



LORENA COSTA GARCIA

**"MICROENCAPSULAÇÃO POR *SPRAY-DRYING* DE
ÓLEO ESSENCIAL DE MANJERICÃO"**

CAMPINAS

2013



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

LORENA COSTA GARCIA

**"MICROENCAPSULAÇÃO POR *SPRAY-DRYING* DE ÓLEO
ESSENCIAL DE MANJERICÃO"**

Orientadora: Prof. Dra. Miriam Dupas Hubinger

Tese de doutorado 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 Doutora
em Engenharia de Alimentos.

**ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA
TESE DEFENDIDA PELA ALUNA LORENA COSTA GARCIA 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

Garcia, Lorena Costa
G165m Microencapsulação por spray-drying de óleo essencial
de manjeriço / Lorena Costa Garcia. -- Campinas, SP:
[s.n.], 2013.

Orientador: Miriam Dupas Hubinger.
Tese (doutorado) - Universidade Estadual de
Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1. Manjeriço. 2. Microencapsulação. 3. Spray
drying. 4. Morfologia. 5. Estabilidade. I. Hubinger,
Miriam Dupas. II. Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Engenharia de Alimentos. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em inglês: Microencapsulation by spray-drying of basil essential oil

Palavras-chave em Inglês:

Basil

Microencapsulation

Spray drying

Morphology

Stability

Área de concentração: Engenharia de Alimentos

Titulação: Doutora em Engenharia de Alimentos

Banca examinadora:

Miriam Dupas Hubinger [Orientador]

Fabiana de Assis Perrechil

Izabela Dutra Alvim

Louise Emy Kurozawa

Wanderley Pereira de Oliveira

Data da defesa: 17-05-2013

Programa de Pós Graduação: Engenharia de Alimentos

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dra. Miriam Dupas Hubinger
Orientador

Dra. Fabiana de Assis Perrechil
Membro Titular/ CEPETRO-UNICAMP

Dra. Izabela Dutra Alvim
Membro Titular/ITAL

Prof. Dra. Louise Emy Kurozawa
Membro Titular/DCTA-UEL

Prof. Dr. Wanderley Pereira de Oliveira
Membro Titular/ FCFRP- USP

Prof. Dra. Ana Silvia Prata Soares
Membro Suplente/ FCA UNICAMP

Prof. Prof. Dra. Carmen Sílvia Fávaro Trindade
Membro Suplente/ FZEA- USP

Dra. Vania Regina Nicoletti Telis
Membro Suplente/ IBILCE-UNESP

"Agradeço meus limites. Não me suportaria infinito. Os limites são vantagens."

Fabício Carpinejar

"Lute com determinação, abrace a vida com paixão, perca com classe e vença com ousadia, porque o mundo pertence a quem se atreve e a vida é muito para ser insignificante."

Charles Chaplin

"Desejo que você não tenha medo da vida, tenha medo de não vivê-la. Não há céu sem tempestades, nem caminhos sem acidentes. Só é digno do pódio quem usa as derrotas para alcançá-lo. Só é digno da sabedoria quem usa as lágrimas para irrigá-la. Os frágeis usam a força; os fortes, a inteligência. Seja um sonhador, mas una seus sonhos com disciplina, pois sonhos sem disciplina produzem pessoas frustradas. Seja um debatedor de ideias. Lute pelo que você ama."

Augusto Cury

**Aos meus pais, João Carlos e Glaydes,
pela vida, amor incondicional
e apoio irrestrito,
dedico**

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela vida, por iluminar meu caminho e preencher meu coração com seu amor.

Aos meus queridos pais, João Carlos e Glaydes, e ao meu irmão Victor, pelo amor incondicional, carinho, apoio, confiança e por estarem sempre presentes na minha vida, apesar da distância. A vocês, todo o meu amor, gratidão e respeito.

A Prof. Dra. Miriam Dupas Hubinger pela orientação, ensinamentos e paciência durante a realização deste trabalho.

A banca, composta pelos professores Prof. Dra. Louise Emy Kurozawa, Prof. Dr. Wanderley Pereira de Oliveira, Prof. Dra. Ana Silvia Prata Soares, Prof. Prof. Dra. Carmen Sílvia Fávaro Trindade, Dra. Vania Regina Nicoletti Telis e pelas pesquisadoras Dra. Fabiana de Assis Perrechil e Dra. Izabela Dutra Alvim, pelas valiosas críticas e sugestões na correção deste trabalho.

Ao Prof. Dr Carlos Grosso pela disponibilização dos equipamentos e à técnica Iara pela paciência no acompanhamento das análises.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nivel Superior (CAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão de minha bolsa de doutorado e pelo apoio financeiro e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo apoio financeiro.

A Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) pela liberação para conclusão da parte experimental deste trabalho. Um agradecimento especial ao Dr. Frederico Durães, Dr. Esdras Sundfeld, Dr. José Manuel Cabral, Dra. Simone Mendonça, Dr. Manoel Teixeira Souza Junior por apoiarem e entenderem a importância para mim da conclusão deste ciclo.

A Unicamp e ao Departamento de Engenharia de Alimentos por possibilitar a complementação da minha formação.

A minha família, em especial aos meus avós Vavá, Ziu e Norma, pelas orações, conselhos e diversos momentos de alegria e descontração – muito obrigada.

As amigas Leila e Renata, pela amizade, conselhos, incentivos, cafés, almoços, conversas e inestimável auxílio técnico e emocional durante a execução deste projeto. A Irede e Priscilla por partilharem comigo alegrias e angústias, decepções e surpresas e por aguentarem, com todo amor e carinho, as minhas reclamações.

As amigas de longe Sílvia, Juliana e Marina, que mesmo não entendendo nada do que eu faço e nem porque eu faço, acham tudo lindo e maravilhoso.

Toda convivência resulta em crescimento., Em alguns momentos, pode ser dramática, mas é um fenômeno de fortificação. Ninguém passa em nossas vidas inutilmente. Agradeço imensamente à Nathalie, Angélica e Juliana pela amizade, paciência e, acima de tudo, pela agradável convivência.

A todas as pessoas que contribuíram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

ÍNDICE DE FIGURAS	XXIII
ÍNDICE DE TABELAS	XXVII
NOMENCLATURA	XXXI
RESUMO	XXXV
ABSTRACT	XXXVII
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	4
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	5
3.1. ÓLEOS ESSENCIAIS	5
3.1.1. ÓLEO ESSENCIAL DE MANJERICÃO	6
3.1.1.1. Voláteis do óleo essencial de manjeriçã	9
3.2. MICROENCAPSULAÇÃO	12
3.3. SECAGEM POR ATOMIZAÇÃO	14
3.4. AGENTES MICROENCAPSULANTES	17
3.5. EMULSÃO	22
3.5.1. AGENTES EMULSIFICANTES	25
3.5.2. HOMOGENEIZAÇÃO A ALTA PRESSÃO	25
3.6. RETENÇÃO DE VOLÁTEIS E ESTABILIDADE DAS PARTÍCULAS PRODUZIDAS POR SECAGEM POR ATOMIZAÇÃO	29
4. MATERIAL E MÉTODOS	33
4.1. MATERIAL	33

4.1.1. MATÉRIA-PRIMA	33
4.1.2. AGENTES MICROENCAPSULANTES	33
4.2. MÉTODOS	33
4.2.1. ETAPA 1: PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL	35
4.2.1.1. Formação das emulsões	36
4.2.1.2. Caracterização das emulsões	37
4.2.1.3. Secagem em spray-dryer	40
4.2.1.4. Caracterização das micropartículas	42
4.2.2. ETAPA 2: CARACTERIZAÇÃO DAS EMULSÕES E MICROPARTÍCULAS DOS DIFERENTES MATERIAIS DE PAREDE	43
4.2.2.1. Formação da emulsão	44
4.2.2.2. Caracterização das emulsões	44
4.2.2.3. Secagem em spray-dryer	45
4.2.2.4. Caracterização das micropartículas	46
4.2.3. ETAPA 3: ESTABILIDADE DAS MICROPARTÍCULAS CONTENDO ÓLEO ESSENCIAL DE MANJERICÃO AO ARMAZENAMENTO, EM DIFERENTES TEMPERATURAS E UMIDADES RELATIVAS	49
4.2.3.1. Secagem em spray-dryer	49
4.2.3.2. Caracterização das micropartículas	50
4.2.4. ANÁLISE ESTATÍSTICA	52
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	53
<hr/>	
5.1. PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL	53
5.1.1 EMULSÃO	55
5.1.2. MICROPARTÍCULAS	63
5.1.3. CONCLUSÕES DA 1ª ETAPA	76
5.2. COMPARAÇÃO ENTRE OS MATERIAIS DE PAREDE GOMA ARÁBICA E MALTODEXTRINA (MD) ADICIONADA DE ISOLADO PROTEICO DE SOJA (IPS) OU CONCENTRADO PROTEICO DE SORO (CPS), UTILIZADOS COMO MATERIAL ENCAPSULANTE DO ÓLEO ESSENCIAL DE MANJERICÃO.	78
5.2.1. TESTE DOS MATERIAIS DE PAREDE	78
5.2.2. EMULSÕES	80
5.2.2.1. Estabilidade e pH das emulsões	80
5.2.2.2. Comportamento Reológico	82

5.2.2.3. Diâmetro médio e distribuição de tamanho da gota	85
5.2.2.4. Microscopia	90
5.2.3. MICROPARTÍCULAS	93
5.2.3.1. Perda por dessecação e densidade aparente	93
5.2.3.2. Higroscopicidade	96
5.2.3.3. Diâmetro médio e distribuição de tamanho das micropartículas	98
5.2.3.4. Retenção de óleo, óleo superficial e eficiência de encapsulação	101
5.2.3.5. Retenção de voláteis	104
5.2.4. CONCLUSÕES DA 2ª ETAPA	111
5.3. ESTABILIDADE DAS MICROPARTÍCULAS CONTENDO ÓLEO ESSENCIAL DE MANJERICÃO AO ARMAZENAMENTO EM DIFERENTES TEMPERATURAS E UMIDADES RELATIVAS	114
5.3.1. COR	115
5.3.2. DIÂMETRO MÉDIO E DISTRIBUIÇÃO DE TAMANHO DAS MICROPARTÍCULAS	124
5.3.3. RETENÇÃO DE ÓLEO, TEOR DE ÓLEO SUPERFICIAL E EFICIÊNCIA DE ENCAPSULAÇÃO.	130
5.3.3.1. Retenção de óleo	130
5.3.3.2. Óleo superficial	133
5.3.3.3. Eficiência de encapsulação	135
5.3.4. RETENÇÃO DE VOLÁTEIS	138
5.3.4.1. Óleo essencial	138
5.3.4.2. Micropartículas	141
5.3.5. MICROSCOPIA	145
5.3.5.1. Diferentes temperaturas	146
5.3.5.2. Diferentes umidades relativas	146
5.3.6. CONCLUSÕES DA 3ª ETAPA	152
6. CONCLUSÕES GERAIS	154
7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	156
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	157
ANEXO A	173

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 3.1. ESTRUTURA QUÍMICA DO LINALOL (FONTE: CHEMSPIDER, 2012).	10
FIGURA 3.2. ESTRUTURA QUÍMICA DO EUCALIPTOL (FONTE: CHEMSPIDER, 2012).	11
FIGURA 3.3. ESTRUTURA QUÍMICA DA CÂNFORA (FONTE: CHEMSPIDER, 2012).	11
FIGURA 3.4. EXEMPLOS DE MICROPARTÍCULAS (FONTE: JAFARI ET AL., 2008).	12
FIGURA 3.5. MODELO DE <i>SPRAY-DRYER</i> DE BANCADA (FONTE: AMERI E MAA, 2006).	15
FIGURA 3.6. ETAPAS DO PROCESSO DE MICROENCAPSULAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL POR <i>SPRAY-DRYING</i> .	16
FIGURA 4.1. ESQUEMA GERAL DAS ETAPAS, CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS E OBJETIVOS DESTES TRABALHOS.	34
FIGURA 4.2. APARATO UTILIZADO PARA AVALIAÇÃO DE RETENÇÃO DE ÓLEO	40
FIGURA 4.3. <i>SPRAY-DRYER</i> UTILIZADO NESTE TRABALHO	41
FIGURA 5.1. SUPERFÍCIE DE RESPOSTA E CURVA DE CONTORNO PARA A RESPOSTA DIÂMETRO MÉDIO DAS GOTAS.	61
FIGURA 5.2. SUPERFÍCIE DE RESPOSTA E CURVA DE CONTORNO PARA A RESPOSTA RETENÇÃO DE ÓLEO NA PARTÍCULA.	66
FIGURA 5.3. MORFOLOGIA DAS MICROPARTÍCULAS DE GOMA ARÁBICA CONTENDO ÓLEO ESSENCIAL DE MANJERICÃO.	71
FIGURA 5.3 (CONT). MORFOLOGIA DAS MICROPARTÍCULAS DE GOMA ARÁBICA CONTENDO ÓLEO ESSENCIAL DE MANJERICÃO.	72
FIGURA 5.4. INTERIOR DAS MICROPARTÍCULAS DE GOMA ARÁBICA ENCAPSULANDO ÓLEO ESSENCIAL DE MANJERICÃO, CONTENDO 30% DE SÓLIDOS.	75
FIGURA 5.5. EMULSÕES DE MALTODEXTRINA + IPS E DE MALTODEXTRINA + CPS, NAS DIFERENTES CONCENTRAÇÕES ESTUDADAS DE MATERIAIS DE PAREDE, APÓS SEREM HOMOGENEIZADAS COM ALTA PRESSÃO (50 MPa).	79
FIGURA 5.6. CURVAS DE ESCOAMENTO (TENSÃO VERSUS TAXA DE DEFORMAÇÃO) PARA TODAS AS EMULSÕES ESTUDADAS.	83
FIGURA 5.7. CURVA DE VISCOSIDADE VERSUS TAXA DE DEFORMAÇÃO PARA AS DIFERENTES EMULSÕES ESTUDADAS.	84
FIGURA 5.8. DISTRIBUIÇÃO DE TAMANHO DAS GOTAS DAS DIFERENTES EMULSÕES: (A) EMULSÕES PRODUZIDAS SEM APLICAÇÃO DE AP; (B) COM APLICAÇÃO DE 50 MPa DE PRESSÃO; (C, D, E, F, G, H) VARIAÇÃO NA DISTRIBUIÇÃO DE TAMANHO DAS GOTAS PARA CADA MATERIAL DE PAREDE, COM E SEM APLICAÇÃO DA AP.	89
FIGURA 5.9. ASPECTO DAS GOTAS DAS EMULSÕES DE GOMA ARÁBICA, MD:IPS E MD:CPS SEM E COM A APLICAÇÃO DE ALTA PRESSÃO.	92

FIGURA 5.10. PERDA POR DESSECAÇÃO DAS MICROPARTÍCULAS (B.U.) PRODUZIDAS A PARTIR DE EMULSÃO SEM E COM A APLICAÇÃO DE ALTA PRESSÃO.	93
FIGURA 5.11. DISTRIBUIÇÃO DE TAMANHO DE PARTÍCULA (A) COMPARAÇÃO ENTRE TODAS AS PARTÍCULAS PRODUZIDAS SEM APLICAÇÃO DE AP NA EMULSÃO; (B) COM APLICAÇÃO DE AP (50 MPA) NA EMULSÃO; (C, D, E, F, G, H) VARIAÇÃO NA DISTRIBUIÇÃO DE TAMANHO DE PARTÍCULA, PELO EFEITO DA APLICAÇÃO DA AP (50 MPA) NAS EMULSÕES.	100
FIGURA 5.12. RETENÇÃO DE ÓLEO E TEOR DE ÓLEO SUPERFICIAL DAS PARTÍCULAS DE ÓLEO ESSENCIAL DE MANJERICÃO MICROENCAPSULADO.	102
FIGURA 5.13. ESTRUTURAS QUÍMICAS: (A) LINALOL, (B) EUCALIPTOL E (C) CÂNFORA. (FONTE: CHEMSPIDER, 2012).	111
FIGURA 5.14. VARIAÇÃO DO B* AO LONGO DO ARMAZENAMENTO DAS MICROPARTÍCULAS DE (A) GOMA ARÁBICA, (B) MD:IPS (75:25), (C) MD:CPS (75:25).	117
FIGURA 5.15. RETENÇÃO DE ÓLEO DAS MICROPARTÍCULAS ARMAZENADAS A) 25 °C, UR = 50%; (B) 25 °C, POTES HERMÉTICOS E (C) 50 °C, POTES HERMÉTICOS.	131
FIGURA 5.16. ÓLEO SUPERFICIAL DAS MICROPARTÍCULAS ARMAZENADAS A) 25 °C, UR = 50%; (B) 25 °C, POTES HERMÉTICOS E (C) 50 °C, POTES HERMÉTICOS.	134
FIGURA 5.17. CONCENTRAÇÃO DE LINALOL E DE ÓXIDO DE LINALOL NO ÓLEO ESSENCIAL DE MANJERICÃO NÃO ENCAPSULADO.	139
FIGURA 5.18. ESTRUTURA QUÍMICA DO ÓXIDO DE LINALOL (FONTE: CHEMSPIDER, 2012).	141
FIGURA 5.19. MORFOLOGIA DAS MICROPARTÍCULAS DE GOMA ARÁBICA, NOS DIAS 1, 30 E 60 DE ARMAZENAMENTO, EM POTES HERMÉTICOS.	148
FIGURA 5.20. MORFOLOGIA DAS MICROPARTÍCULAS DE MD:IPS, NOS DIAS 1, 30 E 60 DE ARMAZENAMENTO EM POTES HERMÉTICOS.	149
FIGURA 5.21. MORFOLOGIA DAS MICROPARTÍCULAS A BASE DE MD:CPS, NOS DIAS 1, 30 E 60 DE ARMAZENAMENTO EM POTES HERMÉTICOS	150
FIGURA 5.22. MORFOLOGIA DAS MICROPARTÍCULAS ARMAZENADAS À 25 °C EM UR = 50%, NOS DIAS 1, 30 E 60.	151

ÍNDICE DE TABELAS

TABELA 3.1. VANTAGENS E DESVANTAGENS DE ALGUNS MATERIAIS DE PAREDE UTILIZADOS NA MICROENCAPSULAÇÃO POR <i>SPRAY-DRYER</i> .	19
TABELA 4.1 NÍVEIS DAS VARIÁVEIS INDEPENDENTES QUE FORAM UTILIZADOS NO PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL.	36
TABELA 4.2. VARIÁVEIS ANALISADAS E NÍVEIS DE CADA VARIÁVEL ESTUDADA.	36
TABELA 5.1. VALORES DAS RESPOSTAS ÓLEO NA EMULSÃO, TAMANHO DE GOTA, VISCOSIDADE, ÓLEO NA PARTÍCULA E PERDA POR DESSECAÇÃO OBTIDAS EM CADA ENSAIO DO PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL.	54
TABELA 5.2. EFEITO ESTIMADO, ERRO, VALOR DE T E GRAU DE SIGNIFICÂNCIA ESTATÍSTICA (P), PARA CADA FATOR NO MODELO CODIFICADO PARA RETENÇÃO DE ÓLEO NA EMULSÃO.	56
TABELA 5.3. ANÁLISE DE VARIÂNCIA DO MODELO AJUSTADO PARA RETENÇÃO DE ÓLEO NA EMULSÃO.	57
TABELA 5.4. DESVIO RELATIVO ENTRE OS DADOS REAIS E OS PREDITOS PELO MODELO PARA A RESPOSTA RETENÇÃO DE ÓLEO NA EMULSÃO.	58
TABELA 5.5. EFEITO ESTIMADO, ERRO, VALOR DE T E GRAU DE SIGNIFICÂNCIA ESTATÍSTICA (P), PARA CADA FATOR NO MODELO CODIFICADO PARA DIÂMETRO MÉDIO DAS GOTAS.	59
TABELA 5.6. ANÁLISE DE VARIÂNCIA DO MODELO AJUSTADO PARA DIÂMETRO MÉDIO DAS GOTAS.	60
TABELA 5.7. EFEITO ESTIMADO, ERRO, VALOR DE T E GRAU DE SIGNIFICÂNCIA ESTATÍSTICA (P), PARA CADA FATOR NO MODELO CODIFICADO PARA VISCOSIDADE DA EMULSÃO.	63
TABELA 5.8. EFEITO ESTIMADO, ERRO, VALOR DE T E GRAU DE SIGNIFICÂNCIA ESTATÍSTICA (P), PARA CADA FATOR NO MODELO CODIFICADO PARA RETENÇÃO DE ÓLEO NA PARTÍCULA.	64
TABELA 5.9. ANÁLISE DE VARIÂNCIA DO MODELO AJUSTADO PARA RETENÇÃO DE ÓLEO NA PARTÍCULA.	65
TABELA 5.10. EFEITO ESTIMADO, ERRO, VALOR DE T E GRAU DE SIGNIFICÂNCIA ESTATÍSTICA (P), PARA CADA FATOR NO MODELO CODIFICADO PARA PERDA POR DESSECAÇÃO.	67
TABELA 5.11. EFEITO DA PORCENTAGEM DE ÓLEO/SÓLIDOS NO DIÂMETRO MÉDIO DAS PARTÍCULAS.	69
TABELA 5.12. EFEITO DA PRESSÃO DE HOMOGENEIZAÇÃO DAS EMULSÕES NO TAMANHO DE PARTÍCULAS.	70
TABELA 5.13. VISCOSIDADE DAS EMULSÕES A BASE DE MALTODEXTRINA E PROTEÍNAS.	79
TABELA 5.14. PH DAS DIFERENTES EMULSÕES PRODUZIDAS.	81
TABELA 5.15. TAMANHO DE GOTA DAS DIFERENTES EMULSÕES PRODUZIDAS.	86
TABELA 5.16. DENSIDADE APARENTE DAS MICROPARTÍCULAS PRODUZIDAS A PARTIR DE EMULSÃO COM E SEM A APLICAÇÃO DE HOMOGENEIZAÇÃO A ALTA PRESSÃO.	95
TABELA 5.17. HIGROSCOPICIDADE DAS MICROCÁPSULAS E DE SEUS RESPECTIVOS MATERIAIS DE PAREDE.	97

TABELA 5.18. DIÂMETRO MÉDIO DAS PARTÍCULAS PRODUZIDAS A PARTIR DAS DIFERENTES EMULSÕES.	99
TABELA 5.19. EFICIÊNCIA DE ENCAPSULAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE MANJERICÃO.	103
TABELA 5.20. RETENÇÃO DE LINALOL NO ÓLEO ESSENCIAL DE MANJERICÃO ENCAPSULADO E TEOR DE LINALOL NAS MICROPARTÍCULAS.	105
TABELA 5.21. RETENÇÃO DE EUCALIPTOL NO ÓLEO ESSENCIAL DE MANJERICÃO ENCAPSULADO E TEOR DE EUCALIPTO NAS MICROPARTÍCULAS.	108
TABELA 5.22. RETENÇÃO DE CÂNFORA NO ÓLEO ESSENCIAL DE MANJERICÃO ENCAPSULADO E TEOR DE CÂNFORA NAS MICROPARTÍCULAS.	108
TABELA 5.23. COR DO ÓLEO ESSENCIAL DE MANJERICÃO ARMAZENADO EM DIFERENTES TEMPERATURAS E UMIDADES RELATIVAS.	120
TABELA 5.24. IMAGEM DAS MICROPARTÍCULAS ARMAZENADAS EM DIFERENTES CONDIÇÕES.	121
TABELA 5.25. DIÂMETRO MÉDIO ($D_{4,3}$) DAS PARTÍCULAS AO LONGO DO ARMAZENAMENTO.	125
TABELA 5.26. DISTRIBUIÇÃO DE TAMANHO DAS PARTÍCULAS DOS DIFERENTES MATERIAIS DE PAREDE, PROVENIENTES DE EMULSÕES NÃO HOMOGENEIZADAS A ALTA PRESSÃO, PARA AS TRÊS CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO.	128
TABELA 5.27. DISTRIBUIÇÃO DE TAMANHO DAS PARTÍCULAS DOS DIFERENTES MATERIAIS DE PAREDE, PROVENIENTES DE EMULSÕES HOMOGENEIZADAS A ALTA PRESSÃO, PARA AS TRÊS CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO.	129
TABELA 5.28. EFICIÊNCIA DE ENCAPSULAÇÃO DOS DIFERENTES TRATAMENTOS AO LONGO DO ARMAZENAMENTO.	137
TABELA 5.29. RETENÇÃO DE LINALOL (% EM RELAÇÃO AO DIA 1) NAS MICROPARTÍCULAS DURANTE O ARMAZENAMENTO EM POTES HERMÉTICOS.	142
TABELA 5.30. CONCENTRAÇÃO DE ÓXIDO DE LINALOL (% EM RELAÇÃO AO DIA 1) NAS MICROPARTÍCULAS DURANTE O ARMAZENAMENTO EM POTES HERMÉTICOS.	143

NOMENCLATURA

AP	alta pressão de homogeneização
CPS	concentrado proteico de soro de leite
d_i	diâmetro das partículas (m)
D_c	diâmetro de corte
D_{32}	diâmetro médio de Sauter
D_{43}	diâmetro de De Brouckere
IPS	isolado proteico de soja
MD	maltodextrina
MP	material de parede
N_e	Número de voltas no ciclone
O	% óleo em relação aos sólidos totais codificado
P	pressão de homogeneização codificada
PH	potes herméticos
PM	peso molecular
UR	Umidade relativa (%)
V_i	velocidade de entrada do ar no ciclone ($m\ s^{-1}$)
w	largura de entrada do ciclone (m)
x_1	variável independente codificada para % óleo/sólidos totais
x_2	variável independente codificada para pressão de homogeneização
y	resposta do planejamento experimental
z_i	Número de partículas

Letras gregas

β_n	coeficientes da regressão do planejamento experimental
σ	tensão (Pa)
μ	viscosidade da emulsão (Pa.s)
μ_{ar}	viscosidade do ar ($\text{kg m}^{-1} \text{s}^{-1}$)
ρ	densidade do óleo essencial de manjeriçãõ (g cm^{-3})
ρ_p	densidade das partículas (kg m^{-3})
ρ_g	densidade do ar (kg m^{-3})
γ	taxa de deformação (s^{-1})

RESUMO

No Brasil, o manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) é utilizado tanto *in natura* como para processamento industrial, visando a obtenção do óleo essencial, que possui como principais compostos aromáticos o linalol, 1,8-cineol (ou eucaliptol) e a cânfora. O objetivo neste trabalho foi microencapsular o óleo essencial de manjeriço, através da secagem por atomização em *spray-dryer*, visando a proteção dos compostos aromáticos. Para isso, uma combinação de materiais de parede foi utilizada: goma arábica, maltodextrina (MD) + isolado proteico de soja (IPS) e maltodextrina + concentrado proteico de soro de leite (CPS). Numa primeira etapa foi realizado um planejamento experimental para o material de parede goma arábica (30% de sólidos) visando avaliar o efeito das variáveis (% óleo:sólidos totais (10 – 25 %) e pressão de homogeneização (0 – 100 MPa) nas propriedades das emulsões e partículas obtidas. Na segunda etapa do trabalho foram produzidas emulsões e partículas com todos os materiais de parede, utilizando-se 10% de óleo em relação aos sólidos totais e pressões de homogeneização de 0 e 50 MPa, condições estas estabelecidas a partir dos resultados obtidos na primeira etapa do projeto. As partículas resultantes de emulsões homogeneizadas a 50 MPa apresentaram maior retenção de óleo, menor teor de óleo superficial e, conseqüentemente, maior eficiência de encapsulação, independentemente do material de parede utilizado, evidenciando o efeito positivo da homogeneização a alta pressão. Dentre os três compostos aromáticos avaliados, o linalol foi o retido em maior concentração, mostrando sua maior estabilidade quando comparado com o eucaliptol e a cânfora. Com base nos resultados obtidos nesta segunda etapa e também avaliando a questão econômica (custo dos materiais de parede), os materiais de parede goma arábica, MD:IPS (75:25) e MD:CPS (75:25) foram selecionados para a terceira etapa do trabalho. Avaliou-se a estabilidade das micropartículas ao serem armazenadas por 60 dias em potes herméticos à 25 °C e 50 °C e em umidade relativa de 50%, a 25 °C. Concluiu-se que a microencapsulação de óleo essencial de manjeriço é indicada quando a finalidade é o uso deste óleo em produtos nos quais há dificuldade de incorporação de materiais líquidos ou em produtos a serem armazenados em ambiente com elevada umidade relativa.

Palavras-chave: óleo essencial de manjeriço, microencapsulação, *spray-drying*, morfologia, estabilidade.

ABSTRACT

In Brazil, the basil (*Ocimum basilicum* L.) is used both fresh and for processing in order to obtain the essential oil, which has as main aromatic compounds linalool, 1,8-cineol (or eucalyptol) and camphor. The objective of this study was to microencapsulate basil essential oil by spray-drying, seeking the protection of aromatic compounds. For this, three wall materials were studied: gum Arabic, maltodextrin (MD) + protein, that could be either soy protein isolate (SPI) or whey protein concentrated (WPC). In a first step an experimental design was used to evaluate the effect of the variables oil:total solids rate (10 – 25 %) and homogenization pressure (0 – 100 MPa), on emulsions and particles, using gum Arabic (30% solids) as wall material. On the second stage of the study, emulsions and particles were produced with all the wall materials, using 10% oil in relation to total solids content and emulsions homogenization pressures of 0 and 50 MPa, conditions established based on the results obtained in the first stage of this study. The particles obtained from emulsions homogenized at 50 MPa had higher oil retention, low surface oil, and hence higher encapsulation efficiency regardless of the wall material used, showing the positive effect of high pressure homogenization. Among the three compounds evaluated, linalool was retained in higher concentrations, indicating its higher stability when compared with eucalyptol and camphor. Based on the results obtained in this second stage and also evaluating the economic issue (wall materials costs), the wall materials gum Arabic, MD: IPS (75:25) and MD: CPS (75:25) were selected for the third stage of the study. The stability of the particles stored for 60 days at airtight recipients at 25 °C and 50 °C and at relative humidity of 50%, at 25°C was evaluated. It was concluded that the microencapsulation of Basil essential oil is suitable when the purpose is the use of this oil in products in which the incorporation of liquid materials is difficult or products to be stored in an environment with high relative humidity.

Keywords: basil essential oil, microencapsulation, spray-drying, morphology; stability.

1. Introdução

O manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) é uma planta aromática, medicinal e destaca-se por apresentar substâncias de interesse para as indústrias alimentícia, farmacêutica e cosmética. Além do uso *in natura*, o manjeriço é muito utilizado para a obtenção de óleo essencial, importante na indústria de perfumaria e na aromatização de alimentos e bebidas (SOUZA et al., 2011; MAROTTI et al., 1996).

O óleo essencial de manjeriço apresenta atividade antimicrobiana e propriedades inseticidas e repelentes. Assim como outros óleos essenciais, ele é utilizado na produção de aromas, em produtos de confeitaria e condimentados como molhos picantes, catchup, massas de tomate, molhos para saladas, picles e alguns vinagres, além de carnes condimentadas e salsichas (SCANAVINI, 2006; MONTES-BELMONT e CARVAJAL, 1998; UMERIE et al., 1998).

A variedade, bem como o local de cultivo do manjeriço, estão entre os fatores responsáveis por variações na composição do óleo essencial extraído. Alguns cultivares se destacam pela elevada concentração de linalol, um composto que por muito tempo foi extraído do óleo do Pau Rosa, madeira encontrada na Floresta Amazônica e ameaçada de extinção. O linalol não é apenas um composto aromático, mas também é o precursor de outros compostos, como acetato de linalil, frequentemente utilizado para conferir fragrâncias doces aos perfumes (SOUZA et al., 2011; ZELLNER et al., 2006).

A folha de manjeriço não pode ser conservada por longos períodos após a colheita. De forma semelhante, o seu óleo essencial pode sofrer variações na sua composição com o passar do tempo (LANGE e CAMERON, 1994, 1997). Para limitar a degradação de aroma ou perda durante o processamento ou armazenamento, uma alternativa é a microencapsulação do óleo essencial antes de sua utilização em alimentos e bebidas (MADENE et al., 2006).

A microencapsulação é um processo no qual um determinado material é envolto por uma cobertura ou fica dissolvido em uma matriz. Diferentes métodos têm sido propostos para a microencapsulação de alimentos e ingredientes, sendo a secagem por atomização (*spray-drying*) uma das técnicas mais empregadas, devido à grande disponibilidade de equipamentos, baixo custo do processo, boa retenção dos compostos voláteis e estabilidade do produto final (DESAI e PARK, 2005; REINECCIUS, 1989). Ultimamente, as atenções têm se voltado principalmente para a melhora da eficiência de encapsulação e a extensão da vida útil dos produtos, visando, no caso dos óleos essenciais, uma redução da oxidação e da perda de voláteis.

A escolha do agente carreador, também chamando de agente encapsulante ou material de parede, é um fator importante, uma vez que o tipo de material utilizado irá influenciar tanto na estabilidade da emulsão antes da secagem, quanto na capacidade de proteção do produto em pó. A goma arábica é reconhecidamente um eficiente agente encapsulante, mas apresenta como desvantagens o custo elevado, a baixa disponibilidade e qualidade variável. A maltodextrina, embora apresente características de um bom agente encapsulante, não possui propriedade emulsificante. A adição de proteínas à maltodextrina tem como objetivo produzir um material de parede com propriedade emulsificante.

Um fator determinante da eficiência de encapsulação, bem como da estabilidade do pó obtido, é a estabilidade da emulsão formada. Uma emulsão consiste em dois líquidos imiscíveis, sendo que um dos líquidos fica disperso na forma de pequenas gotas no outro líquido. Fatores como teor de sólidos, viscosidade e tamanho da gota da emulsão podem afetar a sua estabilidade. Emulsões não estáveis perdem mais voláteis já que, ao serem atomizados, estes materiais não estão emulsificados e assim, sua volatilização ocorre mais facilmente (McCLEMENTS, 2007).

Agentes ativos aromáticos, como os presentes no óleo essencial de manjeriço, são normalmente instáveis, voláteis e sensíveis à luz, umidade,

temperatura e oxigênio e, por isso, o processamento pode ocasionar degradação e a perda dos aromas ou das propriedades que estes compostos possam vir a ter (LEIMANN et al., 2009; TEIXEIRA et al., 2004). Desta forma, é interessante estudar as emulsões e o processo de microencapsulação por *spray-drying* para obtenção de óleo essencial de manjeriço em pó, bem como avaliar a estabilidade do produto obtido quando armazenado em diferentes temperaturas e umidades relativas.

2. Objetivos

O objetivo principal deste trabalho foi avaliar a utilização de diferentes materiais de parede na microencapsulação, em *spray-dryer*, de óleo essencial de manjeriço.

Os objetivos específicos foram:

- Verificar, através de planejamento experimental, a influência da porcentagem de óleo em relação aos sólidos totais (% óleo/sólidos) e da pressão de homogeneização na estabilidade, tamanho de gota, viscosidade e retenção de óleo da emulsão e na retenção de óleo e perda por dessecação das micropartículas a base de goma arábica. Nos pontos axiais, avaliar o diâmetro médio e a morfologia das partículas;
- Observar a influência dos materiais de parede (goma arábica, MD:IPS, MD:CPS e CPS) e da homogeneização a alta pressão na estabilidade, diâmetro médio, distribuição do tamanho de gotas e viscosidade das emulsões produzidas e na perda por dessecação, densidade aparente, higroscopicidade, diâmetro médio e distribuição de tamanho, retenção de óleo, óleo superficial e eficiência de encapsulação das micropartículas produzidas;
- Avaliar a retenção de voláteis (linalol, eucaliptol e cânfora) do óleo encapsulado;
- Estudar a estabilidade à estocagem das micropartículas, em relação à cor, diâmetro médio e distribuição do tamanho, retenção de óleo, óleo superficial, eficiência de encapsulação, retenção de voláteis e morfologia, quando estas foram armazenadas por 60 dias a 25 °C e 50 °C em potes herméticos e a 25 °C em um ambiente com umidade relativa de 50%.

3. Revisão Bibliográfica

3.1. Óleos essenciais

O Brasil tem lugar de destaque na produção de óleos essenciais, ao lado da Índia, China e Indonésia, que são considerados os quatro grandes produtores mundiais. A posição do Brasil deve-se aos óleos essenciais de frutas cítricas, que são subprodutos da indústria de sucos. Outro óleo produzido em grande volume no Brasil é o de eucalipto, um subproduto da indústria madeireira. No passado, o país teve destaque como exportador de óleo essencial de pau-rosa (árvore em extinção), sassafrás e menta. Nos dois últimos casos, passou à condição de importador (BIZZO et al., 2009).

Óleos essenciais são líquidos aromáticos, voláteis, de cor límpida (raramente coloridos), lipofílicos e normalmente solúveis em solventes orgânicos. São de ocorrência natural e resultantes do metabolismo secundário das plantas aromáticas. A extração destes compostos pode ser feita por hidrodestilação ou destilação por arraste a vapor (técnicas mais comuns), e também por microondas e com dióxido de carbono, sob condições líquidas ou supercríticas, respectivamente.

Produzidos em células especiais, normalmente localizadas nas folhas e caules, os óleos essenciais comumente estão concentrados em regiões específicas como folha, fruto, semente, galhos, erva, madeiras, raiz ou casca. A natureza e a proporção relativa de cada composto varia em função da espécie das plantas, região da planta de onde foi extraído, fatores agrícolas como clima, condições do solo, período de colheita, tratamento pós colheita, além da técnica utilizada para extração (BIZZO et al., 2009; BAKKALI et al., 2008; OUSSALAH et al., 2006; ADAMIEC e KALEMBA, 2006; BURT, 2004; REINECCIUS, 1999).

Os óleos essenciais também podem ser chamados de óleos voláteis, óleos etéreos ou essências. Estas denominações são atribuídas em função de algumas

de suas características, como serem líquidos e de aparência oleosa à temperatura ambiente (daí a designação de óleo), a sua volatilidade, o que os diferencia dos óleos fixos (designação de voláteis), aroma agradável e intenso (denominação de essências), solubilidade em solventes orgânicos apolares como o éter (denominação de óleo etéreos). Em água, os óleos essenciais apresentam solubilidade limitada, mas suficiente para aromatizar as soluções aquosas, que são chamadas de hidrolatos (MARTINS, 2010; BRUNETON, 2001)

Os compostos químicos presentes nos óleos essenciais podem ser classificados como: terpenos, derivados oxigenados dos terpenos, compostos aromáticos com estrutura benzênica e compostos contendo nitrogênio ou enxofre. O grupo dos derivados oxigenados dos terpenos, formado por álcoois, aldeídos, cetonas e ésteres, é o principal responsável pelo odor e *flavour* característico dos óleos essenciais (REINECCIUS, 1999).

Estudos têm demonstrado que a utilização de tecnologias, como a microencapsulação, pode resultar em uma maior estabilidade e retenção dos compostos aromáticos dos óleos essenciais (MADENE et al., 2006; LIU et al., 2001; BHANDARI et al., 1999). Este processo não só protege contra perdas e mudanças químicas durante a produção e o armazenamento do produto, como também favorece a produção de aroma na forma de pó. As principais vantagens resultantes da microencapsulação incluem o aumento na facilidade de incorporação deste em produtos sólidos e também a possibilidade de obter, durante o consumo, a liberação controlada do material encapsulado (ADAMIEC e KALEMBA, 2006).

3.1.1. Óleo essencial de manjeriço

Ocimum basilicum L., conhecido como manjeriço, é uma erva aromática, pertencente à família *Lamiaceae*. Tradicionalmente é utilizado em alimentos como flavorizante, graças ao sabor característico que suas folhas conferem aos

alimentos; na medicina popular, como erva medicinal para tratamento de dores de cabeça, tosse, diarreia, constipação e mau funcionamento dos rins; e nas indústrias farmacêuticas e de perfumaria (HUSSAIN et al., 2008; SIMON et al., 1999). As diferentes espécies ou variedades de manjericão podem ser classificadas em função dos aromas: doce, limão, cinamato ou canela, cânfora, anis e cravo e também a partir de características morfológicas da planta como: porte, tamanho e coloração das folhas (PRAVUSCHI et al., 2007).

O manjericão é uma planta de colheita anual ou perene, dependendo do local e do manejo em que é cultivado e está presente em diversas regiões do mundo. No caso do Nordeste do Brasil há condições climáticas que permitem que esta planta seja cultivada como planta perene, podendo-se realizar vários cortes por ano (BLANK et al., 2005). Na Europa, ou em regiões de clima mais frio, o manjericão se comporta como uma cultura anual, sendo então realizado apenas um corte por ano (SANTOS et al., 2005).

A extração do óleo essencial de manjericão é normalmente realizada por hidrodestilação ou destilação por arraste a vapor das folhas e/ou ápice com inflorescências. O teor de óleo essencial bem como sua composição são variáveis e dependentes da cor da folha e flores, aroma, origem das plantas, genótipo, região da planta de onde é extraído (folhas ou flores), metodologia de extração, espécie, região geográfica de cultivo e período do ano nos quais são realizadas as podas. Blank et al. (2005) estudaram 51 espécies de *Ocimum basilicum* e verificaram grande variação, não só em termos de teor de óleo essencial (0,202 - 2,537 ml/100g de biomassa), como também de rendimento de óleo essencial (1,103 – 30,082 l/ha). Da Silva et al. (2005) reportaram um rendimento de óleo essencial (em relação ao peso dos ramos) de 1,06% a 2,23%, para manjericão cultivado em Viçosa/MG/Brasil, enquanto Hussain et al. (2008) observaram um rendimento de extração de 0,5% a 0,8%, para manjericão cultivado no Paquistão.

No mercado internacional, o óleo de manjericão é muito valorizado em função da alta concentração de linalol (SOARES et al., 2007). Durante muitos

anos, a principal fonte natural do linalol foi o pau-rosa (*Aniba rosaeodora*), uma árvore da flora amazônica, que, em função de ter sido utilizada de modo não sustentável e em larga escala para extração do óleo essencial, foi incluída pelo IBAMA na lista de espécies ameaçadas de extinção (PRAVUSCHI et al., 2007).

O risco eminente da extinção do pau-rosa e os sérios impactos causados pela sua extração levaram à busca de fontes alternativas de linalol, entre elas o óleo do manjericão que, além dos benefícios ecológicos, traz também benefícios sociais, como a geração de emprego e renda ao pequeno agricultor (PRAVUSCHI et al., 2010). Segundo Blank et al. (2005), o manjericão tem grande potencial agrônomo para extração de linalol, pelo teor de óleo apresentado e por ser uma planta de ciclo curto. É uma possibilidade concreta de ganhos para os pequenos produtores pelo fato de ser uma planta de fácil manejo, baixo custo e curto período de maturação, já que, enquanto o pau-rosa tem um período de maturação de 25 anos para o corte, o manjericão começa a produzir cerca de um ano após a semeadura (JORNAL DA CIÊNCIA, 2002; MAROTTI et al., 1996). O linalol é um composto utilizado pela indústria alimentícia como aromatizante e pela indústria de perfumes na fixação de fragrâncias, como a do mundialmente conhecido perfume Chanel nº5.

O óleo essencial de manjericão possui constituintes biologicamente ativos e seu uso potencial como agente antifúngico, antimicrobiano e antioxidante tem sido objeto de estudo nos últimos anos (ABDOLLAHI et al., 2011; DAMBOLENA et al., 2010; HUSSAIN et al., 2008; POLITEO et al., 2007; DUARTE et al., 2007). Também tem-se avaliado sua utilização como agente antimicrobiano em embalagens ativas (antimicrobianas) (SUPPAKUL et al., 2003). De acordo com Baratta et al. (1998), o óleo essencial de manjericão possui alta atividade antibacteriana contra *A. calcoacetica* e *S. aureus* e baixa atividade antioxidante (quando comparado com óleo essencial de orégano). É mais susceptível à oxidação, devido à ausência de antioxidantes naturais e por ser rico em terpenos, que por sua vez, são instáveis e reagem com oxigênio. Portanto, cuidados durante

o armazenamento e manipulação deste produto, como armazenamento em locais escuros e recipientes herméticos devem ser tomados (JOHNSON e VORA, 1983).

3.1.1.1. Voláteis do óleo essencial de manjeriço

O aroma do óleo essencial de manjeriço é formado por uma mistura altamente complexa de componentes voláteis com diferentes naturezas, funções químicas, quantidades, intensidades e *threshold* (menor concentração de um estímulo, no caso o aroma, para que ele possa ser detectado). A composição em termos de voláteis do óleo essencial de manjeriço varia em razão do cultivar, local de cultivo e práticas agrícolas.

No presente trabalho, o óleo essencial utilizado possuía diversos compostos, sendo que os três presentes em maior quantidade no óleo bruto eram: linalol (39,2%), eucaliptol (20,3%), e cânfora (11,7%). Estes compostos apresentam funções químicas álcool, éter e cetona, respectivamente.

O linalol é um ingrediente de aroma utilizado em diversos produtos. É encontrado em fragrâncias utilizadas em cosméticos, artigos de decoração, perfumes finos, shampoos, sabonetes e outros produtos de higiene pessoal, bem como em produtos não cosméticos, como produtos de limpeza e detergentes (LETIZIA et al., 2003).

