 horas para microesferas com 70,2% de eficiência de encapsulação.

Relacionando o potencial zeta obtido das emulsões, recorda-se que as emulsões estabilizadas por somente lecitina apresentaram potencial zeta negativo, já as estabilizadas por lecitina-quitosana apresentaram potencial zeta positivo, exceto as preparadas com HiCap 100. Acredita-se então, que o HiCap 100, aumentou a espessura das camadas das emulsões estabilizadas por lecitina-quitosana, sendo portanto, um reforço maior à estabilidade oxidativa das micropartículas, como verificado pelos resultados de tempo de

indução das micropartículas produzidas por essas emulsões. Conseqüentemente, as micropartículas estabilizadas por somente lecitina, apresentaram um comportamento mais susceptível à oxidação.

De acordo com Guzey e McClements (2006), a emulsão monocamada constituída por óleo de milho e SDS (dodecilsulfato de sódio) apresentou maior instabilidade à oxidação lipídica, comparada com a emulsão formada pela dupla camada constituída por óleo de milho, SDS e quitosana. Após análise com íons Fe^{+2} , esses autores verificaram que essa maior instabilidade foi atribuída à capacidade dos íons Fe^{+2} se adsorverem à superfície aniônica das gotas de óleo cobertas com SDS. Já a maior estabilidade das emulsões com dupla camada foi relacionada à presença de cargas positivas na superfície devido à presença da quitosana, promovendo a repulsão eletrostática aos íons Fe^{+2} . Além disso, a maior espessura interfacial da membrana pôde funcionar como uma barreira física, impedindo que o ferro entre em contato com o substrato lipídico.

Hong-Kwong et al. (2012) analisaram a estabilidade oxidativa do óleo da semente de pitaia microencapsulado por *spray drying*, através do método de Rancimat. Esses autores observaram que o tempo de indução variou entre 5,20 e 38 horas e essa variação teve influência dos diferentes materiais de parede utilizados.

De acordo com Serfert, Drusch e Schwarz (2009) a oxidação lipídica pode ser acelerada (1) pelo aumento da temperatura do óleo como consequência do cisalhamento e turbulência durante o processo de homogeneização utilizando alta pressão e também pela exposição da emulsão à alta temperatura do ar de secagem; e (2) pelo rompimento das gotas da emulsão pela cavitação e subsequente reorganização dessas durante a homogeneização, promovendo assim, a incorporação do oxigênio e, conseqüentemente, acelerando a oxidação lipídica.

6 CONCLUSÃO

Através da primeira etapa deste trabalho, foi possível avaliar o desempenho das combinações do xarope de milho com os amidos modificados HiCap 100 e Snow-Flake e também a forma pura desses materiais nas emulsões preparadas com o óleo de café verde. De maneira geral, as emulsões se apresentaram estáveis.

A combinação de xarope de milho com os amidos modificados mostrou-se uma boa alternativa de combinação de materiais de parede para microencapsulação de óleos. De maneira geral, obteve-se aumento na eficiência de encapsulação, além de redução da viscosidade das emulsões preparadas com os amidos puros e, conseqüentemente, gotas mais dispersas e maior facilidade de passagem da emulsão pelo bico atomizador durante o processo de secagem. O aspecto econômico também é importante, pois o xarope de milho apresenta menor valor agregado comparado aos outros materiais de parede utilizados.

O material de parede Snow-Flake apresentou uma alta viscosidade na concentração de 40% de sólidos totais para as emulsões analisadas, proporcionando a formação de grandes aglomerados nas emulsões que dificultou a passagem desta pela bomba peristáltica e bico atomizador do equipamento utilizado neste trabalho. Já a combinação desse material de parede com o xarope de milho permitiu melhorar os resultados de eficiência de encapsulação para as microesferas, comparadas com as produzidas por Snow-Flake puro, além de produzir gotas e partículas com menores diâmetros. No entanto, a estabilidade oxidativa dessas micropartículas, comparadas com as micropartículas produzidas pelo HiCap 100 e xarope de milho/HiCap 100 apresentou um tempo de indução bem inferior, sendo, portanto, partículas mais susceptíveis à oxidação.