Linalol, também conhecido como 3,7-Dimetil-1,6-octadien-3-ol (Figura 3.1) é um líquido transparente, com odor floral agradável. Este composto, de fórmula molecular $C_{10}H_{18}O$, possui peso molecular de 154,25 Da e as seguintes características físico químicas: temperatura de ebulição 198-200 °C, índice de refração 1,461-1,465 e densidade específica 0,858-0,867 (densidade do linalol/densidade da água). É descrito como um líquido combustível, com inflamabilidade à 78 °C (CHEMSPIDER, 2012; FAO, 2012). De acordo com a FAO (2012), o linalol é um composto solúvel em óleos e propilenoglicol e insolúvel em

glicerol e água. Embora exista em sua estrutura uma hidroxila, região polar, a insolubilidade desta molécula em água é consequência da longa cadeia de carbonos que resulta em uma grande região apolar.

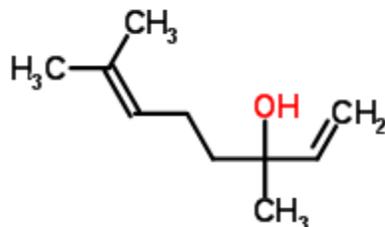


Figura 3.1. Estrutura química do linalol (Fonte: Chemspider, 2012).

O eucaliptol é o principal constituinte de óleos essenciais de eucalipto e alecrim. É comumente empregado na indústria farmacêutica na formulação de remédios, como descongestionantes, e na aromaterapia. Também é utilizado no tratamento de bronquite, sinusite e reumatismo (SANTOS e RAO, 2000).

O eucaliptol, também chamado de 1,8-cineol ou 1,3,3-Trimetil-2-oxabicyclo[2.2.2]octano, é um monoterpene oxigenado, que possui fórmula molecular (C₁₀H₁₈O) e peso molecular (154,25 Da) iguais aos do linalol (Figura 3.2). É um líquido incolor, inflamável (inflamabilidade à 49 °C) e possui temperatura de ebulição de 176-177 °C, densidade específica de 0,92 (densidade do eucaliptol/densidade da água), índice de refração na faixa de 1,454-1,460. É um composto insolúvel em água e solúvel em óleos e etanol (CHEMSPIDER, 2012; FAO, 2012).

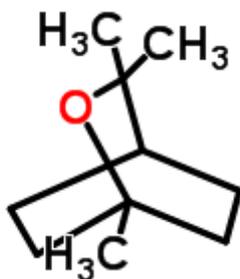


Figura 3.2. Estrutura química do eucaliptol (Fonte: ChemSpider, 2012).

Com fórmula molecular C₁₀H₁₆O e peso molecular 152,24 Da (Figura 3.3), a cânfora é um sólido translúcido, de cor variando de branca a cinza, com densidade específica de 0,990 (densidade da cânfora/densidade da água), temperatura de liquefação e de sublimação de 175-180 °C e 204 °C, respectivamente (CHEMSPIDER, 2012; FAO, 2012). É solúvel em óleos (1:1), água (1:1000) e etanol (1:1).

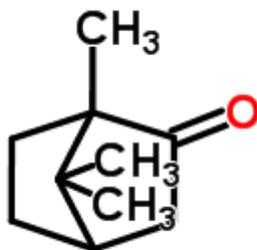


Figura 3.3. Estrutura química da cânfora (Fonte: ChemSpider, 2012).

Os compostos voláteis, mesmo quando dentro das células das plantas, podem ser perdidos quando submetidos a variações de temperatura. De acordo com trabalho realizado por Calin-Sánchez et al. (2012), o óleo essencial de manjeriço extraído de folhas, galhos e troncos *in natura* e o extraído de folhas,

galhos e troncos submetidos a diferentes processos de secagem apresentou variações no teor de compostos voláteis. Segundo os autores, uma redução significativa no teor de metileugenol, eugenol, eucaliptol e linalol, principais compostos voláteis da variedade do manjeriço utilizada, ocorreu independente do método de secagem do material utilizado – secagem por convecção (40, 50 e 60 °C), microondas acoplado a um sistema de vácuo e estes dois métodos combinados.

3.2. Microencapsulação

A microencapsulação é um processo no qual pequenas partículas ou gotas de um ingrediente ativo são envolvidas por uma cobertura (Figura 3.4 a), ou mescladas em matrizes homogêneas ou heterogêneas (Figura 3.4 b). O material envolvido é chamado de material de recheio, ativo ou microencapsulado e o material da cobertura é conhecido por material de parede ou agente encapsulante (GHARSALLAOUI et al., 2007).

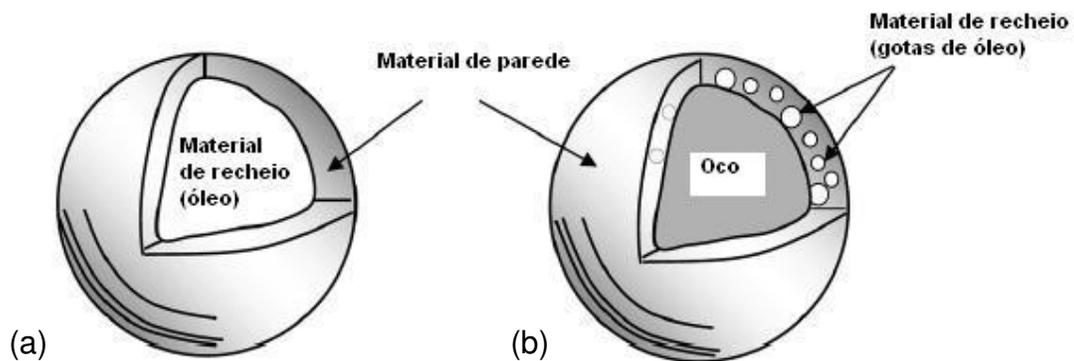


Figura 3.4. Exemplos de micropartículas (Fonte: JAFARI et al., 2008).

O tamanho de uma partícula pode variar de alguns milímetros até $< 1 \mu\text{m}$, podendo ser classificada em nano ($< 0,2 \mu\text{m}$), micro (0,2 a $5000 \mu\text{m}$), ou macropartículas ($> 5000 \mu\text{m}$) (RÉ, 1998).

Dentre as razões para se encapsular materiais estão: converter materiais líquidos em sólidos; proteger materiais higroscópicos do ganho de umidade; manter a estabilidade de materiais voláteis ou que são sensíveis ao calor, luz e oxidação, evitar ou retardar a produção de *off-flavours* em razão da degradação dos compostos e permitir a liberação controlada de uma determinada substância. Além disso, a encapsulação promove uma barreira física entre o material encapsulado e os outros componentes do produto, evitando assim interações indesejáveis entre os diferentes ingredientes de um sistema (JAFARI et al., 2008; GHARSALLAOUI et al., 2007; KRISHNAN et al, 2005).

Atualmente, existem diferentes tipos de aplicações para micropartículas utilizadas em alimentos, tais como óleos alimentícios encapsulados. Grande parte dos óleos essenciais empregados na indústria de alimentos está na forma líquida à temperatura ambiente, de modo que os processos de fabricação e estocagem, bem como os materiais de embalagem, podem causar modificações no aroma global, através da redução da intensidade do composto de aroma ou a produção de componentes *off-flavour*. Os óleos essenciais formam sistemas muito complexos, sendo que alguns são mais estáveis em carboidratos, que são solúveis em água, enquanto outros são mais estáveis em bases lipídicas (MADENE et al., 2006). Assim, a conversão de óleos essenciais líquidos para a forma de pó representa uma importante aplicação da microencapsulação na indústria, uma vez que permite a mudança da dosagem líquida para a conveniência do uso de um material sólido, e protege os componentes voláteis e/ou funcionais, que com baixa volatilidade e menor oxidação podem ser usados para variadas finalidades (JAFARI et al., 2008).

Na literatura existem estudos sobre as propriedades dos óleos essenciais, antes e depois do processo de microencapsulação. Leimann et al. (2009)

verificaram que a atividade antimicrobiana de óleo essencial de limão microencapsulado foi igual à do óleo puro, indicando a manutenção desta propriedade após o processo de encapsulação. De forma semelhante, Fernandes et al. (2008), estudando a microencapsulação do óleo essencial de *Lippia sidoides*, verificaram que a utilização de diferentes materiais de parede não influenciou a atividade antimicrobiana do produto.

Compostos microencapsulados podem ser obtidos por técnicas como secagem em leiteo fluidizado, extrusão, co-cristalização, *spray-drying*, *spray-cooling*, separação rotacional de suspensões, geleificação iônica e coacervação complexa (PRATA et al., 2008; VAIDYA, 2006). De acordo com o processo de microencapsulação utilizado, as matrizes podem apresentar formatos diferentes (filmes, esferas, partículas irregulares), diferentes estruturas (porosas ou compactas) que irão influenciar a difusão dos compostos encapsulados no meio (MADENE et al., 2006).

3.3. Secagem por atomização

A secagem por atomização ou *spray-drying* é o processo de microencapsulação mais utilizado na indústria alimentícia, principalmente na produção de aditivos alimentares e *flavours* secos e estáveis (DESAI e PARK, 2005). O processo é econômico, já que apresenta custos de produção menores que a maior parte dos outros métodos de encapsulação, é flexível, permitindo variações na matriz de encapsulação, e produz partículas de boa qualidade, com boa retenção de voláteis e boa estabilidade do produto final. Além disso, é um método de operação simples, possui boa disponibilidade de equipamentos e permite produção em larga escala (TEIXEIRA et al., 2004, DESAI e PARK, 2005; MORTENSON e REINECCIUS, 2008).

Na secagem em *spray-dryer* ocorrem basicamente 3 etapas: (1) atomização, (2) desidratação e (3) recolhimento do pó. Nesta técnica, conforme

mostrado na Figura 3.5, o líquido (solução, emulsão ou dispersão) é atomizado e pulverizado por um bico atomizador em um meio quente e seco (1). Ao entrar em contato com o ar quente circulando na câmara de secagem, a água das gotas é evaporada (2) e então pequenas partículas sólidas, com características específicas, são formadas e recolhidas (3) (FERNANDES et al., 2008; AMERI e MAA, 2006).

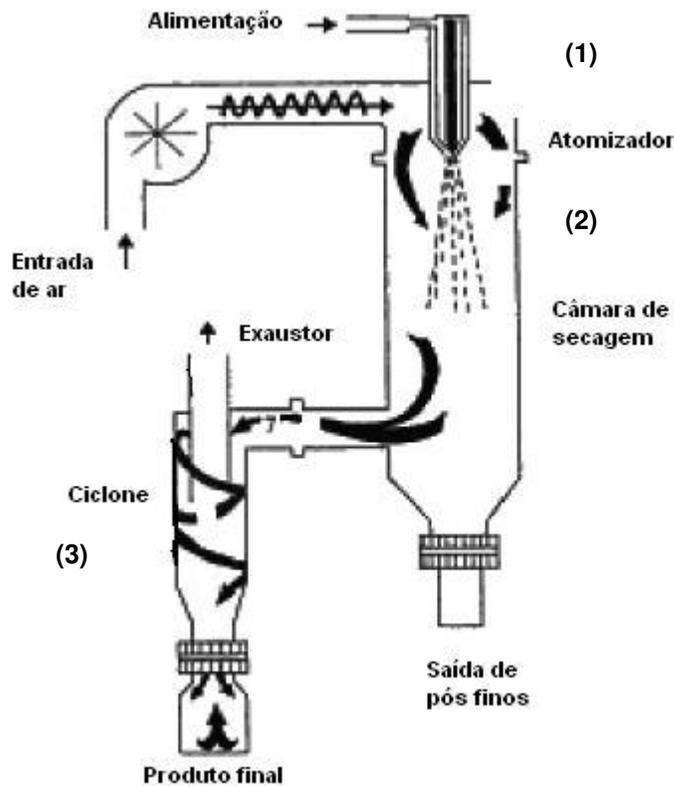


Figura 3.5. Modelo de *spray-dryer* de bancada (Fonte: AMERI e MAA, 2006).

As etapas do processo de encapsulação por *spray-drying* estão apresentadas na Figura 3.6. O primeiro passo é a hidratação do material de parede, seguida da dispersão do material de recheio na solução. Caso o material de recheio seja oleoso, é desejável que uma emulsão fina e estável do material ativo na solução contendo o material de parede seja formada. A emulsão formada é então atomizada em uma câmara contendo ar quente e a evaporação do

solvente, normalmente água, resulta na formação de micropartículas (GHARSALLAOUI et al., 2007). No caso se emulsões preparadas em homogeneizador de alta pressão, a pressão de homogeneização deve ser suficiente para reduzir o tamanho das partículas, mas não deve ser tão grande de forma a favorecer a recoalescência e/ou alterar a estrutura dos materiais, como por exemplo, as proteínas. Por este motivo o estudo de diferentes pressões de homogeneização é interessante, já que nem sempre a maior pressão produzirá emulsões com características desejadas (HUYNTH et al., 2008).

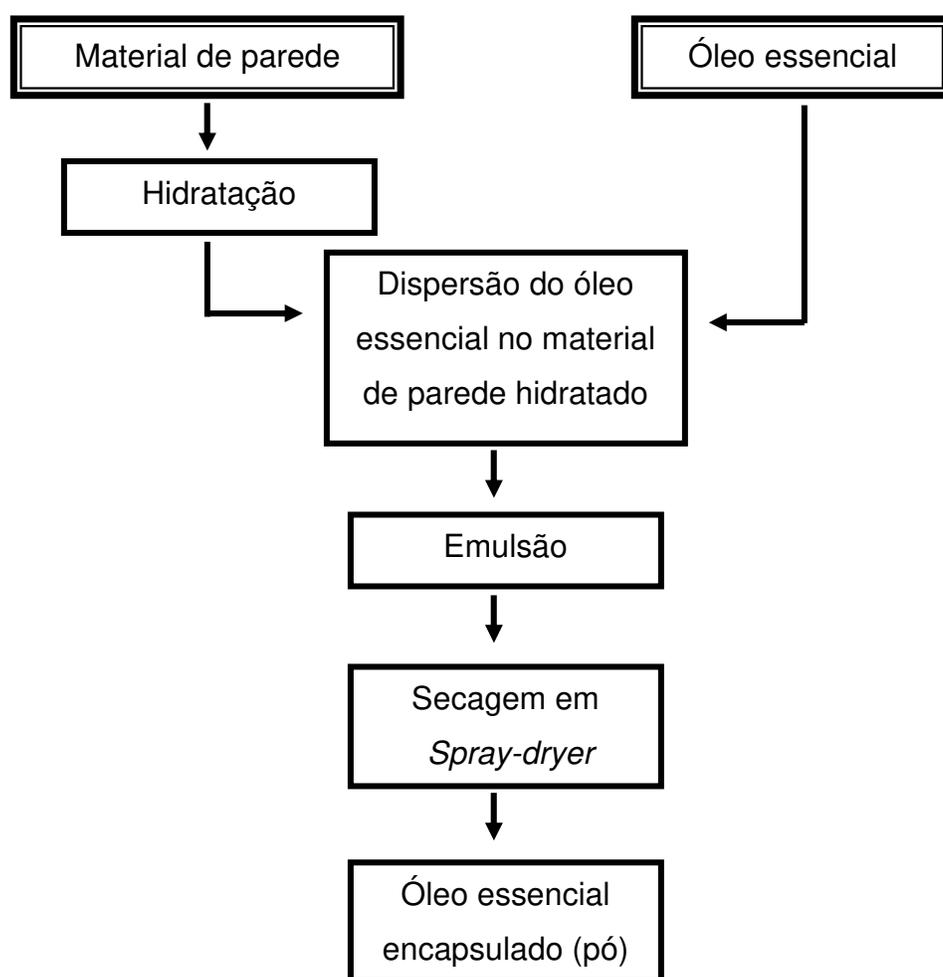


Figura 3.6. Etapas do processo de microencapsulação de óleo essencial por *spray-drying*.

O sucesso da microencapsulação realizada por secagem por atomização está no alto nível de retenção do material encapsulado durante o processamento e o armazenamento (RÉ, 1998). Entretanto, a retenção de voláteis está relacionada também a fatores como natureza e condições de processo da microencapsulação, propriedades do material de parede e do composto volátil como peso molecular, funcionalidade química, polaridade e volatilidade relativa (MADENE et al., 2006; REINECCIUS, 2004).

De acordo com Liu et al. (2001), um fator importante na retenção de voláteis é a estabilidade da emulsão formada antes da secagem. Durante a microencapsulação por *spray-drying* de d-limoneno, observou-se quase 100% de retenção do aroma, independente da composição da emulsão. No caso do etilbutirato, a concentração de maltodextrina, bem como o tipo de emulsificante, influenciaram o nível de retenção do composto. Esta diferença de retenção foi atribuída a diferenças na estabilidade das emulsões: enquanto as emulsões de d-limoneno eram muito estáveis, a estabilidade das emulsões de etilbutirato variava em função da composição da mistura.

3.4. Agentes microencapsulantes

No processo de microencapsulação para alimentos, a escolha do material de parede depende de vários fatores como aplicações do produto, natureza do material a ser encapsulado, do processo de encapsulação, fatores econômicos e se o material de parede é aprovado pela *Food and Drug Administration* (FDA/EUA) ou pelo *European Food Safety Authority* (Europa) (AMRITA et al., 1999). No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) é quem regulamenta a utilização de qualquer ingrediente em sistemas alimentícios. Recentemente, a ANVISA lançou um guia para comprovação da segurança de alimentos e ingredientes, no qual se fala da necessidade da comprovação pré-mercado da segurança de uso de novos ingredientes para consumo humano (ANVISA, 2013).

Dentre as limitações da microencapsulação por *spray-drying* estão o número de materiais de parede disponíveis e o custo destes. Do ponto de vista técnico, a escolha do material de parede é uma etapa crítica, já que irá influenciar as propriedades da emulsão antes da secagem, retenção dos voláteis durante a secagem e vida útil do pó após a secagem (JAFARI et al., 2008; DESAI e PARK, 2005).

Como quase todos os processos de *spray-drying* na indústria alimentícia são de base aquosa, o material de parede deve ser, pelo menos, parcialmente solúvel em água. Em adição à solubilidade, o material deve possuir boas propriedades de emulsão/estabilização, capacidade de formar filme e ser capaz de formar soluções pouco viscosas, mesmo quando em altas concentrações. Além disso, o material de parede não deve reagir com o composto ativo, deve ser facilmente manipulado e proteger o ingrediente ativo de fatores externos. Para algumas aplicações específicas, é desejável ainda que ele apresente comportamento de redispersão, de modo a liberar o composto ativo no momento e local desejado (DESAI e PARK, 2005; GOUIN, 2004; SHAHIDI e HAN, 1993; REINECCIUS, 1988).

Dentre os materiais de parede existentes, os comumente utilizados são os carboidratos, como amidos hidrolisados, modificados, celulose, gomas e ciclodextrinas; lipídeos e proteínas, como gelatina, proteínas do leite e da soja (VAIDYA et al., 2006; JAFARI et al., 2008). Conforme mostrado na Tabela 3.1, cada grupo de materiais possui vantagens e desvantagens, e por esta razão, os materiais de parede podem ser formados pela mistura de diferentes compostos (MADENE et al., 2006).

Tabela 3.1. Vantagens e desvantagens de alguns materiais de parede utilizados na microencapsulação por *spray-dryer*.

Material de parede	Exemplos	Vantagens	Desvantagens	
Carboidratos	Amidos hidrolisados	Maltodextrina	Boa barreira ao oxigênio, baixo custo; apresenta baixa viscosidade mesmo em altas concentrações.	Ausência de propriedade emulsificante.
	Amidos modificados	Capsul, Hi-CAP	Boa propriedade emulsificante; baixo custo.	Variações na qualidade; em função de questões regulatórias, não pode ser utilizados em alguns países.
	Gomas	Goma arábica, goma mesquita	Boa propriedade emulsificante; muito bom para reter voláteis.	Qualidade variável; preço varia em função da disponibilidade; pode conter impurezas.
	Ciclodextrinas	α , β , γ ciclodextrinas	Muito bom para reter voláteis; ótima barreira ao oxigênio.	Relativamente caro.
Proteínas	Proteínas do leite	Concentrado proteico do soro de leite	Muito bom para reter voláteis; capacidade emulsificante.	Potencial alérgico; dependente do pH; custo elevado.
	Proteínas da soja	Isolado proteico de soja	Muito bom para reter voláteis; capacidade emulsificante.	Soluções muito viscosas, mesmo quando em baixa concentração; dependente do pH, custo elevado.

Fonte: JAFARI et al. (2008)

Dentre as diversas gomas, a goma arábica é muito utilizada para encapsular compostos lipofílicos por possuir excelente propriedade emulsificante e capacidade de formar filme. Esta característica emulsificante da goma arábica é dada pela presença de aproximadamente 2% de proteína em sua estrutura. No entanto, o alto custo, a pouca disponibilidade e variações na qualidade estão restringindo a utilização desta goma como agente encapsulante e forçando os pesquisadores a procurar materiais alternativos (GHARSALLAOUI et al., 2007; DICKINSON, 2003).

Carboidratos, em geral, são considerados bons agentes encapsulantes. As maltodextrinas são formadas pela hidrólise parcial, por ácidos ou enzimas, do amido de milho e estão disponíveis em diferentes graus de dextrose equivalente (DE), que indicam o nível de hidrólise do polímero de amido. A maltodextrina apresenta como vantagens boa relação custo/efetividade, capacidade de formar soluções concentradas com baixa viscosidade, boa solubilidade, além de ser insípida e inodora. Entretanto, não possui propriedade emulsificante e, por este motivo, deve ser utilizada juntamente com outros materiais que possuam esta propriedade, como proteínas ou a própria goma arábica (GHARSALLAOUI et al., 2007; MADENE et al., 2006).

As proteínas são consideradas bons agentes emulsificantes em razão de sua propriedade anfifílica (molécula com sítios hidrofílicos e hidrofóbicos), o que as permite interagir tanto com a água como com o óleo formando micelas (JIN et al., 2013). Elas apresentam diferentes grupos químicos, habilidade de auto associação e interação com diferentes tipos de substâncias e alto peso molecular. Em função disso, as proteínas possuem propriedades funcionais como solubilidade, capacidade de emulsificação e propriedades de formação de filme e, portanto, são indicadas para serem utilizadas como material de parede nos processos de microencapsulação (MADENE et al., 2006). Uma desvantagem de algumas proteínas, como o isolado proteico da soja, é a formação de soluções com elevada viscosidade, mesmo quando em baixas concentrações.

Proteínas de soja apresentam diversas propriedades funcionais, incluindo capacidade de reter água, emulsificar, estabilizar e modificar textura. O isolado proteico de soja é composto majoritariamente por proteínas globulinas 7S (conglucina, peso molecular (PM) = 70 kDa) e 11 S (glicina, PM = 350 kDa (NESTERENKO et al., 2013, JIN et al., 2013)). O concentrado proteico de soro possui como principais proteínas a β -lactoglobulina (PM = 18,4 - 36,9 kDa) e a α -lactoglobulina (PM = 14,2 kDa). A β -lactoglobulina é também uma proteína globular que tem habilidade de adsorver na interface óleo-água, reduzindo a tensão interfacial. Esta proteína se desdobra na interface óleo-água, formando associações intermoleculares tanto por interações hidrofóbicas como por ligações S-S. A α -lactoglobulina também apresenta capacidade emulsificante, estabilizante e participa juntamente com a β -lactoglobulina nas interações S-S (BOUAOUINA et al., 2006).

Uma preocupação que se poderia ter ao utilizar proteínas no processo de microencapsulação por *spray-dryer* seria a desnaturação térmica (pela perda de moléculas de água requeridas para formar as ligações de hidrogênio que estabilizam a estrutura da molécula), que pode alterar a estrutura secundária de algumas proteínas, inativando-as irreversivelmente. No entanto, de acordo com Ameri e Maa (2006) nos estágios iniciais da secagem, a superfície das gotas permanece saturada (100% umidade relativa) e por isso a temperatura atingida pela gota é a temperatura de bulbo úmido, que é significativamente menor que a temperatura do ar de secagem. Com o avanço no processo de secagem, a temperatura da gota tende a aumentar, já que grande parte da água foi evaporada e a difusão da água (do interior da gota para o ambiente) não é suficiente para manter saturada a superfície das gotas. Entretanto, em função da retirada da umidade restante, a temperatura do ar que envolve a gota é reduzida, fenômeno que evita a desnaturação das proteínas. Embora a desnaturação térmica não seja muito observada na secagem em *spray-dryer*, recomenda-se utilizar temperaturas de secagem não muito elevadas a fim de se evitar o *stress* térmico da proteína.

Para que um material seja adequado para encapsular compostos lipofílicos, ele deve possuir alta atividade emulsificante, alta estabilidade, uma tendência a formar matriz fina e densa durante a secagem e não deve permitir a separação lipídeo/emulsão durante a desidratação. Com base na habilidade de formar matriz densa, polímeros como maltodextrina, goma arábica e proteínas são indicados para serem utilizados como agentes encapsulantes de materiais lipídicos, como óleos essenciais (JAFARI et al., 2008, REINECCIUS, 2004, MATSUNO e ADACHI, 1993).

Bhandari et al. (1999) avaliaram a eficiência de encapsulação de óleo de limão com β -ciclodextrina e observaram que não houveram diferenças na retenção de voláteis dos pós obtidos pela secagem a vácuo ou por *spray-dryer*. Charve e Reineccius (2009) estudaram a microencapsulação de óleos essenciais com goma arábica, amido modificado, isolado proteico de soro, de soja e caseinato de sódio. Os autores observaram que a goma arábica (94%), o amido modificado (88%) e a proteína isolada de soro (87%) foram, dentre os materiais de parede utilizados, os que apresentaram maior retenção de *flavours*. Observaram ainda que os materiais de parede proteicos efetivamente limitaram a oxidação do limoneno.

3.5. Emulsão

Uma emulsão consiste em dois líquidos imiscíveis, com um dos líquidos sendo disperso na forma de pequenas gotas no outro líquido. Na indústria de alimentos, os dois líquidos imiscíveis são normalmente óleo e água, mas isso não é uma regra geral, já que se pode ter, por exemplo, emulsões água em água (McCLEMENTS, 2007). As emulsões podem ser classificadas em função da distribuição das diferentes fases: emulsão óleo em água, quando se tem gotas de óleo dispersas na fase contínua, água (ex. maionese, leite, molhos para salada, etc.); e emulsão água em óleo, quando gotas de água são dispersas em uma fase oleosa (ex. margarina, manteiga, etc.).

A emulsão pode ser produzida em uma ou duas etapas. Da primeira etapa, na qual o objetivo é a dispersão de uma fase na outra, tem-se a formação da emulsão primária, com gotas de diâmetro grande. Em seguida, pode-se realizar uma segunda etapa, visando a redução do tamanho de gota da emulsão primária. As duas etapas geralmente ocorrem com a aplicação de energia mecânica (JAFARI et al., 2008; McCLEMENTS, 2007).

No processo de microencapsulação de óleos essenciais e *flavours*, algumas propriedades da emulsão como estabilidade, teor de sólidos, viscosidade, diâmetro de gota devem ser observados. Primeiramente, deve-se verificar se a emulsão é ou não estável. Emulsões não estáveis perdem mais voláteis já que, ao serem atomizados, estes materiais não estão emulsificados e assim, sua volatilização ocorre mais facilmente.

O tamanho de gota da emulsão influencia a retenção e estabilidade dos *flavours* encapsulados. No estudo realizado por Soottitawat et al. (2003), emulsões com maiores tamanho de gota resultaram na produção de partículas com menor retenção de d-limoneno e maior teor de óleo superficial, para todos os materiais de parede utilizados (goma arábica/maltodextrina, polissacarídeo solúvel de soja/maltodextrina e hi-cap/maltodextrina). De acordo com os autores, quando gotas grandes de uma emulsão passam pelo atomizador, em função da alta velocidade e turbulência, elas são divididas em gotas menores e, algumas destas são quebradas, resultando na evaporação do material de recheio. A mesma explicação é válida para a obtenção de maior concentração de óleo superficial.

Um dos fatores mais importantes para retenção de voláteis durante a secagem por atomização é o teor de sólidos na emulsão. O teor de sólidos ideal varia em função do material de parede, já que, quando em solução, cada um possui solubilidade e viscosidade diferentes. Elevados teores de sólidos aumentam a retenção de voláteis por reduzir o tempo necessário para se formar uma membrana semipermeável na superfície da partícula, durante o processo de secagem. Entretanto, o teor de sólidos não deve ser alto o suficiente para exceder

a solubilidade do material de parede. Embora seja possível atomizar soluções com elevado teor de sólidos, o material não solubilizado não irá ter ação encapsulante efetiva e menor retenção de voláteis é observada no processo de secagem. Além disso, elevados teores de sólidos podem resultar em soluções com viscosidade elevada, o que, além de elevar o tempo necessário para formação da partícula no *spray-dryer*, pode resultar na produção de partículas com tamanho e formato indesejáveis, comprometendo assim o processo de atomização (REINECCIUS, 2004).

Huynh et al. (2008) estudaram o teor de sólidos na emulsão (20, 30 e 40%) para produção de micropartículas de maltodextrina/amido modificado e maltodextrina/isolado proteico de soro contendo óleo essencial de limão. Os autores observaram que, utilizando um teor de sólidos de 40%, foi possível maximizar a retenção de óleo e minimizar o teor de óleo superficial, independente do material de parede utilizado, comprovando que o teor de sólidos na emulsão tem efeito significativo no processo. Fernandes et al. (2008) estudaram concentrações de 30, 40, 50 e 60% de sólidos na emulsão e observaram que 50% foi a mais eficiente em reter os voláteis de *Lippia sidoides*, encapsulado com maltodextrina:goma arábica, na proporção de 3:2 (m/m). Charve e Reineccius (2009) realizaram um interessante estudo no qual avaliaram 5 diferentes materiais de parede em uma concentração de sólidos de 10% e estes mesmos materiais em uma viscosidade fixa de 0,25 Pa.s e concentração de sólidos variável, mas sempre superior a 10%. Para todos os materiais estudados a retenção de voláteis foi significativamente maior quando maiores concentrações iniciais de sólidos foram utilizadas.

A viscosidade da emulsão é outro fator importante na retenção dos voláteis, já que influencia a movimentação das moléculas na emulsão e o tempo de formação e secagem das gotas. Se a viscosidade é muito baixa, correntes são formadas na emulsão, dificultando a formação da camada semipermeável na superfície das gotas, permitindo maior perda de voláteis. Entretanto, aumentar muito a viscosidade também pode resultar em maior perda de voláteis, já que a

desidratação da gota vai ser mais demorada. Portanto, o ideal é se achar uma viscosidade ótima para cada material de parede (REINECCIUS, 2004).

3.5.1. Agentes emulsificantes

Em função da imiscibilidade das fases, as emulsões são sistemas instáveis. De forma a dar estabilidade às emulsões, substâncias devem ser incorporadas ao sistema, de modo a impedir coalescência destas gotas e, conseqüentemente, a separação das fases da emulsão (DESRUMAUX e MARCAND, 2002). Estas substâncias podem ser emulsificantes ou modificadores de textura. O emulsificante precisa ter uma característica anfifílica, ou seja, em sua estrutura é preciso ter uma região polar e outra apolar. Eles atuam na superfície das gotas, formando uma cobertura, impedindo que uma gota se agregue à outra (exemplo: algumas proteínas, polissacarídeos, fosfolípidios, surfactantes pequenos, etc). Os modificadores de textura agem aumentando a viscosidade ou formando um gel na fase contínua (exemplos: amidos, celulose, pectina, alginato, carragena, gelatina etc.). Para emulsões cuja finalidade seja sua utilização no processo de microencapsulação por atomização, o foco é no estudo dos agentes emulsificantes.

Para um polímero ser efetivo como um agente emulsificante, ele precisa ter a capacidade de diminuir, de forma substancial e rápida, a tensão na interface óleo/água. De maneira geral, quanto menor a tensão superficial, mais facilmente as gotas podem se quebrar durante o processo de homogeneização (DICKINSON, 2003; WALSTRA e SMULDERS, 1998).

3.5.2. Homogeneização a alta pressão

O processo de conversão de óleo e água em uma emulsão ou a redução no tamanho das gotas de uma emulsão primária é chamado de homogeneização. A homogeneização é normalmente alcançada pela aplicação de intensa agitação

mecânica na mistura líquida, utilizando equipamentos conhecidos como homogeneizadores, como por exemplo, microfluidizadores, homogeneizadores ultrasônicos, misturador de alto cisalhamento, válvula de alta pressão, etc.

A utilização de um homogeneizador a alta pressão tem como principal objetivo a redução no tamanho das gotas das emulsões. Os equipamentos disponíveis no mercado apresentam diferenças de *design* e funcionalidade e a escolha deste equipamento pode ser feita com base no volume, viscosidade e fases da emulsão, tipo e concentração do agente emulsificante, questões relacionadas à temperatura, diâmetro médio e distribuição do tamanho de gotas. Após a escolha do equipamento, condições operacionais como taxa de escoamento, pressão e temperatura devem ser otimizados de forma a obter a emulsão com as características desejadas (JAFARI et al., 2008).

De acordo com Qian e McClements (2011), o tamanho mínimo das gotas de uma emulsão produzida utilizando alta pressão de homogeneização depende do tipo do homogeneizador, das condições operacionais (intensidade da energia, tempo e temperatura), composição da amostra (tipo de óleo, emulsificante e suas concentrações relativas) e das propriedades físico-químicas das fases (tensão interfacial e viscosidade).

O princípio da homogeneização a alta pressão é simples: uma emulsão primária, produzida por um agitador operando em alta velocidade, é forçada, sob pressão, a passar por uma válvula estreita. A quebra das gotas da fase dispersa é resultante da combinação de intenso cisalhamento, cavitação e condições de escoamento turbulento na válvula (DESRUMAUX e MARCAND, 2002; FLOURY et al., 2000).

Durante o processo, as etapas de deformação da gota, absorção e espalhamento do emulsificante e colisão entre as gotas recém-formadas ocorrem em escala de milisegundos. Para manter bem pequenas as gotas recém-formadas, o tempo necessário para colisão entre elas deve ser alto quando

comparado ao tempo necessário para o emulsificante ser absorvido na interface e formar uma cobertura (DICKINSON, 2003). Se o tempo necessário para absorção dos emulsificantes for maior que o tempo da colisão entre as gotas, a interface não estará totalmente coberta e a recoalescência pode ocorrer, resultando no aumento do diâmetro das gotas da emulsão. No caso específico do estudo de diferentes pressões de homogeneização, isto significa que mesmo que a energia fornecida pelo processo durante a homogeneização tenha aumentado, as emulsões obtidas poderão ter tamanhos de gota maiores que o esperado ou mesmo que emulsões produzidas sob menor pressão. Este fenômeno é chamado de “*over processing*” e já foi reportado em alguns trabalhos que estudaram a homogeneização a alta pressão (JAFARI et al., 2008; OLSON et al., 2004; MARIE et al., 2002; DESRUMAUX e MARCAND, 2002).

Em suma, o diâmetro médio da emulsão é resultado de um equilíbrio entre quebra e recoalescência. Gotas recém-formadas tendem a recoalescerem por serem termodinamicamente instáveis e pela cobertura incompleta da interface das gotas pelos agentes emulsificantes (JAFARI et al., 2008; FLOURY et al., 2004).

A obtenção de uma emulsão estável é essencial para microencapsular óleos e *flavours*, já que a falta de estabilidade pode resultar em separação de fases, o que ocasiona a não encapsulação do óleo e a perda dos compostos voláteis durante a secagem. O processo de homogeneização a alta pressão tem sido amplamente estudado com o objetivo de se obter emulsões com menor diâmetro médio de gotas e, conseqüentemente, mais estáveis (SOOTTITANTAWAT et al., 2003).

Desrumaux e Marcand (2002), por calorimetria diferencial de varredura, mostraram que o processo de emulsificação com pressão ultra alta (300 MPa), provavelmente afetou a conformação da proteína de soro de leite, resultando na sua desnaturação e afetando então sua propriedade emulsificante. Os autores reportaram uma pressão ótima de trabalho de aproximadamente 100 MPa, na qual o diâmetro médio das gotas da emulsão apresentou valor mínimo. Utilizando

metilcelulose como agente emulsificante, Flourey et al. (2003) reportaram a ocorrência de degradação na cadeia da molécula e formação de polímeros com peso molecular significativamente menores, ao se trabalhar com pressões acima de 100 MPa. Segundo estes autores, o ideal é a utilização de pressões de homogeneização menores que 150 MPa para produzir emulsões com tamanho submicro, sem a ocorrência do “*over processing*”. Resultado semelhante foi reportado por Schulz e Daniels (2000), que encontraram uma pressão ótima de trabalho de 90 MPa. Neste trabalho, estudou-se o efeito da pressão de homogeneização no tamanho de gota de emulsões de triglicérides de cadeia média estabilizados por hidroximetilcelulose, visando sua utilização em produtos oftalmológicos. Segundo os autores, para esta emulsão em estudo, a utilização de pressões de homogeneização de 50 MPa resultou em uma dispersão insuficiente das gotas, enquanto que a utilização de 160 MPa resultou em “*over processing*”.

Por outro lado, alguns pesquisadores dizem que a utilização de pressões de homogeneização mais altas pode facilitar a absorção das proteínas na interface das gotas, por modificar sua estrutura tridimensional, resultando na produção de emulsões com menor diâmetro de gota. Perrier-Cornet et al. (2005) provaram que, em pressões acima de 200 MPa, a taxa de absorção das proteínas de soro de leite na interface aumentou significativamente, resultando em uma emulsão com menor diâmetro. Bouaouina et al. (2006) mostraram que o processo de alta pressão não afetou a conformação das proteínas de soro, e sim aumentou suas propriedades de estabilização em função do aumento da exposição dos sítios hidrofóbicos.

3.6. Retenção de voláteis e estabilidade das partículas produzidas por secagem por atomização

A retenção de voláteis, bem como a estabilidade das partículas ao armazenamento, estão ligados, dentre outras coisas, à retenção de óleo e ao teor de óleo superficial. A retenção de óleo é dada pela quantidade de óleo que se encontra na partícula, após o processo de encapsulação, em relação à sua quantidade inicial. Com base neste dado pode-se, por exemplo, tomar decisões alterando as características do processo de secagem de modo a favorecer a maior retenção do óleo. O teor de óleo superficial é a quantidade de óleo que está localizada na parte externa da partícula. Esta resposta é muito importante já que a baixa estabilidade da partícula, em razão da alta perda de material volátil ou rápida oxidação, pode ser resultante do alto teor de óleo superficial. A partir destes dois parâmetros (retenção de óleo e óleo superficial) calcula-se a eficiência de encapsulação, que é a quantidade de óleo que está efetivamente encapsulada, ou seja, dentro da partícula.

Diversos estudos referentes à microencapsulação de compostos voláteis por secagem em *spray-dryer* estão disponíveis na literatura. Os resultados variam em função das características dos materiais que estão sendo encapsulados, dos materiais de parede utilizados, bem como dos parâmetros do processo empregados.

Um estudo bem completo, considerando parâmetros do processo como temperatura de entrada, teor de sólidos totais, razão maltodextrina/goma arábica e razão material de parede/material de recheio foi realizado por Fernandes et al. (2008). A retenção de óleo essencial de *Lippia sidoides* aumentou (49-52%), ao se trabalhar com 30, 40 e 50% de sólidos totais. No entanto, ao se utilizar 60% de sólidos totais, uma redução na retenção de óleo de 52 para 47% foi observada. Segundo os autores, o teor de sólidos afeta a viscosidade da emulsão e esta viscosidade pode influenciar correntes de circulação nas gotas formadas,

permitindo uma maior ou menor rapidez na formação de uma membrana semi-permeável ao redor das gotas nos instantes iniciais da secagem. Ao se comparar a retenção de óleo para diferentes concentrações de maltodextrina/goma arábica, verificou-se que maior retenção de óleo foi obtida quando goma arábica foi utilizada pura. A ausência de capacidade emulsificante de maltodextrina foi o que afetou os resultados, já que ao se aumentar a concentração de goma arábica e reduzir a de maltodextrina, se aumenta a capacidade emulsificante do material de parede, o que para encapsulação de materiais hidrofóbicos é fundamental. Estes resultados obtidos para o óleo se reproduziram quando se avaliou apenas a retenção de timol, o composto volátil presente em maior concentração neste óleo essencial.

Diversos materiais de parede têm sido estudados, visando uma maior retenção de compostos voláteis. Jafari et al. (2007) estudaram a eficiência dos materiais de parede para microencapsulação de D-limoneno e verificou que Hi-Cap + maltodextrina apresentou maior retenção (86,2%) quando comparado ao concentrado proteico de soro + maltodextrina (76,3%).

Baranauskiene et al. (2007) pesquisaram a eficiência de encapsulação de oito diferentes materiais de parede (Hi-Cap, N-lok, Capsul, Encapsul, Cristal tex e 3 tipos de Ciemcap) para microencapsulação de óleo essencial de menta. Segundo os autores, as matrizes derivadas de amido hidrolisado (Encapsul e Cristal tex) foram as que apresentaram menor eficiência de encapsulação (39,15 e 60,19%, respectivamente), já que estes materiais apresentam baixa propriedade emulsificante, e por este motivo apresentam baixa retenção de compostos hidrofóbicos. Neste mesmo trabalho foi apresentado um estudo sobre a estabilidade por 100 horas de partículas carregando o óleo essencial de menta com estes oito materiais de parede. Dentre os materiais em estudo, foi possível verificar a existência de dois grupos distintos: aqueles que permitem uma rápida liberação do material encapsulado (Encapsul e Cristal tex) e aqueles que apresentam como característica uma liberação mais lenta (Ciemcap e Capsul). A

utilização de um material ou outro vai variar em função das características físico-químicas das partículas obtidas e também da aplicação do material encapsulado.

Soottitantawat et al. (2005b) estudaram a retenção de l-mentol no processo de microencapsulação por *spray-dryer* e verificaram que a retenção deste volátil aumentou (de 35% para 95%) com o aumento no teor de sólidos (de 10% para 40%) e diminuiu com o aumento na concentração inicial do composto volátil (de 10 para 30%). A estabilidade de partículas contendo l-mentol microencapsulado com goma arábica, capsul, Hi-Cap 100, quando armazenadas a 43 °C, em diferentes umidades relativas (UR), também foi estudada. Ao se armazenar as micropartículas em umidades relativas de 8%, 33% e 51%, o material de parede goma arábica foi o que apresentou maior retenção de voláteis (> 98%), durante os 20 dias de armazenamento. No entanto, quando aumentou a UR para 75% e 83%, esta retenção caiu drasticamente para 50% e 0%, respectivamente, ao fim do armazenamento. De acordo com os autores, o aumento da umidade relativa resultou em uma mudança na estrutura da matriz encapsuladora. Em baixas a_w a matriz está no estado vítreo e a maior retenção de voláteis observada é em razão da baixa mobilidade das moléculas de voláteis nesta matriz. Quando a estrutura da partícula é danificada pela absorção de água do meio, a mobilidade das moléculas aumenta, reduzindo a retenção dos voláteis. Embora os demais materiais de parede tenham apresentado menor retenção de voláteis em ambiente de UR menor, eles foram mais estáveis no ambiente com a maior UR (83%), apresentando retenções ao fim do armazenamento na ordem de 80% e 60% para Capsul e Hi-cap 100, respectivamente.

De forma semelhante, Charve e Reineccius (2009) verificaram um aumento significativo na retenção de compostos aromáticos (hexanal, limoneno, citral e cinemaldeído) ao se aumentar o teor de sólidos totais na emulsão. Neste trabalho, foram estudados dois teores de sólidos totais para cada material de parede: um menor, 10%, e um maior, que foi diferente para cada material, já que o objetivo foi não foi trabalhar com teores de sólidos totais iguais, mas sim com emulsões com viscosidade final igual (0,25 Pa.s). Embora a retenção inicial de voláteis tenha sido

maior ao se utilizar teor de sólidos totais maiores para todos os materiais de parede estudados, esta variável não influenciou a retenção de voláteis durante o armazenamento de partículas produzidas com matrizes proteicas (IPS e CPS) e a perda de voláteis foi similar para os dois teores de sólidos totais estudados. Os materiais de parede amido modificado, CPS e IPS apresentaram boa retenção de voláteis durante o processo de secagem; no entanto, eles apresentaram baixa retenção dos voláteis durante o armazenamento por 28 dias. Isto demonstra a importância do estudo de estabilidade das partículas, para verificar a retenção dos compostos de interesse, não apenas após o processo de secagem, mas também durante o armazenamento em condições pré-estabelecidas.

Bertolini et al. (2001) estudaram a estabilidade de 5 monoterpenos (limoneno, β -mirceno, β -pireno, linalol e citral) encapsulados com goma arábica e armazenados por 33 dias à 50 °C. Os autores não verificaram diferenças na quantidade de monoterpenos antes e depois do processo de microencapsulação. Uma redução na concentração destes monoterpenos ocorreu durante os 33 dias de armazenamento. Uma pequena redução foi observada para o β -pireno (15,1%) e o citral (29,1%), quando comparada à redução verificada para limoneno (47,4%), β -mirceno (65,8%) e para o linalol (75%). Para todas as amostras (exceto para o β -pireno), verificou-se uma aceleração notória na perda dos compostos microencapsulados após 19 dias de armazenamento. A alta perda de linalol foi atribuída à desidratação deste composto devido à presença de grupos hidroxilas na goma arábica e subsequente oxidação, produzindo óxido de linalol.

4. Material e Métodos

4.1. Material

4.1.1. Matéria-prima

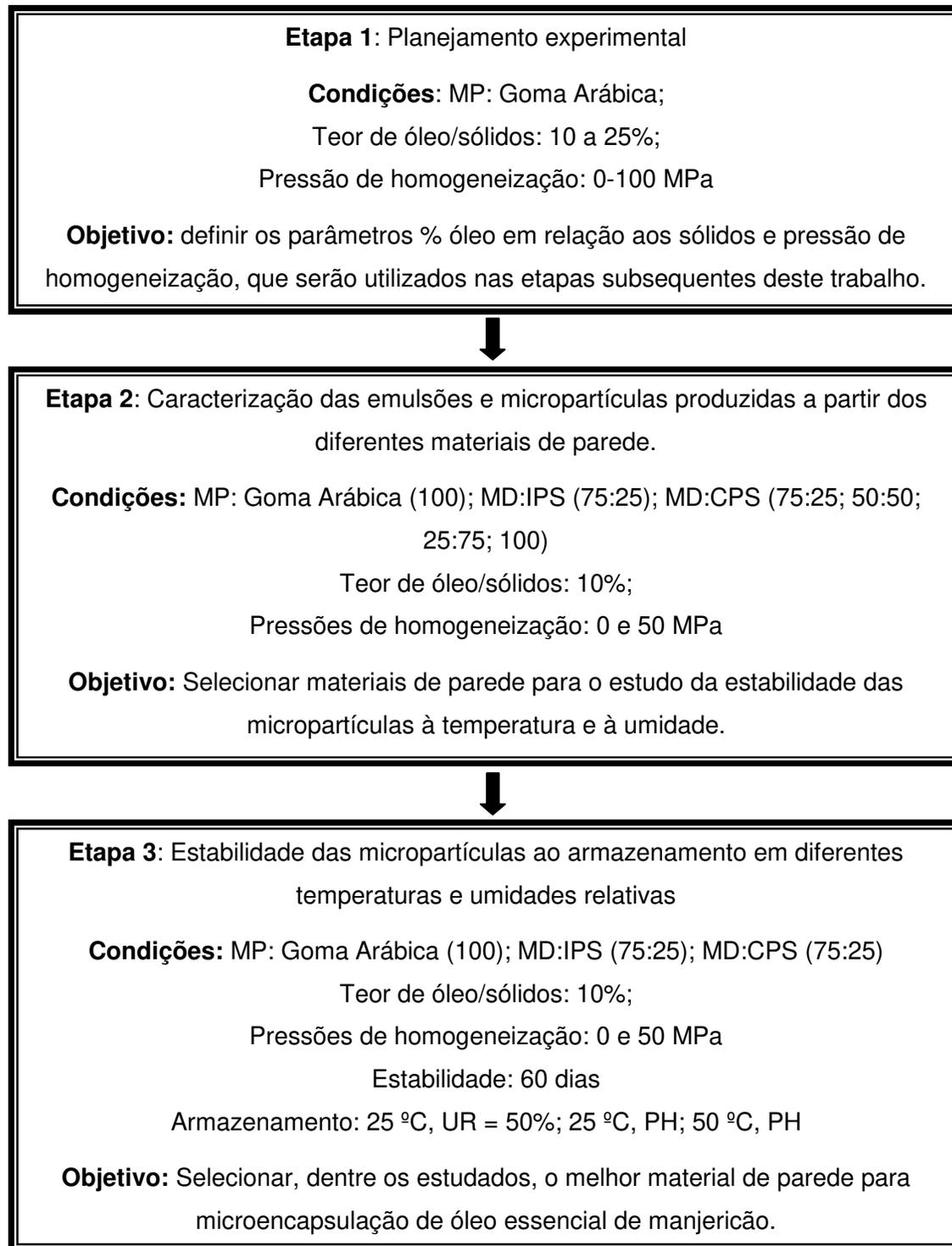
O óleo essencial de manjeriço utilizado neste trabalho foi extraído através de destilação por arraste a vapor das folhas de manjeriço. Ele foi adquirido da empresa Linax Extração de Óleos Essenciais (Votuporanga, Brasil) e suas especificações técnicas estão apresentadas no Anexo A. Em alguns ensaios preliminares também se utilizou óleo de soja comercial Soya (Bungue, Brasil), adquirido em supermercado local.

4.1.2. Agentes microencapsulantes

Para o processo de microencapsulação foram utilizados os seguintes materiais de parede: goma arábica (GA), doado pela empresa Colloides Naturels Brasil (São Paulo, Brasil), maltodextrina (MD) Mor-Rex 1910, com dextrose equivalente (DE) 10, doado pela empresa Corn Products (Mogi Mirim, Brasil), isolado proteico de soja (IPS) (92,5% de proteína), produzido pela empresa Solae, mas doado pela empresa Tovani (São Paulo, Brasil) e concentrado proteico de soro de leite (CPS) (80% de proteína), doado pela empresa Alibra (Campinas, Brasil). As especificações técnicas destes materiais estão apresentadas no Anexo B.

4.2. Métodos

Este trabalho foi dividido em três etapas, conforme apresentado no esquema da Figura 4.1. Cada etapa está descrita em um subtópico deste item, assim como as metodologias que foram utilizadas em cada uma delas. Embora algumas análises tenham sido realizadas em mais de uma etapa, a metodologia



MP: material de parede; PH: potes herméticos; MD: maltodextrina; IPS: isolado proteico de soja; CPS: concentrado proteico de soro de leite.

Figura 4.1. Esquema geral das etapas, condições experimentais e objetivos deste trabalho.

analítica utilizada pode ter sido diferente, em razão da disponibilidade dos equipamentos e também de amostra.

4.2.1. **Etapa 1:** Planejamento experimental

Um delineamento composto central rotacional (DCCR) completo 2^2 , incluindo 4 pontos axiais e 3 pontos centrais, totalizando 11 ensaios, foi realizado. A equação 4.1 foi utilizada para ajustar os dados obtidos.

$$y = \beta_0 + \beta_1x_1 + \beta_2x_2 + \beta_{11}x_1^2 + \beta_{22}x_2^2 + \beta_{12}x_1x_2 \quad (4.1)$$

onde y é a resposta, β_n são coeficientes da regressão e x_1 , e x_2 são as variáveis independentes codificadas (concentração de óleo em relação aos sólidos totais e pressão de homogeneização, respectivamente).

Nesta primeira etapa, a goma arábica foi o único material de parede estudado. O objetivo desta etapa do projeto não foi otimizar variáveis, mas sim conhecer, dentro dos intervalos estudados, o efeito do processo e das variáveis independentes: % do óleo em relação aos sólidos totais (10 a 25%, m/m) e pressão de homogeneização das emulsões (0 a 100 MPa) (Tabelas 4.1 e 4.2). As respostas avaliadas para emulsão foram estabilidade, retenção de óleo, diâmetro médio das gotas (D_{32}) e viscosidade. Já para as micropartículas, avaliou-se a retenção de óleo e a perda por dessecação, além de diâmetro médio e morfologia, sendo que estas duas últimas análises foram realizadas apenas nos pontos centrais e axiais.

Tabela 4.1 Níveis das variáveis independentes que foram utilizados no planejamento experimental.

Variáveis	Código	- 1,41	- 1	0	+ 1	+ 1,41
Óleo/Sólidos (%)	x_1	10	12	17,5	23	25
Pressão de homogeneização (MPa)	x_2	0	15	50	85	100

Tabela 4.2. Variáveis analisadas e níveis de cada variável estudada.

Ensaio	Óleo/Sólidos (%)	Pressão de Homogeneização (MPa)
1	12 (-1)	15 (-1)
2	23 (1)	15 (-1)
3	12 (-1)	85 (1)
4	23 (1)	85 (1)
5	10 (-1,41)	50 (0)
6	25 (+1,41)	50 (0)
7	17,5 (0)	0 (-1,41)
8	17,5 (0)	100 (+1,41)
9	17,5 (0)	50 (0)
10	17,5 (0)	50 (0)
11	17,5 (0)	50 (0)

4.2.1.1. Formação das emulsões

A concentração de sólidos totais (material de parede + óleo essencial de manjeriço) nas emulsões foi fixada em 30% (PARAMITA et al., 2010; MORTENSON e REINECCIUS., 2008; BARANAUSKIENÉ et al., 2007; ADAMIEC

e KALEMBA, 2006; SOOTTITANTAWAT et al., 2005b). O material de parede foi adicionado em água destilada a 40 °C e a mistura foi mantida sob agitação, até sua completa dissolução. A fim de aumentar a hidratação do material de parede, as diferentes soluções foram mantidas a 5 °C até o dia seguinte, quando óleo foi adicionado (as soluções foram deixadas aproximadamente 20 min à temperatura ambiente para climatização antes da adição do óleo). Para a formação das emulsões, o processo de homogeneização foi dividido em duas etapas: criação de uma emulsão a partir de dois líquidos não miscíveis, chamada de homogeneização primária, e a redução do tamanho das gotas em uma emulsão já existente, chamada de homogeneização secundária. As emulsões primárias foram formadas misturando-se a solução contendo o material de parede e o óleo essencial de manjerição, utilizando um homogeneizador Ultra-Turrax DI 18 basic (Ika, Wilmington, EUA) operando a 14.000 rpm, durante 5 minutos. Em seguida, a emulsão secundária foi formada utilizando um homogeneizador a alta pressão Panda 2K NS1001L (Niro Soavi, Parma, Itália) de dois estágios. A pressão no primeiro estágio variou de 10 a 95 MPa e no segundo estágio, ficou fixa em 5 MPa, ou seja, a pressão aplicada a emulsão variou de 15 a 100 MPa, de acordo com o planejamento experimental (Tabela 4.2). No ensaio 7, para o qual o pressão de homogeneização deveria ser de 0 MPa, não se utilizou o homogeneizador a alta pressão, sendo então formada apenas a emulsão primária.

4.2.1.2. Caracterização das emulsões

Avaliação da estabilidade

Imediatamente após o preparo das emulsões, alíquotas de 10 mL de cada amostra foram transferidas para provetas graduadas de 25 mL (diâmetro de 15,5 mm e altura de 16,5 mm), que foram seladas e deixadas sobre a bancada à temperatura ambiente por 24 h. A avaliação da estabilidade foi feita observando-se a ocorrência ou não da separação de fase das emulsões, 4 h e 24 h após o processo de emulsificação (FRASCARELI et al., 2012).

Diâmetro médio das gotas

A microestrutura das emulsões foi avaliada através de microscopia ótica, após o processo de homogeneização. Para isso, alíquotas das amostras foram colocadas em lâminas, cobertas com lamínulas e observadas em um microscópio ótico Jenaval (Carl Zeiss, Oberkochen, Alemanha). A captação de imagens foi feita por uma câmera digital, controlada pelo programa EDN-2 Microscopy Image Processing System, utilizando-se uma objetiva de 100 x com optovar (lente auxiliar) de 1,25 x. Após a captura das imagens, o diâmetro de 500 gotas de cada amostra foi medido utilizando-se o *software* Image J 1.36b (<http://rsb.info.nih.gov/ij/>). Considerando as gotas da emulsão perfeitamente esféricas, o diâmetro médio superficial das gotas (Diâmetro médio de Sauter - D_{32}) foi calculado utilizando-se a equação 4.2, onde z_i é o número de gotas com diâmetro d_i .

$$D_{32} = \frac{\sum_{i=1}^n z_i d_i^3}{\sum_{i=1}^n z_i d_i^2} \quad (4.2)$$

Comportamento reológico

Os ensaios foram realizados em um reômetro de tensão controlada (Physica MCR301, Anton Paar, Graz, Áustria), em duplicata, utilizando-se a geometria de placas paralelas de 75 mm de diâmetro, temperatura controlada de 25 °C e “gap” de 0,2 mm. As emulsões foram avaliadas logo após o seu preparo. A medida da viscosidade foi realizada através da determinação das curvas de escoamento. Visando eliminar possíveis efeitos de tixotropia, três curvas foram obtidas por amostra, sendo a primeira a uma taxa de deformação crescente de 0 a 300 s⁻¹ (subida 1), a segunda com taxa de deformação decrescente de 300 a 0 s⁻¹ (descida) e a terceira, a uma taxa de deformação crescente de 0 a 300 s⁻¹.

(subida 2). As curvas de escoamento avaliadas foram as correspondentes à subida 2. Os reogramas obtidos foram ajustados de acordo com o modelo para fluido Newtoniano (equação 4.3). A viscosidade (μ) das emulsões foi calculada a partir da relação entre tensão (σ) e taxa de deformação (γ) obtidas:

$$\sigma = \mu \cdot \gamma \quad (4.3)$$

onde a viscosidade é dada em Pa.s; a tensão em Pa e taxa de deformação em 1 s^{-1} .

Retenção de óleo na emulsão

A retenção de óleo na emulsão foi determinada pelo método descrito por Anandaraman e Reineccius (1987), modificado. Utilizou-se o aparato mostrado na Figura 4.2, composto de banho de refrigeração, manta aquecedora, Clevenger e condensador. Em um balão volumétrico de 500 mL, de fundo redondo, 7 g da emulsão foram dissolvidas em 150 mL de água destilada. A destilação foi realizada em um Clevenger, acoplado a um condensador, por 40 minutos. Foram adicionados 0,5 mL de óleo de silicone, para evitar a formação de espuma. A retenção de óleo foi determinada pela equação 4.4.

$$\text{Retenção de óleo (\%)} = \frac{(\text{Óleo}_{\text{destilado}} \cdot \rho)}{\text{Óleo}_{\text{inicial}}} \times 100 \quad (4.4)$$

O óleo destilado ($\text{Óleo}_{\text{destilado}}$) foi obtido por leitura direta na região graduada do Clevenger (mL) e multiplicado pela densidade (ρ) do óleo essencial de manjeriço ($0,898 \text{ g cm}^{-3}$). A quantidade de óleo inicial ($\text{Óleo}_{\text{inicial}}$) foi medida em gramas (g).



Figura 4.2. Aparato utilizado para avaliação de retenção de óleo

4.2.1.3. Secagem em spray-dryer

A secagem por atomização foi realizada em um secador laboratorial (MSD 1,0 – Labmaq, Ribeirão Preto, Brasil) com bico atomizador do tipo duplo fluido, com orifício de 1,2 mm de diâmetro (Figura 4.3). A alimentação foi realizada através de uma bomba peristáltica. A vazão do ar de secagem foi de $36 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$, a pressão do ar comprimido de 0,4 MPa e a vazão do ar comprimido de $2,4 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$.

Ensaio preliminares foram realizados visando a determinação da temperatura do ar de secagem ($170 \text{ }^\circ\text{C}$) e a vazão de alimentação ($7 \times 10^{-4} \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$). O pó produzido foi coletado em um ciclone de aço inoxidável, com 80 mm de diâmetro e um diâmetro de corte (D_c) de $4,48 \text{ }\mu\text{m}$. O diâmetro de corte é definido como sendo o tamanho da partícula para a qual o ciclone possui um rendimento de 50%, ou seja, partículas com diâmetro maiores que o diâmetro de corte, são

coletadas com eficiência superior a 50%. O D_c foi estimado pela equação 4.5, que representa uma relação semi-empírica para ciclones modelo Lapple, proposta por Lapple (1951).

$$D_c = \frac{9\mu_{ar}w}{2\pi N_e V_i (\rho_p - \rho_g)} \quad (4.5)$$

As variáveis da equação são: μ_{ar} , viscosidade do ar ($\text{kg m}^{-1} \text{s}^{-1}$); w , largura de entrada do ciclone (0,024 m), N_e , número de voltas no ciclone, que para ciclones do modelo Lapple são 6; V_i , velocidade de entrada do ar no ciclone (m s^{-1}); ρ_p , densidade das partículas (kg m^{-3}) e ρ_g , densidade do ar (kg m^{-3}).



Figura 4.3. *Spray-dryer* utilizado neste trabalho

4.2.1.4. Caracterização das micropartículas

Retenção de óleo nas micropartículas

A quantidade de óleo nas micropartículas foi determinada pelo método descrito por Anandaraman e Reneiccius (1987), modificado. Em um balão volumétrico de 500 mL de fundo redondo, cinco gramas de micropartículas foram dissolvidas em 150 mL de água destilada. A destilação foi realizada em um Clevenger, acoplado a condensador, por 40 minutos. Foram adicionados 0,5 mL de um agente antiespumante Samy (Cajamar, Brasil). A retenção de óleo foi determinada pela equação 4.4. O óleo destilado foi obtido por leitura direta na região graduada do Clevenger e multiplicado pela densidade do óleo essencial de manjeriço ($0,898 \text{ g cm}^{-3}$).

Perda por dessecação

A perda por dessecação (umidade) das micropartículas foi determinada gravimetricamente, de acordo com metodologia proposta pela A.O.A.C. (2006), modificada. Aproximadamente 2 gramas de pó foram pesados em pesafiltro e colocados em estufa à $105 \text{ }^\circ\text{C}$ por 3 horas. As amostras foram analisadas em triplicata (ADAMIEC e KALEMBRA, 2006).

Diâmetro médio das micropartículas

O diâmetro médio das micropartículas foi determinado em um analisador de tamanho de partículas por difração a laser (Laser Scattering Spectrometer Mastersizer S, modelo MAM 5005 – Malvern Instruments Ltda., Reino Unido), disponível no Laboratório de Recursos Analíticos e de Calibração (Faculdade de Engenharia Química – UNICAMP). O diâmetro médio foi determinado baseando-se no diâmetro médio de uma esfera de mesmo volume (diâmetro de De

Brouckere D_{43} - equação 4.6). Para esta análise, uma pequena quantidade da amostra foi dispersa em álcool etílico (99,5 %) e submetida a 5 leituras.

$$D_{43} = \frac{\sum_{i=1}^n z_i d_i^4}{\sum_{i=1}^n z_i d_i^3} \quad (4.6)$$

Onde: z_i é o número de partículas de diâmetro d_i .

Morfologia

O estudo da morfologia das partículas foi realizado através da microscopia eletrônica de varredura (MEV), no Laboratório de Recursos Analíticos e de Calibração (Faculdade de Engenharia Química – UNICAMP). As amostras foram fixadas em porta espécimens metálicos (stubs), com uma fita adesiva de dupla face condutora convencional. Em seguida, foram metalizadas com uma liga de ouro/paládio, em um metalizador Sputter Coater Polaron SC7620 (Uckfield, U.K.), a uma taxa de recobrimento de 0,51 Å/s, por 180 segundos, com corrente de 3-5 mA, 1 Volt e 2×10^{-2} Pa. As amostras foram então observadas em um microscópio eletrônico de varredura com detector de energia dispersiva de raios X LEO440i (LEICA Electron Microscopy Ltd., Cambridge, U.K.), operando com 10 kV. A aquisição das imagens foi realizada pelo LEO *software*, versão 3.01.

4.2.2. **Etapa 2:** Caracterização das emulsões e micropartículas dos diferentes materiais de parede

Com base nos resultados obtidos no planejamento experimental, outra etapa de estudo foi iniciada. O objetivo desta etapa foi verificar o efeito da

utilização dos diferentes materiais de parede goma arábica, maltodextrina (MD) + isolado proteico de soja (IPS), maltodextrina + concentrado proteico de soro (CPS) nas propriedades das emulsões e das micropartículas produzidas.

Foram preparadas emulsões de goma arábica, MD:IPS (25:75, 50:50, 75:25, 0:100) e MD:CPS (25:75, 50:50, 75:25, 0:100) com 30% de sólidos totais e 10% de óleo em relação aos sólidos. Todos estes tratamentos foram estudados sem e com homogeneização a alta pressão (50 MPa). Estas condições foram definidas na etapa 1 deste trabalho.

4.2.2.1. Formação da emulsão

Um primeiro teste foi realizado a fim de verificar a capacidade de todos os materiais de parede, nas concentrações estabelecidas, de formar uma emulsão que pudesse ser homogeneizada e atomizada. Nas condições nas quais houve formação de emulsão fluida, as viscosidades foram avaliadas, já que não é possível secar no *spray-dryer* emulsões muito viscosas. Excepcionalmente para estes ensaios preliminares, o material de recheio utilizado foi óleo de soja. Considerando que o mesmo óleo foi utilizado para os testes de todos os materiais de parede, pode-se dizer que, com base nos objetivos desta etapa, a sua utilização (ao invés do óleo essencial de manjeriço) não influenciou no resultado final. As emulsões foram preparadas conforme descrito no item 4.2.1.1.

4.2.2.2. Caracterização das emulsões

Estabilidade

A estabilidade das emulsões foi avaliada conforme descrito no item 4.2.1.2.

Diâmetro médio e distribuição de tamanho da gotas

O diâmetro médio e a distribuição do tamanho das gotas das emulsões foram determinados em um analisador de tamanho de partículas por difração a laser (Laser Scattering Spectrometer Mastersizer, modelo 2000 S – Malvern Instruments Ltda., Reino Unido). Para esta análise, uma pequena quantidade de amostra (suficiente para manter o nível de obscuração do sistema entre 5 e 15) foi dispersa em água destilada e submetida a 3 leituras.

Comportamento reológico

O comportamento reológico das emulsões foi avaliado conforme descrito no item 4.2.1.2.

Microscopia

A microestrutura das emulsões foi observada em um microscópio óptico modelo Axio Scope.A1 (Carl Zeiss MicroImaging GmbH, Alemanha), utilizando uma lente objetiva com aumento de 100x para avaliação qualitativa. As imagens obtidas no microscópio foram analisadas utilizando o *software* AxioVision Rel. 4.8 (Carl Zeiss MicroImaging GmbH, Alemanha).

4.2.2.3. Secagem em spray-dryer

A secagem por atomização foi realizada conforme descrito no item 4.2.1.3. As emulsões produzidas foram atomizadas nas condições: temperatura do ar de secagem (170 °C) e a vazão de alimentação ($7 \times 10^{-4} \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$).

4.2.2.4. Caracterização das micropartículas

Perda por dessecação

A perda por dessecação (umidade) dos pós foi determinado conforme descrito no item 4.2.1.4.

Densidade aparente

A determinação da densidade aparente foi realizada de acordo com o método descrito por Beristain et al. (2001), com algumas modificações. Dois gramas de pó foram colocados em uma proveta graduada de 10 mL e foi feita a compactação dos pós, batendo-se a proveta por 2 minutos sobre a bancada, utilizando uma altura de queda de 10 cm. A densidade aparente foi calculada, a partir do volume de amostra obtido após a compactação e foi expressa em kg m^{-3} .

Higroscopicidade

A higroscopicidade foi determinada de acordo com a metodologia proposta por Cai e Corke (2000), com algumas modificações. Um grama de pó, em triplicata, foi acondicionado em um recipiente hermético contendo uma solução saturada de NaCl (umidade relativa de 75,3%). Após 7 dias, as amostras foram pesadas e a higroscopicidade expressa em g de água absorvida por 100 g de sólidos.

Diâmetro médio e distribuição de tamanho das micropartículas

O diâmetro médio das micropartículas foi determinado em um analisador de tamanho de partículas por difração a laser (Laser Scattering Spectrometer

Mastersizer, modelo 2000 S – Malvern Instruments Ltda., Reino Unido). O diâmetro médio foi determinado baseando-se no diâmetro médio de uma esfera de mesmo volume (diâmetro de De Brouckere D_{43}). Para esta análise, uma pequena quantidade da amostra foi dispersa em álcool etílico (99,5%) e submetida a 3 leituras.

Retenção de óleo nas micropartículas

A quantidade de óleo total das microcápsulas foi determinada conforme descrito no item 4.2.1.4.

Teor de óleo superficial e eficiência de microencapsulação

A quantidade de óleo não encapsulado presente na superfície das microcápsulas foi determinada através do método descrito por Bhandari et al. (1999). Vinte mililitros de hexano foram adicionados a 1,5 g de pó em um frasco com tampa, que foi agitado manualmente, por dez minutos, à temperatura ambiente, para extração do óleo livre. A mistura foi passada através de um filtro de papel Whatman número 1 e o solvente + óleo não encapsulado foram coletados em vidrarias previamente taradas. A borra coletada no filtro foi “lavada” três vezes com 10 mL de hexano. Após a evaporação do excesso de solvente na capela de exaustão, as vidrarias contendo o óleo superficial foram colocadas na estufa a vácuo, a 40 °C por 5 minutos, e em seguida, pesadas. A quantidade de óleo não microencapsulado, ou óleo superficial, foi determinada pela massa de óleo presente na placa.

A eficiência de microencapsulação foi calculada considerando o teor de óleo superficial, o óleo retido nas partículas (volume de óleo destilado * densidade do óleo) e o teor de óleo inicial (equação 4.7),

$$\text{Eficiência de encapsulação (\%)} = \frac{(\text{Óleo}_{\text{destilado}} - \text{Óleo}_{\text{superficial}})}{\text{Óleo}_{\text{inicial}}} \times 100 \quad (4.7)$$

onde: Óleo_{destilado} é volume de óleo lido no Clevenger (mL) x densidade do óleo de manjeriço (g cm⁻³); Óleo_{superficial} é a quantidade de óleo extraído da superfície das partículas (g), Óleo_{inicial} é a quantidade de óleo inicialmente adicionado a emulsão (g).

Retenção de voláteis

A retenção de voláteis do óleo essencial de manjeriço foi avaliada com base nos três compostos presentes em maior concentração no óleo: linalol, eucaliptol e cânfora. O óleo essencial de manjeriço *in natura* bem como o óleo obtido na avaliação de retenção de óleo nas micropartículas foram analisados a fim de se avaliar a retenção de voláteis, realizada de acordo com método Kovatz (ADAMS, 1995). Os óleos foram avaliados em um cromatógrafo gasoso (Shimadzu, CG 17A, Kyoto, Japão) com detector por ionização de chamas (CG-FID), equipado com coluna capilar de sílica DB-5 (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm; J&W Scientific, Folsom, EUA). O gás de arraste utilizado foi hélio (2,6 mL min⁻¹; 99,99%, White Martins, Brasil), split 1:10 mL min⁻¹, injeção de 1 µL da amostra diluída em acetato de etila (99,9% pureza, J.T.Baker). A temperatura do injetor e do detector foram 220 °C e 240 °C, respectivamente. A coluna foi aquecida de 60 °C - 180 °C a uma taxa de 3 °C min⁻¹ e de 180 °C a 300 °C, a 10 °C min⁻¹. Estas análises foram realizadas em duplicata.

Os compostos puros linalol (95-97% de pureza, d = 0,87 g cm⁻³, SigmaAldrich), eucaliptol (99,7% de pureza, d = 0,924 g ml⁻¹, SigmaAldrich) e cânfora (97% pureza, SigmaAldrich) também foram injetados no CG-FID em diversas diluições. A identificação destes compostos no cromatograma do óleo foi

feita através da comparação dos tempos de retenção e a quantificação foi realizada com base na curva de calibração, construída para cada composto puro.

4.2.3. Etapa 3: Estabilidade das micropartículas contendo óleo essencial de manjerição ao armazenamento, em diferentes temperaturas e umidades relativas

Nesta etapa foi realizado o estudo de estabilidade das micropartículas contendo óleo essencial de manjerição em três diferentes condições de armazenamento: potes herméticos à 25 °C, potes herméticos à 50 °C e potes abertos em ambiente à 50% de umidade relativa e 25 °C. Incubadoras tipo BOD, com controle de temperatura e umidade relativa, foram utilizadas para o acondicionamento das amostras durante os 60 dias de armazenamento. Pequenos potes foram utilizados para o armazenamento das micropartículas, sendo estes retirados das BOD's para análise nos dias 1, 10, 20, 30, 40, 50 e 60. As micropartículas foram produzidas com 30% de sólidos, 10% de óleo/sólidos e com os materiais de parede goma arábica, MD:IPS (75:25) e MD:CPS (75:25), não homogeneizados e homogeneizados a alta pressão (50 MPa). Novas partículas foram produzidas para estas condições de estudo selecionadas.

4.2.3.1. Secagem em spray-dryer

A secagem por atomização foi realizada conforme descrito no item 4.2.1.3. As emulsões produzidas foram atomizadas nas condições: temperatura do ar de secagem (170 °C) e a vazão de alimentação ($7 \times 10^{-4} \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$).

4.2.3.2. Caracterização das micropartículas

Diâmetro médio e distribuição de tamanho das micropartículas

O diâmetro médio das micropartículas foi determinado conforme descrito no item 4.2.1.4.

Cor

Considerando a composição dos materiais de parede e também as condições de armazenamento dos pós, existia a possibilidade de ocorrência de escurecimento não enzimático em razão da reação de Maillard. Sendo assim, a cor das amostras foi determinada em espectrofotômetro de bancada ScanVis, marca Hunter Lab (Riston, Virginia, EUA). As coordenadas da escala CIELab (L^* , a^* , b^*) foram medidas utilizando-se como sistema referência o módulo de Reflectância Especular Excluída (RSEX), com o iluminante D65 e um ângulo de observação de 10° . As medições de coloração foram realizadas em termos das coordenadas L^* (luminosidade: $L^* = 0$ preto e $L^* = 100$ branco), a^* ($+a^*$ =vermelho e $-a^* =$ verde) e b^* ($+b^*$ =amarelo e $-b^*$ =azul). Com o objetivo de verificar a interação entre as coordenadas a^* e b^* , a coordenada cilindra croma (C^*) foi calculada a partir da equação 4.8. Para leitura, as amostras foram colocadas em cubeta de quartzo. O resultado de cada amostra foi gerado pela média de 6 leituras, resultantes da triplicata, com leitura nos dois lados da cubeta.

$$C^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad (4.8)$$

Retenção de óleo nas micropartículas

A quantidade de óleo nas micropartículas foi determinada pelo método descrito por Anandaraman e Reneiccius (1987), modificado. Três gramas de micropartículas foram dissolvidas em 150 mL de água destilada, em um balão volumétrico de 500 mL de fundo redondo. A destilação foi realizada em um Clevenger, acoplado a condensador, por 40 minutos. Foram adicionados 0,5mL do agente antiespumante Samy (Cajamar, Brasil). A retenção de óleo foi determinada pela equação 4.4. O óleo destilado foi obtido por leitura direta na região graduada do Clevenger e multiplicado pela densidade do óleo essencial de manjeriço ($0,898 \text{ g cm}^{-3}$).

Teor de óleo superficial e eficiência de microencapsulação

A quantidade de óleo não encapsulado presente na superfície das microcápsulas e a eficiência de microencapsulação foram determinadas conforme descrito no item 4.2.2.4.

Retenção de voláteis

A retenção de voláteis foi determinada conforme descrito no item 4.2.2.4.

De forma a comparar a retenção de voláteis de óleo não encapsulado com o óleo encapsulado, 3 ml de óleo foram colocados em pequenos potes, e armazenados nas mesmas condições das micropartículas, também por 60 dias.

Morfologia

A morfologia das micropartículas foi observada conforme descrito no item 4.2.1.4.

4.2.4. Análise Estatística

Para avaliação dos dados obtidos no planejamento experimental (primeira etapa), o *software* Statistica 5.5 (Statsoft, Tulsa, EUA) foi utilizado. Após a obtenção e avaliação dos coeficientes dos modelos obtidos, foi realizada uma análise de variância (ANOVA), que consiste na avaliação do coeficientes de determinação (R^2) e do teste F, verificando se o modelo apresenta um ajuste adequado aos dados experimentais.

Os demais resultados obtidos foram avaliados estatisticamente por análise de variância (ANOVA), aplicando o teste de Tukey, ao nível de 5% de significância, com o auxílio do *software* Statistica 5.5 (Statsoft, Tulsa, EUA).

5. Resultados e Discussão

5.1. Planejamento Experimental

Um delineamento composto central rotacional (DCCR), de 11 ensaios, foi utilizado para avaliar o efeito da porcentagem de óleo em relação aos sólidos totais e da pressão de homogeneização sobre a estabilidade, diâmetro médio das gotas, viscosidade e retenção de óleo na emulsão e retenção de óleo e perda por dessecação das micropartículas (Tabela 5.1), quando se utilizou apenas a goma arábica como agente encapsulante.

Através do DCCR, foi observada a influência das variáveis independentes pela avaliação dos efeitos, do erro padrão e da significância estatística (p-valor). Os valores dos efeitos estimados indicam quanto cada fator influencia na resposta estudada, sendo que quanto maior seu valor, maior é a sua influência. O sinal do efeito indica se o aumento da variável independente favorece ou não o aumento da variável dependente. O “p-valor” está relacionado ao nível de significância da variável independente sobre a variável dependente (resposta). Neste estudo, foi escolhido como intervalo de confiança, o valor de 95%, ou seja, um “p-valor” inferior a 0,05 significa que a variável é estatisticamente significativa. Após a eliminação dos fatores não-significativos, verificou-se a significância da regressão e da falta de ajuste a um nível de confiança de 95%, através de uma Análise de Variância (ANOVA), utilizando o teste F para o planejamento estudado.

Para que o modelo obtido seja considerado preditivo, além de um R^2 elevado, o $F_{\text{calculado}}$ da regressão em relação aos resíduos deve ser maior que o F_{tabelado} , indicando que a variação é explicada pela regressão e não pelos resíduos. Além disso, o $F_{\text{calculado}}$ da falta de ajuste deve ser menor que o F_{tabelado} , já que um $F_{\text{calculado}}$ elevado indica uma falta de ajuste dos dados obtidos. Entretanto, o $F_{\text{calculado}}$ da falta de ajuste pode ser maior que o F_{tabelado} , quando o erro puro, que

Tabela 5.1. Valores das respostas óleo na emulsão, tamanho de gota, viscosidade, óleo na partícula e perda por dessecação obtidas em cada ensaio do planejamento experimental.

Ensaio	Variáveis Independentes		Variáveis Dependentes				
	Óleo/sólidos (%)	Pressão de Homogeneização (MPa)	Emulsão			Micropartículas	
			Retenção de óleo (%)	Diâmetro médio (μm)	Viscosidade ($\times 10^2 \text{ Pa}\cdot\text{s}$)	Retenção de óleo (%)	Perda por dessecação b.u. (%)
1	12 (-1)	15 (-1)	98,81 \pm 1,6	1,56 \pm 0,45	7,37 \pm 0,09	76,31 \pm 4,2	0,34 \pm 0,04
2	23 (1)	15 (-1)	92,21 \pm 0,4	1,56 \pm 0,53	7,12 \pm 0,28	65,00 \pm 2,4	1,26 \pm 0,04
3	12 (-1)	85 (1)	97,70 \pm 9,7	1,12 \pm 0,28	9,18 \pm 0,64	89,01 \pm 0,1	0,79 \pm 0,09
4	23 (1)	85 (1)	99,80 \pm 1,8	1,36 \pm 0,36	6,60 \pm 0,09	62,34 \pm 6,2	1,32 \pm 0,03
5	10 (-1,41)	50 (0)	99,75 \pm 1,7	1,04 \pm 0,35	8,69 \pm 0,47	91,36 \pm 0,4	1,99 \pm 0,15
6	25 (+1,41)	50 (0)	99,61 \pm 1,4	1,16 \pm 0,34	7,18 \pm 0,02	58,25 \pm 0,8	1,44 \pm 0,13
7	17,5 (0)	0 (-1,41)	96,57 \pm 0,1	2,47 \pm 0,67	11,36 \pm 0,36	56,90 \pm 7,9	0,86 \pm 0,08
8	17,5 (0)	100 (+1,41)	95,27 \pm 1,1	1,07 \pm 0,25	6,18 \pm 0,21	79,43 \pm 3,0	1,03 \pm 0,06
9	17,5 (0)	50 (0)	96,02 \pm 0,6	1,02 \pm 0,31	7,45 \pm 0,26	73,33 \pm 0,2	2,03 \pm 0,06
10	17,5 (0)	50 (0)	96,36 \pm 0,8	1,08 \pm 0,27	8,15 \pm 0,02	81,44 \pm 3,0	1,34 \pm 0,10
11	17,5 (0)	50 (0)	96,46 \pm 0,3	1,20 \pm 0,35	7,31 \pm 0,04	75,95 \pm 3,0	0,98 \pm 0,06

*b.u.: Base úmida

é obtido a partir dos pontos centrais, é muito inferior à falta de ajuste, indicando uma alta repetibilidade dos dados. Neste caso, deve-se calcular e avaliar o desvio relativo entre os dados experimentais e os dados preditos pelo modelo.

A seguir, estão a análise e discussão dos resultados apresentados na Tabela 5.1.

5.1.1 Emulsão

Avaliação da estabilidade

A estabilidade das emulsões foi avaliada 4 h e 24 h após a emulsificação. Todas as emulsões registraram boa estabilidade, ou seja, não apresentaram separação de fase nos tempos avaliados. Para a microencapsulação de óleos é necessário que a emulsão formada seja estável durante todo o processo. A falta de estabilidade leva a uma separação de fase da emulsão, o que ocasiona a não encapsulação do óleo, na secagem por atomização. Neste trabalho, o tempo gasto entre o preparo da emulsão e o fim da atomização levou em torno de 2 horas. Portanto, todas as emulsões atenderam ao requisito de estabilidade.

Retenção de óleo na emulsão

Os resultados para retenção de óleo na emulsão, bem como os valores da análise estatística destes dados experimentais estão apresentados nas Tabelas 5.1 e 5.2, respectivamente. Verifica-se que o único parâmetro que afeta significativamente a retenção de óleo na emulsão, ao nível de 95% de confiança, é a interação % óleo × pressão de homogeneização. Embora o termo quadrático da % óleo em relação aos sólidos não tenha sido significativo a 95% de confiança, ele é estatisticamente significativo em um limite de confiança de 93,51%. Considerando os possíveis erros inerentes à análise, este limite foi considerado confiável e essa variável não foi descartada da análise estatística.

Tabela 5.2. Efeito estimado, erro, valor de t e grau de significância estatística (p), para cada fator no modelo codificado para retenção de óleo na emulsão.

Fatores	Efeito Estimado	Erro Padrão	t (5)	p-valor
Média	96,3	0,89	107,88	1,3E-09
% Óleo (L)	-1,2	1,09	-1,07	0,332035
% Óleo (Q)	3,8	1,30	2,36	0,064976
Pressão (L)	1,7	1,09	1,06	0,336653
Pressão (Q)	-0,8	1,31	-0,54	0,610888
%Óleo x Pressão	4,3	1,55	2,81	0,037536

Em negrito: fatores significativos a $p \leq 0,05$.

Após eliminar os fatores não significativos, foi realizada a análise de variância (ANOVA) utilizando o teste F, a fim de verificar a significância da regressão e da falta de ajuste (Tabela 5.3).

Fazendo avaliação da ANOVA, verifica-se a existência de fatores que impedem a obtenção de um modelo preditivo e conseqüentemente das superfícies de resposta, como $R^2 = 0,6616$. Assim, o modelo matemático obtido não pode ser considerado preditivo já que explica apenas 66,16% da variação dos dados observados. Analisando os dados obtidos para esta resposta, é possível notar variações muito pequenas entre eles, já que são valores muito próximos uns dos outros. Quando isto acontece é difícil a obtenção de um modelo matemático que descreva com precisão a variação dos resultados.

Tabela 5.3. Análise de variância do modelo ajustado para retenção de óleo na emulsão.

Fatores	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Média quadrática	F _{calculado}	F _{tabelado*}
Regressão	35,40	2	17,70	7,82	4,46
Resíduo:	18,10	8	2,26		
Falta de ajuste	17,99574	6	3,00	55,37	19,33
Erro puro	0,108328	2	0,05		
Total	53,49933	10			
R²	0,6616				

* p ≤ 0,05.

Embora o $F_{\text{calculado}}$ seja maior que F_{tabelado} , para os resíduos não se pode dizer que exista uma falta de ajuste do modelo analisando apenas este fator, já que os desvios relativos entre os dados preditos e os dados reais são muito baixos (Tabela 5.4). A explicação para o $F_{\text{calculado}}$ maior que F_{tabelado} é a soma quadrática do erro puro, que é muito baixa. Este parâmetro é obtido apenas a partir da variação entre os resultados dos pontos centrais e, embora o valor baixo do erro puro indique uma boa repetitividade das análises e dos processos, quando ele é muito baixo em relação ao valor da falta de ajuste obtêm-se um valor muito alto de $F_{\text{calculado}}$, indicando uma “falsa” falta de ajuste do modelo.

Quando se trabalha com óleos não voláteis considera-se que a quantidade de óleo inicialmente adicionado à emulsão é a mesma presente nas partículas após o processo de atomização. No entanto, quando se trabalha com óleos voláteis, é importante verificar a quantidade de óleo presente em cada etapa do processo, já que a perda deste material por volatilização é comum. O que se verifica no presente trabalho é que a ocorrência de perda de óleo essencial de manjeriço na etapa de produção da emulsão e, portanto, a necessidade de aumento nos cuidados na manipulação da amostra. Esta perda pode ser em razão dos processos de formação da emulsão (ultra turrax e homogeneização a alta

pressão), como pode ser em razão da perda de compostos em razão da pressão de vapor do ambiente.

Tabela 5.4. Desvio relativo entre os dados reais e os preditos pelo modelo para a resposta retenção de óleo na emulsão.

Óleo/sólidos (%)	Pressão de Homogeneização (MPa)	Óleo emulsão (real)	Óleo emulsão (predito pelo modelo)	Desvio	Desvio Relativo (%)
-1	-1	98,81	99,76	-0,96	-0,97
1	-1	92,21	95,42	-3,21	-3,48
-1	1	97,70	95,42	2,28	2,33
1	1	99,80	99,76	0,03	0,03
-1,41	0	99,75	99,22	0,54	0,54
1,41	0	99,61	99,22	0,40	0,40
0	-1,41	96,57	95,95	0,62	0,64
0	1,41	95,27	95,95	-0,68	-0,72
0	0	96,02	95,95	0,07	0,07
0	0	96,36	95,95	0,41	0,43
0	0	96,46	95,95	0,51	0,53

Diâmetro médio das gotas

Os efeitos dos fatores lineares, quadráticos e a interação destes na resposta diâmetro médio das gotas podem ser observados na Tabela 5.5.

Pelos dados obtidos, verifica-se que a variável pressão (P) afeta significativamente, ao nível de 95% de confiança, a resposta diâmetro médio das gotas. O fator linear da pressão tem efeito negativo na resposta, ou seja, um aumento na pressão reduz o tamanho das gotas. O fator quadrático é indicativo da presença de uma concavidade na superfície de resposta resultante destes dados

e, o valor positivo indica que é uma concavidade voltada para cima, ou seja, o gráfico possui um ponto de mínimo.

Tabela 5.5. Efeito estimado, erro, valor de t e grau de significância estatística (p), para cada fator no modelo codificado para diâmetro médio das gotas.

Fatores	Efeito Estimado	Erro Padrão	t (5)	p-valor
Média	1,096814	0,128146	8,559110053	0,0003586
% Óleo (L)	0,102605	0,157182	0,652781198	0,5427161
% Óleo (Q)	-0,01542	0,187559	-0,08219858	0,9376779
Pressão (L)	-0,65545	0,157182	-4,17001479	0,0087389
Pressão (Q)	0,658593	0,187559	3,511399053	0,0170751
%Óleo x Pressão	0,12	0,221958	0,540643861	0,6119577

Em negrito: fatores significativos a $p \leq 0,05$.

Após a eliminação dos fatores não significativos, verificou-se a significância da regressão e da falta de ajuste, a um nível de confiança de 95%. Foi realizada uma Análise de Variância, utilizando-se o teste F, para o planejamento estudado (Tabela 5.6). O valor de R^2 obtido mostra que a regressão explica 84,43% das variações dos resultados, indicando que o modelo matemático obtido pelo programa estatístico (Eq. 5.1) é preditivo.

$$\text{Diâmetro médio das gotas} = 1,09 - 0,33P + 0,33 P^2 \quad (\text{Eq. 5.1})$$

onde P é a pressão de homogeneização codificada.

A Figura 5.1 apresenta a superfície de resposta e curva de contorno, ambas construídas a partir do modelo obtido. Verifica-se que o diâmetro médio das gotas não varia com a concentração inicial de óleo. É possível observar uma diminuição no diâmetro das gotas à medida que a pressão de homogeneização aumenta de 0 a 65 MPa. Isso ocorre provavelmente em função do aumento de energia aplicada

na emulsão, que resulta na quebra de suas gotas. Quando pressões entre 65 até 100 MPa são utilizadas, verifica-se um aumento no diâmetro médio das gotas.

Tabela 5.6. Análise de variância do modelo ajustado para diâmetro médio das gotas.