Pode-se dizer que o HiCap 100 foi um bom material de parede para a produção de micropartículas estabilizadas por lecitina-quitosana pelo método de dupla camada, sendo portanto, uma alternativa ao xarope de milho, que embora tenha proporcionado uma eficiência de encapsulação alta, não garantiu um tempo longo de estabilidade oxidativa às partículas. As micropartículas produzidas com HiCap 100, na forma pura ou combinada com xarope de milho, apresentaram valores altos de eficiência de encapsulação, além de uma alta estabilidade oxidativa para as micropartículas constituídas por lecitina-quitosana.

O óleo de café verde vem sendo utilizado pela indústria cosmética devido à sua propriedade emoliente. No entanto, de acordo com os resultados apresentados nesse trabalho, constatou-se que as partículas de óleo de café verde combinadas com outros filtros físicos ou químicos, podem ser uma alternativa interessante em formulações de cosméticos, sendo um produto natural e com capacidade de absorção de comprimentos de onda na faixa UVB (290 a 320 nm).

7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Na produção de emulsões com dupla camada utilizando lecitina-quitosana podem ser avaliadas outras proporções entre o xarope de milho e os amidos modificados HiCap 100 e Snow-Flake;
- Estudar o comportamento de outros materiais de parede, como maltodextrina de diferentes dextroses equivalentes e outros tipos de amido modificado, na formulação de emulsão com dupla camada estabilizada por lecitina-quitosana;
- Avaliar uma menor concentração de xarope de milho para a emulsão estabilizada por somente lecitina, para evitar o processo de floculação das gotas de óleo devido ao efeito osmótico e também para o amido modificado Snow-Flake, de maneira que uma emulsão menos viscosa e partículas menos aglomeradas sejam obtidas;
- Determinar a estabilidade oxidativa das microesferas produzidas por emulsões com dupla camada e monocamada, através da cromatografia gasosa para verificar os principais compostos voláteis produzidos durante a oxidação;
- Avaliar o fator de proteção *in vitro* por metodologias aceitas pela ANVISA e FDA, além de avaliar a eficácia das micropartículas de óleo de café verde pelo método *in vivo* para uma futura aplicação cosmética.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIC, 2011. Associação Brasileira da Indústria de Café. Produção e Exportação Mundial de Café - Principais Países Produtores. Disponível em: <<http://www.abic.com.br>>. Acesso em: 01 outubro de 2012.

ADAMIEC, J.; MODRZEJEWSKA, Z. Some structural properties of spray-dried chitosan microgranules. **Drying Technology**, v. 23, p. 1601-1611, 2005.

AHN, J. H.; KIM, Y. P.; LEE, Y. M.; SEO, E. M.; LEE, K. W.; KIM, H. S. Optimization of microencapsulation of seed oil by response surface methodology. **Food Chemistry**, v. 107, p. 98-105, 2008.

AMERI, M.; MAA, Y. Spray Drying of Biopharmaceuticals: Stability and Process considerations. **Drying Technology**, v. 24, p. 763-768, 2006

ANUMANSIRIKUL, N.; WITTAYASUPORN, M.; KLINUBOL, P.; TACHAPRUTINUM, A.; WANICHWECHARUNGRUANG, S. A. UV-screening chitosan nanocontainers: increasing the photostability of encapsulated materials and controlled release. **Nanotechnology**, v. 19, p. 1-9, 2008.

ANVISA, 2003. Guia para Avaliação de Segurança de Produtos Cosméticos. Disponível em: <www.anvisa.gov.br>. Acesso em: 14 de novembro de 2011.

ANVISA, 2009. Protetores Solares – Teste comparativo PRO TESTE. Disponível em: <www.anvisa.gov.br>. Acesso em: 14 de novembro em 2011.