	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Média quadrática	F _{calculado}	F _{tabelado}
Regressão	1,53	2	0,76	21,69	4,46
Resíduo:	0,28	8	0,04		
Falta de ajuste	0,26	6	0,04	5,11	19,33
Erro puro	0,017	2	0,01		
Total	1,8116	10			
R ²	0,8443				

* $p \leq 0,05$.

Um comportamento similar relacionado a mudanças no diâmetro médio de partículas resultantes de variações na pressão de homogeneização foi observado por Huynh et al (2008), que estudaram a microencapsulação de óleo essencial de limão e Desrumaux e Marcand (2002), que estudaram o efeito da pressão na estabilidade de emulsões contendo óleo de girassol. Este fenômeno no qual o tamanho da gota aumenta com o aumento da pressão é chamado de “*over processing*” e pode ser atribuído ao aumento no movimento Browniano, e consequente coalescência das gotas, e também a uma redução na eficiência dos emulsificantes (JAFARI et al., 2008; HUYNH et al., 2008).

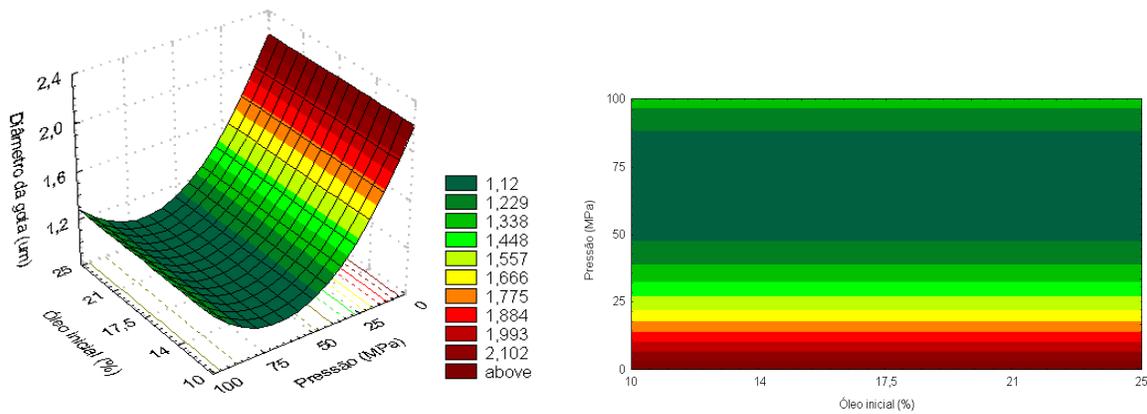


Figura 5.1. Superfície de resposta e curva de contorno para a resposta diâmetro médio das gotas.

A tendência esperada seria que o diâmetro das gotas diminuísse com o aumento da energia aplicada à emulsão pela alta pressão de homogeneização. Entretanto, gotas recém quebradas são termodinamicamente instáveis tanto devido aos movimentos Brownianos como também devido a alta turbulência à qual a emulsão é submetida dentro do equipamento. Ainda, parte da energia gerada no processo de homogeneização a alta pressão é liberada na forma de calor; quanto maior a pressão utilizada, maior é a incorporação de energia, na forma de calor, pelo sistema. Este aumento na energia resulta no aumento do movimento Browniano, aumentando assim a probabilidade de colisões e coalescência entre as gotas recém quebradas, formando então gotas de maior diâmetro (DESRUMAUX e MARCAND, 2002). Outra explicação para o aumento no diâmetro das gotas pode ser o aumento de área interfacial destas (com a quebra das gotas, ocorre um aumento no número de gotas e, portanto, aumenta a área interfacial). A ação emulsificante dos materiais de parede pode não ser suficiente para cobrir toda a área interfacial, deixando então partes hidrofóbicas expostas, o que pode resultar em coalescência das gotas, formando gotas de maiores diâmetros. Este fenômeno é também chamado de limite de esgotamento (SCHULZ e DANIELS, 2000; HUYNH et al, 2008). Outra explicação é que o aumento na pressão de homogeneização aumenta o atrito entre a emulsão e as

paredes do homogeneizador. Parte desta energia gerada pelo atrito passa para a emulsão na forma de calor, aumentando então sua temperatura. Alguns tipos de emulsificantes podem perder sua função quando submetidos a temperaturas acima de uma temperatura crítica (no caso das proteínas, temperaturas acima da temperatura de desnaturação), resultando então na formação de emulsões com gotas de maior diâmetro (FLOURY et al., 2000). No caso da emulsão formada neste trabalho, o aumento do tamanho de gota é provavelmente resultante da instabilidade termodinâmica das gotas após a homogeneização a alta pressão, o que acarreta o aumento das colisões e, conseqüentemente, a coalescência das gotas.

Viscosidade

Os resultados da análise estatística aplicada aos dados experimentais de viscosidade estão apresentados na Tabela 5.7. Os valores dos efeitos dos fatores lineares, quadráticos e a interação destes na resposta viscosidade assim como o erro padrão, o coeficiente t e o p-valor podem ser observados.

Nenhum fator teve efeito significativo na resposta viscosidade ($p \geq 0,05$), o que significa que, dentro da faixa estudada, alterações na quantidade inicial de óleo e na pressão de homogeneização não afetam a viscosidade da emulsão. Uma explicação para isso pode ser a baixa viscosidade de emulsões elaboradas a partir de goma arábica.

Uma informação importante que se observa nos dados apresentados nesta tabela 5.7 é que para quase todos os fatores, o erro padrão é maior que o efeito estimado dos fatores na resposta que está sendo avaliada. Portanto, não se pode dizer se o efeito observado é efeito mesmo ou se é resultando do erro padrão.

Tabela 5.7. Efeito estimado, erro, valor de t e grau de significância estatística (p), para cada fator no modelo codificado para viscosidade da emulsão.

Fatores	Efeito Estimado	Erro Padrão	t (5)	p-valor
Média	0,076358	0,008559	8,92139	0,000295
% Óleo (L)	-0,01243	0,010498	-1,18427	0,289528
% Óleo (Q)	-0,00097	0,012527	-0,07777	0,941025
Pressão (L)	-0,01508	0,010498	-1,4361	0,210461
Pressão (Q)	0,007436	0,012527	0,593589	0,578619
%Óleo x Pressão	-0,01166	0,014825	-0,78653	0,46718

Em negrito: fatores significativos a $p \leq 0,05$.

Considerando-se que não foram verificados efeitos das variáveis estudadas, não é possível obter um modelo preditivo e superfície de resposta para viscosidade.

Mudanças físicas na emulsão podem acontecer como resultado da utilização de homogeneização à alta pressão. De acordo com Flourey et al. (2000), a passagem da emulsão em um homogeneizador a alta pressão reduz a viscosidade da emulsão até um valor limite. Isto significa que emulsões pouco viscosas, como é o caso das emulsões obtidas a partir de goma arábica, ao passar por um homogeneizador a alta pressão, sofrerão uma menor variação na sua viscosidade, quando comparada com as variações sofridas por emulsões mais viscosas.

5.1.2. Micropartículas

Retenção de óleo na partícula

Os valores dos efeitos dos fatores lineares, quadráticos e a interação destes na resposta retenção de óleo na partícula, assim como o erro padrão, o coeficiente t e o p-valor podem ser observados na Tabela 5.8.

Pelos dados obtidos, verifica-se que as variáveis lineares % óleo/sólidos (O) e pressão de homogeneização (P) afetam significativamente, ao nível de 95% de confiança, a resposta retenção de óleo na partícula. O fator linear da % óleo/sólidos tem efeito negativo na resposta, ou seja, um aumento na concentração inicial de óleo reduz a retenção de óleo na partícula, enquanto que o fator linear da pressão tem efeito positivo, com seu aumento resultando no aumento da retenção de óleo nas partículas.

Tabela 5.8. Efeito estimado, erro, valor de t e grau de significância estatística (p), para cada fator no modelo codificado para retenção de óleo na partícula.

Fatores	Efeito Estimado	Erro Padrão	t (4)	p-valor
Média	76,9034	2,7092	28,3857	0,0000
% Óleo (L)	-21,2286	3,3231	-6,3882	0,0014
% Óleo (Q)	-1,2536	3,9653	-0,3161	0,7647
Pressão (L)	10,4858	3,3231	3,1554	0,0252
Pressão (Q)	-7,9293	3,9653	-1,9997	0,1020
%Óleo x Pressão	-7,6801	4,6926	-1,6366	0,1626

Em negrito: fatores significativos a $p \leq 0,05$.

Após a eliminação dos fatores não significativos, verificou-se a significância da regressão e da falta de ajuste, a um nível de confiança de 95%. Foi realizada uma Análise de Variância, utilizando-se o teste F, para o planejamento estudado (Tabela 5.9). O valor de R^2 obtido mostra que a regressão explica 81,19% das variações dos resultados, indicando que o modelo matemático obtido (Eq. 5.2) é preditivo.

$$\text{Retenção de óleo nas partículas (\%)} = 73,57 - 10,61 O + 5,24 P \quad (\text{Eq. 5.2})$$

onde O é a % de óleo em relação aos sólidos totais codificado e P é a pressão de homogeneização codificada.

Tabela 5.9. Análise de variância do modelo ajustado para retenção de óleo na partícula.

Fatores	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Média quadrática	F _{calculado}	F _{tabelado}
Regressão	1097,74	2	548,87	16,97	4,46
Resíduo:	258,75	8	32,34		
Falta de ajuste	224,51	6	37,42	2,19	19,33
Erro puro	34,24	2	17,12		
Total	1356,49	10			
R ²	0,81203				

* p ≤ 0,05.

A superfície de resposta e curva de contorno, ambas construídas a partir do modelo obtido para retenção de óleo na partícula, estão apresentadas na Figura 5.2. É possível verificar que a retenção de óleo na partícula aumenta com o aumento da pressão de homogeneização e diminui com o aumento na concentração inicial de óleo. Uma alta concentração inicial de óleo resulta em uma menor retenção de óleo na partícula, já que maiores quantidades de material volátil podem ficar mais próximas à superfície das gotas, sendo mais fácil serem perdidas quando em contato com o ar de secagem. Além disso, como a concentração de óleo é calculada com base no teor de sólidos totais, o aumento na concentração inicial de óleo implica em uma redução na quantidade de material de parede, que pode não ser suficiente para cobrir todas as gotas da emulsão, favorecendo a perda de compostos voláteis. De forma semelhante, Bertolini et al. (2001) verificaram maior retenção de monoterpenos ao se utilizar 10% de material de recheio ao invés de 20 e 30%.

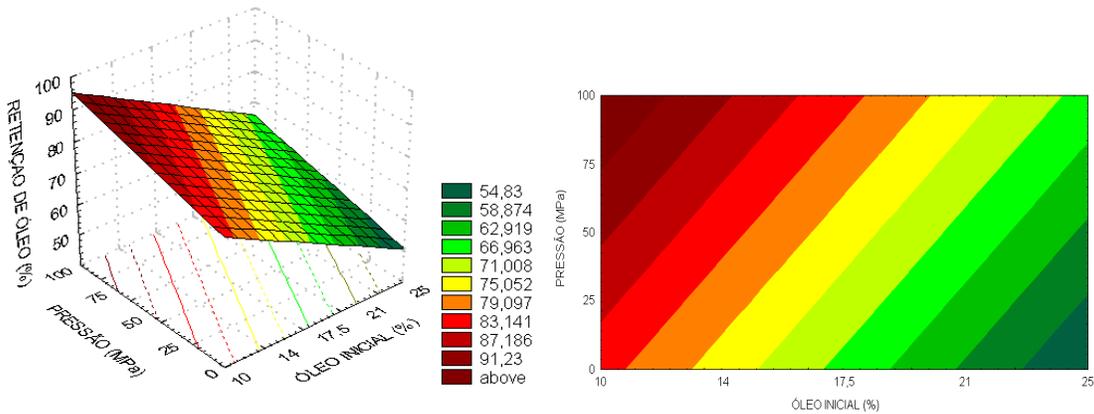


Figura 5.2. Superfície de resposta e curva de contorno para a resposta retenção de óleo na partícula.

O aumento na retenção de óleo na partícula resultante do aumento na pressão de homogeneização pode estar relacionado à redução no diâmetro das gotas da emulsão (Item 5.1.1). Resultados similares foram obtidos por Soottitantawat et al. (2005a), que estudaram a microencapsulação de d-limoneno por *spray-drying*. Os autores observaram que quando emulsões com gotas de menor tamanho foram utilizadas, uma maior retenção de óleo foi alcançada, quando comparado aos resultados obtidos utilizando-se emulsões com gotas de maior tamanho. A perda do material volátil durante a atomização parece ser mais fácil quando se utiliza emulsões com maiores tamanhos de gota (SOOTTITANTAWAT et al., 2003).

Perda por dessecação

Os valores dos efeitos dos fatores lineares, quadráticos e a interação destes na resposta perda por dessecação da partícula, assim como o erro padrão, o coeficiente t e o p-valor podem ser observados na Tabela 5.10.

Nenhum fator teve efeito significativo na resposta perda por dessecação ($p \geq 0,05$), o que significa que, dentro da faixa estudada, alterações na quantidade

inicial de óleo e na pressão de homogeneização não afetaram a perda por dessecação das micropartículas. Uma explicação para isso pode ser a baixa umidade das micropartículas elaboradas a partir de goma arábica e também pelas condições operacionais do *spray-dryer* (temperatura e vazão de alimentação) terem sido mantidas constantes.

Tabela 5.10. Efeito estimado, erro, valor de t e grau de significância estatística (p), para cada fator no modelo codificado para perda por dessecação.

Fatores	Efeito Estimado	Erro Padrão	t (5)	p-valor
Média	1,453296	0,318096	4,568735	0,006009
% Óleo (L)	0,167626	0,390172	0,429620	0,685357
% Óleo (Q)	0,058799	0,465577	0,126292	0,904422
Pressão (L)	0,189053	0,390172	0,484537	0,648485
Pressão (Q)	-0,713033	0,465577	-1,531505	0,186210
%Óleo x Pressão	-0,190976	0,550965	-0,346622	0,742986

Em negrito: fatores significativos a $p \leq 0,05$.

Assim como ocorreu na resposta viscosidade, para quase todos os fatores o erro padrão é maior que o efeito estimado dos fatores na resposta que está sendo avaliada, no caso, perda por dessecação. Portanto, não se pode dizer se o efeito observado é efeito mesmo ou se é resultado do erro padrão.

Considerando-se que não foram verificados efeitos das variáveis estudadas, dentro do intervalo analisado, não foi possível obter um modelo preditivo e superfície de resposta para a resposta perda por dessecação.

Normalmente, faz-se um planejamento experimental visando a otimização de variáveis. Para isso, é necessário validar os modelos obtidos, realizando novos experimentos nos pontos considerados ótimos. Como o objetivo da realização deste planejamento experimental não foi otimizar um processo e sim conhecer o comportamento do material de parede junto ao óleo essencial e dos limites das

variáveis estudadas para que outros estudos fossem realizados, a otimização das variáveis e a validação dos modelos obtidos não foram realizados.

Diâmetro médio das micropartículas

O diâmetro das partículas contendo óleo essencial de manjeriço encapsuladas com goma arábica foi expresso como diâmetro médio de Brouckere (D_{43}), que representa o diâmetro de uma esfera com volume equivalente. Os diâmetros obtidos para as partículas produzidas a partir de emulsões com diferente concentração inicial de óleo e homogeneizadas em diferentes pressões estão apresentados nas Tabelas 5.11 e 5.12, respectivamente. Os resultados apresentados são referentes aos pontos axiais e centrais do planejamento experimental realizado. Dados de diâmetro médio de gota, viscosidade e retenção de óleo na partícula, correspondentes ao teor de óleo/sólidos e pressão de homogeneização em questão, foram copiados da Tabela 5.1 e novamente apresentados na tabela 5.11 apenas para facilitar a visualização de tendências e das possíveis correlações com o diâmetro médio das partículas.

Mantendo-se a pressão de homogeneização constante em 50 MPa, verifica-se uma redução significativa no diâmetro médio das partículas, à medida que a porcentagem de óleo em relação aos sólidos totais aumenta (Tabela 5.11). De acordo com Finney et al. (2002), o tamanho de partícula é dependente das propriedades físicas da emulsão, temperatura de secagem e dos parâmetros operacionais escolhidos para atomização como tipo de atomizador, vazão, pressão.

No presente trabalho, as partículas com maior diâmetro médio apresentaram maior retenção de voláteis e foram produzidas a partir de emulsões com menor diâmetro de gota e maior viscosidade. Soottitantawat et al. (2005a) reportaram que partículas de maior tamanho resultam em maior estabilidade à oxidação e menor perda do *flavour* encapsulado durante o armazenamento,

apenas se a emulsão inicial tiver pequeno tamanho de gota. Segundo os autores, não é possível tirar conclusões a respeito da retenção de *flavour*, avaliando apenas o tamanho de partícula. De forma semelhante, Jafari et al. (2008) reportaram que a influência do tamanho de partícula na eficiência de encapsulação de *flavours* e óleos essenciais ainda não é clara.

Tabela 5.11. Efeito da porcentagem de óleo/sólidos no diâmetro médio das partículas.

Pressão de homogeneização constante (50 MPa)				
Teor de óleo/sólidos totais (%)	Diâmetro médio das partículas (μm)	Diâmetro médio de gota* (μm)	Viscosidade ($\times 10^2 \text{ Pa.s}$)*	Retenção de óleo (%)*
10	$15,56 \pm 0,3^a$	$1,04 \pm 0,4$	$8,69 \pm 0,5$	$91,36 \pm 0,4$
17,5	$14,34 \pm 0,1^b$	$1,02 \pm 0,3$	$7,45 \pm 0,3$	$73,33 \pm 0,2$
25	$12,89 \pm 0,2^c$	$1,16 \pm 0,3$	$7,18 \pm 0,1$	$58,25 \pm 0,8$

$p \leq 0,05$. *Dados apresentados na Tabela 5.1.

Ao se variar a pressão de homogeneização de 0 – 100 MPa, e manter a porcentagem de óleo em relação aos sólidos totais constante, verifica-se a formação de partículas com diâmetro médio muito próximos (Tabela 5.12). Soottitantawat et al. (2005a), estudando a encapsulação de óleo essencial de d-limoneno com goma arábica, também obtiveram partículas de diâmetro semelhantes, resultantes de emulsões que foram homogeneizadas a 0 e 83 MPa.

Ao contrário do que foi observado nos dados da Tabela 5.11, emulsões com menor diâmetro de gota geraram partículas com menor diâmetro, mas com maior retenção de óleo. Neste sentido, podemos concluir que o diâmetro médio da gota e não da partícula tem influência direta na retenção de óleo. Isso significa que as características das emulsões produzidas com a finalidade de encapsular materiais voláteis devem ser amplamente estudadas.

Tabela 5.12. Efeito da pressão de homogeneização das emulsões no tamanho de partículas.

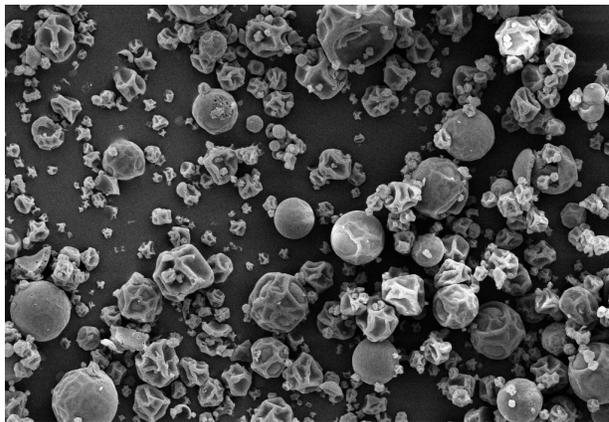
Relação óleo/sólidos constante (17,5%)				
Pressão de Homogeneização (MPa)	Diâmetro médio das partículas (μm)	Diâmetro médio de gota (μm)*	Viscosidade ($\times 10^2 \text{ Pa.s}$)*	Retenção de óleo (%)*
0	$14,92 \pm 0,3^a$	$2,47 \pm 0,7$	$11,36 \pm 0,4$	$56,90 \pm 7,8$
50	$14,34 \pm 0,1^b$	$1,02 \pm 0,3$	$7,45 \pm 0,3$	$73,33 \pm 0,2$
100	$14,37 \pm 0,3^b$	$1,07 \pm 0,3$	$6,18 \pm 0,2$	$79,43 \pm 3,0$

$p \leq 0,05$. *Dados apresentados na Tabela 5.1.

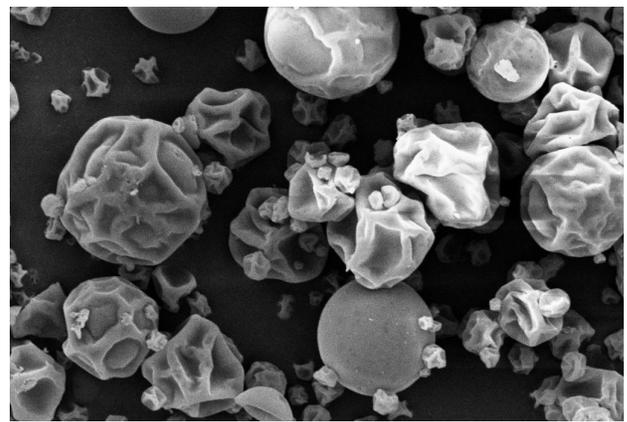
Morfologia

A morfologia das micropartículas foi avaliada por microscopia eletrônica de varredura (MEV). Esta técnica permite visualizar a estrutura externa (Figura 5.3) e interna (Figura 5.4) das micropartículas e avaliar a integridade e porosidade das mesmas.

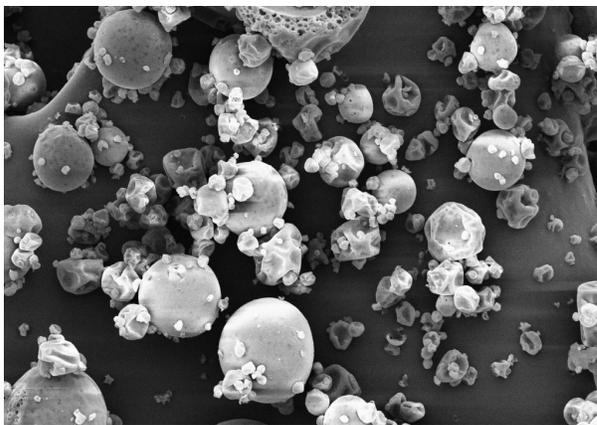
Pelas imagens da estrutura externa, pode-se dizer que as micropartículas apresentam formato esférico, característico de micropartículas produzidas por *spray-dryer*, e superfície rugosa, resultante do encolhimento das gotas durante as etapas iniciais da secagem (ROSENBERG et al., 1990). De acordo com Ré (1998), é desejável que partículas esféricas sejam formadas por apresentarem maior fluidez, menor razão superfície/volume, e por isso favorecer a retenção de aroma, e maior densidade aparente, consequência de um melhor “empacotamento” do material de recheio.



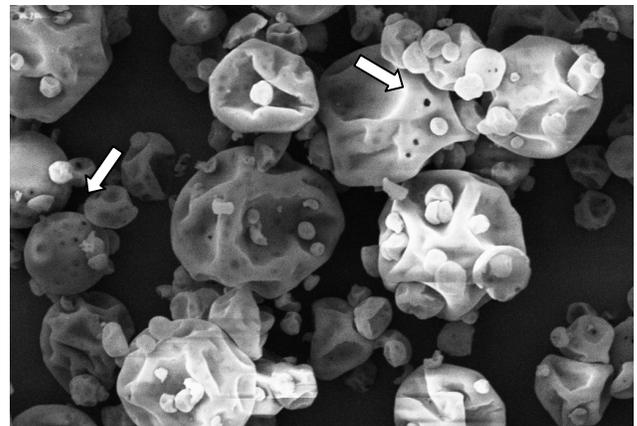
a) 10% óleo/sólidos, 50 MPa, aumento de 2000 vezes



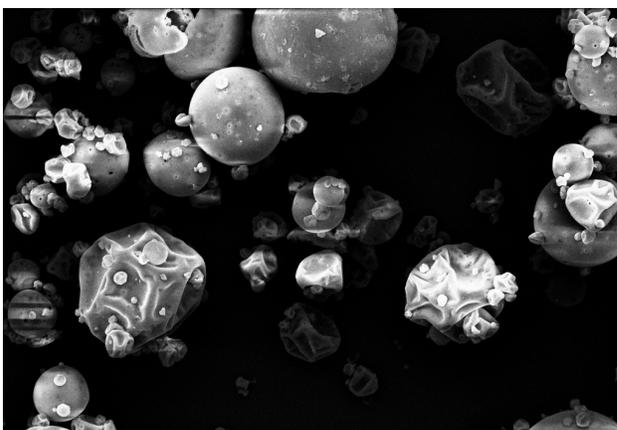
b) 10% óleo/sólidos, 50 MPa, aumento de 5000 vezes



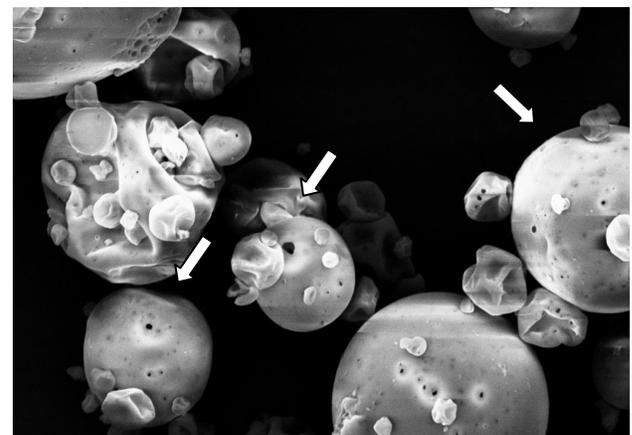
c) 25% óleo/sólidos, 50 MPa, aumento de 2000 vezes



d) 25% óleo/sólidos, 50 MPa, aumento de 5000 vezes

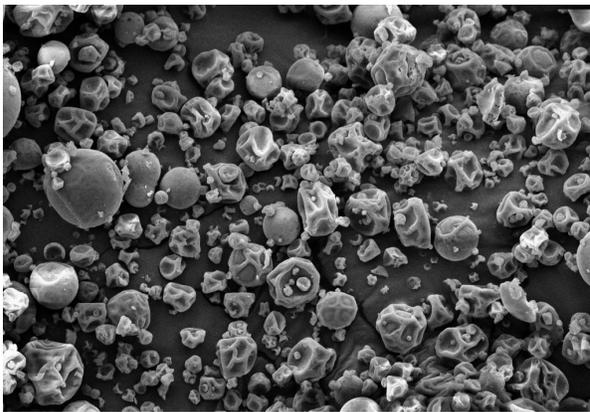


e) 17,5% óleo/sólidos, 0 MPa, aumento de 2000 vezes

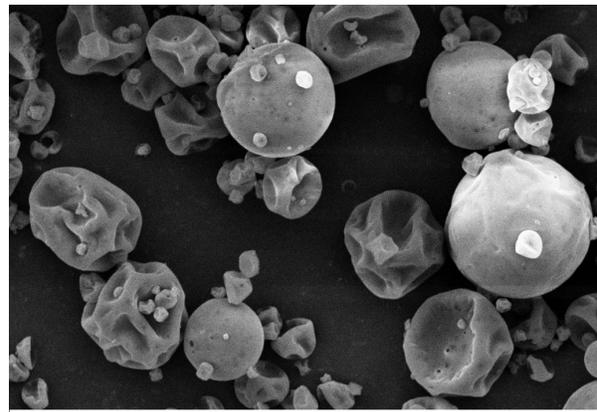


f) 17,5% óleo/sólidos, 0 MPa, aumento de 5000 vezes

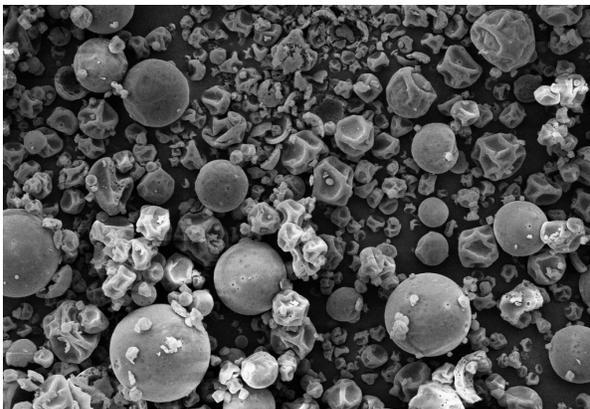
Figura 5.3. Morfologia das micropartículas de goma arábica contendo óleo essencial de manjeriço.



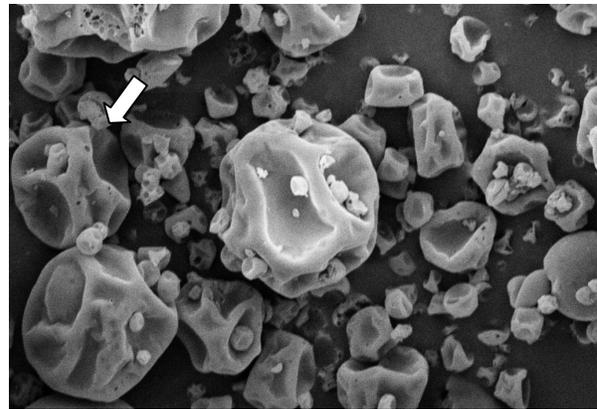
g) 17,5% óleo/sólidos, 100 MPa, aumento de 2000 vezes



h) 17,5 % óleo/sólidos, 100 MPa, aumento de 5000 vezes



i) 17,5 % óleo/sólidos, 50 MPa, aumento de 2000 vezes



j) 17,50% óleo/sólidos, 50 MPa, aumento de 5000 vezes

Figura 5.3 (cont). Morfologia das micropartículas de goma arábica contendo óleo essencial de manjeriço.

Além disso, de acordo com Rosenberg et al. (1985) a superfície rugosa tem efeito negativo nas propriedades de escoamento e, portanto, materiais de parede que reduzam ou eliminem esta característica devem ser preferidos. Micropartículas com morfologia semelhante à obtida no presente trabalho foram também obtidas por Soottitantawat et al. (2005 a e b) e Fernandes et al. (2008), na microencapsulação de d-limoneno, l-mentol e óleo essencial de *Lippia sidoides*, respectivamente.

Ameri e Maa (2006) reportaram que o formato e a morfologia das partículas secas em *spray-dryer* utilizando fluxo co-corrente são determinados por dois fatores: a taxa de evaporação do solvente e a composição da emulsão. A taxa de evaporação do solvente determina a qualidade da partícula, já que a secagem muito rápida produz partículas deformadas ou rompidas, enquanto que a secagem lenta produz partículas com umidade alta e pegajosas. A composição da emulsão define o formato da partícula. No início da secagem, ocorre a formação de um filme ao redor da gota atomizada. Este filme irá dificultar a difusão da água para fora e fazer com que a pressão de vapor no interior da gota aumente. Em uma determinada pressão crítica, pode acontecer a ruptura do filme, o que resulta na deformação da partícula. Certamente, a extensão de tais obstáculos na difusão e a pressão de vapor suportada serão ditadas pelas propriedades do filme tais como flexibilidade, força mecânica e porosidade.

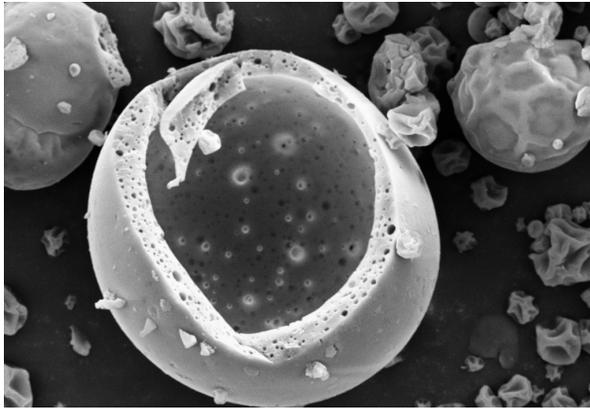
É possível verificar um aumento na incidência de furos na superfície das microcápsulas à medida que o teor de óleo inicial aumenta (Figuras 5.3 b, d, j). Percebe-se que nas micropartículas com menor teor de óleo essencial (10%), a superfície externa é íntegra e que as gotas de óleo essencial encontram-se dispersas na parte interior da partícula. Devido à alta retenção do óleo (~ 95%), esta característica da superfície das microcápsulas pode ser um indicativo de boa retenção dos voláteis. Entretanto, nas micropartículas produzidas com maior teor de óleo (17,5% e 25%), verifica-se maior incidência de furos na superfície, o que favorece a perda de material de recheio. Isto explica a menor retenção de óleo, quando comparado às micropartículas com menor teor inicial de óleo (Figura 5.2), e provavelmente resultará em uma menor retenção de voláteis.

As rachaduras ou furos que podem ser observadas em algumas micropartículas provavelmente ocorreram nos estágios finais da secagem e podem ser resultantes da baixa propriedade viscoelástica do material de parede (JAFARI et al., 2007). Estes furos podem também ser indicativos da eficiência da capacidade emulsificante do material de parede, a uma dada condição de homogeneização (Figura 5.3 f, h, j). Para uma mesma concentração de óleo inicial

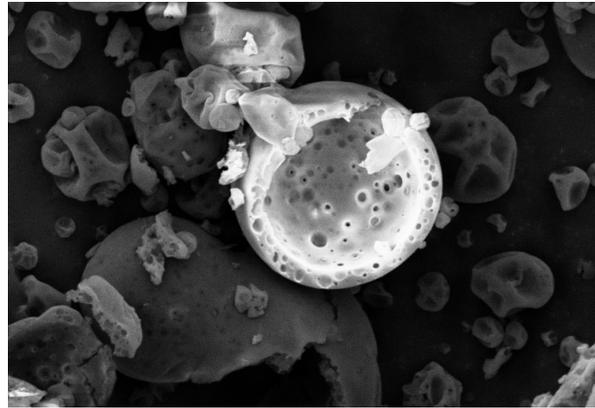
(17,5%), verificou-se que a incidência de furos diminuiu com o aumento da pressão de homogeneização. Pode-se dizer que, em baixas pressões de homogeneização, este material de parede não foi capaz de emulsionar de forma efetiva o material de recheio, deixando-o suscetível à evaporação. Além disso, altas pressões de homogeneização reduzem o tamanho das gotas da emulsão, dificultando assim a evaporação do material encapsulação.

O interior das micropartículas pode ser visto nas imagens apresentadas na Figura 5.4. Percebe-se que o interior das partículas é um vazio (região oca), que ocupa a maior parte da partícula e que o óleo essencial encontra-se disperso, em forma de pequenas gotas, no material de parede (Figura 5.4 a, b, c, d). Estas observações estão de acordo com o apresentado por Jafari et al., (2008), com relação à morfologia de micropartículas obtidas por *spray-dryer*. Soottitantawat et al. (2003) apresentaram imagens semelhantes do interior e da parede de micropartículas de l-mentol.

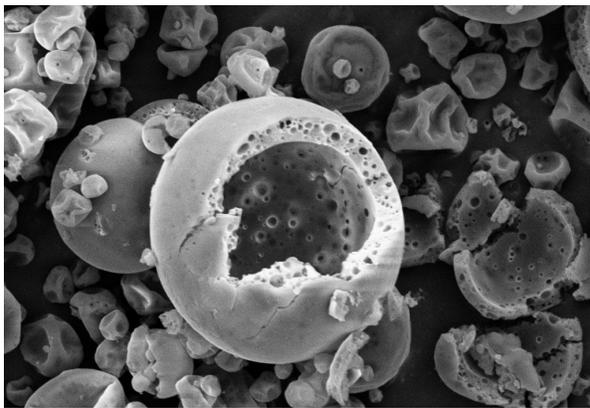
A razão para a formação deste vazio pode estar relacionada a efeitos resultantes das etapas de atomização e secagem. Um dos motivos pode ser a dessorção, durante a secagem, dos gases presentes na emulsão e posterior expansão destes gases ou a formação de uma bolha de vapor dentro da partícula, após a formação da superfície sólida, ou mesmo resultante da incorporação de ar dentro da gota da emulsão, durante a atomização (ROSENBERG et al., 1985).



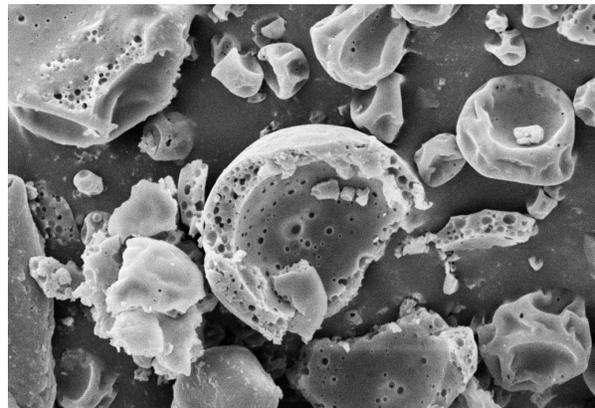
a) 10% óleo/sólidos, 50 MPa, aumento de 5000 vezes



b) 25% óleo/sólidos, 50 MPa, aumento de 5000 vezes



c) 17,5 % óleo/sólidos, 100 MPa, aumento de 5000 vezes



d) 17,5% óleo/sólidos, 50 MPa, aumento de 5000 vezes

Figura 5.4. Interior das micropartículas de goma arábica encapsulando óleo essencial de manjeriço, contendo 30% de sólidos.

El-Sayed et al. (1990) descreveram os 3 principais estágios da formação das partículas por *spray-drying*. De acordo com os autores, no estágio 1, a gota atomizada encolhe uniformemente, mantendo o formato esférico e não existe a presença do vazio interno. A temperatura inicial é de bulbo úmido e, a medida em que ela sobe, ocorre a formação de uma “pele” externa à gota. No fim deste estágio, a superfície externa já exhibe dentes e rugosidades e o volume da gota é 50% menor que o volume inicial. No estágio 2, com a continuação do aumento da temperatura (agora atingindo a temperatura de ebulição da água), a água presente no interior da partícula forma bolhas de vapor, que inflam a partícula, por difusão

saem da mesma, e a partícula sofre um encolhimento. Este ciclo de inflar/encolher se repete várias vezes, até a redução significativa da umidade e formação da parede da partícula bem estruturada. No estágio 3, uma vez que a partícula já perdeu quase toda sua umidade, ela se torna um “balão encapsulando vapor”, com a temperatura próxima da temperatura do ar de secagem (como esta etapa ocorre no fim da câmara de secagem, a temperatura do ar é bem inferior à inicial). Isso acontece pela presença da parede da partícula, que, agora mais estruturada, permite uma menor difusividade, dificultando a saída do vapor restante. Pouca umidade é perdida nesta etapa e a partícula atinge então sua morfologia final. Nas partículas em que existe o vazio interno, este provavelmente é formado na etapa 2 e consolidado na etapa 3.

5.1.3. Conclusões da 1ª etapa

Com base nos resultados obtidos, definiram-se então parâmetros que foram utilizados nas etapas subsequentes deste estudo: 10% de óleo inicial em relação aos sólidos totais e pressões de homogeneização de 0 e 50 MPa.

A porcentagem de óleo em relação aos sólidos totais foi escolhida pensando em maximizar a retenção de óleo nas micropartículas. A escolha das duas condições de pressão foi feita pensando em se trabalhar com condições que gerassem resultados bem distintos e que então fosse possível avaliar a importância desta variável para os demais materiais de parede e também na estabilidade das partículas. Quando se trabalhou sem a homogeneização a alta pressão, emulsões com gotas maiores e níveis de retenção de óleo relativamente altos foram obtidos. A utilização pressões em torno de 50 MPa, resultou na formação de emulsões com menores tamanho de gota e níveis de retenção de óleo maiores do que quando não se utilizou alta pressão de homogeneização. Embora a utilização de pressões acima de 50 MPa tenha resultado em uma maior retenção de óleo na partícula, esta condição não foi escolhida para estudo, já que a formação de gotas de maior diâmetro médio pode estar relacionada a uma

instabilidade da emulsão (isso em nível microscópico, já que macroscopicamente, através do ensaio de estabilidade, não foi verificada esta instabilidade), e, no caso de secagem por *spray-drying*, é desejável que a emulsão seja estável.

5.2. Comparação entre os materiais de parede goma arábica e maltodextrina (MD) adicionada de isolado proteico de soja (IPS) ou concentrado proteico de soro (CPS), utilizados como material encapsulante do óleo essencial de manjeriço.

O material de parede goma arábica é reconhecidamente o material mais eficiente para encapsulação de óleos, em função de sua excelente propriedade emulsificante. Entretanto, problemas como alta variabilidade e custo, indicam a necessidade de pesquisa de novos materiais de parede. Por isso, condições experimentais obtidas para a goma arábica foram utilizadas no estudo dos demais materiais de parede, permitindo assim uma comparação entre eles.

5.2.1. Teste dos materiais de parede

Primeiramente, foram preparadas emulsões de goma arábica, MD:IPS (75:25, 50:50, 25:75, 0:100) e MD:CPS (75:25, 50:50, 25:75, 0:100) nas condições estabelecidas na etapa anterior, ou seja, 10% de óleo em relação aos sólidos totais (30%) e homogeneizadas sem e com alta pressão a 50 MPa.

Não foi possível formar emulsões fluidas quando se utilizou o material de parede MD:IPS nas proporções 25:75 e 0:100 (Figura 5.5), já que a alta concentração da proteína IPS resultou na produção de emulsões muito viscosas. Nestes dois tratamentos, as emulsões formadas não apresentaram característica de escoamento, o que dificulta ou mesmo impossibilita a passagem pelo homogeneizador e bombeamento no *spray-dryer*. Na proporção de 50:50, a emulsão formada se tornou muito viscosa após a passagem em homogeneizador a alta pressão (AP), utilizando 50 MPa de pressão, não sendo possível bombeá-la para câmara de secagem do *spray-dryer*. Para o material de parede MD:CPS, verificou-se a formação de emulsões muito fluidas em todas as condições estudadas.

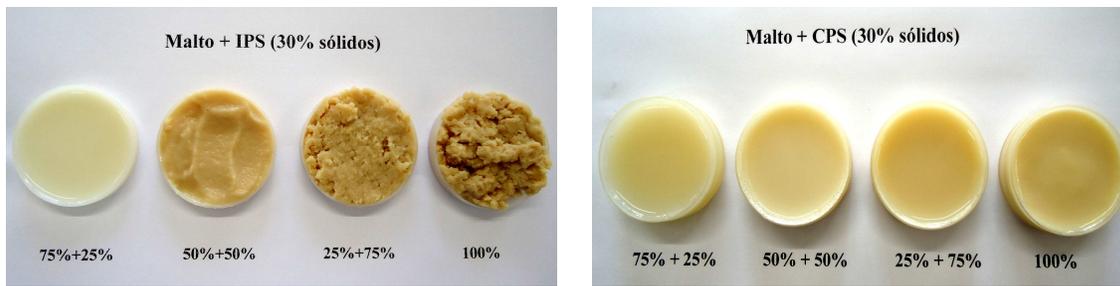


Figura 5.5. Emulsões de maltodextrina + IPS e de maltodextrina + CPS, nas diferentes concentrações estudadas de materiais de parede, após serem homogeneizadas com alta pressão (50 MPa).

Para os tratamentos goma arábica, MD:IPS (75:25) e MD:CPS (75:25, 50:50, 25:75, 0:100), condições nas quais se verificou a formação de emulsão fluida, mediu-se a viscosidade da emulsão antes e depois de se utilizar alta pressão (AP) (Tabela 5.13). Verificou-se que para todas as condições, exceto MD:IPS (75:25), a viscosidade da emulsão diminuiu com a aplicação de AP. A emulsão MD:IPS (50:50), após ser tratada com homogeneização a alta pressão, ficou visualmente mais viscosa que a emulsão inicial. Sua viscosidade não foi medida já que o que se tinha não era mais uma emulsão fluida e sim uma pasta. Pode-se dizer então que a utilização da AP em emulsões contendo IPS resulta em um aumento na viscosidade das emulsões.

Tabela 5.13. Viscosidade das emulsões a base de maltodextrina e proteínas.

	Viscosidade ($\times 10^2$ Pa.s)	
	Sem alta pressão	Com alta pressão (50 MPa)
Goma	6,68 \pm 0,12	6,60 \pm 0,08
MD:IPS (75:25)	6,81 \pm 0,55	7,82 \pm 0,03
MD:CPS (75:25)	1,52 \pm 0,02	1,23 \pm 0,2
MD:CPS (50:50)	2,49 \pm 0,10	1,74 \pm 0,04
MD:CPS (25:75)	1,87 \pm 0,02	1,43 \pm 0,03
CPS (100)	7,78 \pm 0,25	2,65 \pm 0,05

MD: maltodextrina; IPS: isolado proteico de soja; CPS: concentrado proteico de soro

Floury et al. (2002) também observaram um aumento na viscosidade de emulsões contendo IPS, com o aumento da pressão de homogeneização e atribuíram esse aumento a interações intermoleculares resultantes da atração entre moléculas adjacentes desnaturadas.