ANVISA, 2012. Protetor solar ganha novas regras. Disponível em: <www.anvisa.gov.br> Acesso em 01 de agosto de 2012.

AOAC. Official Methods of Analysis. 16. ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington DC, EUA, 1997.

AOCS. American Oil Chemistry Society. Official Methods and Recommends Practices of the AOCS. Champaign: AOCS, p. 18, 2004.

AZEREDO, H. M. C. Encapsulação: Aplicação à Tecnologia de Alimentos. **Alimentos e Nutrientes**, v. 16, n. 1, p. 89-97, 2005.

BAE, E. K.; LEE, S. J. Microencapsulation of avocado oil by spray drying using whey protein and maltodextrin. **Journal of Microencapsulation**, v. 25, n. 8, p. 1-12, 2008.

BARRERA-ARELLANO, D.; POLEZEL, M. A.; NOGUEIRA, C.; SILVA, C. R.; VELASQUEZ, M. D. C. Obtenção e utilização de uso do óleo de café verde (*coffea arabica*) como potencializador da proteção solar em produtos cosméticos, capilares e farmacêuticos, patente INPI, PI0304263-4, 2003.

BE MILLER, J. N.; HUBER, K. C. Chapter 3 "Carbohydrates". In: DAMODARAN, S; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. Food Chemistry. New York: Marcel Dekker, 4 ed., 2008, p. 84-151.

CHUAH, A. M.; KUROIWA, T.; ICHIKAWA, S.; KOBAYASHI, I.; NAKAJIMA, M. Formation of Biocompatible Nanoparticles via the Self-Assembly of Chitosan and Modified Lecithin. **Journal of Food Science**, v. 74, n. 1, p. n1-n8, 2009.

CHUNG, C.; DEGNER, B.; MCCLEMENTS, D. J. Rheology and microstructure of bimodal particulate dispersions: Model for foods containing fat droplets and starch granules. **Food Research International**, v. 48, p. 641-649, 2012.

CARNEIRO, H. C. F.; TONON, R. V.; GROSSO, C. R. F., HUBINGER, M. D. Encapsulation efficiency and oxidative stability of flaxseed oil microencapsulated by spray drying using different combinations of wall materials. **Journal of Food Engineering**, 2012.

DESAI, K. G. H; PARK, H. J. Recent Developments in Microencapsulation of Food Ingredients. **Drying Technology**, v. 23, n. 7, p. 1361-1394, 2005.

DICKINSON, E. Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. **Food Hydrocolloids**, v. 17, p. 25-39, 2003.

FELLOWS, P. J. Tecnologia do Processamento de Alimentos: princípios e prática. In: FELLOWS, P. J. Porto Alegre: Artmed, 2 ed., 2006, 602p.

FDA, 2005. FDA Authority Over Cosmetics. Disponível em:<<http://www.fda.gov/Cosmetics/default.htm>>. Acesso em: 14 de novembro de 2011.

FLOR, J.; DAVOLOS, M. R.; CORREA, M. A. Protetores solares. **Química Nova**, v. 30, n. 1, p. 1-11, 2007.

FRASCARELI, E. C.; SILVA, V. M.; TONON, R. V.; HUBINGER, M. D. Effect of process conditions on the microencapsulation of coffee oil by spray drying. **Food and Bioproducts Processing**, v. 90, p. 413-424, 2012.

GÁLVEZ, M. V. Antioxidantes en fotoprotección,¿realmente funcionan? **Actas Dermo-Sifiliográficas**, v. 101, n. 3, p. 197-200, 2010.

GARCIA, L. C.; TONON, R. V.; HUBINGER, M. D. Effect of homogenization pressure and oil load on the emulsion properties and the oil retention of microencapsulated basil essential oil (*Ocimum basilicum* L.). **Drying Technology**, v. 30, p. 1413-1421, 2012.