5.2.2. Emulsões

5.2.2.1. Estabilidade e pH das emulsões

De forma semelhante à primeira etapa deste trabalho, a estabilidade das emulsões a base de goma arábica, MD:IPS (75:25), MD:CPS (75:25; 50:50; 25:75) e CPS, tendo como material de recheio óleo essencial de manjeriço, foi avaliada 4 h e 24 h após o processo de emulsificação.

Nenhuma emulsão avaliada apresentou separação de fase, ou seja, todas foram estáveis no período avaliado. Em emulsões do tipo óleo em água (como é o caso da emulsão estudada), em função da diferença de densidade entre os componentes, existe uma tendência do óleo migrar e se acumular na superfície da emulsão. Este processo, chamado de cremação, resulta na separação de fases da emulsão e é um dos mecanismos mais comuns de instabilidade observados em sistemas alimentícios (McCLEMENTS, 2007).

No processo de microencapsulação de óleos é essencial que a emulsão formada seja estável durante todo o processo. A separação de fase da emulsão pode resultar na não encapsulação do óleo, podendo este ser perdido durante a secagem por atomização. Neste trabalho, o tempo gasto entre o preparo da emulsão e o fim da atomização levou no máximo 4 horas, sendo por isso definido este tempo de análise. Todas as emulsões atenderam ao requisito da estabilidade.

O pH das emulsões em estudo variou de 4,78 a 6,68, sendo que a emulsão a base de goma arábica foi a que apresentou o menor pH e a de MD:IPS, a que apresentou maior pH, independente da condição de homogeneização (Tabela

5.14). Emulsões a base de CPS puro (CPS 100) apresentam pH significativamente maiores do que quando esta proteína é utilizada juntamente com a maltodextrina. Comparando-se as duas proteínas em estudo, verifica-se que emulsões a base de CPS são mais ácidas.

A estabilidade das emulsões contendo IPS e CPS está diretamente ligada ao pH da solução, já que quando a solução está em pH próximo ao ponto isoelétrico (PI) destas proteínas, existe uma redução na repulsão eletrostática entre estas moléculas, permitindo assim que as gotas de óleo se aproximem e coalesçam (CHAROEN et al., 2011). Tanto para as proteínas da soja como do soro, o ponto isoelétrico está entre os pHs 4 e 6. Portanto, pode-se considerar que as emulsões a base de IPS e CPS utilizadas neste trabalho estão em um pH que favorece a atividade emulsificante das proteínas.

Tabela 5.14. pH das diferentes emulsões produzidas.

	pH	
	Sem AP	Com AP
Goma	4,78 ± 0,03 ^{aA}	4,78 ± 0,03 ^{aA}
MD:IPS (75:25)	6,68 ± 0,02 ^{aB}	6,68 ± 0,01 ^{aB}
MD:CPS (75:25)	6,44 ± 0,01 ^{aC}	6,45 ± 0,03 ^{aCD}
MD:CPS (50:50)	6,43 ± 0,01 ^{aC}	6,42 ± 0,01 ^{aC}
MD:CPS (25:75)	6,45 ± 0,02 ^{aC}	6,48 ± 0,02 ^{aD}
CPS (100)	6,50 ± 0,02 ^{aD}	6,53 ± 0,01 ^{aE}

AP: alta pressão de homogeneização; MD: maltodextrina; IPS: isolado proteico de soja; CPS: concentrado proteico de soro

Médias avaliadas pelo teste de Tukey. Médias com a mesma letra minúscula, para o mesmo material de parede, são estatisticamente iguais ($p \geq 0,05$). Médias com a mesma letra maiúscula, para uma mesma condição de homogeneização, são estatisticamente iguais ($p \leq 0,05$).

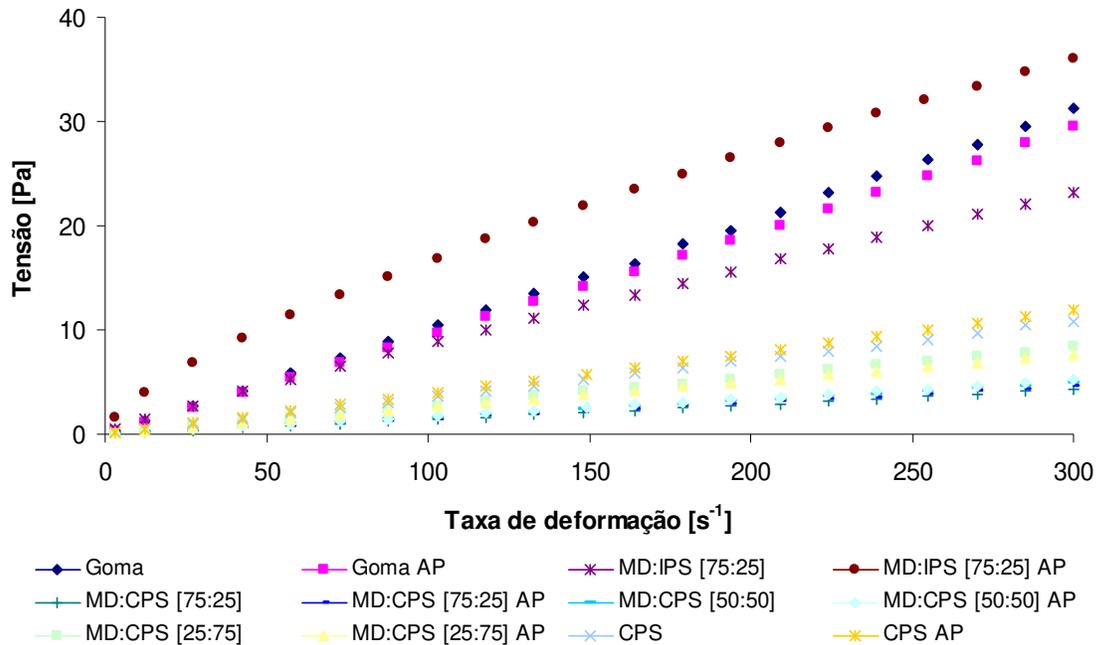
As emulsões a base de goma arábica possuem pouca dependência do pH, já que apresentam estabilidade semelhante em pH entre 3 e 8. Isso porque, ao contrário das emulsões a base de IPS e CPS, para as quais a estabilização se dá por repulsão eletrostática, a estabilização da emulsão a base de goma arábica se

dá majoritariamente por repulsão estérica. Repulsão estérica é consequência da interação física de substâncias poliméricas de cadeia longa. Uma característica das emulsões a base de goma arábica é a cobertura das gotas de óleo por uma camada relativamente grossa de moléculas deste polissacarídeo. Neste caso, as moléculas dispersas na interface óleo/água se interpenetram, impedindo assim a coalescência das gotas de óleo. Não se pode deixar de considerar que a goma arábica possui alguma carga negativa e que portanto existe uma pequena contribuição eletrostática para estabilização destas emulsões (CHAROEN et al., 2011; 2012).

5.2.2.2. Comportamento Reológico

O comportamento reológico das emulsões foi avaliado através das curvas de escoamento a 25 °C (Figura 5.6). Estas curvas foram medidas em duplicata, utilizando-se uma nova amostra a cada ensaio.

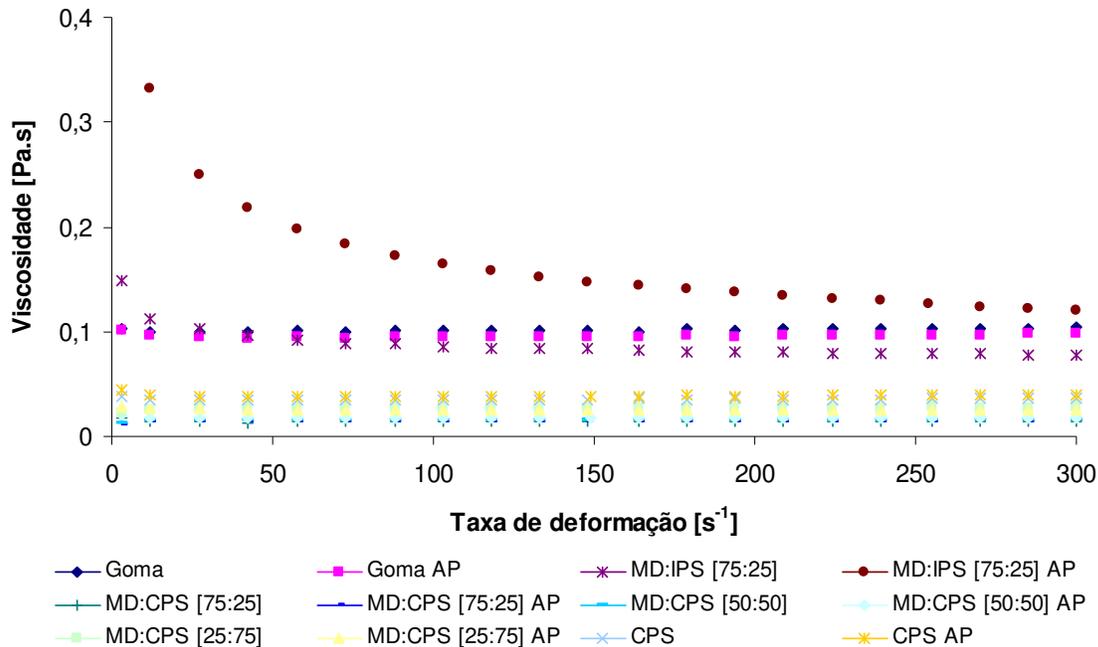
Pelo formato das curvas “tensão versus deformação” obtidas e pelos valores de R^2 (todos superiores à 0,997), considerou-se todas as emulsões “fluidos Newtonianos” e, por este motivo, todos os dados foram ajustados apenas pelo modelo Newtoniano. Embora a amostra MD:IPS (75:25) AP apresente a tendência de um fluido pseudoplástico, ela também foi considerada um fluido newtoniano, já que se ajustou bem a este modelo ($R^2 = 0,997$). O valor de R^2 reporta como o modelo se ajusta aos dados experimentais, e por isso, quando se obtêm valores muito altos, pode-se concluir que houve um bom ajuste entre o modelo e os dados experimentais.



AP: alta pressão de homogeneização; MD: maltodextrina; IPS: isolado proteico de soja; CPS: concentrado proteico de soro

Figura 5.6. Curvas de escoamento (tensão versus taxa de deformação) para todas as emulsões estudadas.

A Figura 5.7 apresenta as curvas de “viscosidade versus a taxa de deformação”. Com exceção das emulsões MD:IPS e MD:IPS AP, todas as outras apresentaram viscosidades praticamente constantes, para as taxas de deformação estudadas. Para a emulsão de MD:IPS e MD:IPS AP, a viscosidade ficou constante nas taxas de deformação superiores à 70 s^{-1} e 150 s^{-1} , respectivamente. Segundo Campanella et al. (1995) quando a viscosidade atinge um valor constante a altas taxas de deformação é porque não existem mais gotas floculadas, ou seja, todas as gotas estão individualizadas ou porque o número de flocos de gotas se mantêm constante já que a sua taxa de formação é igual à taxa de rompimento.



AP: alta pressão de homogeneização; MD: maltodextrina; IPS: isolado proteico de soja; CPS: concentrado proteico de soro

Figura 5.7. Curva de viscosidade versus taxa de deformação para as diferentes emulsões estudadas.

Mudanças físicas na emulsão podem acontecer como resultado da utilização de homogeneização a alta pressão. No entanto, para as emulsões a base de MD:CPS, independente da condição de homogeneização e da proporção entre MD e CPS, foram obtidas curvas de viscosidade praticamente sobrepostas, indicando que a composição e a utilização de homogeneização a alta pressão não afetaram ou afetaram muito pouco a viscosidade das emulsões. Resultado semelhante foi encontrado para emulsão a base de goma arábica. De acordo com Flourey et al. (2000), a passagem da emulsão em um homogeneizador a alta pressão, reduz a viscosidade da emulsão até um valor limite. Isto significa que emulsões naturalmente pouco viscosas não terão ou terão uma redução muito pequena na viscosidade.

Ao contrário do que foi observado nos demais tratamentos, a viscosidade da emulsão a base de MD:IPS aumentou com a utilização da alta pressão, o que de acordo com Kuhn e Cunha (2012), pode estar relacionado com a formação de agregados proteicos resultantes da alta pressão de homogeneização.

Embora, no geral, a tendência dos valores de viscosidade obtidos nesta etapa em relação aos obtidos no ensaio preliminar para definição dos materiais de parede (Tabela 5.13) tenha se mantido, alguns valores apresentaram-se diferentes. Isso significa que o material de recheio, em função de suas propriedades, tem efeito nas propriedades da emulsão.

5.2.2.3. Diâmetro médio e distribuição de tamanho da gota

O diâmetro médio das gotas das emulsões estudadas variou de 0,71 a 23,36 μm (Tabela 5.15). A utilização de alta pressão de homogeneização reduziu significativamente ($p \leq 0,05$) o tamanho das gotas de todas as emulsões, exceto da MD:CPS (25:75). A utilização de diferentes materiais de parede também resultou em efeito significativo no tamanho das gotas da emulsão. O menor tamanho de gota foi obtido nas emulsões a base de goma arábica, para as duas condições de homogeneização estudadas (0 e 50 MPa).

Independentemente da condição de homogeneização, as emulsões a base de MD:IPS (75:25) foram as que apresentaram maior diâmetro médio. Este resultado pode ser tanto uma característica própria do conjugado utilizado como material de parede, como estar relacionado a aspectos como viscosidade da emulsão e comportamento da proteína em solução. Também pode ser um indicativo de que o IPS, na concentração utilizada, não está sendo eficiente como agente emulsificante.

Tabela 5.15. Tamanho de gota das diferentes emulsões produzidas.

	Diâmetro médio de Sauter $D_{3,2}$ (μm)	
	Sem AP	Com AP
Goma	0,85 \pm 0,03 ^{aA}	0,71 \pm 0,02 ^{bA}
MD:IPS (75:25)	23,36 \pm 0,86 ^{aB}	11,03 \pm 0,96 ^{bB}
MD:CPS (75:25)	1,22 \pm 0,03 ^{aCE}	1,06 \pm 0,03 ^{bC}
MD:CPS (50:50)	1,25 \pm 0,01 ^{aC}	1,14 \pm 0,01 ^{bD}
MD:CPS (25:75)	1,39 \pm 0,04 ^{aD}	1,35 \pm 0,06 ^{aE}
CPS (100)	1,17 \pm 0,02 ^{aE}	1,06 \pm 0,01 ^{bC}

AP: alta pressão de homogeneização; MD: maltodextrina; IPS: isolado proteico de soja; CPS: concentrado proteico de soro

Médias avaliadas pelo teste de Tukey. Médias com a mesma letra minúscula, para o mesmo material de parede, são estatisticamente iguais ($p \geq 0,05$). Médias com a mesma letra maiúscula, para uma mesma condição de homogeneização, são estatisticamente iguais ($p \leq 0,05$).

Segundo Qian e McClements (2011), emulsões viscosas são, normalmente, mais difíceis de ter seu diâmetro reduzido com a homogeneização a alta pressão, já que o tempo de residência no equipamento é muito curto e muitas vezes inferior ao tempo necessário para deformar e romper as gotas. Com relação à proteína, em função de sua concentração, ela pode estar formando camadas ao redor das gotas de óleo, o que além de aumentar diâmetro médio da gota, dificulta a sua quebra pelo processo de alta pressão. Além disso, a presença da proteína na superfície das gotas pode aumentar a hidrofobicidade superficial, resultando na floculação entre as gotas. Outra possível explicação para o elevado diâmetro médio obtido é que, em função da elevada concentração e de uma possível dificuldade de adsorção da proteína na interface óleo/água, agregados proteicos podem estar sendo formados na fase contínua. Na Figura 5.8, ao se observar a distribuição de tamanho de gota para o material de parede MD:IPS (75:25) (Figura 5.8 d), verifica-se uma faixa de distribuição muito larga, ao contrário do que se observa para os demais materiais de parede, que apresentam picos bem

definidos. Sendo assim, é mesmo possível que dentro desta faixa estejam presentes além de gotas, gotas + camadas de proteínas e agregados proteicos.

Os efeitos da alta pressão hidrostática nas proteínas estão primeiramente relacionados à ruptura das interações não covalentes, levando à ruptura das estruturas quaternárias e terciárias das proteínas globulares, fato que pode resultar no aumento da viscosidade das emulsões e também na formação de agregados proteicos. Por outro lado, o desdobramento parcial das proteínas, pode levar à exposição do grupo sulfidril (-SH). Pelas reações sulfidril – dissulfeto entre as proteínas presentes na interface óleo/água da emulsão, ocorre um aumento na viscoelasticidade do filme proteico que envolve a gota, explicando então a maior estabilidade de emulsões submetidas à alta pressão de homogeneização (KUNH e CUNHA, 2012; SINGH e SARKAR, 2011; BOUAQUINA et al., 2006).

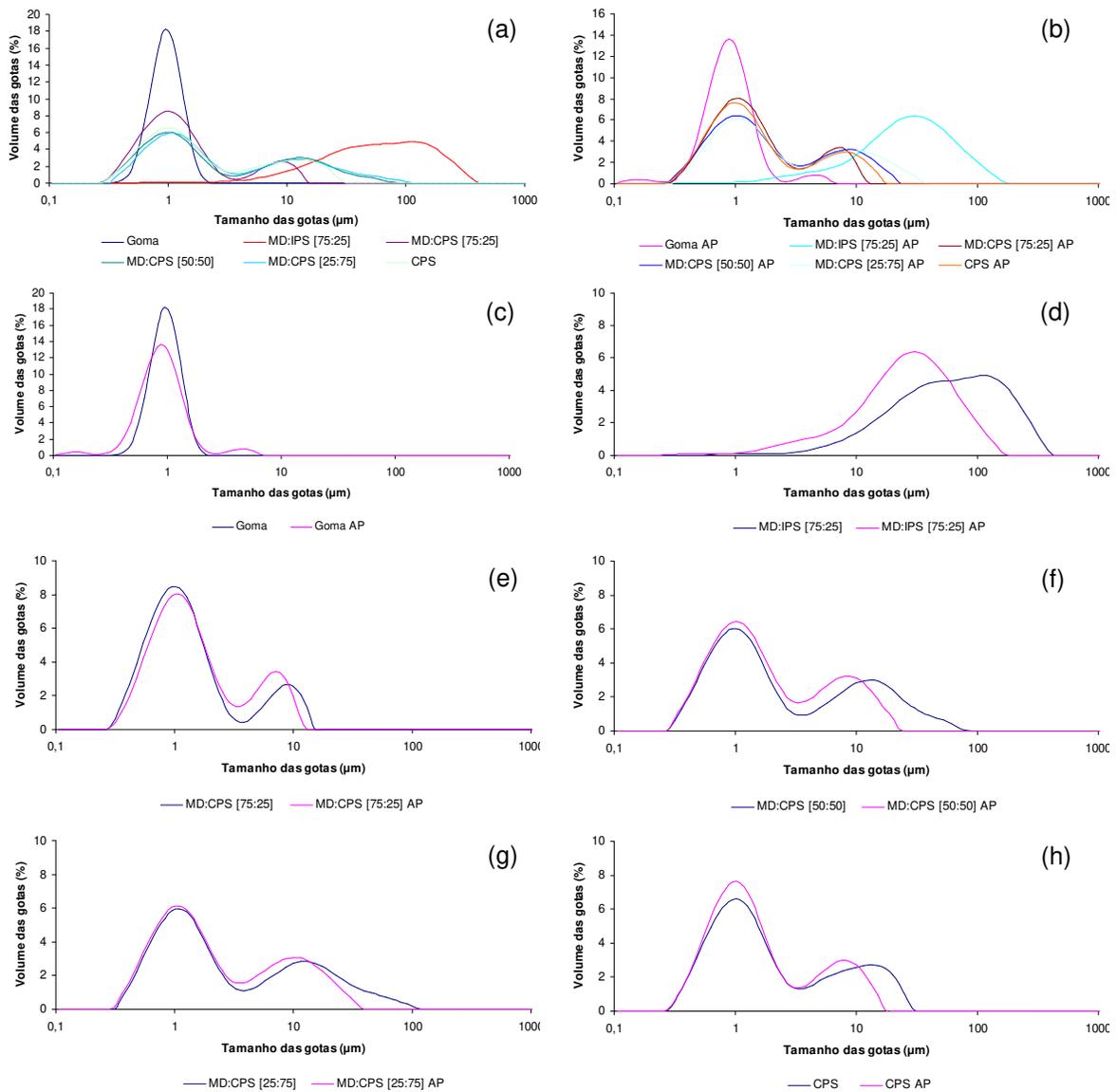
Valores de diâmetro médio de gota muito próximos aos obtidos no presente trabalho, para emulsões a base de goma arábica, de MD:CPS (2:1) e de CPS foram reportados por Akhtar e Dickinson (2007). Também se observou que o diâmetro médio das gotas da emulsão a base de MD:IPS (2:1) foi muito maior que os obtidos para emulsões a base de IPS, CPS e MD:CPS (2:1). A emulsão a base de MD:CPS (2:1) foi a que apresentou melhor estabilidade à estocagem, uma vez que foi capaz de manter as gotas em tamanho pequeno por 21 dias. Segundo os autores, a boa retenção de tamanho das pequenas gotas indica que o conjugado MD:CPS (2:1), nas condições estudadas, é um estabilizador altamente eficiente de emulsões de óleos. Além disso, comparando-se as duas proteínas (IPS e CPS), justifica-se a utilização da CPS, não apenas por ser mais barata que a IPS, mas também por ser uma proteína eficiente para produção de conjugados emulsificantes.

A avaliação do tamanho da gota da emulsão, pelo fato desta estar diretamente ligada à difusão molecular, é de grande importância. Gotas com maior tamanho apresentam menor relação área/volume, o que pode resultar em uma melhor retenção de voláteis. Entretanto, gotas maiores levam um maior tempo

para a formação do filme ao redor da gota no início da secagem, o que pode resultar em uma maior perda de voláteis. Em geral, os compostos voláteis têm maior retenção quando em emulsão de menores tamanhos de gota (BARANAUSKIENE et al., 2007).

A análise da distribuição de tamanho de gotas das emulsões foi realizada para as emulsões produzidas com os diferentes materiais de parede estudados e para as duas condições de pressão de homogeneização utilizadas, como pode ser visto na Figura 5.8.

Na Figura 5.8a é possível avaliar, comparativamente, a distribuição de tamanho de gotas para as emulsões que foram homogeneizadas sem utilizar altas pressões e na figura 5.8b, a distribuição de tamanho das gotas das emulsões homogeneizadas a 50 MPa. Verifica-se que as emulsões a base de goma arábica e MD:IPS (75:25) apresentaram distribuição unimodal, ou seja, apresentam um pico representativo da amostra avaliada. No entanto, observa-se que o pico formado pelas emulsões a base de goma arábica é mais estreito e mais alto, indicando uma maior uniformidade das gotas. A formação de um pico com base larga, como observado para emulsão de MD:IPS indica presença de gotas em uma faixa muito grande de tamanho. Todas as emulsões a base de MD:CPS apresentaram distribuição bimodal, ou seja, com dois picos, tendo primeiro um pico maior, seguido por um menor. O segundo pico observado pode ser resultante do processo de coalescência das gotas da emulsão (KUHN e CUNHA, 2012; FLOURY et al., 2000).



AP: alta pressão de homogeneização; MD: maltodextrina; IPS: isolado proteico de soja; CPS: concentrado proteico de soro

Figura 5.8. Distribuição de tamanho das gotas das diferentes emulsões: (a) emulsões produzidas sem aplicação de AP; (b) com aplicação de 50 MPa de pressão; (c, d, e, f, g, h) variação na distribuição de tamanho das gotas para cada material de parede, com e sem aplicação da AP.

As Figuras 5.8 c, d, e, f, g e h apresentam a distribuição de tamanho de gota comparativa entre emulsões de mesmo material de parede, mas condições diferentes de homogeneização. Para todas as amostras, verifica-se que o perfil de distribuição é semelhante, antes e depois da aplicação da homogeneização com alta pressão. Nas emulsões a base de goma arábica verificou-se uma redução do maior pico e formação de um segundo, o que pode ser um indicativo de aglomeração (coalescência ou floculação) das gotas após a homogeneização a alta pressão. Nas emulsões a base de MD:CPS, observou-se um deslocamento para esquerda do segundo pico. Isso indica uma melhora na uniformidade do tamanho das gotas após a homogeneização a alta pressão, já que reduz a faixa de tamanho das gotas.

Jafari et al. (2007), estudando emulsões de MD:CPS, tendo d-limoneno como composto encapsulado, obtiveram perfis de distribuição de tamanho de gotas semelhantes aos obtidos para as emulsões a base de MD:CPS utilizadas neste trabalho. Considerando que a utilização de altas pressões de homogeneização pode resultar em mudanças na estrutura e reologia de emulsões estabilizadas com proteínas, pode-se dizer que, tanto para o diâmetro médio de Sauter ($D_{3,2}$) como para a distribuição de tamanho de gota, as mudanças observadas não foram drásticas (FLOURY et al., 2000).

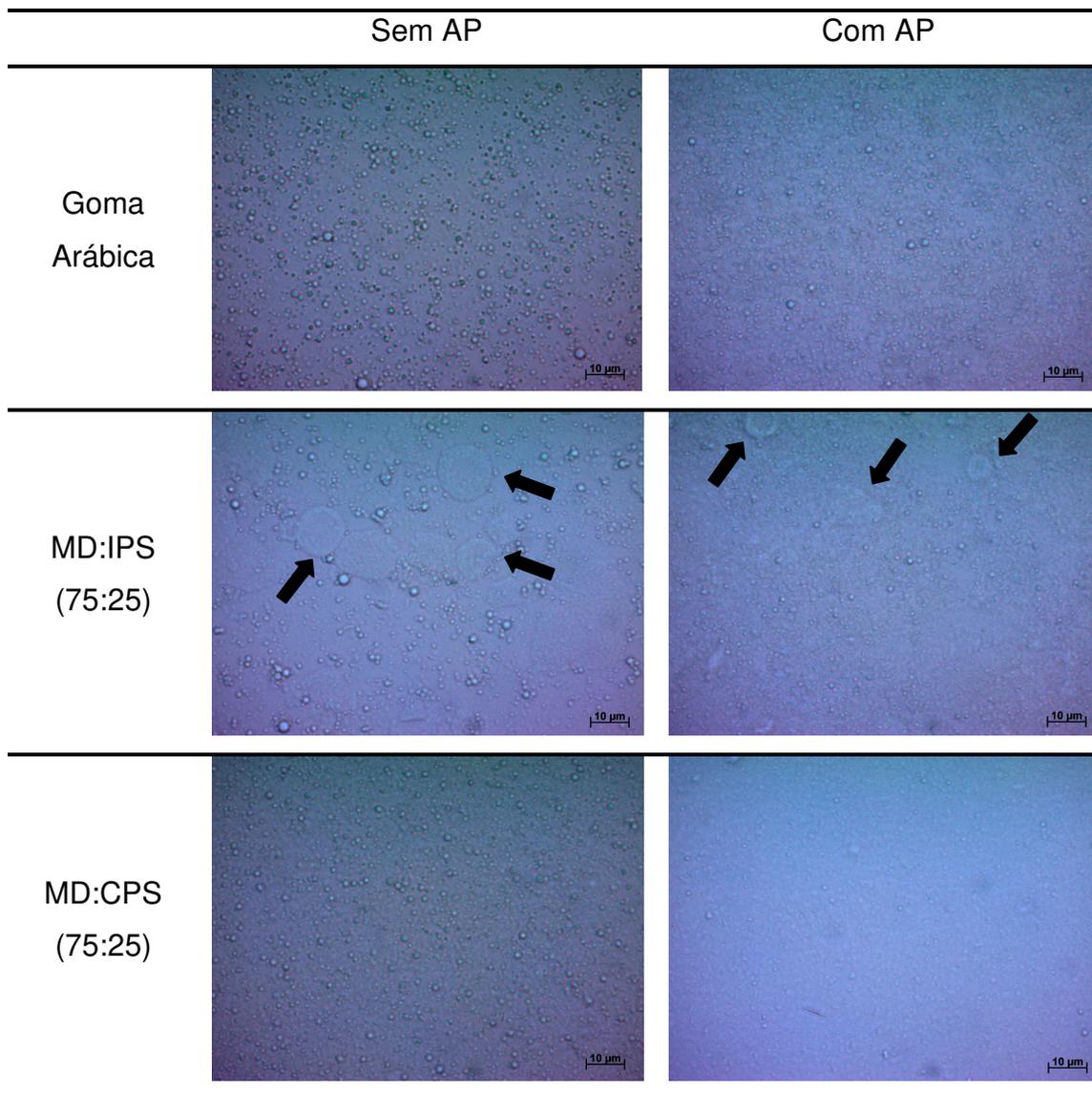
5.2.2.4. Microscopia

A observação das emulsões no microscópio teve como objetivo explicar o fato das gotas da emulsão MD:IPS apresentarem diâmetros médios maiores que as demais emulsões. Sendo assim, emulsões de goma arábica, MD:IPS (75:25) e MD:CPS (75:25), sem e com aplicação de alta pressão, foram observadas no microscópio. As demais amostras de MD:CPS não foram observadas já que elas apresentaram diâmetro pequeno e comportamento similar ao da emulsão MD:CPS (75:25).

As imagens obtidas por microscopia estão apresentadas na Figura 5.9. O que se observa é que as emulsões a base de goma Arábica e MD:CPS apresentam gotas pequenas, individualizadas e, pontualmente, verifica-se a presença de gotas um pouco maiores.

Já na emulsão de MD:IPS, o que se observa é a presença de alguns grumos, além das gotas, tanto para a emulsão não homogeneizada, como para emulsão homogeneizada. Isso explica não só o grande diâmetro médio (Tabela 5.15), como também a ampla faixa de distribuição de tamanho de partícula (Figura 5.8), observados para esta emulsão. Não é possível verificar a partir destas microscopias a natureza destes grumos. Não se pode concluir se estes grumos são várias gotas envoltas pelo IPS ou se são apenas partículas de IPS que não se dissolveram bem na solução. Uma hipótese é que o elevado peso molecular do IPS bem como sua reduzida solubilização tenham dificultado a completa hidratação do material.

Verifica-se também que as gotas das emulsões de MD:IPS sem e com AP não são tão maiores do que as demais amostras. O mastersizer está na verdade dando um “falso” resultado para estas amostras, já que o que está sendo lido pelo equipamento são agregados de proteína (grumos) ou gotas floculadas e não gotas das emulsões.



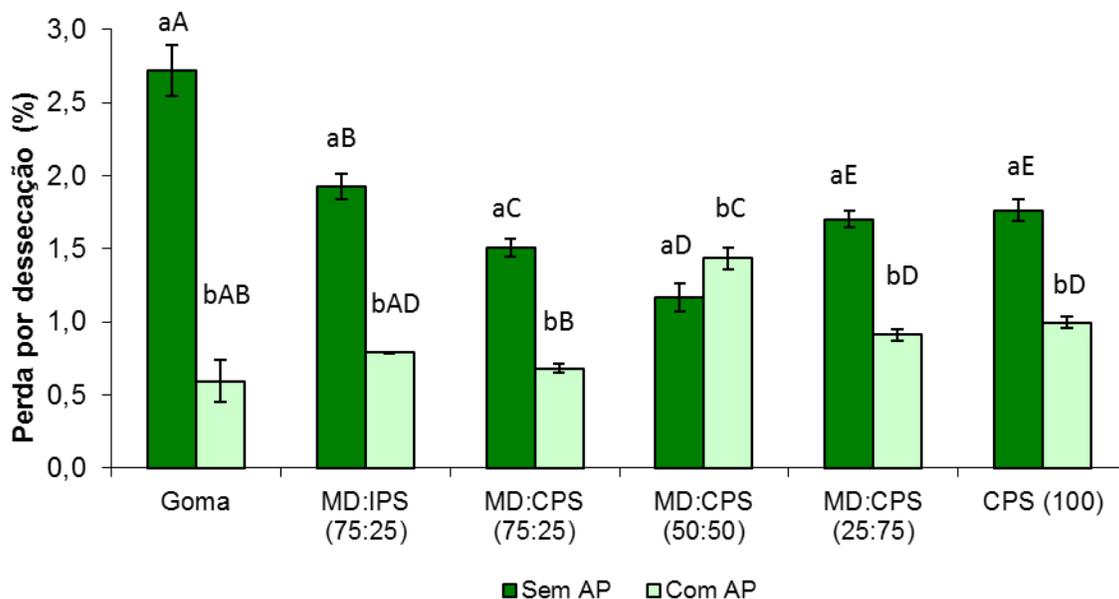
AP: alta pressão de homogeneização; MD: maltodextrina; IPS: isolado proteico de soja; CPS: concentrado proteico de soro

Figura 5.9. Aspecto das gotas das emulsões de goma arábica, MD:IPS e MD:CPS sem e com a aplicação de alta pressão.

5.2.3. Micropartículas

5.2.3.1. Perda por dessecação e densidade aparente

A perda por dessecação das partículas dos diferentes materiais de parede contendo óleo essencial de manjeriço encapsulado variou de 0,6 a 2,72 g/100 g de amostra (Figura 5.10). Verifica-se que, com exceção da condição MD:CPS (50:50), todas as demais micropartículas produzidas sem homogeneização a alta pressão apresentaram perda por dessecação significativamente superior às produzidas com a utilização de alta pressão ($p \leq 0,05$). A homogeneização à alta pressão resultou em uma melhor emulsificação do material ativo, produzindo gotas de menor diâmetro, facilitando então a saída de água durante a secagem.



AP: alta pressão de homogeneização; MD: maltodextrina; IPS: isolado proteico de soja; CPS: concentrado proteico de soro

Médias avaliadas pelo teste de Tukey. Médias com a mesma letra minúscula, para o mesmo material de parede, são estatisticamente iguais ($p \geq 0,05$). Médias com a mesma letra maiúscula, para uma mesma condição de homogeneização, são estatisticamente iguais ($p \leq 0,05$).

Figura 5.10. Perda por dessecação das micropartículas (b.u.) produzidas a partir de emulsão sem e com a aplicação de alta pressão.

A baixa perda por dessecação (umidade) observada pode ser resultante da elevada temperatura de secagem utilizada (170 °C). Paramita et al. (2010) utilizaram temperaturas de secagem de 120 °C e 150 °C e obtiveram partículas de d-limoneno encapsulado com goma arábica e maltodextrina com umidades de 4,6-4,9% e 2,4 e 4,4%, respectivamente. Tonon et al. (2008) obtiveram partículas de polpa de açaí encapsuladas com maltodextrina com umidades na faixa de 0,64-2,89%. Foi observada forte influência da temperatura de secagem na umidade das partículas. Segundo os autores, a utilização de elevadas temperaturas de secagem produz uma elevada diferença de temperatura, entre a temperatura de secagem e a temperatura da emulsão, o que favorece a evaporação da água, resultando então na produção de pós com baixas umidades.

O tipo de material de parede, bem como a relação de seus componentes, influenciou significativamente ($p \leq 0,05$) na densidade da micropartícula (Tabela 5.16). De uma forma geral, a aplicação de alta pressão de homogeneização não resultou em variações significativas nesta resposta. Partículas produzidas com goma arábica e MD:IPS apresentaram densidades estatisticamente ($p \leq 0,05$) superiores. Dentre as micropartículas produzidas com MD:CPS sem aplicação de alta pressão, verificou-se que a densidade diminuiu significativamente com o aumento na concentração de proteína. Já para as partículas produzidas com homogeneização a alta pressão, a utilização de concentrações de CPS a partir de 50%, resultou em partículas com densidade significativamente menor que às obtidas com os demais materiais de parede, sem, no entanto apresentar diferenças significativas entre elas.

Tabela 5.16. Densidade aparente das micropartículas produzidas a partir de emulsão com e sem a aplicação de homogeneização a alta pressão.

	Densidade aparente (kg m ⁻³)	
	Sem AP	Com AP
Goma	513,7 ± 7,2 ^{aA}	505,8 ± 6,3 ^{aA}
MD:IPS (75:25)	509,9 ± 0,5 ^{aAB}	581,4 ± 42,6 ^{aB}
MD:CPS (75:25)	469,8 ± 20,5 ^{aB}	493,7 ± 6,1 ^{aA}
MD:CPS (50:50)	432,7 ± 4,7 ^{aC}	401,7 ± 0,8 ^{bC}
MD:CPS (25:75)	404,4 ± 4,7 ^{aD}	396,2 ± 8,1 ^{aC}
CPS (100)	387,8 ± 5,5 ^{aE}	390,6 ± 8,7 ^{aC}

AP: alta pressão de homogeneização; MD: maltodextrina; IPS: isolado proteico de soja; CPS: concentrado proteico de soro

Médias avaliadas pelo teste de Tukey. Médias com a mesma letra minúscula, para o mesmo material de parede, são estatisticamente iguais ($p \geq 0,05$). Médias com a mesma letra maiúscula, para uma mesma condição de homogeneização, são estatisticamente iguais ($p \leq 0,05$).

Bae e Lee (2008), estudando a microencapsulação de óleo de abacate com MD:CPS em diferentes concentrações, obtiveram valores de densidade aparente inferiores ao do presente trabalho. Além disso, observaram que a densidade aparente das partículas aumentava com o aumento na concentração de maltodextrina, ao contrario do observado neste trabalho. De acordo com estes autores, a densidade aparente é afetada pela composição química, tamanho e umidade das partículas. Portanto, as possíveis causas para estas diferenças observadas são: utilização de menor concentração inicial de sólidos solúveis (foram utilizados 20%) e utilização de diferente material encapsulante em diferente concentração inicial (50% em relação aos sólidos), que, por ter diferente densidade pode alterar a densidade da partícula.

A densidade aparente é uma medida importante de se avaliar quando se considera o empacotamento, embalagem e transporte do material, já que este valor nos diz quanto material, por peso, irá caber em uma embalagem com determinado volume. Além disso, a densidade aparente é um parâmetro importante no caso de produtos que envolvam de mistura de pós, já que ela

poderá influenciar a eficiência da mistura e a distribuição das micropartículas no produto. A densidade aparente é influenciada, dentre outras coisas, pela geometria e tamanho da partícula. Mantendo-se constante todas as outras variáveis, partículas esféricas terão uma melhor organização ao serem empacotadas e irão apresentar maiores valores de densidade aparente (FINNEY et al., 2002; REINECCIUS, 2001). De acordo com Cai e Corke (2000), baixas densidades aparentes podem ser resultantes da presença de ar dentro da partícula. Conseqüentemente, estas partículas terão maior probabilidade de degradação oxidativa e menor estabilidade na estocagem.

5.2.3.2. Higroscopicidade

Na Tabela 5.17 estão apresentados os dados de higroscopicidade, tanto para o materiais de parede, como para as diferentes micropartículas formadas. Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas ($p \geq 0,05$), na higroscopicidade dos materiais de parede, que variou de 9,13 a 10,46 g/100 g de material. Nas micropartículas, a higroscopicidade variou de 12,49 – 16,43 g/100 g de pó para as produzidas sem homogeneização a alta pressão e de 10,97 – 19,77 g/100 g de pó para as produzidas com homogeneização a alta pressão da emulsão (Tabela 5.18).

Verifica-se que microcápsulas produzidas com goma arábica possuem higroscopicidade significativamente maior que as demais ($p \leq 0,05$), independente da condição de homogeneização das emulsões. Nas mesmas condições utilizadas neste trabalho (30% sólidos e 10% óleo/sólidos), Frascareli et al. (2012) reportaram valores similares de higroscopicidade para micropartículas de óleo de café encapsulado com goma arábica.

Tabela 5.17. Higroscopicidade das microcápsulas e de seus respectivos materiais de parede.

Higroscopicidade (g/100g de material)		
Goma arábica	9,36 ± 0,36 ^a	
MD	10,43 ± 0,75 ^a	
IPS	10,26 ± 0,71 ^a	
CPS	9,13 ± 0,90 ^a	
Micropartículas		
	Sem AP	Com AP
Goma arábica	16,46 ± 0,17 ^{aA}	19,77 ± 1,11 ^{bA}
MD:IPS (75:25)	12,52 ± 0,13 ^{aB}	12,87 ± 0,15 ^{aB}
MD:CPS (75:25)	12,55 ± 0,16 ^{aBC}	11,78 ± 0,07 ^{bC}
MD:CPS (50:50)	12,30 ± 0,08 ^{aB}	12,47 ± 0,12 ^{aD}
MD:CPS (25:75)	12,83 ± 0,10 ^{aC}	10,97 ± 0,16 ^{bE}
CPS (100)	12,49 ± 0,16 ^{aB}	11,77 ± 0,13 ^{bC}

AP: alta pressão de homogeneização; MD: maltodextrina; IPS: isolado proteico de soja; CPS: concentrado proteico de soro.

Médias avaliadas pelo teste de Tukey. Médias com a mesma letra minúscula, para o mesmo material de parede, são estatisticamente iguais ($p \geq 0,05$). Médias com a mesma letra maiúscula, para uma mesma condição de homogeneização, são estatisticamente iguais ($p \leq 0,05$).

Micropartículas produzidas com 75% de maltodextrina e 25% de IPS ou CPS apresentaram valores muito próximos de higroscopicidade para partículas produzidas sem homogeneização, indicando que a natureza da proteína não afetou a higroscopicidade. Para as partículas produzidas com MD e CPS, não foi possível estabelecer uma relação direta entre a higroscopicidade das microcápsulas e a concentração de maltodextrina; podendo-se apenas concluir que esta combinação dos materiais de parede resultou em partículas com baixa higroscopicidade. Uma das vantagens da maltodextrina como material de parede é a sua baixa higroscopicidade. Tonon et al. (2008) e Comunian et al. (2011) reportaram que um aumento na concentração de maltodextrina em relação ao

material de recheio, quando este for hidrofílico, pode resultar na redução da higroscopicidade das micropartículas.

É desejável que as partículas possuam baixa higroscopicidade já que o ganho de umidade pode resultar em mudanças nas propriedades de escoamento em função de mudanças na estrutura, como rompimento e aglomeração das micropartículas, além de mudanças visuais, já que podem ocorrer mudanças na cor do pó. De acordo com Cai e Corke (2000), uma maior degradação do material encapsulado pode estar relacionada à alta higroscopicidade do material de parede formador da partícula.

5.2.3.3. Diâmetro médio e distribuição de tamanho das micropartículas

O diâmetro médio das partículas variou de 9,25 a 21,27 μm e de 13,76-29,04 μm para os pós produzidos a partir de emulsões homogeneizadas sem alta pressão e com alta pressão, respectivamente (Tabela 5.18). De forma semelhante ao que foi observado para as gotas da emulsão, o material de parede MD:IPS foi o que apresentou partículas com maior diâmetro médio. Não se observou nenhuma tendência de variação no diâmetro das partículas em função das variações nas concentrações de MD e CPS. Para os tratamentos MD:CPS (75:25), MD:CPS (50:50) e MD:CPS (25:75) a pressão de homogeneização não afetou o tamanho de partícula. Para as demais concentrações estudadas, as partículas resultantes de emulsões homogeneizadas a alta pressão apresentaram diâmetros significativamente maiores.

O diâmetro médio das partículas é influenciado por diversos fatores como propriedades físicas das emulsões (viscosidade e concentração de sólidos), variáveis operacionais do processo de atomização bem como pela temperatura do sistema de secagem. Ao contrário da tendência que existe de que emulsões com menores tamanhos de gota resultam em partículas com melhores eficiências de encapsulação, não existe uma correlação comprovada entre o tamanho das

partículas e suas propriedades (estabilidade, retenção de óleo, eficiência de encapsulação, dentre outras) e nem entre o diâmetro das gotas e das partículas (JAFARI et al., 2008).

Tabela 5.18. Diâmetro médio das partículas produzidas a partir das diferentes emulsões.