GHARSALLAOUI, A.; ROUDAUT, G.; BENEY, L.; CHAMBIN, O.; VOILLEY, A.; SAUREL, R. Properties of spray-dried food flavours microencapsulated with two-layered membranes: Roles of interfacial interactions and water. **Food Chemistry**, v. 132, p. 1713-1720, 2012a.

GHARSALLAOUI, A.; SAUREL, R.; CHAMBIN, O.; VOILLEY, A. Pea (*Pisum sativum*, L.) Protein Isolate Stabilized Emulsions: A Novel System for Microencapsulation of Lipophilic Ingredients by Spray Drying. **Food and Bioprocess Technology**, v. 5, p. 2211-2221, 2012b.

GHARSALLAOUI, A.; SAUREL, R.; CHAMBIN, O.; CASES, E.; VOILLEY, A.; CAYOT, P.; Utilisation of pectin coating to enhance spray-dry stability of pea protein-stabilised oil-in-water emulsions. **Food Chemistry**, v. 122, p. 447-454, 2010.

GHARSALLAOUI, A.; ROUDAUT, G.; CHAMBIN, O.; VOILLEY, A.; SAUREL, R. Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. **Food Research International**, v. 40, n. 9, p. 1107-1121, 2007.

GROLLIER, J. F.; PLESSIS, S. Use of coffee bean oil as a sun filter. United States Patent n° 4,793,990. US Patent & Trademark Office, 1988.

GUZEY, D.; MCCLEMENTS, D. J. Formation, stability and properties of multilayer emulsions for application in the food industry. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 128, n. 130, p. 227-248, 2006.

GUZEY, D.; MCCLEMENTS, D. J. Impact of Electrostatic Interactions on Formation and Stability of Emulsions Containing Oil Droplets Coated by β -Lactoglobulin-Pectin Complexes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 475-485, 2007.

HALBAUT, L.; BARBÉ, C.; ARÓZTEGUI, M.; DE LA TORRE, C. Oxidative stability of semi-solid excipient mixtures with corn oil and its implication in the degradation of vitamin A. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 147, p. 31-40, 1997.

HONG-KWONG, L; CHIN-PING, T.; BAKAR, J; SIOU-PEI, N. Effects of different wall materials on the physicochemical properties and oxidative stability of spray-dried microencapsulated red-freshed pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) seed oil. **Food and Bioprocess Technology**, v. 5, p. 1220-1227, 2012.

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

JAFARI, S. M.; ASSADPOOR, E.; HE, Y; BHANDARI, B. Encapsulation efficiency of food flavors and oils during spray drying. **Drying Technology**, v. 26, p. 816-835, 2008.

JYOTHI, N. V. N; PRASANNA, P. M.; SAKARKAR, S. N.; PRABHA, S.; RAMAIAH, P. S.; SRAWAN, G. Y. Microencapsulation techniques, factors influencing encapsulation efficiency. **Journal of Microencapsulation**. v. 27, n. 3, p. 187-197, 2010.

KAUR, C; SARAF, S. *In vitro* sun protection factor determination of herbal oils used in cosmetics. **Pharmacognosy Research**, v. 2, n. 1, p. 22-25, 2010.

KHOR, E; LIM, L. Y. Implantable applications of chitin and chitosan. **Biomaterials**, v. 24, p. 2339-2349, 2003.

KLINKESORN, U.; SOPHANODORA, P.; CHINACHOTI, P.; DECKER, E. A.; MCCLEMENTS, D. J. Characterization of spray-dried tuna oil emulsified in two-layered interfacial membranes prepared using electrostatic layer-by-layer deposition. **Food Research International**, v. 39, p. 449-457, 2006.

KLINKESORN, U.; SOPHANODORA, P.; CHINACHOTI, P.; DECKER, E. A.; MCCLEMENTS, D. J. Encapsulation of emulsified tuna oil in two-layered interfacial membranes prepared using electrostatic layer-by-layer deposition. **Food Hydrocolloids**, v. 19, p. 1044-1053, 2005a.