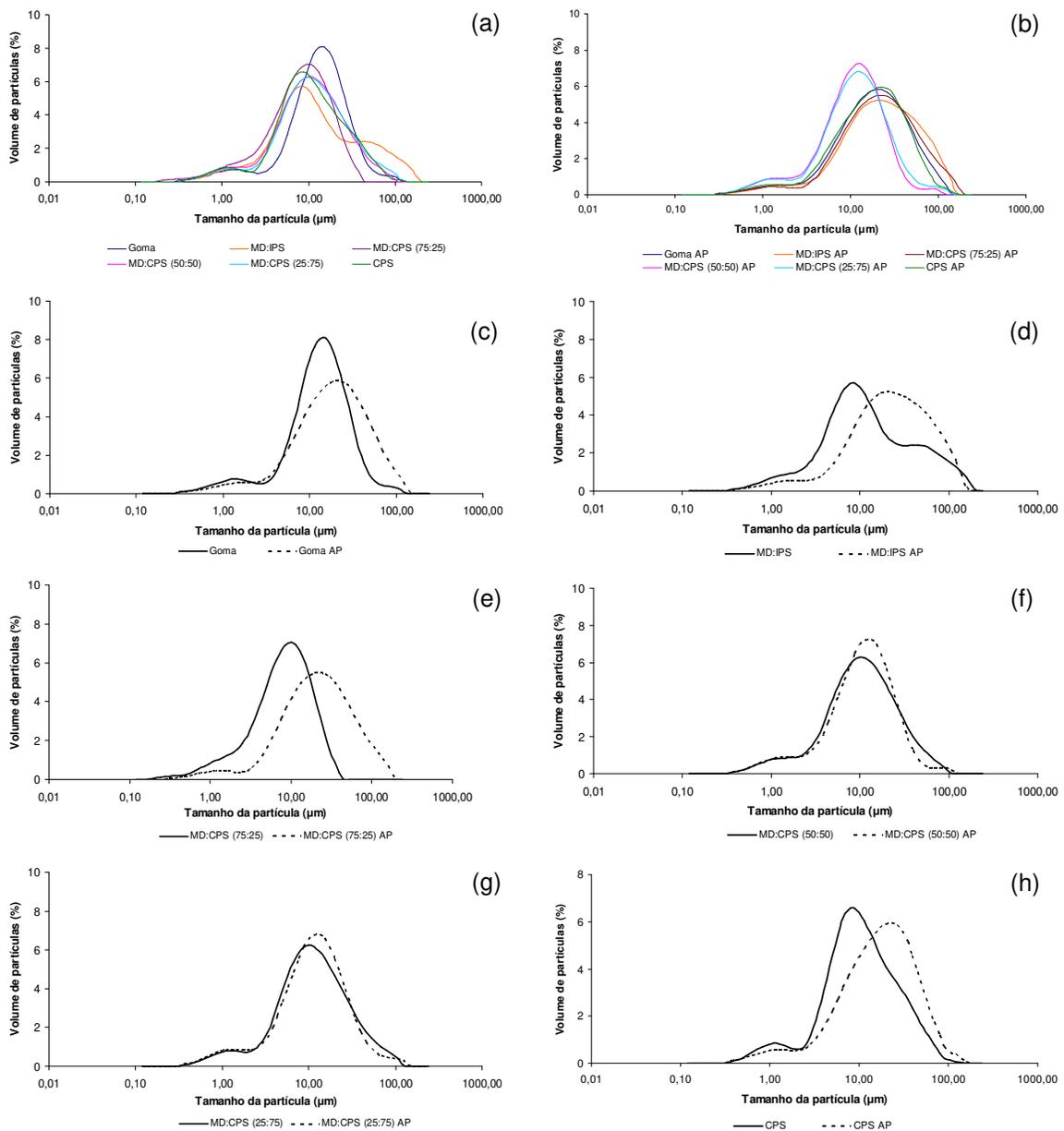
	Diâmetro médio das partículas – D ₄₃ (µm)	
	Sem AP	Com AP
Goma	14,03 ± 1,57 ^{aA}	25,26 ± 3,69 ^{bA}
MD:IPS (75:25)	21,27 ± 5,89 ^{aA}	29,04 ± 2,12 ^{aB}
MD:CPS (75:25)	9,25 ± 0,31 ^{aB}	28,09 ± 2,28 ^{bAB}
MD:CPS (50:50)	14,41 ± 0,63 ^{aA}	13,76 ± 0,87 ^{aC}
MD:CPS (25:75)	15,65 ± 0,72 ^{aA}	15,14 ± 0,59 ^{aC}
CPS (100)	15,47 ± 1,16 ^{aA}	21,02 ± 0,96 ^{bD}

AP: alta pressão de homogeneização; MD: maltodextrina; IPS: isolado proteico de soja; CPS: concentrado proteico de soro

Médias avaliadas pelo teste de Tukey. Médias com a mesma letra minúscula, para o mesmo material de parede, são estatisticamente iguais ($p \geq 0,05$). Médias com a mesma letra maiúscula, para uma mesma condição de homogeneização, são estatisticamente iguais ($p \leq 0,05$).

As curvas de distribuição de tamanho de partículas para as micropartículas de diferentes materiais de parede encapsulando óleo essencial de manjerição estão apresentadas na Figura 5.11. Em função das diferentes características dos materiais de parede foram observadas variações nas curvas de distribuição de tamanho de partículas.

Para todos os tratamentos, foi observada uma distribuição unimodal, ou seja, apresenta um pico representativo da amostra, acompanhando de um “ombro”. Um fato interessante observado foi o deslocamento para a direita de todas as curvas de distribuição de partículas, para o caso das partículas produzidas a partir de emulsões homogeneizadas a 50 MPa. Este deslocamento



AP: alta pressão de homogeneização; MD: maltodextrina; IPS: isolado proteico de soja; CPS: concentrado proteico de soro

Figura 5.11. Distribuição de tamanho de partícula (a) comparação entre todas as partículas produzidas sem aplicação de AP na emulsão; (b) com aplicação de AP (50 MPa) na emulsão; (c, d, e, f, g, h) variação na distribuição de tamanho de partícula, pelo efeito da aplicação da AP (50 MPa) nas emulsões.

indica um aumento no volume das partículas com maior diâmetro médio. De acordo com Jafari et al. (2008), em alguns casos é desejável a produção de partículas grandes de modo a facilitar a hidratação do material encapsulado. Partículas pequenas tendem a se dispersar muito pouco, especialmente em água fria, formando grumos na superfície do líquido.

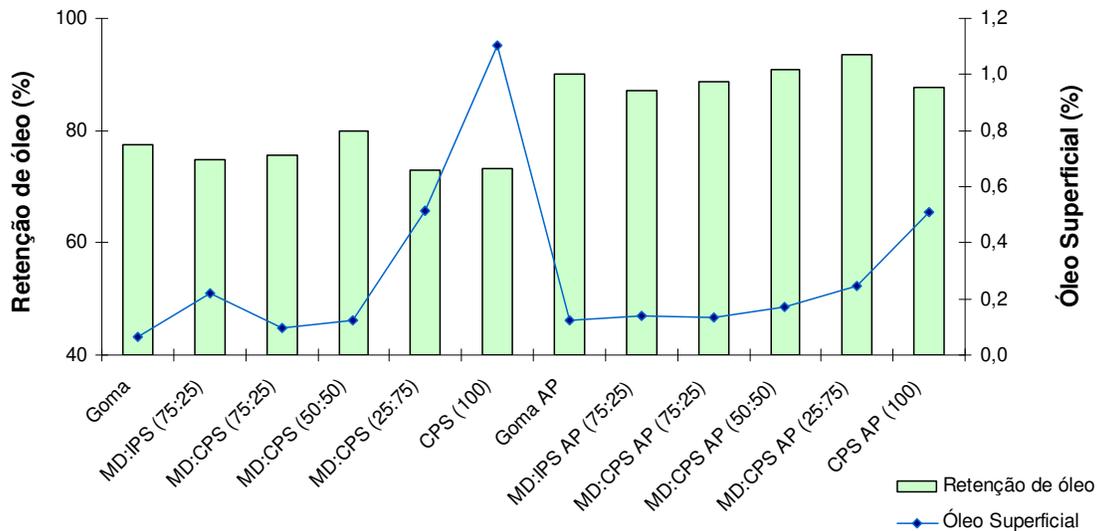
5.2.3.4. Retenção de óleo, óleo superficial e eficiência de encapsulação

Na figura 5.12 estão apresentados os resultados de retenção de óleo e óleo superficial para as partículas contendo óleo essencial de manjeriço encapsulado. Para todos os materiais de parede, verificou-se um aumento significativo ($p \leq 0,05$) na retenção de óleo e uma diminuição no teor de óleo superficial com a utilização de homogeneização a alta pressão.

Observa-se que as partículas de MD:IPS, que apresentaram maior tamanho de gota (D_{32}), apresentam baixa retenção de óleo, tanto nas partículas produzidas com emulsão sem alta pressão como nas que foram submetidas à alta pressão. Entretanto, não é possível estabelecer uma relação precisa entre tamanho de gota da emulsão e retenção de óleo. Isso pode estar acontecendo pelo fato do diâmetro médio das gotas ter sido muito próximo para todos os materiais de parede estudadas, exceto para MD:IPS.

Partículas produzidas com goma arábica não foram as mais eficientes na retenção de óleo. Entretanto, estas apresentaram baixa concentração de óleo superficial, o que pode ser uma característica favorável do ponto de vista de estabilidade e vida útil do material encapsulado. Dentre as partículas produzidas com MD:CPS, verificou-se que sem a aplicação de alta pressão, as partículas com menor concentração (MD:CPS 75:25 e MD:CPS 50:50) de proteína retiveram mais óleo e apresentaram menor concentração de óleo superficial. Partículas produzidas com 100% de CPS, independente da condição de homogeneização,

apresentaram a menor retenção de óleo e a maior concentração de óleo superficial.



AP: alta pressão de homogeneização; MD: maltodextrina; IPS: isolado proteico de soja; CPS: concentrado proteico de soro

Figura 5.12. Retenção de óleo e teor de óleo superficial das partículas de óleo essencial de manjeriço microencapsulado.

Os resultados obtidos estão de acordo com os reportados por Young et al. (1993 a e b), que estudaram a microencapsulação de gordura anidra de leite (manteiga desidratada) com CPS, MD:CPS e CPS:Lactose. Os autores observaram que a utilização de CPS em combinação foi mais eficiente na retenção da gordura, do que quando utilizada sozinha. Segundo os autores, em face da alta hidrofobicidade das proteínas do soro de leite, ao se aumentar a hidrofiliabilidade do sistema, com a substituição parcial da proteína por maltodextrina ou lactose, evita-se de forma eficiente a migração dos compostos hidrofóbicos do

material de recheio para a superfície ou para fora das partículas. Isso permite compreender a razão da baixa retenção de óleo e a elevada concentração de óleo superficial nas partículas com maior concentração de CPS.

A presença de óleo superficial influencia adversamente as propriedades físicas dos pós, como escoamento, densidade aparente e dispersibilidade, e pode acelerar o processo de oxidação lipídica e reduzir a estabilidade (BAE e LEE, 2008).

Um parâmetro de qualidade muito importante do processo de microencapsulação de óleos por *spray-drying* é eficiência de encapsulação, que é a porcentagem de óleo efetivamente encapsulado em relação ao inicial (Tabela 5.19). No cálculo da eficiência de encapsulação apenas o que foi efetivamente encapsulado é considerado e, portanto, o que foi perdido por evaporação e também o óleo presente na superfície das partículas são subtraídos do óleo inicial. Para todos os materiais de parede, observou-se um aumento expressivo na eficiência de encapsulação com a homogeneização das emulsões utilizando alta pressão (50 MPa).

Tabela 5.19. Eficiência de encapsulação de óleo essencial de manjeriço.

	Eficiência de Encapsulação (%)	
	Sem AP	Com AP
Goma	74,69	88,21
MD:IPS (75:25)	71,10	85,08
MD:CPS (75:25)	70,64	96,79
MD:CPS (50:50)	82,55	87,96
MD:CPS (25:75)	66,49	90,25
MD:CPS (0:100)	60,79	81,72

AP: alta pressão de homogeneização; MD: maltodextrina; IPS: isolado proteico de soja; CPS: concentrado proteico de soro

De forma semelhante, Bylaite et al. (2001) observaram uma maior eficiência de encapsulação (85,88; 83,05 e 81,75%) de óleo essencial de cominho (*Carum carvi* L.) quando CPS foi utilizado juntamente com maltodextrinas, do que quando foi utilizado sozinho (78,81%). Kim e Morr (1996) encapsularam óleo essencial de laranja usando como material de parede goma arábica e CPS, verificando que a eficiência de encapsulação foi maior para proteína do soro de leite (99,3%) do que para a goma arábica (96,3%). A eficiência de encapsulação de óleo de abacate encapsulado com Malto:CPS e CPS puro foi inferior (45-66%) à do presente trabalho, muito provavelmente em função do elevado teor de óleo superficial observado pelos autores (BAE e LEE, 2008).

Valores de eficiência de encapsulação próximos foram obtidos por Baranauskiene et al. (2006), ao encapsular com CPS os óleos essenciais de orégano (73,2%), citronela (81%) e manjerona (76,4%), sem utilização de altas pressões de homogeneização. Estes mesmos autores obtiveram diferentes teores de óleo superficial para orégano (1,4%), citronela (15,2%) e manjerona (22,1%). De forma semelhante a este trabalho, os autores não conseguiram relacionar a eficiência de encapsulação ao diâmetro médio das gotas da emulsão. Isso leva a concluir que a composição química e as características do material de recheio podem apresentar maior efeito em parâmetros como eficiência de encapsulação e óleo superficial do que o diâmetro médio de gota e viscosidade da emulsão.

5.2.3.5. Retenção de voláteis

Dos três compostos avaliados, o linalol é o que está presente em maior concentração no óleo de manjeriçã e também o que foi retido em maior porcentagem. A retenção de linalol variou de 84,80 a 94,46% e de 81,44 a 92,97% para amostras não tratadas e tratadas com homogeneização a alta pressão, respectivamente (Tabela 5.20). Após a realização da avaliação estatística,

verificou-se que a retenção de voláteis não apresentou diferenças significativas entre os materiais de parede que não sofreram homogeneização a alta pressão. Entre os materiais tratados com alta pressão não se pode dizer que a goma apresentou a maior retenção já que, estatisticamente, sua retenção não apresentou diferença dos materiais MD:IPS (75:25) e MD:CPS (75:25). Não é possível observar nenhuma tendência em termos de retenção de voláteis quando a concentração de CPS é alterada, para ambas as condições de homogeneização. Para as condições MD:IPS (75:25) e MD:CPS (75:25) verifica-se, estatisticamente, a mesma eficiência de retenção, indicando que as duas proteínas em estudo não interferem na retenção de linalol.

Tabela 5.20. Retenção de linalol no óleo essencial de manjeriço encapsulado e teor de linalol nas micropartículas.

	Retenção de linalol (%)*		Teor de linalol (%)	
	Sem AP	Com AP	Sem AP	Com AP
Goma	94,5 ± 0,8 ^{aA}	93,0 ± 1,1 ^{aA}	27,66	32,15
MD:IPS (75:25)	91,8 ± 4,2 ^{aA}	86,5 ± 5,9 ^{aABC}	25,60	28,86
MD:CPS (75:25)	90,9 ± 6,9 ^{aA}	83,0 ± 4,8 ^{aABC}	25,16	31,48
MD:CPS (50:50)	84,8 ± 5,6 ^{aA}	81,4 ± 1,0 ^{aB}	27,44	28,08
MD:CPS (25:75)	93,9 ± 0,6 ^{aA}	88,0 ± 0,4 ^{bC}	24,47	31,13
MD:CPS (0:100)	89,6 ± 1,6 ^{aA}	84,6 ± 1,4 ^{aBC}	21,35	27,08

*Tempo de retenção: 12,9; Teor inicial de linalol no óleo essencial de manjeriço: 39,2%

AP: alta pressão de homogeneização; MD: maltodextrina; IPS: isolado proteico de soja; CPS: concentrado proteico de soro

Médias avaliadas pelo teste de Tukey. Médias com a mesma letra minúscula, para o mesmo material de parede, são estatisticamente iguais ($p \geq 0,05$). Médias com a mesma letra maiúscula, para uma mesma condição de homogeneização, são estatisticamente iguais ($p \leq 0,05$).

Para saber o quanto de cada composto volátil está realmente presente nas partículas, deve-se levar em consideração além da retenção de voláteis, a eficiência de encapsulação ou o teor de óleo retido. Embora o material de parede MD:IPS (75:25) esteja entre os que mais retiveram linalol, não se pode dizer que suas partículas estão entre as que mais retêm este composto, já que a eficiência

de encapsulação (ou a retenção de óleo) deste material é baixa, quando comparada aos outros materiais. Por isso, foi realizado um cálculo para saber quanto de linalol realmente se tem nas diferentes partículas e para isso levou-se em consideração: a eficiência de encapsulação de cada material de parede, o teor inicial de linalol e a retenção deste composto. Estes dados também estão apresentados na Tabela 5.20. Embora no Anexo A estejam contidas as concentrações de linalol (39,6%), eucaliptol (25,7%) e cânfora (12,7%) do óleo essencial de manjeriço, este foi novamente analisado nas mesmas condições de análise do óleo encapsulado. Possivelmente em razão da diferença de equipamentos, colunas, metodologias e até em razão do tempo de armazenamento da amostra, obteve-se para os principais voláteis, valores de concentrações um pouco diferentes: linalol (39,2%), eucaliptol (20,3%) e cânfora (11,7%). Então, em todos os cálculos deste trabalho, foram utilizadas estas concentrações iniciais de voláteis para o óleo essencial de manjeriço.

Através dos dados apresentados na Tabela 5.20 é possível ver uma variação na quantidade de linalol retida pelas partículas dos diferentes materiais de parede. Verifica-se que a quantidade de linalol encapsulado é maior nas partículas originárias de emulsões homogêneas a alta pressão e que, independente da condição de homogeneização, a goma arábica foi o material de parede mais eficiente em reter este composto. Também verificou-se uma redução no teor de linalol na partícula, quando comparado com o presente no óleo livre inicial. Isso ocorreu predominantemente em razão da perda de óleo e também, em menor escala, pela perda de voláteis durante o processo de microencapsulação

Bertolini et al. (2001), estudando a retenção de monoterpenos após a microencapsulação destes utilizando goma arábica como material de parede, obtiveram retenções de linalol variando de 44 a 66%, bem inferiores às obtidas no presente trabalho. De acordo com os autores, a alta polaridade e, conseqüentemente, a maior solubilidade deste composto no meio aquoso, resulta na maior capacidade de difusão através da matriz, durante o processo de secagem, incorrendo em maiores perdas destes compostos. Neste mesmo

trabalho, o linalol foi encapsulado em sua forma pura, enquanto que no presente trabalho, ele era um dos compostos presentes no óleo de manjerição. Esta diferença nos resultados pode estar relacionada a diferenças na composição do material de recheio, que pode impactar na diversidade das ligações intermoleculares, afetando a estabilidade do material no meio.

Com relação ao eucaliptol, verifica-se que a retenção foi bem inferior à observada para o linalol, variando de 52,95 a 68,23% e 61,07 a 79,67% para as condições não tratadas e tratadas com homogeneização a alta pressão, respectivamente (Tabela 5.21). Não é possível observar nenhuma tendência em termos de retenção de voláteis quando a concentração de CPS é alterada. Com relação às duas proteínas em estudo, quando elas estão na mesma concentração, não se verifica, estatisticamente, diferença na eficiência de retenção. Pode-se dizer que a condição de homogeneização não interfere na retenção de eucaliptol, já que para nenhum tratamento foi observada diferença estatística entre amostras que foram tratadas e não foram tratadas com homogeneização a alta pressão. De forma semelhante ao que foi observado para o linalol, quando a eficiência de encapsulação é considerada nos diferentes tratamentos, verifica-se que amostras homogeneizadas a alta pressão apresentam maior porcentagem de eucaliptol, pelo fato de reterem maior quantidade de óleo que as partículas que não foram homogeneizadas a alta pressão.

A retenção média da cânfora, para os diferentes materiais de parede, ficou acima da retenção de eucaliptol, mas abaixo da retenção do linalol (Tabela 5.22). Pequenas variações na retenção da cânfora são observadas, independente do material de parede e da condição de homogeneização. De forma semelhante ao observado para os outros dois compostos voláteis em estudo, não é possível observar nenhuma tendência em termos de retenção de voláteis quando a concentração de CPS é alterada. Entre os tratamentos MD:IPS (75:25) e MD:CPS (75:25) não foram observadas variações significativas em termos de eficiência de retenção, indicando que a natureza da proteína não interferiu nesta variável.

Tabela 5.21. Retenção de eucaliptol no óleo essencial de manjeriço encapsulado e teor de eucalipto nas micropartículas.

	Retenção de eucaliptol (%*)		Teor de eucaliptol (%)	
	Sem AP	Com AP	Sem AP	Com AP
Goma	68,2 ± 0,8 ^{aA}	79,7 ± 5,9 ^{aA}	10,35	14,27
MD:IPS (75:25)	53,0 ± 17,1 ^{aAB}	54,9 ± 11,1 ^{aAB}	7,64	9,48
MD:CPS (75:25)	60,5 ± 10,9 ^{aAB}	64,7 ± 5,7 ^{aAB}	8,67	12,70
MD:CPS (50:50)	61,9 ± 1,7 ^{aB}	61,1 ± 2,0 ^{aB}	10,38	10,90
MD:CPS (25:75)	64,8 ± 12,6 ^{aAB}	65,4 ± 1,0 ^{aB}	8,75	11,97
MD:CPS (0:100)	61,1 ± 4,38 ^{aAB}	62,1 ± 3,5 ^{aB}	7,54	10,31

*Tempo de retenção: 10,3; Teor inicial de eucaliptol no óleo essencial de manjeriço: 20,3
 AP: alta pressão de homogeneização; MD: maltodextrina; IPS: isolado proteico de soja; CPS: concentrado proteico de soro
 Médias avaliadas pelo teste de Tukey. Médias com a mesma letra minúscula, para o mesmo material de parede, são estatisticamente iguais ($p \geq 0,05$). Médias com a mesma letra maiúscula, para uma mesma condição de homogeneização, são estatisticamente iguais ($p \leq 0,05$).

Tabela 5.22. Retenção de cânfora no óleo essencial de manjeriço encapsulado e teor de cânfora nas micropartículas.

	Retenção de cânfora (%)*		Teor de cânfora (%)	
	Sem AP	Com AP	Sem AP	Com AP
Goma	82,1 ± 0,6 ^{aA}	85,6 ± 0,8 ^{bA}	7,17	8,84
MD:IPS (75:25)	83,5 ± 5,1 ^{aAB}	78,3 ± 4,0 ^{aABC}	6,95	7,80
MD:CPS (75:25)	81,8 ± 5,2 ^{aAB}	76,8 ± 5,2 ^{aABC}	6,76	8,70
MD:CPS (50:50)	78,4 ± 4,2 ^{aA}	75,5 ± 0,6 ^{aB}	7,57	7,77
MD:CPS (25:75)	84,6 ± 1,0 ^{aB}	81,4 ± 0,5 ^{aC}	6,58	8,60
MD:CPS (0:100)	82,2 ± 0,5 ^{aA}	79,9 ± 2,5 ^{bABC}	5,85	7,64

*Tempo de retenção: 14,8; Teor inicial de cânfora no óleo essencial de manjeriço: 11,7
 AP: alta pressão de homogeneização; MD: maltodextrina; IPS: isolado proteico de soja; CPS: concentrado proteico de soro
 Médias avaliadas pelo teste de Tukey. Médias com a mesma letra minúscula, para o mesmo material de parede, são estatisticamente iguais ($p \geq 0,05$). Médias com a mesma letra maiúscula, para uma mesma condição de homogeneização, são estatisticamente iguais ($p \leq 0,05$).

Conforme realizado para os demais voláteis em estudo, o teor de cânfora presente na partícula em função tanto da eficiência de encapsulação como na retenção da cânfora, foi calculado. Como a concentração deste composto é baixa, não se verificam diferenças tão expressivas no teor final de cânfora como as observadas para os demais compostos, entre amostras tratadas e não tratadas com homogeneização a alta pressão. Verificou-se uma redução no teor de cânfora na partícula em relação ao óleo puro. De forma semelhante ao que foi comentado para os demais voláteis, esta redução se deu em razão da perda de óleo e também deste volátil, durante o processo de encapsulação.

Avaliando quimicamente estes três compostos, é possível explicar as diferenças observadas na retenção dos compostos. As forças entre as moléculas governam as propriedades físicas da matéria e contribuem para explicar as diferenças entre as substâncias. A volatilidade de uma substância depende, dentre outras coisas, da sua pressão de vapor, que por sua vez, depende da facilidade que as moléculas do líquido encontram para escapar das forças que as mantêm juntas (ATKINS e JONES, 2007). De modo bem generalista, no sistema em estudo tem-se atuando forças intermoleculares, do tipo dipolo induzido (Van der Walls) e dipolo permanente (ligação de hidrogênio). As interações do tipo de Van der Walls são resultantes de forças de atração ou repulsão que se formam em razão da presença de dipolos formados momentaneamente nas moléculas. São interações fracas, mas muito dinâmicas, ou seja, são formadas e quebradas constantemente. Já as interações do tipo ligação de hidrogênio, ocorrem quando o hidrogênio está ligado a um átomo muito eletronegativo como fluor, oxigênio ou nitrogênio, e se caracteriza por ser uma interação mais forte e mais estável, quando comparada à interação do tipo Van der Walls.

O linalol e o eucaliptol possuem a mesma fórmula química mas, no entanto, possuem temperatura de ebulição, distribuição espacial e funções químicas diferentes, sendo o primeiro um álcool e o outro, um éter (Figura 5.13 a e b). Em

termos de distribuição espacial, verifica-se que a molécula do linalol é linear, alongada e, em um plano tridimensional, apresenta geometria aproximadamente cilíndrica. Moléculas alongadas apresentam maior área superficial e, portanto, suas cargas parciais instantâneas (ou dipolos) são capazes de realizar um maior número de interações com as moléculas adjacentes, resultando em uma interação mais forte. Por outro lado, as cargas parciais instantâneas de moléculas de geometria esferoidais, como o eucaliptol, não possuem interações muito fortes, já que o contato entre as moléculas é limitado a uma região muito pequena. Além disso, o linalol possui uma hidroxila (-OH) em sua molécula, que pode formar fortes interações intermoleculares do tipo ligações de hidrogênio. Estes dois fatores contribuem para a menor volatilidade e, conseqüentemente, maior retenção do linalol quando comparado ao eucaliptol (ATKINS e JONES, 2007).

Embora a fórmula molecular da cânfora não seja igual a do linalol e do eucaliptol, ela é bem parecida, diferindo apenas em 2 átomos de hidrogênio (Figura 5.13 c). Fazendo uma comparação relacionada à distribuição espacial das moléculas, percebe-se que a cânfora, assim como o eucaliptol, possui uma estrutura mais fechada, no plano tridimensional se assemelha a uma esfera, tendo então menor área superficial para fazer interações com outras moléculas (Figura 5.13). Isso explica sua menor retenção quando comparada ao linalol. Comparando a cânfora com o eucaliptol, verifica-se que, embora a distribuição espacial das moléculas seja similar, a cânfora é uma cetona (C=O), enquanto que o eucaliptol é um éter (C-O-C). A dupla ligação da cetona faz com o que o oxigênio fique carregado negativamente (dipolo permanente) e seja capaz de formar interações do tipo ligações de hidrogênio com outras moléculas, que são interações mais fortes que as do tipo Van der Waals, realizadas pelo eucaliptol. Por este motivo, as moléculas de cânfora estão mais fortemente ligadas, sendo então esta molécula menos volátil que o eucaliptol, o que explica então sua maior retenção (ATKINS e JONES, 2007).

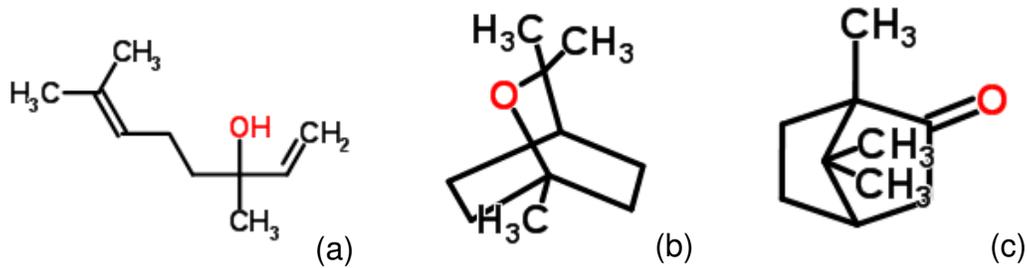


Figura 5.13. Estruturas químicas: (a) linalol, (b) eucaliptol e (c) cânfora. (Fonte: ChemSpider, 2012).

5.2.4. Conclusões da 2^o etapa

Nesta etapa, todas as emulsões, independentemente do material de parede e da condição de homogeneização, foram estáveis. De um modo geral, a homogeneização a alta pressão resultou na redução de tamanho de gota de todas as emulsões, independente do material de parede e da concentração de proteína. Com relação à distribuição de tamanho de gota das emulsões formadas, apenas as emulsões a base de goma arábica apresentaram distribuição unimodal. Na distribuição das demais emulsões foram observados dois picos, sendo que o segundo pode estar relacionado à coalescência das gotas.

As emulsões de goma arábica e MD:IPS apresentaram maior viscosidade e comportamento distinto quando submetidas à alta pressão de homogeneização: uma redução e um aumento na viscosidade em função da utilização da homogeneização foi observado para as emulsões de goma arábica e MD:IPS, respectivamente. Nas emulsões de MD:CPS e CPS, verificou-se menor viscosidade, com curvas praticamente sobrepostas, independente da condição de homogeneização.

Após a secagem por atomização, as partículas de MD:CPS foram as que apresentaram menor perda por dessecação e também menor densidade relativa. De um modo geral, a pressão de homogeneização favoreceu a redução da umidade das partículas, mas não teve efeito significativo na densidade aparente.

Não foi observada uma relação direta entre o tamanho de gota e o tamanho das partículas com a retenção de óleo, teor de óleo superficial e eficiência de encapsulação.

Nas partículas resultantes de emulsões homogeneizadas a 50 MPa verificou-se um aumento expressivo na retenção de óleo, na redução do óleo superficial, e conseqüentemente, na eficiência de encapsulação, para todos os materiais de parede utilizados, deixando claro o efeito positivo da homogeneização a alta pressão nestas variáveis.

Dentre os materiais estudados, a goma arábica apresentou um bom desempenho, independente da condição de homogeneização, com boa retenção de óleo e com teor de óleo superficial relativamente baixo. As partículas de MD:IPS (75:25) e MD:CPS (0:100), dentre as estudadas, foram as que apresentaram pior desempenho, com menor eficiência de encapsulação. Todas as partículas de MD:CPS, apresentaram bons resultados de retenção de óleo, óleo superficial e eficiência de encapsulação.

Dos três voláteis analisados, o linalol é o que se apresenta em maior concentração e também o que, em termos de porcentagem, foi o que apresentou maior retenção. Embora tenham sido observadas algumas diferenças estatísticas na retenção de voláteis entre os materiais de parede estudados, não se pode dizer que houve algum que se destacou em evitar a perda dos voláteis. Em relação à homogeneização a alta pressão, pode-se dizer que, no geral, ela não tem influência na maior ou menor retenção de voláteis.

Com base nas características da partícula, é possível dizer que, para encapsulação de óleo essencial de manjeriço, nas condições utilizadas neste

trabalho, o material de parede MD:CPS, principalmente nas proporções 75:25 e 50:50, é mais eficiente que a goma arábica, sendo então uma opção vantajosa para a substituição desse último material.

5.3. Estabilidade das micropartículas contendo óleo essencial de manjeriço ao armazenamento em diferentes temperaturas e umidades relativas

Nesta etapa foi realizado o estudo de estabilidade das micropartículas contendo óleo essencial de manjeriço, quando armazenadas em três condições: potes herméticos à 25 °C, potes herméticos à 50 °C e potes abertos em ambiente à 50% de umidade relativa e 25 °C. As duas temperaturas de trabalho bem como as condições de armazenamento foram escolhidas pensando em se trabalhar com uma condição real de armazenamento (25 °C; potes herméticos) e com outra condição pouco provável de ser utilizada (50 °C, UR = 50%), mas que, no entanto, permitira verificar claramente o efeito da temperatura e também da umidade relativa neste sistema. O armazenamento a 50 % UR foi escolhido com base no gráfico de velocidade de reação x UR, apresentado por Fennema (1996). Nesta umidade relativa, o escurecimento não enzimático está próximo de sua taxa máxima, assim como a oxidação não enzimática. Optou-se por não trabalhar com a umidade relativa na qual teria-se o máximo de escurecimento e oxidação não enzimáticos, para evitar que as partículas se desfizessem (ou se solubilizassem), antes do fim do período de estudo, em razão da alta umidade relativa do ambiente.

Com base nos resultados obtidos até aqui, os materiais de parede escolhidos para este estudo foram: goma arábica, MD:IPS (75:25) e MD:CPS (75:25), não homogeneizados e homogeneizados a alta pressão. Os parâmetros de qualidade avaliados foram cor, diâmetro médio e distribuição de tamanho, retenção de óleo, óleo superficial, eficiência de encapsulação, retenção de voláteis e morfologia. Para avaliação de cor e retenção de voláteis, o óleo essencial de manjeriço armazenado em pote hermético a 5 °C foi utilizado como amostra controle. O óleo também foi armazenado por 60 dias, em potes herméticos, nas temperaturas de 25 °C e 50 °C, e em umidade relativa de 50%, à 25 °C.

A goma arábica foi escolhida por ser reconhecidamente o melhor material de parede para microencapsulação de óleos essenciais por *spray-drying*, e, portanto, ser o material de comparação em termos de eficiência. Dentre os materiais a base de CPS, escolheu-se estudar a estabilidade do MD:CPS (75:25). Esta escolha foi feita em termos econômicos já que, com base no desempenho do material, esta condição apresentou desempenho muito similar à MD:CPS (50:50). Entre as duas condições não foram observadas diferenças significativas na retenção de óleo e na retenção de linalol (composto de interesse). Considerando que, além de eficiência, o material precisa ter valor competitivo, optou-se por estudar, entre estas duas condições, a de menor custo: valor de mercado da maltodextrina (R\$ 2,40/kg - cotação realizada em 07/2012, na Corn Products) é inferior ao da proteína de soro (U\$ 18,00/kg – cotação realizada em 01/2012, na Alibra). O MD:IPS (75:25) foi escolhido por ter a mesma quantidade de proteína que MD:CPS (75:25), o que permite que seja realizada uma comparação, em termos de eficiência, entre estas duas proteínas. Além disso, esta condição foi a que, juntamente com a CPS (100) apresentou piores resultados. No entanto, não se sabe se realmente se trata de um material de parede de baixa eficiência ou se apenas não é eficiente em reter compostos voláteis durante o processo de produção das partículas, mas possui boa estabilidade à temperatura, alta umidade relativa ou mesmo à estocagem.

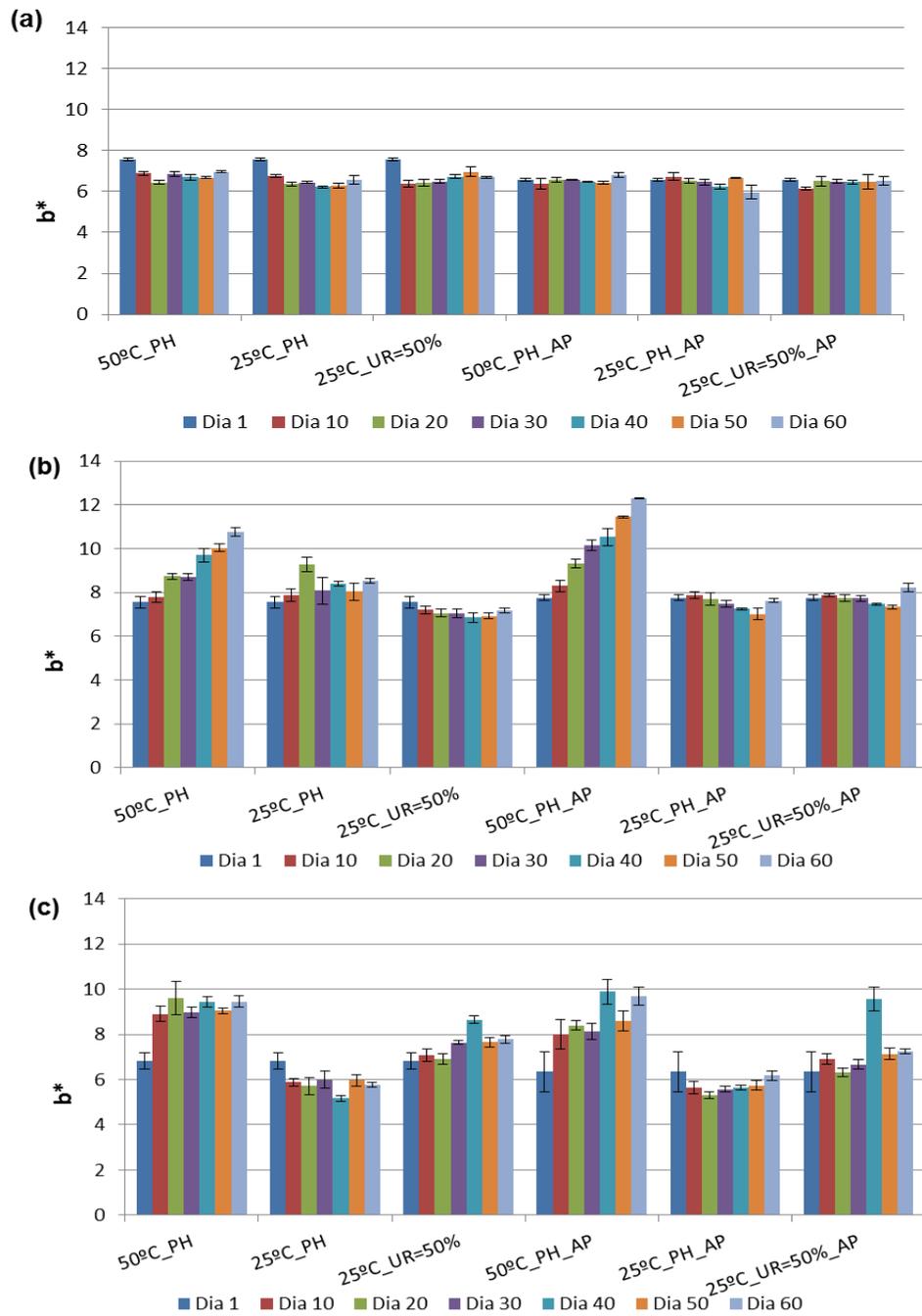
5.3.1. Cor

Diferenças na cor dos pós foram avaliadas com base em 3 coordenadas: L* - luminosidade, que varia de 0 (preto) - a 100 (branco); a*, que varia de vermelho (+) a verde (-) e b*, que varia de amarelo (+) a azul(-). As coordenadas a* e b* foram utilizadas no cálculo do croma (C*), que indica saturação ou intensidade da cor.

Independentemente do tempo de armazenamento, todas as amostras apresentaram valores muito próximos de L*, na ordem de 90, indicando que os

pós são de cor branca. Com relação ao a^* , verificam-se valores negativos para amostras de goma e goma AP e para as demais amostras, valores positivos. Uma tendência de aumento ao valor absoluto de a^* ao longo do armazenamento nas amostras armazenadas a 50 °C foi verificado. Já para as amostras armazenadas à 25 °C, embora algumas alterações no módulo de a^* tenham sido observadas ao longo do armazenamento, não se verificou uma tendência desta coordenada para nenhum dos materiais de parede. A ordem de grandeza dos resultados obtidos para esta coordenada foi muito baixa, sendo observadas variações de - 0,38 a - 0,21 para amostras a base de goma, e de 0 a 1,19 para demais amostras. Embora as coordenadas L^* e a^* tenham sido obtidas, elas não serão apresentadas em gráficos ou tabelas, em função da pouca variabilidade destes dados e da pequena ordem de grandeza, no caso do a^* .

Os resultados obtidos para a coordenada b^* estão apresentados na Figura 5.14. Alterações neste parâmetro das micropartículas produzidas a partir de diferentes materiais de parede podem ser observadas. A utilização de homogeneização a alta pressão não teve influência estatística nesta resposta. A goma arábica não apresentou grandes variações na coordenada b^* durante o armazenamento, indicando uma tendência de manutenção da cor, independente da temperatura de armazenamento e da umidade relativa. Os materiais MD:IPS e MD:CPS não apresentaram grandes variações em b^* quando armazenados à temperatura de 25 °C, tanto em potes herméticos como em UR = 50%. No entanto, quando armazenados na temperatura de 50 °C, verificou-se um "amarelamento", ou seja, um escurecimento progressivo dos pós, que resultou em um aumento significativo ($p \leq 0,05$) na coordenada b^* . Comparando-se as proteínas IPS e CPS em estudo, verifica-se que a combinação MD:IPS, produziu pós ligeiramente mais amarelados (na prática, mais escuros) e com maior aumento de b^* ao longo do armazenamento à 50 °C que a combinação MD:CPS.



AP: alta pressão de homogeneização; MD: maltodextrina; IPS: isolado proteico de soja; CPS: concentrado proteico de soro.

Figura 5.14. Variação do b^* ao longo do armazenamento das micropartículas de (a) goma arábica, (b) MD:IPS (75:25), (c) MD:CPS (75:25).

Considerando a composição dos pós, bem como as condições de armazenamento que apresentaram este “amarelamento” (MD:IPS e MD:CPS), pode-se dizer que se trata de um escurecimento não enzimático, resultante da reação de Maillard, que é uma reação química que ocorre entre o grupo amina de um composto (ex. aminoácidos, proteína) com o grupo carbonila de outro composto (ex. carboidrato), quando estes estão juntos em um sistema e são submetidos a alta temperatura.

O escurecimento não enzimático é amplamente estudado em sistemas alimentícios, já que ele influencia a qualidade final do produto em termos de cor, qualidade nutricional e sabor. É importante saber da ocorrência desta reação química já que, dependendo da aplicação final deste produto, pode-se não desejar a presença de partículas escuras. Outro ponto importante é que a reação de Maillard pode gerar produtos de sabor agradável (como no pão e na carne), mas também pode produzir *off flavours*.

Quando se considera a microencapsulação de compostos voláteis com materiais contendo proteína, é importante determinar se o sistema vai ser estável durante o armazenamento. Caso o escurecimento não-enzimático ocorra, a cor dos pós vai ser afetada e mudanças no perfil de voláteis podem acontecer. A coordenada b^* também foi utilizada por Charve e Reineccius (2009) para avaliação do escurecimento não enzimático de *flavours* encapsulados com diferentes materiais de parede. O escurecimento não enzimático observado pelos autores foi resultante da interação entre a proteína do material de parede e o grupo carbonila presente no óleo essencial, resultando em grande perda dos voláteis em função desta reação química. Ao contrário do observado no presente trabalho, os autores reportaram que partículas a base de CPS apresentaram maior escurecimento que partículas a base de IPS, após 28 dias armazenadas à 40 °C. Eles relacionaram a intensidade do escurecimento ao conteúdo de lisina presente nas proteínas: 9,6% e 6,4% nos materiais CPS e IPS, respectivamente. De forma semelhante ao presente trabalho, partículas a base de goma arábica não

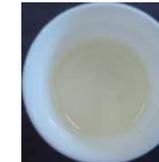
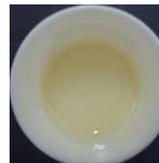
apresentaram escurecimento, provavelmente em razão do seu baixo conteúdo de lisina (0,06%).

Com relação ao croma, como este é um parâmetro resultante da interação das coordenadas a^* e b^* , e como a ordem de grandeza do a^* é de 40-50 vezes menor que a do b^* , os resultados do croma foram, na grande maioria dos pontos, semelhantes aos resultados de b^* . Quando alguma alteração foi observada, esta era de no máximo 0,01. Assim, estes resultados não são mostrados.

Foram feitos registros do óleo livre (Tabela 5.23), bem como das micropartículas (Tabela 5.24), através de imagens fotográficas, nas diferentes condições de armazenamento. A amostra controle apresentada na Tabela 5.23 refere-se ao óleo essencial de manjeriço armazenado à 5 °C, durante os 60 dias de armazenamento.

Com relação ao óleo não encapsulado (óleo puro), verificou-se que, ao armazená-lo a 25 °C, em uma UR = 50%, o óleo evaporava. Após 30 dias de armazenamento, só existia no recipiente de armazenamento um resíduo de cor amarelo escuro, fato que inclusive impossibilitou a coleta de amostra para realização das análises de retenção de voláteis. Com base nisso, pode-se dizer que, caso a utilização do óleo seja em algum produto/sistema exposto à elevada umidade relativa, a microencapsulação do óleo é uma excelente estratégia, já que evita a sua evaporação. Não foram observadas alterações na cor do óleo submetido às demais condições de armazenamento.