KLINKESORN, U.; SOPHANODORA, P.; CHINACHOTI, P.; MCCLEMENTS, D. J.; DECKER, E. A. Stability of Spray-Dried Tuna Oil Emulsions Encapsulated with Two-Layered Interfacial Membranes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 8365-8371, 2005b.

KLINKESORN, U.; SOPHANODORA, P.; CHINACHOTI, P.; MCCLEMENTS, D. J. Stability and rheology of corn oil-in-water emulsions containing maltodextrin. **Food Research International**, v. 37, p. 851-859, 2004.

KOLLING-SPEER, I.; STROHSCHNEIDER, S.; SPEER, K. Determination of free diterpenes in green and roasted coffees. **Journal High Resolution of Chromatography**, v. 22, p. 43-46, 1999.

KRONG, N. J.; SPARSO, F. V. Chapter 2 “Food Emulsifiers: Their Chemical and Physical Properties”. In: FRIBERG, S. E; LARSSON, K; SJÖBLOM, J. Food Emulsions. 4 ed. New York: Marcel Dekker, p. 45-91, 2004.

LABUZA, T. P.; MCNALLY, L.; GALLAGHER, D.; HAWKES, J.; HURTADO, F. Stability of intermediate moisture foods. 1. Lipid Oxidation. **Journal of Food Science**, v. 37, p. 154-159, 1972.

MAJETI, N. V.; KUMAR, R. A review of chitin and chitosan applications. **Reactive & Functional Polymers**, v. 46, p. 1-27, 2000.

MANSUR, J. S.; BREDER, M. V. R.; MANSUR, M. C. A.; AZULAY, R. D. Determinação do fator de proteção solar por espectrofotometria. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 61, p. 121-124, 1986.

MANTOVANI, R. A. Estabilidade e digestibilidade de emulsões contendo lecitina e proteínas do soro. 2012. 100p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

MCCLEMENTS, D. J. Comments on viscosity enhancement and depletion flocculation by polysaccharides. **Food Hydrocolloids**, v. 14, p. 173-177, 2000.

MCCLEMENTS, D. J. Protein-stabilized emulsions. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 9, p. 305-313, 2004.

MCCLEMENTS, D. J. **Food Emulsions: Principles, Practice and Techniques**. 2 ed. Boca Raton: CRC Press., 2005. 609 p.

MCCLEMENTS, D. J. Critical Review of Techniques and Methodologies for Characterization of Emulsion Stability. **Food Science and Nutrition**, v. 47, n. 7, p. 611-649, 2007.

NAIDU, M. M.; SULOCHANAMMA, G.; SAMPATHU, S. R.; SRINIVAS, P. Studies on extraction and antioxidant potential of green coffee. **Food Chemistry**, v. 107, n. 1, p. 377-384, 2008.

OGAWA, S.; DECKER, E. A.; MCCLEMENTS, D. J. Production and Characterization of O/W Emulsions Containing Droplets Stabilized by Lecithin-Chitosan-Pectin Multilayered Membranes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 3595-3600, 2004.

PARK, G. Y.; MUN, S.; PARK, Y.; RHEE, S.; DECKER, E. A.; WEISS, J.; MCCLEMENTS, D. J.; PARK, Y. Influence of encapsulation of emulsified lipids with chitosan on their in vivo digestibility. **Food Chemistry**, v. 104, p. 761-767, 2007.

PERRECHIL, F. A.; CUNHA, R. L. Stabilization of multilayered emulsions by sodium caseinate and k-carrageenan. **Food Hydrocolloids**, v. 30, p. 606-613, 2013.

QIAN, C.; MCCLEMENTS, D. J. Formation of nanoemulsions stabilized by model food-grade emulsifiers using high-pressure homogenization: Factors affecting particle size. **Food Hydrocolloids**, v. 25, p. 1000-1008, 2011.

RÉ, M.I. Microencapsulation by spray drying. **Drying Technology**, v. 16, n. 6, p. 1195-1236, 1998.