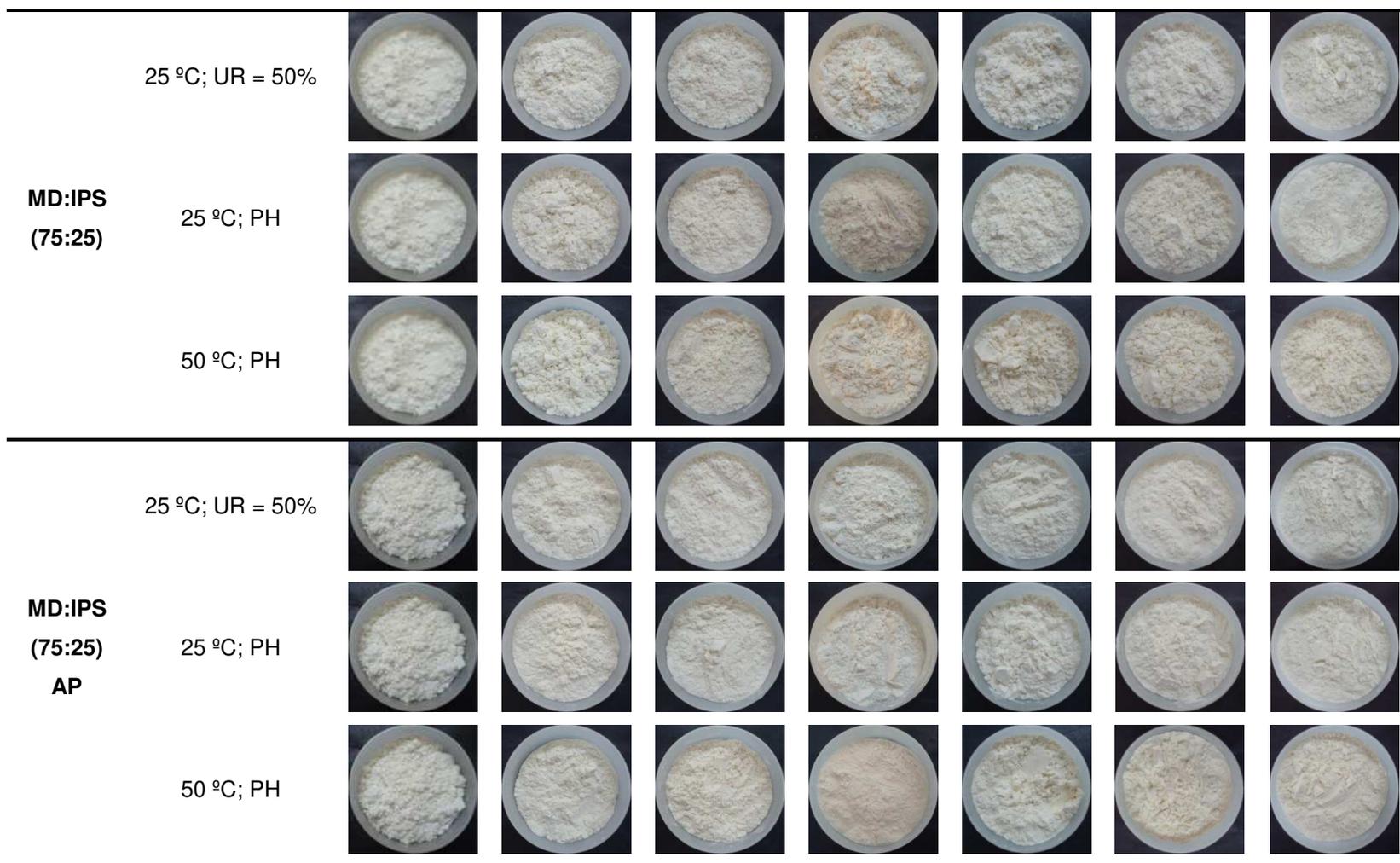
Tabela 5.23. Cor do óleo essencial de manjeriço armazenado em diferentes temperaturas e umidades relativas.

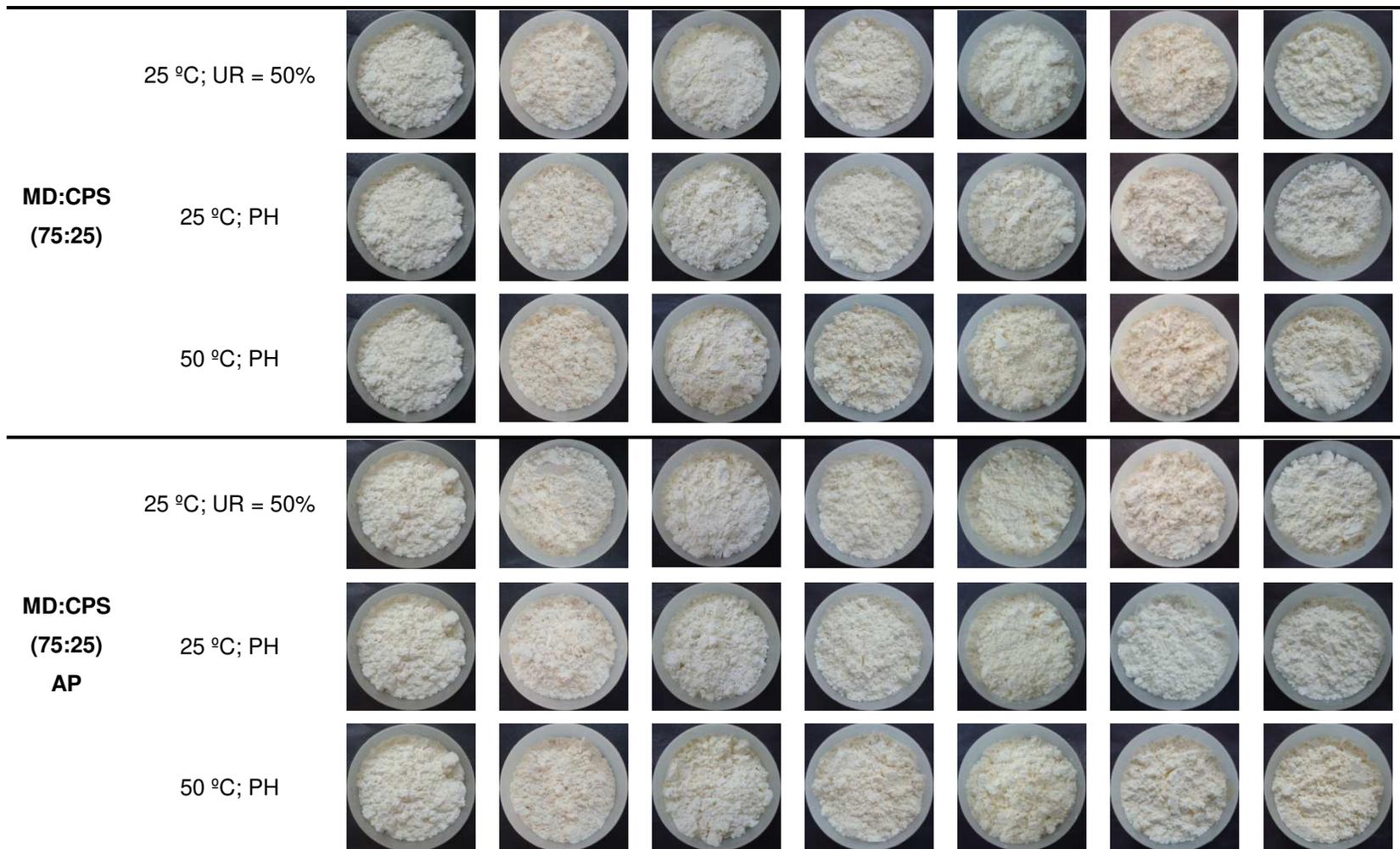
Condições de armazenamento	Dia 1	Dia 10	Dia 20	Dia 30	Dia 40	Dia 50	Dia 60
Óleo Controle							
25 °C; UR = 50%							
25 °C; PH							
50 °C; PH							

UR: umidade relativa; PH: potes herméticos

Tabela 5.24. Imagem das micropartículas armazenadas em diferentes condições.

Material de parede	Condição de armazenamento	Dia 1	Dia 10	Dia 20	Dia 30	Dia 40	Dia 50	Dia 60
Goma arábica	25 °C; UR = 50%							
	25 °C; PH							
	50 °C; PH							
Goma arábica AP	25 °C; UR = 50%							
	25 °C; PH							
	50 °C; PH							





MD: maltodextrina; IPS: isolado proteico de soja; CPS: concentrado proteico de soro; UR: umidade relativa; PH: potes herméticos, AP: alta pressão

Para as micropartículas foi possível, visualmente, comprovar o escurecimento das micropartículas a base de maltodextrina + proteína, armazenadas a 50 °C. Um escurecimento muito sutil foi observado nas amostras destes mesmos materiais de parede, quando armazenadas a 25 °C. Embora a goma arábica seja um polissacarídeo e possua em sua formulação uma pequena quantidade de proteína, não se observou nenhuma alteração de cor nas suas micropartículas, independente da condição de armazenamento. Isso pode ser em razão da baixa concentração de proteína presente neste material de parede, que é de aproximadamente 2%.

5.3.2. Diâmetro médio e distribuição de tamanho das micropartículas

O diâmetro médio das micropartículas armazenadas nas três condições de armazenamento em estudo está apresentado na Tabela 5.25. Como já havia sido observado na etapa anterior deste trabalho, partículas de MD:IPS foram as que apresentaram maior diâmetro, seguidas pelas partículas a base de goma arábica e MD:CPS.

Não se verificou influência da temperatura no tamanho das partículas, para um mesmo tratamento, ao longo do armazenamento. Todos os tratamentos (exceto MD:IPS, sem alta pressão) apresentaram variações pontuais no diâmetro médio, mas com uma tendência à manutenção deste parâmetro durante o armazenamento. Por outro lado, alterações no diâmetro médio foram observadas quando se armazenou as micropartículas em um ambiente de umidade relativa de 50%, o que pode ter sido resultado da aglomeração das mesmas. A aglomeração das partículas pode ser resultante tanto de um aumento da umidade das partículas, como também da presença de uma elevada quantidade de óleo na superfície. Por isso, do ponto de vista de qualidade, é desejável que não haja aglomeração das partículas ao longo do armazenamento.

Tabela 5.25. Diâmetro médio ($D_{4,3}$) das partículas ao longo do armazenamento.

Tratamentos		Diâmetro médio das partículas (μm)						
		Dia 1	Dia 10	Dia 20	Dia 30	Dia 40	Dia 50	Dia 60
Goma arábica	25 °C; 50% UR		28,57 ± 1,76	27,50 ± 1,85	25,06 ± 1,57	32,88 ± 2,01	30,33 ± 1,01	27,59 ± 0,52
	25 °C ; PH	23,16 ± 3,11	22,23 ± 1,01	21,94 ± 1,42	21,49 ± 0,77	23,82 ± 0,35	22,48 ± 0,57	23,71 ± 0,29
	50 °C ; PH		18,86 ± 0,89	17,41 ± 1,42	20,54 ± 0,45	20,10 ± 0,66	23,86 ± 0,26	22,80 ± 0,27
Goma arábica AP	25 °C; 50% UR		25,31 ± 1,07	23,27 ± 0,60	23,42 ± 0,90	28,89 ± 1,38	27,28 ± 0,47	21,89 ± 0,59
	25 °C ; PH	16,88 ± 2,39	15,49 ± 1,53	18,94 ± 1,25	20,39 ± 0,65	22,06 ± 0,42	24,05 ± 0,31	21,96 ± 0,09
	50 °C ; PH		19,36 ± 0,71	18,94 ± 1,25	19,13 ± 0,39	20,58 ± 1,34	20,47 ± 0,21	21,20 ± 0,19
MD:IPS (75:25)	25 °C; 50% UR		22,12 ± 2,71	24,86 ± 1,90	28,88 ± 2,32	22,34 ± 0,57	26,92 ± 0,81	23,46 ± 0,59
	25 °C ; PH	32,66 ± 1,99	19,41 ± 0,33	41,46 ± 4,27	33,80 ± 1,66	36,92 ± 1,15	39,39 ± 1,98	40,66 ± 2,07
	50 °C ; PH		22,01 ± 0,79	26,24 ± 0,69	16,63 ± 0,84	22,30 ± 0,65	23,34 ± 1,53	22,92 ± 0,50
MD:IPS (75:25) AP	25 °C; 50% UR		16,34 ± 1,04	21,68 ± 1,03	21,04 ± 1,41	20,38 ± 0,63	21,88 ± 0,74	22,03 ± 0,28
	25 °C ; PH	20,70 ± 0,96	18,51 ± 1,54	19,60 ± 1,05	18,6 ± 0,99	19,31 ± 0,08	18,88 ± 0,54	20,24 ± 0,43
	50 °C ; PH		18,14 ± 1,32	21,74 ± 0,97	19,77 ± 0,13	16,79 ± 0,81	20,02 ± 0,59	20,12 ± 1,08
MD:CPS (75:25)	25 °C; 50% UR		13,77 ± 0,39	16,64 ± 0,37	16,35 ± 0,83	18,19 ± 0,65	16,22 ± 0,27	15,40 ± 0,24
	25 °C ; PH	11,33 ± 0,97	10,46 ± 0,64	10,56 ± 0,25	10,55 ± 0,46	9,79 ± 0,23	12,20 ± 0,07	9,85 ± 0,127
	50 °C ; PH		12,18 ± 0,71	13,00 ± 0,33	12,35 ± 0,19	12,60 ± 1,07	13,72 ± 0,12	13,02 ± 0,81
MD:CPS (75:25) AP	25 °C; 50% UR		11,60 ± 0,19	12,3 ± 1,21	12,44 ± 0,26	16,64 ± 1,02	12,70 ± 0,17	12,66 ± 0,18
	25 °C ; PH	10,82 ± 0,57	10,33 ± 0,45	10,19 ± 0,08	9,90 ± 0,25	10,53 ± 0,34	10,40 ± 0,32	10,76 ± 0,12
	50 °C ; PH		10,92 ± 0,07	12,89 ± 1,27	10,28 ± 0,41	12,10 ± 0,41	11,00 ± 0,53	11,78 ± 0,32

AP: alta pressão de homogeneização; MD: maltodextrina; IPS: isolado proteico de soja; CPS: concentrado proteico de soro; PH: potes herméticos.

Para as micropartículas a base de MD:IPS, sem alta pressão, grandes variações do diâmetro médio foram observadas em cada tempo de armazenamento. Estas variações podem ser indicativo de uma falta de homogeneidade das micropartículas geradas neste tratamento.

Ao longo dos 60 dias de armazenamento das amostras, também se fez o monitoramento da distribuição do tamanho das partículas geradas a partir de emulsões não tratadas (Tabela 5.26) e tratadas com alta pressão (Tabela 5.27). As distribuições obtidas no dia 1 estão de acordo com o que foi observado na etapa anterior. De uma forma geral, não se observaram alterações significativas na distribuição de tamanho das partículas, independente da condição de armazenamento e do material de parede utilizado. O monitoramento da distribuição de tamanho das partículas e a observância das sobreposições das curvas (observado para todos os tratamentos, exceto MD:IPS), são indicativos de estabilidade das partículas às condições de estudo.

Partículas a base de goma arábica apresentaram distribuição unimodal, independente da temperatura de armazenamento e da condição de homogeneização. As amostras armazenadas em UR = 50% apresentaram um leve deslocamento da curva para direita, com o aumento no tempo de armazenamento, o que explica o aumento no diâmetro médio destas partículas. Este deslocamento pode ser resultante da aglomeração das partículas, resultante do aumento de umidade das mesmas. Nas demais condições, observam-se curvas sobrepostas, indicando uma estabilidade e homogeneidade de partículas de goma arábica encapsulando óleo essencial de manjeriço.

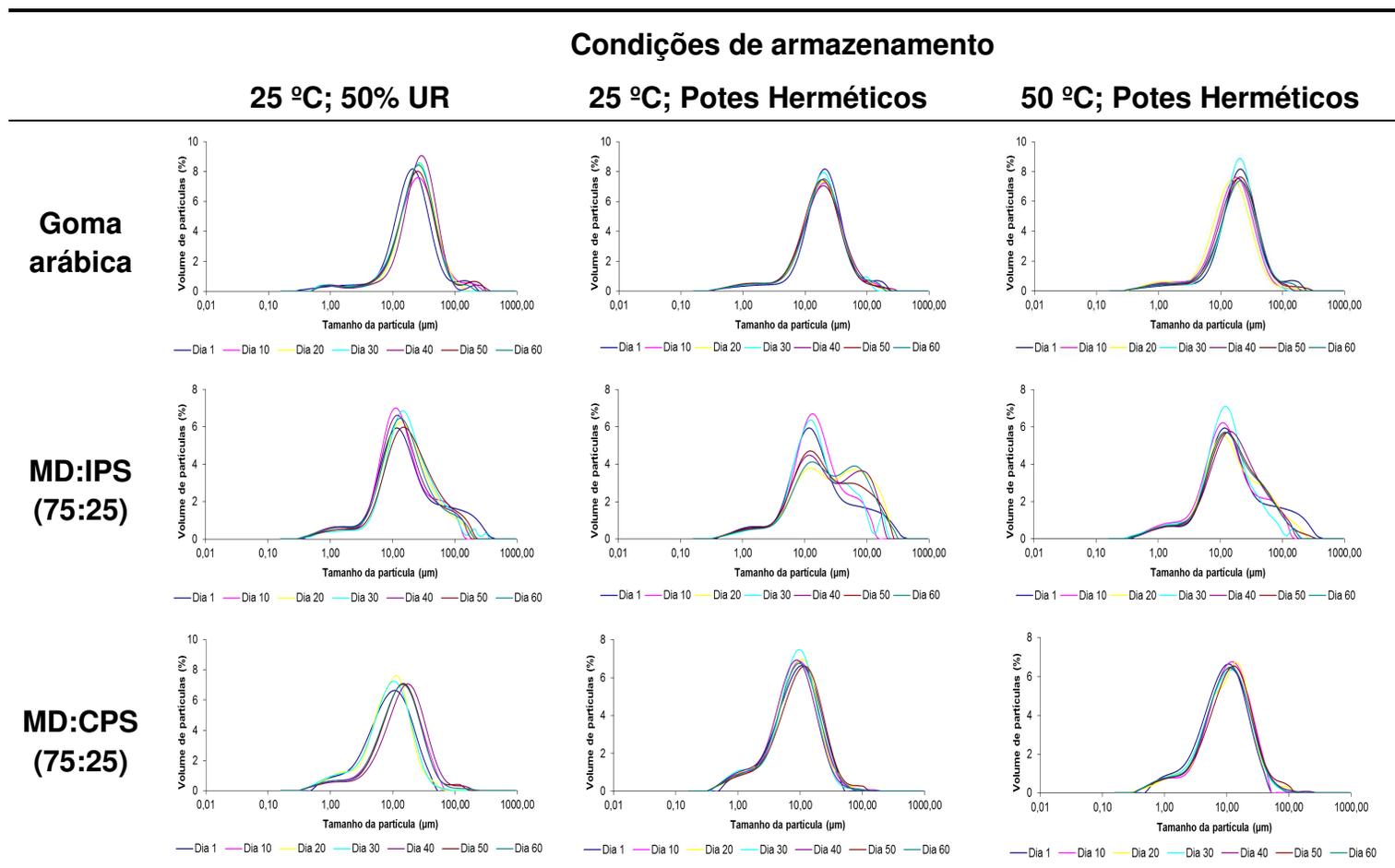
Para o material de parede MD:IPS, sem homogeneização a alta pressão, foi observado uma distribuição bimodal, com uma tendência de redução do primeiro pico e formação/aumento de um segundo, ao longo do armazenamento a 25 °C, em potes herméticos. Estas alterações observadas foram refletidas nos valores obtidos para diâmetro médio, que não apresentaram uma tendência ou uma média

sequencial. No armazenamento a 50 °C e também em UR = 50%, verificou-se a manutenção do "ombro" observado já no primeiro dia de análise, não chegando a se formar um segundo pico. Não se pode dizer se estas alterações observadas são resultantes da aglomeração das partículas ou da falta de homogeneidade. Partículas de MD:IPS provenientes de emulsões que sofreram homogeneização a alta pressão, apresentaram distribuição unimodal, em todos os tempos e condições de armazenamento. Isso mostra uma maior uniformidade destas partículas, resultado da homogeneização à alta pressão, demonstrando mais uma vez o efeito benéfico desta etapa do processo.

De forma semelhante ao observado para o material goma arábica, as curvas de distribuição das partículas de MD:CPS armazenadas em UR = 50% apresentaram um pequeno deslocamento à direita, resultante provavelmente do aumento da umidade das partículas. Para as demais condições de armazenamento, uma distribuição unimodal com sobreposição de curvas nos 6 tempos de análise foi observada.

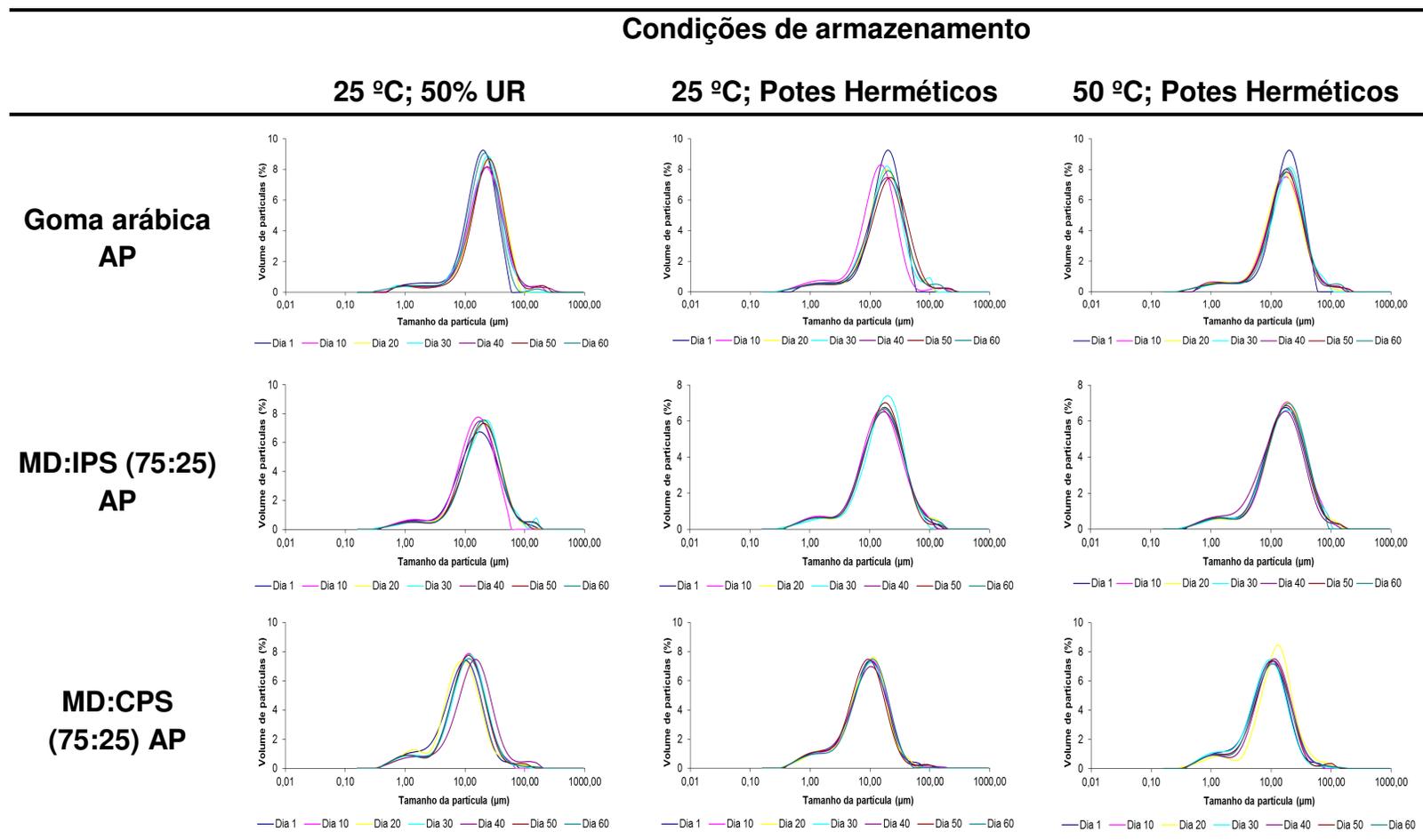
A partir destes resultados, o que se pode concluir é que, mesmo sem a utilização de alta pressão de homogeneização nas emulsões, os materiais de parede goma arábica e MD:CPS são capazes de formar partículas com diâmetro médio e distribuição de diâmetro homogêneos. Com material MD:IPS não se consegue tanta homogeneidade, a não ser que se utilize a homogeneização a alta pressão. A inclusão desta etapa no processo de microencapsulação aumenta a absorção da proteína na interface da emulsão, favorecendo a estabilidade e a consequente geração de partículas com maior uniformidade.

Tabela 5.26. Distribuição de tamanho das partículas dos diferentes materiais de parede, provenientes de emulsões não homogêneas a alta pressão, para as três condições de armazenamento.



MD: maltodextrina; IPS: isolado proteico de soja; CPS: concentrado proteico de soro.

Tabela 5.27. Distribuição de tamanho das partículas dos diferentes materiais de parede, provenientes de emulsões homogêneas a alta pressão, para as três condições de armazenamento.



AP: alta pressão de homogeneização; MD: maltodextrina; IPS: isolado proteico de soja; CPS: concentrado proteico de soro

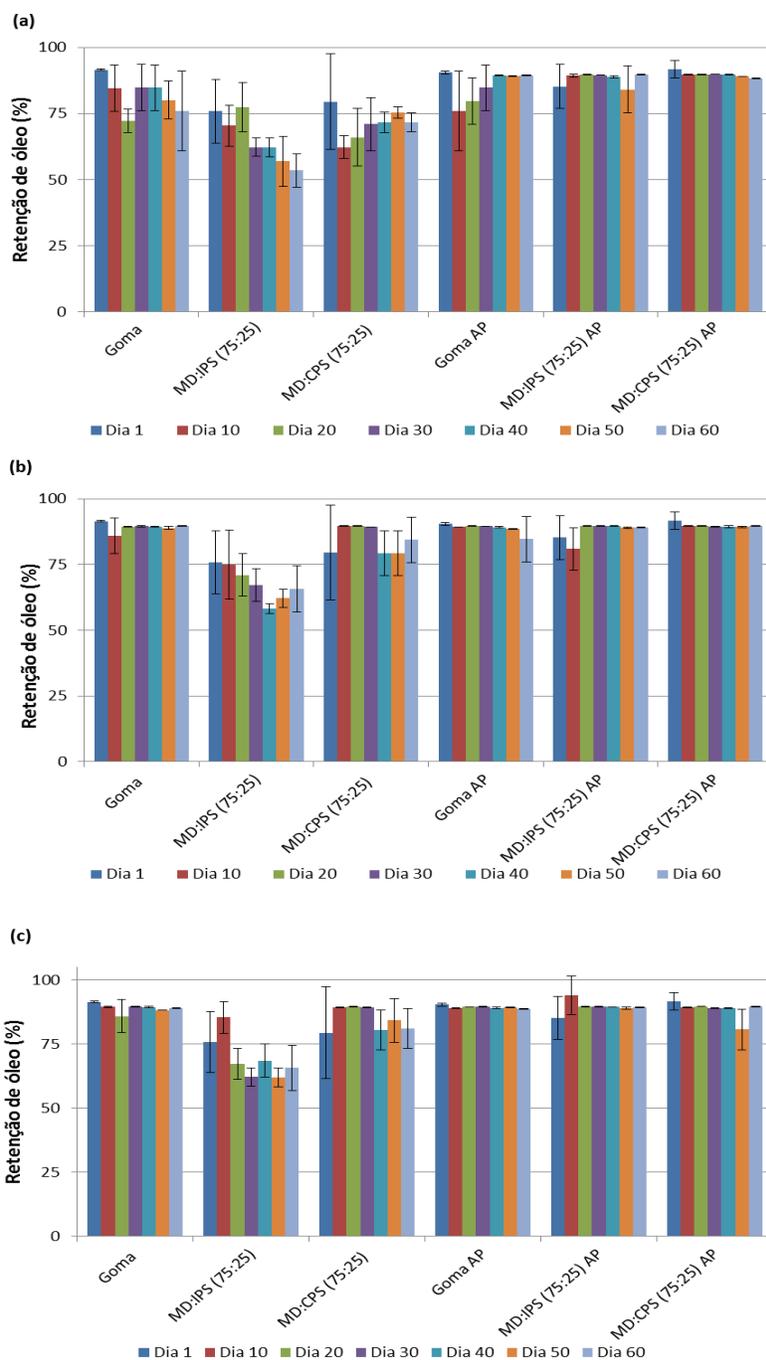
5.3.3. Retenção de óleo, teor de óleo superficial e eficiência de encapsulação.

5.3.3.1. Retenção de óleo

A porcentagem de óleo retido nas partículas, quando estas foram armazenadas durante 2 meses nas condições: 25 °C, UR = 50%; 25 °C, potes herméticos e 50 °C, potes herméticos; foi determinada (Figura 5.15).

Quando as micropartículas foram armazenadas em potes herméticos, a condição MD:IPS sem AP foi a única que teve como resultado a perda significativa de óleo. Os demais materiais de parede mantiveram praticamente todo o óleo retido durante o processo de microencapsulação ao longo da estocagem, independente da temperatura de armazenamento. Entretanto, o armazenamento de micropartículas em UR = 50% resultou em uma redução na retenção de óleo não só das micropartículas de MD:IPS, mas também da goma arábica e MD:CPS, nesta última, de forma bem sutil. Não se observa redução no teor de óleo das partículas provenientes de emulsões homogeneizadas à alta pressão.

A redução na retenção de óleo observada para goma arábica e para MD:CPS e também uma pequena parte da observada para MD:IPS, na condição de armazenamento 25 °C, UR = 50%, pode ser na verdade resultante do aumento da umidade das micropartículas. Neste sentido, ao se pesar 3 g de amostra para análise, não se tem mais 3 g de pó seco, já que o pó ganhou umidade. Portanto, a porcentagem de óleo na amostra que está sendo avaliada será menor e, conseqüentemente, tem-se menor porcentagem de óleo na resposta. Caso esta hipótese seja verdadeira, podemos dizer que os tratamentos com AP são menos higroscópicos, já que estes não apresentaram variação no teor de óleo ao longo do armazenamento.



AP: alta pressão de homogeneização; MD: maltodextrina; IPS: isolado proteico de soja; CPS: concentrado proteico de soro

Figura 5.15. Retenção de óleo das micropartículas armazenadas a) 25 °C, UR = 50%; (b) 25 °C, potes herméticos e (c) 50 °C, potes herméticos.

Partículas produzidas a partir de emulsões homogeneizadas à alta pressão, apresentaram maior uniformidade no resultado de retenção de óleo, com poucos pontos apresentando desvio padrão elevado. Isso reforça o que vem sendo mostrado ao longo deste trabalho, que a utilização da etapa de homogeneização a alta pressão na emulsão resulta na produção de partículas com melhores parâmetros de qualidade.

A retenção dos diversos materiais de interesse durante o processo de microencapsulação, bem como durante o armazenamento, é resultante da capacidade dos materiais de parede em formar filme. Materiais como a goma arábica, além de terem boa capacidade de formar filme, ainda apresentam uma propriedade mais plástica (menos susceptível à quebra da matriz microencapsulante) e menos vítrea (SHAIKH et al., 2006). Soma-se a isso a estabilidade do material que está sendo encapsulado, bem como a interação deste material com a matriz encapsulante. Estes últimos fatores são muito importantes já que mesmo a goma arábica, reconhecidamente o melhor material de parede para encapsular óleos, pode produzir partículas com baixa retenção de óleo, conforme reportado por Sarkar et al. (2012).

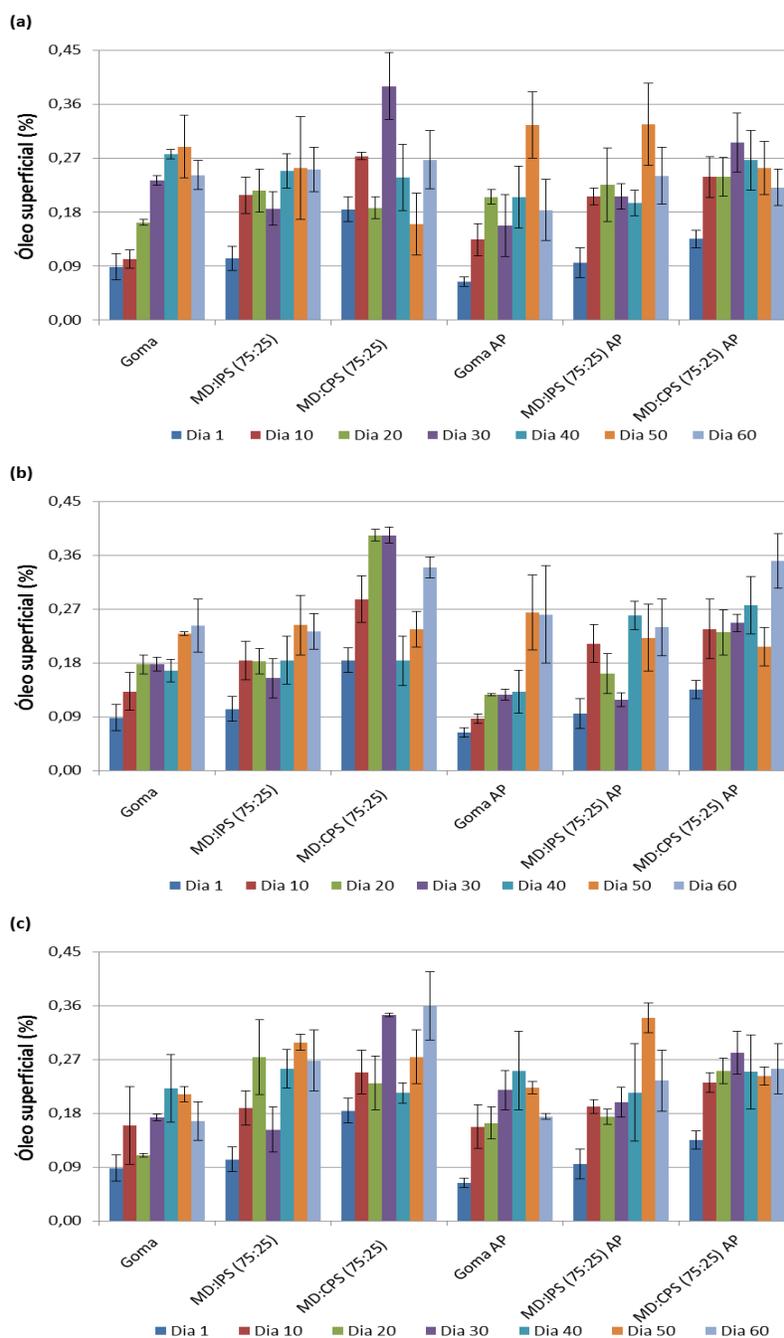
No presente trabalho, sendo os compostos presentes em maior quantidade no óleo de manjeriço muito estáveis, pode-se dizer que a retenção do óleo é consequência da maior ou menor capacidade destes materiais em formar uma matriz estável. Com base nisso, pode-se dizer que, sem a utilização de homogeneização a alta pressão, o MD:IPS (75:25) não é um material de parede eficiente para microencapsulação de óleo essencial de manjeriço; a goma arábica confirmou sua excelente capacidade de microencapsular compostos hidrofóbicos e que um material de parede com eficiência comparável à da goma arábica foi encontrado – MD:CPS (75:25).

Entretanto, resultados diferentes relacionados à eficiência destes materiais em proteger compostos de interesse são encontrados na literatura. Sarkar et al. (2012), reportaram que o óleo de menta microencapsulado com goma arábica

sofreu uma redução linear em sua retenção quando estas micropartículas foram armazenadas à 27 °C, por 8 semanas (56 dias). Segundo os autores, logo após a microencapsulação, tinha-se 80,93% de óleo de menta nas partículas e, após o armazenamento, esta quantidade caiu para 58,12% em relação à quantidade de óleo inicial (15% óleo/sólidos). Comunian et al. (2011), reportaram que o material de parede IPS é melhor que a maltodextrina, que é melhor que goma arábica, não só para encapsular clorofila, mas também para evitar sua degradação, durante 90 dias de armazenamento a 10 e 25 °C. Toure et al. (2007) observaram um redução de 20% na quantidade total de óleo de gengibre microencapsulado com MD:CPS e armazenado à 35 °C, em UR = 58%. Estes resultados corroboram com o fato que as características do material de interesse têm influência no desempenho dos diferentes materiais de parede.

5.3.3.2. Óleo superficial

O teor de óleo na superfície das micropartículas variou significativamente ($p \leq 0,05$) durante os 60 dias de armazenamento, nas 3 condições de armazenamento em estudo (Figura 5.16). A análise de teor de óleo superficial envolve respostas de ordem de grandeza muito pequena e por isso a ocorrência de pontos fora da linha de tendência (como à 25 °C, potes herméticos; MD:CPS, dias 20 e 30, MD IPS AP, dia 30; à 50 °C, MD:IPS dia 30; MD:CPS, dia 30 e MD:IPS AP dia 50) ocorrem e são resultantes de pequenos erros experimentais.



AP: alta pressão de homogeneização; MD: maltodextrina; IPS: isolado proteico de soja; CPS: concentrado proteico de soro

Figura 5.16. Óleo superficial das micropartículas armazenadas a) 25 °C, UR = 50%; (b) 25 °C, potes herméticos e (c) 50 °C, potes herméticos.

Todos os tratamentos apresentaram aumento significativo ($p \leq 0,05$) no teor de óleo superficial entre o primeiro e o último dia de armazenamento. No primeiro dia, verificou-se que as partículas produzidas de emulsões homogeneizadas apresentaram óleo superficial menor que as oriundas de emulsões não homogeneizadas. Entretanto, ao fim do armazenamento, tanto à 25 °C como à 50 °C, resultados similares de óleo superficial foram obtidos para as partículas produzidas a partir de emulsões não submetidas e submetidas à homogeneização à alta pressão.

Este aumento de óleo na superfície das micropartículas produzidas por *spray-dryer* é resultante da difusão do óleo através da parede das micropartículas. Como na microencapsulação por *spray-dryer*, as gotas de óleo ficam dispersas na matriz formada pelo material de parede, gotas presentes mais próximas da superfície podem migrar para fora da cápsula, resultando assim em um aumento no teor de óleo superficial das partículas. Outra hipótese, reportada por Finney et al. (2002), diz que o teor de óleo superficial pode ser relacionado ao tamanho da partícula: maior a partícula, menor a área superficial e conseqüentemente, menor o óleo superficial. Entretanto esta hipótese não foi confirmada no presente trabalho, não se encontrando correlação entre óleo superficial e diâmetro médio das partículas.

5.3.3.3. Eficiência de encapsulação

Os dados de retenção de óleo e óleo superficial foram utilizados para calcular a eficiência de encapsulação dos diferentes materiais de parede (Tabela 5.28). Em razão da ordem de grandeza, os dados de retenção de óleo tem um efeito maior na eficiência de encapsulação que os de óleo superficial. Por isso, assim como observado nos gráficos de retenção de óleo, algumas diferenças muito sutis entre os diferentes dias de armazenamento para o mesmo material de parede, são verificadas nos resultados de eficiência de encapsulação.

Independente do material de parede, as micropartículas produzidas de emulsão sem AP e armazenadas em UR = 50% apresentaram uma redução significativa na eficiência de encapsulação ao longo do armazenamento. As produzidas de emulsão com AP, mantiveram ou apresentaram uma pequena redução na eficiência de encapsulação ao longo do armazenamento.

Quando as micropartículas foram armazenadas à 25 °C ou a 50 °C, para goma arábica, verificou uma pequena redução na eficiência de encapsulação ao longo do armazenamento. Já para o material MD:IPS sem AP, observou-se uma baixa eficiência de encapsulação inicial e uma redução significativa ao longo do armazenamento. Para MD:IPS com AP, verificou-se uma eficiência de encapsulação maior que para MD:IPS sem AP e uma manutenção desta variável nos 60 dias de avaliação. Ao se observar a tendência dos resultados para MD:CPS sem AP e também o alto desvio padrão obtido na resposta retenção de óleo no dia 1, pode-se considerar como um erro experimental o baixo valor observado para este tratamento neste primeiro dia. Para MD:CPS com AP, um comportamento muito similar ao da goma arábica foi observado – alta eficiência de encapsulação no dia 1, com pequena redução ao longo do armazenamento.

Tabela 5.28. Eficiência de encapsulação dos diferentes tratamentos ao longo do armazenamento.

Tratamentos		Eficiência de encapsulação (%)						
		Dia 1	Dia 10	Dia 20	Dia 30	Dia 40	Dia 50	Dia 60
Goma arábica	25 °C; 50% UR	90,63	83,55	70,61	82,50	81,94	77,15	73,41
	25 °C ; PH	90,63	84,94	87,88	87,78	87,78	86,63	87,20
	50 °C ; PH	90,63	87,94	84,86	88,00	87,25	86,21	87,44
Goma arábica AP	25 °C; 50% UR	89,97	74,63	77,72	83,13	87,36	85,99	87,52
	25 °C ; PH	89,97	88,43	88,90	88,36	87,85	85,83	82,09
	50 °C ; PH	89,97	87,50	87,99	87,50	86,71	87,13	87,08
MD:IPS (75:25)	25 °C; 50% UR	74,83	68,39	75,13	60,45	59,70	54,39	50,96
	25 °C ; PH	74,83	73,11	69,15	65,66	56,34	59,72	63,41
	50 °C ; PH	74,83	83,52	64,55	60,73	66,01	59,05	63,11
MD:IPS (75:25) AP	25 °C; 50% UR	84,29	87,23	87,42	87,47	86,69	80,79	87,24
	25 °C ; PH	84,29	78,78	88,01	88,47	87,06	86,84	86,80
	50 °C ; PH	84,29	92,16	88,03	87,71	87,44	85,71	87,01
MD:CPS (75:25)	25 °C; 50% UR	77,66	59,58	64,18	67,07	69,26	73,87	68,96
	25 °C ; PH	77,66	86,81	86,76	85,40	77,53	76,98	80,99
	50 °C ; PH	77,66	86,98	87,41	85,91	78,43	81,59	77,46
MD:CPS (75:25) AP	25 °C; 50% UR	90,40	87,32	87,39	86,80	87,00	86,58	86,00
	25 °C ; PH	90,40	87,26	87,29	86,97	86,70	87,28	86,18
	50 °C ; PH	90,40	87,18	87,19	86,38	86,58	78,28	87,06

AP: alta pressão de homogeneização; MD: maltodextrina; IPS: isolado proteico de soja; CPS: concentrado proteico de soro, UR: umidade relativa; PH: potes herméticos.

5.3.4. Retenção de voláteis

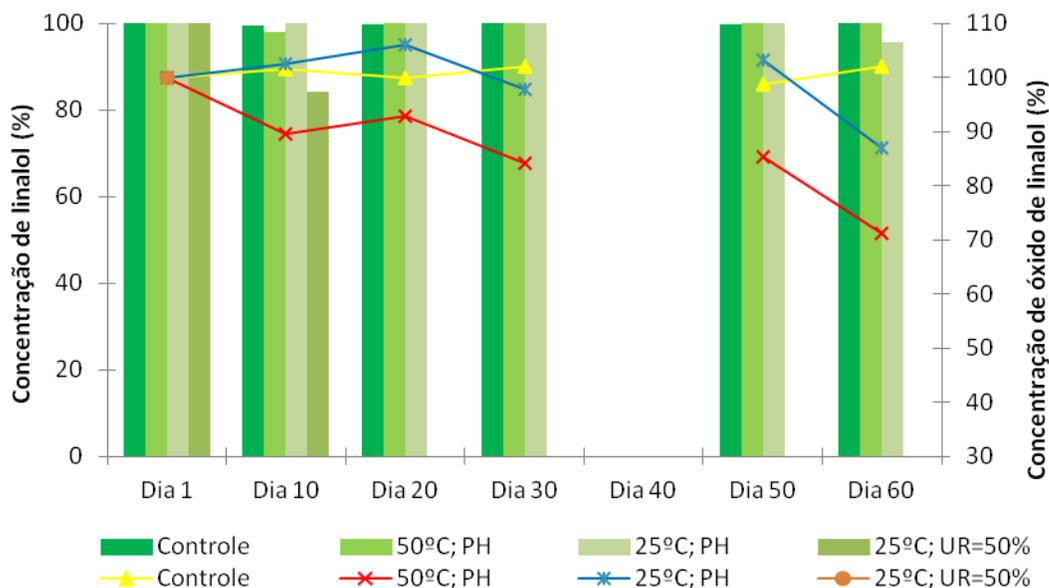
Considerando que o linalol é o composto aromático de maior interesse do ponto de vista econômico e com base nos resultados da etapa anterior, na qual se observou que este foi o composto que apresentou maior retenção, serão apresentados nesta etapa apenas os dados de retenção do linalol, juntamente com os dados obtidos para o óxido de linalol, composto resultante de sua degradação oxidativa.

Para efeito de comparação com o óleo de manjeriço que passou pelo processo de microencapsulação, o óleo não encapsulado também foi armazenado por 60 dias, em potes herméticos, nas temperaturas de 25 °C e 50 °C, e em umidade relativa de 50%, à 25 °C. Além destes, o óleo de manjeriço armazenado em pote hermético a 5 °C foi avaliado como amostra controle. Devido a um problema no cromatógrafo, os dados de retenção de voláteis do óleo não encapsulado para o 40 °C dia de armazenamento foram perdidos.