REID, D. S.; FENNEMA, O. R. Chapter 2 “Water and Ice”. In: DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. Food Chemistry. New York: Marcel Dekker, 4 ed., 2008, p. 18-74.

RIBEIRO, R. P.; SANTOS, V. M.; MEDEIROS, E. C.; SILVA, V. A.; VOLPATO, N. M.; GARCIA, S. Avaliação do Fator de Proteção Solar (FPS) *in vitro* de produtos comerciais e em fase de desenvolvimento. **Infarma**, v. 16, n. 7-8, p. 85-88, 2004.

ROSEMBERG, M.; YOUNG, S. L. Whey protein as microencapsulation agents. Microencapsulation of anhydrous milkfat-structure evaluation. **Food Structure**, v. 12, n. 1, p. 31-41, 1993.

SANTOS, E. P.; FREITAS, Z. M.; SOUZA, K. R.; GARCIA, S. *In vitro* and *in vivo* determinations of sun protection factors of sunscreen lotions with octylmethoxycinnamate. **International Journal of Cosmetic Science**, v. 21, p. 1-5, 1999.

SERFERT, Y.; DRUSCH, S.; SCHWARZ, K. Chemical stabilisation of oils rich in long-chain polyunsaturated fatty acids during homogenisation, microencapsulation and storage. **Food Chemistry**, v. 113, p. 1106-1112, 2009.

SERFERT, Y.; SCHRÖDER, J.; MESCHER, A.; LAACKMANN, J.; DRUSCH, S., SCHWARZ, K. Characterization of spray-dried layer-by-layer emulsions. In: ICEF, Atenas, 2011.

SERPONE, N.; DONDI, D.; ALBINI, A. Inorganic and organic UV filters: Their role and efficacy in sunscreens and suncare products. **Inorganica Chimica Acta**, v. 360, p.794-802, 2007.

SHAHIDI, F.; HAN, X. Q. Encapsulation of food ingredients. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 33, n. 6, p. 501-547, 1993.

SHAW, L. A., MCCLEMENTS, D. J.; DECKER, E. A. Spray-Dried Multilayered Emulsions as a Delivery Method for ω -3 Fatty acids into Food Systems. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 3112-3119, 2007.

SOOTTITANTAWAT, A.; BIGEARD, F.; YOSHII, H.; FURUTA, T.; OHKAWARA, M.; LINKO, P. Influence of emulsion and powder size on the stability of encapsulated D-limonene by spray drying. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 6, p. 107-114, 2005.

SPEER, K.; KOLLING-SPEER, I. K. The lipid fraction of the coffee bean. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 18, n. 1, p. 201-216, 2006.

STEFFE, J. F. Chapter 1 "Introduction to Rheology. In STEFFE, J. F. Rheological methods in food process engineering. Freeman Press, 2 ed., 1996, p. 1-91.

TURATTI, J. M. Extração e Caracterização do óleo de café. In: II Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil, p. 1533-1539, 2001.

VERLEYEN, T.; DYCK, S. V.; ADAMS, C. A. Chapter 9 “Accelerated Stability Tests”. In: KAMAL-ELDIN, A.; POKORNÝ, J. Analysis of Lipid Oxidation, 2005, p. 210-233.

WAGEMAKER, T. A. L. **Variabilidade do teor de óleo, de seu fator de proteção solar e de outros componentes da fração lipídica do gênero *Coffea* visando usos alternativos aos grãos.** 2009. 95p. Dissertação (Mestrado em Genética, Melhoramento Vegetal e Biotecnologia) – Instituto Agronômico de Campinas, Campinas.

WAGEMAKER, T. A. L.; CARVALHO, C. R. L.; MAIA, N. B.; BAGGIO, S. R.; GUERREIRO-FILHO, O. Sun protection factor, content and composition of lipid fraction of green coffee beans. **Industrial Crops and Products**, v. 33, p. 469-473, 2011.