5.3.4.1. Óleo essencial

Na Figura 5.17 estão apresentados os dados de retenção de linalol e de óxido de linalol do óleo não encapsulado armazenado a 25 °C em potes herméticos e em UR = 50%, em potes herméticos a 50 °C, bem como os dados da amostra controle, armazenada a 5 °C, também em pote hermético. Embora o linalol seja descrito em trabalhos disponíveis na literatura como sendo um composto volátil e instável, pode-se dizer que, nas condições aqui estudadas, este é um composto estável, tanto do ponto de vista térmico, como do ponto de vista oxidativo (BACKTORP et al., 2006; LEE et al., 2005, YOUSIF et al., 1999). Apesar de se esperar que produtos armazenados em potes herméticos tenham menor perda por volatilização/oxidação, o que se verificou, ao longo do armazenamento, foi a não ocorrência destas reações, ou seja, a concentração de linalol

permaneceu bem próxima a 100% e a concentração de óxido de linalol diminuiu, ao contrário do que era esperado inicialmente.



UR: umidade relativa; PH: potes herméticos. Barras: Concentração de linalol; Linha: Concentração de óxido de linalol.

Figura 5.17. Concentração de linalol e de óxido de linalol no óleo essencial de manjeriço não encapsulado.

Na amostra controle, verificou-se que o tanto o linalol como o óxido de linalol permaneceram em concentrações praticamente constantes durante os 60 dias. Na amostra armazenada a 25 °C em UR = 50%, verificou-se que a evaporação do óleo com o passar dos dias, e que, a partir do dia 30, já não existia mais amostra para se fazer as análises de retenção de voláteis. Já no dia 20, onde ainda foi possível retirar uma alíquota do óleo, pelo cromatograma constatou-se que não existia mais nenhum dos compostos de interesse que foram avaliados neste estudo. Os compostos que apareceram eram compostos com tempo de retenção muito longo e que não aparecem no cromatograma do óleo de

manjeriço sendo então, provavelmente, compostos resultantes da oxidação/degradação de outros compostos do óleo.

Nas amostras armazenadas em potes herméticos, independente da temperatura de armazenamento, a concentração de linalol no óleo permaneceu próxima de 100%, confirmando a alta estabilidade deste composto, mesmo quando armazenado em temperatura elevada. Ao contrário do esperado, a concentração de óxido de linalol no óleo reduziu para aproximadamente 85% e 70% da concentração inicial, quando o óleo foi armazenado em potes herméticos à temperatura de 25 °C e 50 °C, respectivamente, indicando uma instabilidade térmica deste óxido.

O óxido de linalol possui fórmula molecular $C_{10}H_{18}O_2$, massa molecular de 170,24 Da e temperatura de ebulição 222,62 °C. Tanto o óxido de linalol como o linalol são capazes de realizar as mesmas interações intermoleculares, ou seja, interações do tipo Van der Waals e interações do tipo Ligação de Hidrogênio, esta última em função da presença de uma hidroxila (-OH) em cada composto. Pela avaliação da distribuição espacial deste óxido (Figura 5.18), pode-se dizer que ele possui um anel cíclico e, comparativamente com o linalol, estrutura mais fechada. Por este motivo, esta molécula é capaz de interagir menos fortemente com as outras moléculas, em função de sua menor área superficial para interação sendo, portanto, mais volátil (ATKINS e JONES, 2007). Isso explica a redução em sua concentração observada no óleo de manjeriço ao longo do armazenamento a 25 e 50 °C, e também a sua completa ausência no óleo mantido em UR = 50%, já nos primeiros 10 dias.

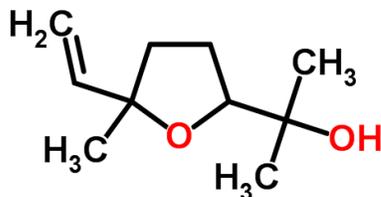


Figura 5.18. Estrutura química do óxido de linalol (Fonte: CHEMSPIDER, 2012).

Em termos práticos, pode-se concluir que, caso o composto de interesse no óleo de manjeriço seja o linalol, que o óleo vá ser incorporado ao produto na forma líquida e que o produto vá ser armazenado em um ambiente hermético, a microencapsulação não se faz necessária, já que o linalol quando na constituição do óleo de manjeriço é muito estável. No entanto, caso o óleo precise estar na forma de pó para sua melhor incorporação, a microencapsulação é um processo viável, já que é capaz de reter elevada concentração de linalol. Se o óleo vir a ser utilizado em algum produto/sistema que ficará exposto a altas umidades relativas, o óleo precisa ser encapsulado, caso contrário, irá volatilizar.

5.3.4.2. Micropartículas

Pequenas alterações na concentração de linalol e de óxido de linalol foram observadas ao longo do armazenamento das micropartículas, independente do material de parede utilizado e da condição de homogeneização (Tabela 5.29 e 5.30). A retenção destes compostos está apresentada considerando como sendo 100% a quantidade presente no óleo após a microencapsulação.

O próprio processo de encapsulação já resulta em uma perda de material volátil. Somando-se a esta perda, todas as micropartículas apresentaram redução na concentração de linalol e óxido de linalol durante o armazenamento. Para goma

Tabela 5.29. Retenção de linalol (% em relação ao dia 1) nas micropartículas durante o armazenamento em potes herméticos.

Tratamentos		Dia 1	Dia 10	Dia 20	Dia 30	Dia 40	Dia 50	Dia 60
Goma arábica	25 °C; 50% UR	100	92,25 ± 2,38	93,39 ± 5,43	82,72 ± 1,90	89,77 ± 2,93	85,12 ± 4,15	88,06 ± 3,06
	25 °C; PH	100	88,36 ± 1,42	85,57 ± 1,38	81,02 ± 3,65	79,85 ± 3,25	88,27 ± 4,19	82,05 ± 2,44
	50 °C; PH	100	88,17 ± 10,34	88,80 ± 1,74	77,56 ± 3,36	82,97 ± 3,48	80,17 ± 0,79	79,34 ± 1,02
Goma arábica AP	25 °C; 50% UR	100	80,89 ± 8,59	75,06 ± 2,44	70,66 ± 1,92	71,72 ± 2,88	71,84 ± 2,46	75,29 ± 0,21
	25 °C; PH	100	81,65 ± 1,15	72,65 ± 1,45	67,24 ± 5,62	72,51 ± 2,57	74,39 ± 2,49	69,97 ± 5,14
	50 °C; PH	100	81,14 ± 9,99	75,51 ± 1,98	69,53 ± 1,19	72,39 ± 4,83	76,97 ± 0,49	76,86 ± 0,50
MD:IPS (75:25)	25 °C; 50% UR	100	95,23 ± 1,94	100,18 ± 1,03	101,99 ± 0,50	96,88 ± 12,78	102,20 ± 3,59	94,26 ± 10,74
	25 °C; PH	100	96,37 ± 3,27	96,87 ± 7,90	100,05 ± 3,17	114,27 ± 1,85	99,42 ± 2,0	94,93 ± 4,94
	50 °C; PH	100	94,36 ± 1,65	103,41 ± 6,45	108,77 ± 0,12	102,38 ± 11,22	105,04	99,39 ± 5,40
MD:IPS (75:25) AP	25 °C; 50% UR	100	85,24 ± 2,16	87,65 ± 5,57	83,68 ± 0,55	80,47 ± 4,23	81,32 ± 1,83	78,03 ± 1,65
	25 °C; PH	100	83,75 ± 2,60	79,64 ± 4,29	79,32 ± 7,85	83,36 ± 2,02	82,04 ± 0,79	73,66 ± 3,53
	50 °C; PH	100	85,62 ± 2,37	80,51 ± 3,62	82,10 ± 0,09	84,93 ± 5,28	80,78 ± 2,15	76,73 ± 0,46
MD:CPS (75:25)	25 °C; 50% UR	100	95,74 ± 0,26	92,08 ± 2,73	89,76 ± 4,96	90,16 ± 9,67	88,08 ± 3,21	87,80 ± 0,01
	25 °C; PH	100	89,31 ± 4,34	89,62 ± 1,12	87,57 ± 8,13	91,99 ± 3,64	90,43 ± 2,29	91,17 ± 2,10
	50 °C; PH	100	89,33 ± 0,30	93,23 ± 0,29	91,02 ± 0,91	96,70 ± 2,40	88,39 ± 0,81	91,19 ± 3,78
MD:CPS (75:25) AP	25 °C; 50% UR	100	94,13 ± 7,30	88,84 ± 4,89	96,58 ± 5,71	85,65 ± 1,90	90,39 ± 0,91	90,86 ± 2,22
	25 °C; PH	100	91,45 ± 5,31	91,70 ± 6,01	90,90 ± 0,28	87,27 ± 4,87	88,30 ± 5,38	94,98 ± 0,75
	50 °C; PH	100	94,24 ± 9,89	93,38 ± 5,31	94,90 ± 5,75	93,40 ± 2,54	93,76 ± 11,80	91,21 ± 4,50

AP: alta pressão de homogeneização; MD: maltodextrina; IPS: isolado proteico de soja; CPS: concentrado proteico de soro; UR: umidade relativa; PH: potes herméticos

Tabela 5.30. Concentração de óxido de linalol (% em relação ao dia 1) nas micropartículas durante o armazenamento em potes herméticos.

Tratamentos		Dia 1	Dia 10	Dia 20	Dia 30	Dia 40	Dia 50	Dia 60
Goma arábica	25 °C; 50% UR	100	96,87 ± 11,64	93,39 ± 5,43	82,97 ± 3,48	89,77 ± 2,58	85,12 ± 4,15	89,16 ± 2,60
	25 °C; PH	100	87,23 ± 1,91	80,60 ± 3,59	83,08 ± 3,66	83,46 ± 4,05	89,32 ± 0,87	83,04 ± 1,84
	50 °C; PH	100	86,05 ± 7,40	86,05 ± 1,76	76,47 ± 2,33	78,54 ± 3,43	75,88 ± 0,81	73,39 ± 0,76
Goma arábica AP	25 °C; 50% UR	100	78,15 ± 3,81	76,45 ± 2,16	75,60 ± 2,61	76,84 ± 2,64	75,42 ± 1,70	77,76 ± 1,02
	25 °C; PH	100	84,12 ± 0,10	73,30 ± 2,64	71,31 ± 5,53	77,40 ± 2,88	82,03 ± 2,00	79,17 ± 1,66
	50 °C; PH	100	79,54 ± 1,30	76,99 ± 2,44	69,61 ± 2,23	69,49 ± 3,16	72,32 ± 0,15	65,05 ± 3,70
MD:IPS (75:25)	25 °C; 50%UR	100	96,24 ± 0,80	95,74 ± 10,98	96,84 ± 1,64	92,08 ± 7,39	85,66 ± 4,52	87,26 ± 5,53
	25 °C; PH	100	90,89 ± 0,40	90,61 ± 4,16	92,52 ± 3,50	104,13 ± 2,57	92,37 ± 2,57	87,31 ± 4,33
	50 °C; PH	100	93,80 ± 0,18	91,45 ± 4,47	95,55 ± 2,92	89,73 ± 8,32	87,09	84,55 ± 5,21
MD:IPS (75:25) AP	25 °C; 50%UR	100	87,50 ± 2,16	87,67 ± 4,12	84,87 ± 0,08	81,73 ± 2,44	77,36 ± 1,19	78,41 ± 3,12
	25 °C; PH	100	84,75 ± 1,76	80,57 ± 5,04	81,19 ± 8,72	85,86 ± 1,80	81,65 ± 1,02	73,87 ± 2,50
	50 °C; PH	100	83,99 ± 1,16	76,41 ± 2,44	75,19 ± 0,32	78,02 ± 4,24	73,63 ± 2,27	68,70 ± 4,03
MD:CPS (75:25)	25 °C; 50%UR	100	89,38 ± 0,58	90,92 ± 6,09	87,64 ± 4,30	83,93 ± 12,14	79,96 ± 6,03	82,51 ± 0,41
	25 °C; PH	100	82,10 ± 3,46	86,17 ± 2,38	83,36 ± 6,01	86,17 ± 3,25	80,92 ± 3,73	84,81 ± 0,71
	50 °C; PH	100	88,47 ± 5,05	91,68 ± 0,67	86,85 ± 0,25	88,53 ± 3,46	83,14 ± 3,31	83,35 ± 6,33
MD:CPS (75:25) AP	25 °C; 50%UR	100	92,19 ± 3,70	89,79 ± 5,26	97,23 ± 5,96	84,26 ± 2,65	89,04 ± 3,35	88,29 ± 4,53
	25 °C; PH	100	89,36 ± 5,52	93,57 ± 6,00	91,45 ± 0,83	86,81 ± 4,61	89,09 ± 3,79	91,11 ± 1,06
	50 °C; PH	100	93,94 ± 11,91	94,80 ± 3,74	93,94 ± 5,65	91,54 ± 1,65	90,10 ± 8,20	87,33 ± 3,35

AP: alta pressão de homogeneização; MD: maltodextrina; IPS: isolado proteico de soja; CPS: concentrado proteico de soro; UR: umidade relativa; PH: potes herméticos

arábica, verifica-se uma pequena redução para todas as condições de armazenamento em estudo.

Bertolini et al. (2001) observaram uma redução muito significativa na concentração de linalol (de 44 - 66%), quando este foi microencapsulado puro em goma arábica. Durante o armazenamento à 50 °C por 33 dias, verificou-se uma redução de 75% na concentração de linalol presente nas micropartículas logo após o processo de microencapsulação. Além disso, após o armazenamento, os autores verificaram a presença de compostos de degradação oxidativa do linalol, sendo o óxido de linalol o presente em maior concentração.

Embora o linalol seja um álcool sendo capaz de formar interações do tipo ligações de hidrogênio com superfícies contendo grupos hidroxilas, como é o caso da goma arábica, a retenção deste composto foi muito baixa. Assim como já comentado anteriormente, as diferenças na retenção de linalol verificadas com o trabalho de Bertolini et al. (2001) podem ser o fato de que no óleo de manjerição o linalol está em uma matriz, e não isolado, o que permite a ele uma maior diversidade de interações intermoleculares, favorecendo então sua estabilidade e permanência no sistema.

É possível notar a concentração de linalol superior a 100% em alguns pontos do experimento. Ao se comparar os dados presentes na Tabela 5.29 com os de retenção de óleo, apresentados na Figura 5.15, pode-se fazer uma correlação entre a concentração de linalol e retenção de óleo. Em pontos onde a retenção de óleo foi baixa, observa-se uma alta concentração de linalol, resultante da concentração deste composto no óleo restante na partícula. Um exemplo disso é o ponto MD:IPS, 25 °C, potes herméticos, dia 40; que foi o ponto que apresentou maior concentração de linalol. Observando este ponto na Figura 5.15, vê-se que ele é um dos pontos com menor retenção de óleo. Esta relação não é totalmente linear, mas permite explicar muitas variações observadas nesta resposta. Ao usar esta mesma lógica para o óleo essencial de manjerição sem encapsular,

armazenado em potes herméticos, consegue-se explicar porque em todos os pontos há praticamente 100% de retenção de linalol – como não existe perda de óleo por evaporação, não existe concentração de compostos presentes no óleo e, por isso, não existe variação na concentração do linalol.

Um outro fato a ser considerado, certamente em menor escala que o aumento da concentração do linalol em razão da concentração do óleo é a síntese de linalol a partir de outros compostos presentes no sistema. Este fato foi observado por Penbunditkul et al. (2012) ao estudar retenção de *flavours* de óleo de bergamota, microencapsulado em amido modificado. Segundo os autores, para uma das condições em estudo, a retenção de linalol logo após a microencapsulação foi de 114%. A explicação dada foi que houve a produção de linalol a partir de acetato de linalil, através de biotransformação ou reação catalítica. Embora no óleo essencial de manjerição não tenha acetato de linalil, esta é uma hipótese que não pode ser esquecida, já que este é um óleo de concentração complexa, possuindo mais de 20 compostos.

Assim como observado no óleo sem encapsular, o óxido de linalol apresentou redução em sua concentração durante o armazenamento, independente do material de parede, mostrando que este composto é menos estável que o linalol e que não está ocorrendo degradação do linalol, já que a concentração do óxido de linalol não está aumentando.

5.3.5. Microscopia

A morfologia das micropartículas foi avaliada nos dias 1, 30 e 60, por microscopia eletrônica de varredura (MEV), o que permitiu visualizar a estrutura externa das partículas e avaliar sua integridade e porosidade.

5.3.5.1. Diferentes temperaturas

A morfologia das micropartículas, observada por microscopia eletrônica de varredura (MEV), permitiu visualizar a estrutura externa e avaliar a integridade, bem como a porosidade durante o armazenamento em potes herméticos, nas temperaturas de 25 °C e 50 °C. As avaliações foram realizadas nos dias 1, 30 e 60 (Figuras 5.19; 5.20; 5.21).

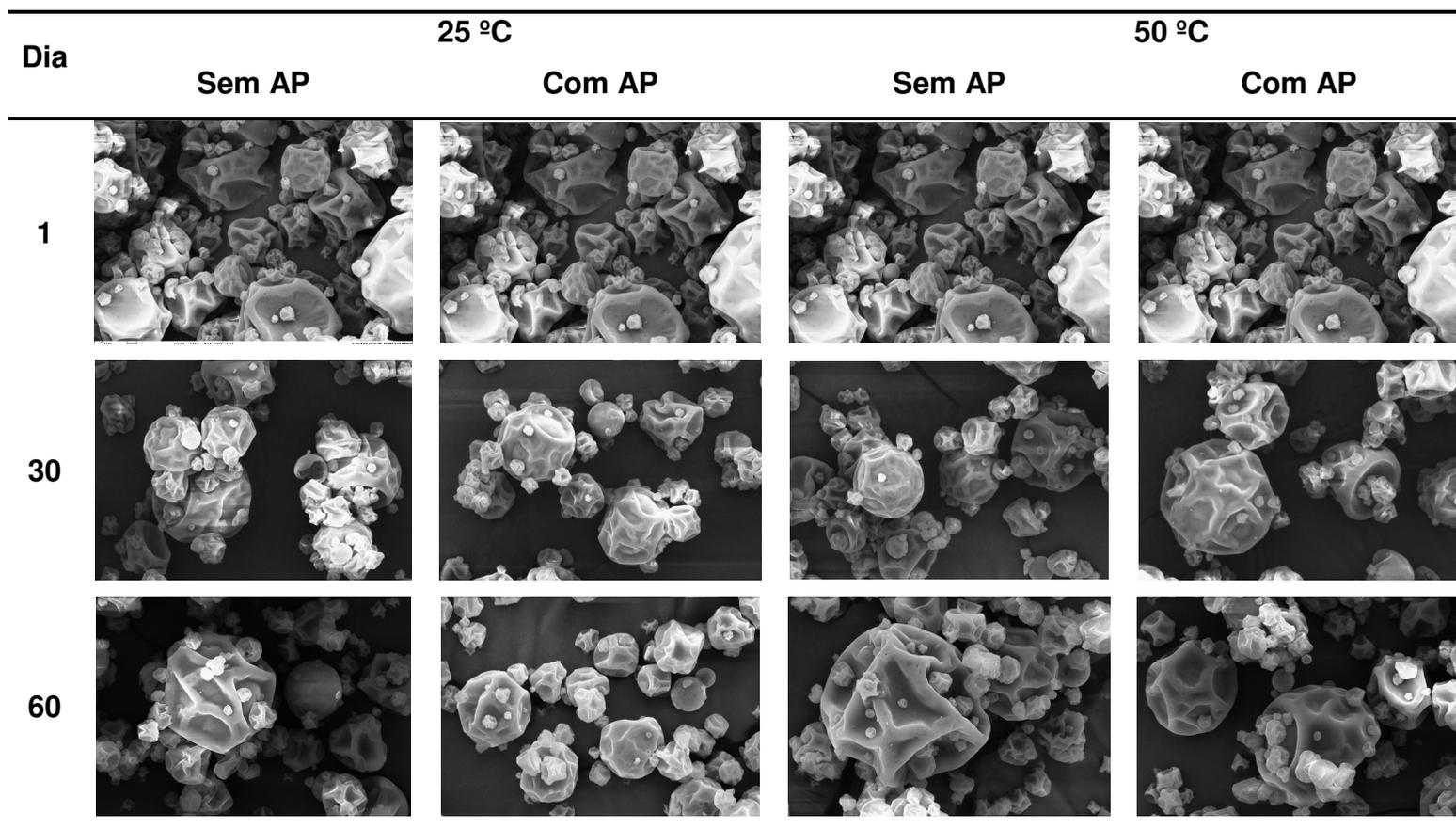
De forma semelhante ao que foi dito antes, verifica-se que as micropartículas apresentam formato esférico, superfície rugosa, registrando a presença de concavidades e dentes. A superfície externa não apresenta buracos e rachaduras, aspecto indicativo de boa proteção do material de recheio. Para os três materiais de parede, nas duas condições de homogeneização, observou-se que, durante e ao fim armazenamento, as micropartículas mantiveram o formato e não apresentaram alterações na estrutura externa, como a formação de trincas ou poros. De acordo com Rodea-Gonzalez (2012), estes resultados corroboram com a tese de que emulsões que apresentam boa estabilidade à coalescência resultam em micropartículas estruturalmente robustas.

5.3.5.2. Diferentes umidades relativas

O armazenamento de partículas em condições de umidade relativa maiores que a sua própria umidade, faz com que elas absorvam umidade. Este aumento na umidade das partículas pode resultar em novas ligações inter e intramoleculares, aglomeração de partículas, cristalização dos carboidratos presentes na matriz amorfa e finalmente, um colapso das micropartículas (DRUSCH et al., 2006).

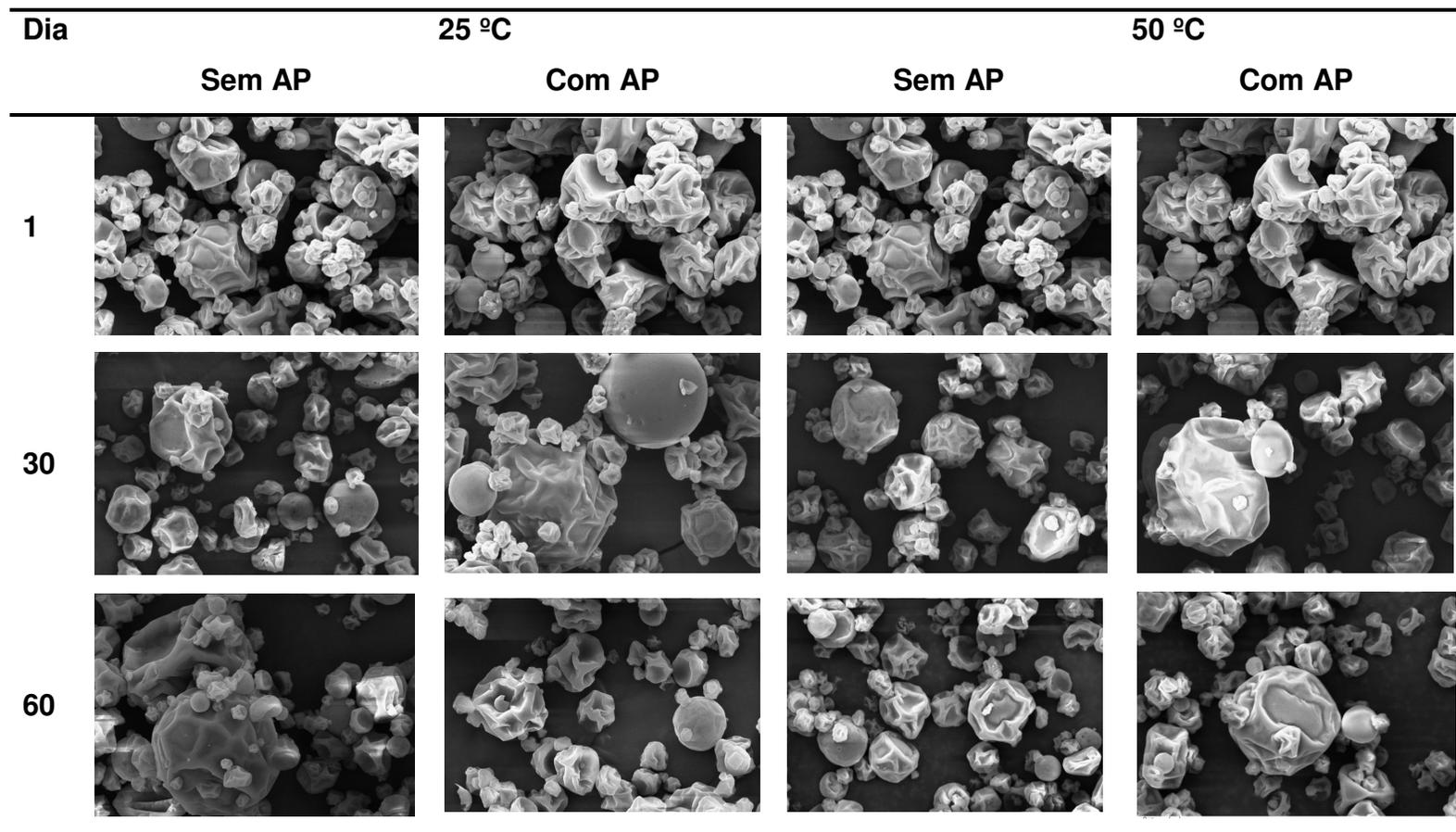
Os três materiais de parede em estudo neste trabalho são hidrofílicos e, por este motivo, existia uma preocupação se as partículas resistiriam ao armazenamento por 60 dias em um ambiente de UR = 50%, umidade considerada

alta. Felizmente, o que se observa nas imagens mostradas na Figura 5.22 é que a integridade, bem como a morfologia das partículas, permaneceram inalteradas durante os 60 dias armazenamento. Certamente ocorreu um aumento na umidade das micropartículas sem, contudo, afetar a integridade e aparência característica de uma micropartícula produzida em *spray-dryer*. Drusch et al. (2006) observaram que micropartículas de óleo de peixe encapsulado em n-octenilsuccinato, um amido esterificado, e armazenado à 40 °C, em umidade relativa de 48% por 18 dias ficaram pegajosas, formando um aglomerado. Quando se avaliou o armazenamento em UR = 75%, verificou-se que as micropartículas se desfizeram. Segundo os autores, estas alterações estão relacionadas à propriedade de transição vítrea-líquido dos polímeros.



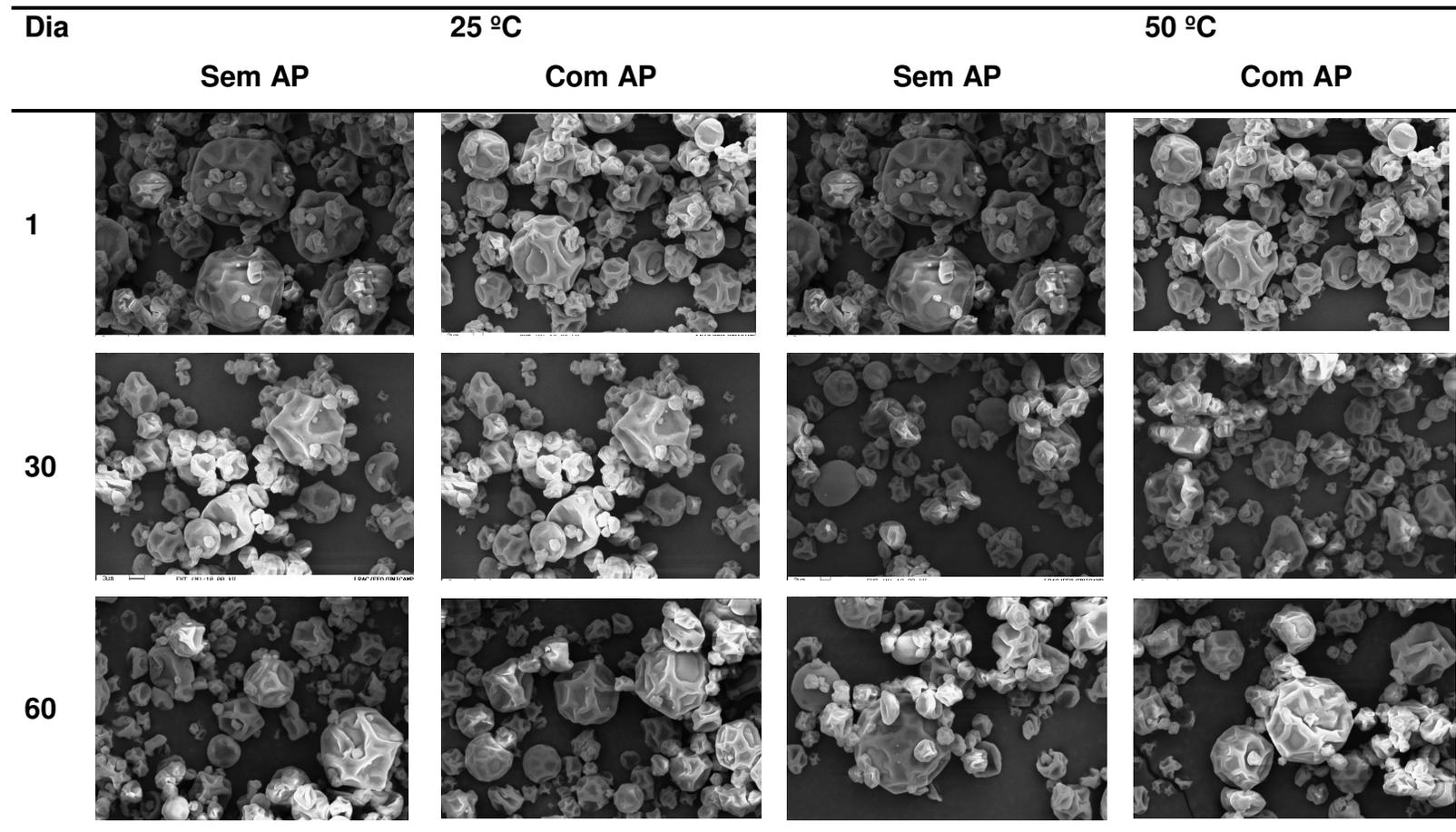
AP: alta pressão de homogeneização. Aumento: 5000 vezes.

Figura 5.19. Morfologia das micropartículas de Goma arábica, nos dias 1, 30 e 60 de armazenamento, em potes herméticos.



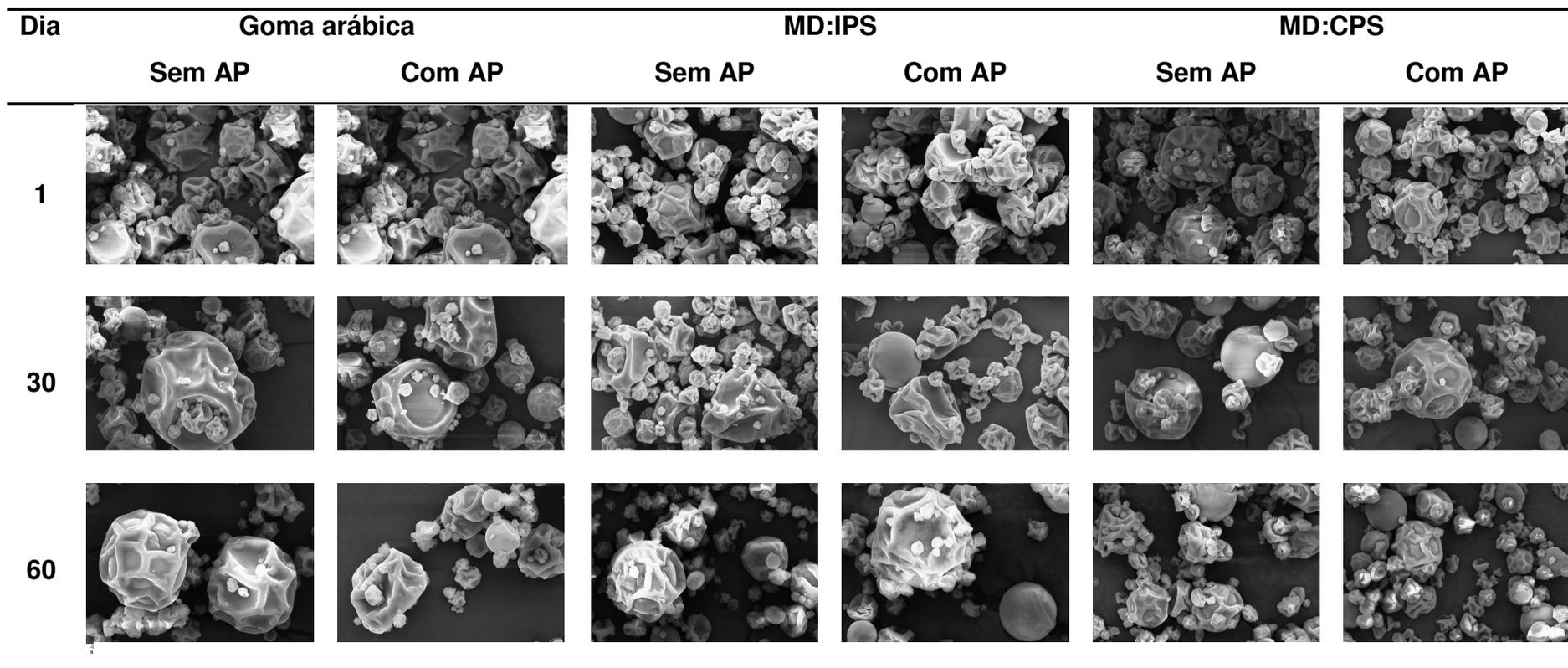
AP: alta pressão de homogeneização; MD: maltodextrina; IPS: isolado proteico de soja. Aumento: 5000 vezes.

Figura 5.20. Morfologia das micropartículas de MD:IPS, nos dias 1, 30 e 60 de armazenamento em potes herméticos.



AP: alta pressão de homogeneização; MD: maltodextrina; CPS: concentrado proteico de soro. Aumento: 5000 vezes.

Figura 5.21. Morfologia das micropartículas a base de MD:CPS, nos dias 1, 30 e 60 de armazenamento em potes herméticos



AP: alta pressão de homogeneização; MD: maltodextrina; IPS: isolado proteico de soro; CPS: concentrado proteico de soro. Aumento: 5000 vezes.

Figura 5.22. Morfologia das micropartículas armazenadas à 25 °C em UR = 50%, nos dias 1, 30 e 60.

5.3.6. Conclusões da 3ª etapa

Pela avaliação da coordenada de cor b^* , não se observou variação na cor do óleo essencial de manjeriço sem encapsular, quando este foi armazenado nas três condições em estudo, por 60 dias. Já para as micropartículas, foi possível comprovar o escurecimento, resultante da reação de Maillard, das amostras a base de MD:IPS e MD:CPS, armazenadas à 50 °C. Um escurecimento muito sutil foi observado nas amostras destes mesmos materiais de parede, quando armazenadas a 25 °C. Micropartículas a base de goma arábica não apresentaram variação na cor.

Micropartículas a base de goma arábica e MD:CPS, mesmo sem a utilização de alta pressão de homogeneização nas emulsões, foram capazes de formar partículas com diâmetro médio e distribuição de diâmetro homogêneos. Já com material MD:IPS não se consegue tanta homogeneidade, a não ser que se utilize a homogeneização a alta pressão. A inclusão desta etapa no processo de microencapsulação aumenta a absorção da proteína na interface da emulsão, favorecendo a estabilidade e a consequente geração de partículas com maior uniformidade.

Quando as micropartículas foram armazenadas em potes herméticos, a condição MD:IPS sem AP foi a única que teve como resultado a perda de óleo. Entretanto, o armazenamento de micropartículas em UR = 50% resultou em uma redução na retenção de óleo não só das micropartículas de MD:IPS, mas também da goma arábica e MD:CPS, nesta última, de forma bem sutil. Não se observa redução no teor de óleo das partículas provenientes de emulsões homogeneizadas à alta pressão. Todos os tratamentos apresentaram aumento significativo ($p \leq 0,05$) no teor de óleo superficial entre o primeiro e o último dia de armazenamento.

A concentração de linalol no óleo essencial de manjeriço permaneceu em 100% para o óleo não encapsulado armazenado em potes herméticos. No

entanto, quando o óleo foi armazenado a 25 °C, em uma UR = 50%, verificou-se que ele evaporava antes dos primeiros 30 dias de armazenamento, não sendo possível a avaliação dos voláteis a partir deste tempo. As micropartículas apresentaram variações na concentração de linalol ao longo do armazenamento, podendo esta concentração ser inversamente relacionada à retenção de óleo nas micropartículas.

Com relação à morfologia, o que se observa nas microscopias é que a integridade, bem como a morfologia das partículas, permaneceram inalteradas durante os 60 dias armazenamento.

Com base nestes resultados pode-se dizer que, nas condições utilizadas neste trabalho, o MD:IPS (75:25) não é um material de parede eficiente para microencapsulação de óleo essencial de manjeriço; a goma arábica confirmou sua excelente capacidade de microencapsular compostos hidrofóbicos e que um material de parede com eficiência comparável à da goma arábica foi encontrado – MD:CPS (75:25).

Somando-se a isso, caso o composto de interesse no óleo de manjeriço seja o linalol, que o óleo vá ser incorporado ao produto na forma líquida e que o produto vá ser armazenado em um ambiente hermético, a microencapsulação não se faz necessária, já que o linalol quando na matriz do óleo de manjeriço é muito estável. No entanto, caso o óleo precise estar na forma de pó para sua melhor incorporação, a microencapsulação é um processo viável, já que é capaz de reter elevada concentração de linalol. Se o óleo for utilizado em algum produto/sistema que ficará exposto a altas umidades relativas, o óleo precisa ser encapsulado, caso contrário, irá volatilizar.

6. Conclusões Gerais

Verificou-se que a utilização de 10% de óleo inicial em relação aos sólidos totais resultou em maior retenção de óleo nas micropartículas. Pressões de homogeneização de 50-90 MPa resultaram na formação de gotas de menor diâmetro médio. Para a segunda etapa do trabalho, escolheu-se trabalhar com 10% de óleo inicial em relação aos sólidos totais e homogeneização sem e com alta pressão (50 MPa), a fim de gerar resultados bem distintos e que então fosse possível avaliar a importância destas variáveis.

Na segunda etapa, todas as emulsões, independentemente do material de parede e da condição de homogeneização, foram estáveis. A homogeneização a alta pressão resultou na redução de tamanho de gota dos materiais goma, MD:CPS (50:50) e MD:CPS (25:75). Apenas as emulsões a base de goma arábica apresentaram distribuição de tamanho de gota unimodal. Na distribuição das demais emulsões foram observados dois picos, sendo que o segundo pode estar relacionado à coalescência das gotas. Nas partículas resultantes de emulsões homogeneizadas a 50 MPa, verificou-se um aumento expressivo na retenção de óleo, na redução do óleo superficial, e conseqüentemente, na eficiência de encapsulação, para todos os materiais de parede utilizados, deixando claro o efeito positivo da homogeneização a alta pressão nessas variáveis. Avaliando apenas as características da partícula, é possível dizer que, para encapsulação de óleo essencial de manjeriço, nas condições utilizadas neste trabalho, o material de parede MD:CPS, principalmente nas proporções 75:25 e 50:50, é mais eficiente que a goma arábica, sendo então uma opção vantajosa para a substituição desse último material.

Embora os óleos essenciais sejam classificados de uma maneira geral como voláteis e instáveis, no caso específico do óleo de manjeriço, verifica-se que, nas condições experimentais avaliadas, este é um óleo essencial estável, tanto do ponto de vista térmico, como do ponto de vista oxidativo. Por isso, caso o

composto de interesse no óleo de manjerição seja o linalol, que o óleo vá ser incorporado ao produto na forma líquida e que o produto vá ser armazenado em um ambiente hermético, a microencapsulação não se faz necessária, já que o linalol, quando na composição do óleo de manjerição, é muito estável. No entanto, caso o óleo precise estar na forma de pó para sua melhor incorporação, a microencapsulação é um processo viável, já que é capaz de reter elevada concentração de linalol. Além disso, o processo de microencapsulação é essencial nos casos em que o óleo essencial de manjerição precisa ser armazenado em algum produto/sistema que ficará exposto a altas umidades relativas. Nestes casos o óleo não pode ser armazenado na forma líquida, pois volatiliza.

Nas condições utilizadas neste trabalho, o MD:IPS (75:25) não é um material de parede eficiente para microencapsulação de óleo essencial de manjerição; a goma arábica confirmou sua excelente capacidade de microencapsular compostos hidrofóbicos e que um material de parede com eficiência comparável à da goma arábica foi encontrado – MD:CPS (75:25). Independente do material de parede, a utilização da etapa de homogeneização a alta pressão na emulsão resulta na produção de partículas mais homogêneas e com melhores parâmetros de qualidade.

7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Estudar a estabilidade de partículas em um maior número umidades relativas de armazenamento;
- Avaliar o efeito da temperatura de secagem do *spray-dryer* na retenção do volátil de interesse (no caso de microencapsulação de óleo essencial);
- Estudar a microencapsulação de compostos como B-caroteno e antocianina, utilizando um carreador hidrofóbico. Isso significa “dissolver” estes compostos em algum material hidrofóbico - juntos eles seriam o composto a ser encapsulado.

8. Referências Bibliográficas

ABDOLLAHI, A., HASSANI, A., GHOSTA, Y., GOSHA, Y., MESHKATALSADAT, M. H., SHABANI, R. Screening of antifungal properties of essential oils extracted from sweet basil, fennel, summer savory and thyme against postharvest phytopathogenic fungi. **Journal of Food Safety**, v. 31, p. 350-356, 2011.

ADAMIEC, J., KALEMBA, D. Analysis of microencapsulation ability of essential oils during spray-drying. **Drying Technology**, v. 24, p. 1127-1132, 2006.

ADAMS, R.P. **Identification of essential oil components by gas Chromatography/Mass Spectroscopy**. 1^o Ed. Allured Publishing Corporation: Carol Stream, IL, 1995.

AKHTAR, M., DICKINSON, E. Whey protein-maltodextrin conjugates as emulsifying agents: an alternative to gum Arabic. **Food Hydrocolloids**, v. 21, n. 4, p. 607-616, 2007.

AMERI, M., MAA, Y. Spray-drying of biopharmaceuticals: stability and process considerations. **Drying Technology**, v. 24, n.6, p. 763-768, 2006.

AMRITA, K., DABUR, R.S., KAPOOR, C.M. Application of microencapsulation technology in dairy industry, **Indian Food Industry**, v. 18, p. 57-64, 1999.

ANANDARAMAN, S.; REINECCIUS, G.A. Stability of encapsulated orange peel oil. **Food Technology**, v. 40, n. 11, p. 88-93, 1987.

ANVISA (2013).

<http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/2b84a5004eb5354885fb878a610f4177/Guia+para+Comprova%C3%A7%C3%A3o+da+Seguran%C3%A7a+de+Alimentos+e+Ingredientes.pdf?MOD=AJPERES>. Versão online do Guia para

Comprovação da Segurança de Alimentos e Ingredientes. Acessado em 21/03/2013.

AOAC. **Official Methods of Analysis**. 16 ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, EUA, 2006.

ATKINS, P., JONES, L. **Princípios de Química: questionando a vida moderna e o meio ambiente**. 3ª Edição, Bookman, Porto Alegre, 2007.

BACKTORP, C., WASS, T.J., PANAS, I., SKOLD, M., BORJE, A., NYMAN, G. Theoretical investigation of linalool oxidation. **The Journal of Physical Chemistry A**, v. 110, p. 12204-12212, 2006.

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. 549, 560, 2008.

BAKKALI, F., AVERBECK, S., AVERBECK, D., IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – a review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, p. 446-475, 2008.

BARANAUSKIENE, R., VENSKUTONIS, R., DEWETTINCK, K., VERHÉ, R. Properties of oregano (*Origanum vulgare* L.), citronella (*Cymbopogon nardus* G.) and marjoram (*Majorana hortensis* L.) flavours encapsulated into milk protein-based matrices. **Food Research International**, v. 39, p. 413 – 425, 2006.

BARANAUSKIENE, R., BYLAITE, E., ZUKAUSKAITE, J., VENSKUTONIS, R. Flavour retention of peppermint (*Mentha piperita* L.) essential oil spray-dried in modified starches during encapsulation and storage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 3027 – 3036, 2007.

BARATTA, M.T., DORMAN, H.J.D., DEANS, S.G., FIGUEIREDO, A. C., BARROSO, J.G, RUBERTO, G. Antimicrobial and antioxidant properties of some commercial essential oils. **Flavor and Fragrance Journal**, v. 13, p.235-244, 1998.

- BERISTAIN, C. I., GARCIA, H. S., VERNON-CARTER, E. J. Spray-dried encapsulation of cardamom (*Elettaria cardamomum*) essential oil with mesquite (*prosopis juli-ora*) gum. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie**, v. 34, p.398–401, 2001.
- BERTOLINI, A.C., SIANI, A.G. GROSSO, C.R.F. Stability of monoterpenes encapsulated in gum Arabic by spray-drying. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 780-785, 2001.
- BHANDARI, B. R.; D'ARC, B. R.; PADUKKA, I. Encapsulation of lemon oil by paste method using β -ciclodextrin: Encapsulation efficiency and profile of oil volatiles. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 47, n. 12, p. 5194-5197, 1999.
- BIZZO, H.R.; HOVELL, A.M.; REZENDE, C.M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química Nova**. v. 32, n. 3, p. 588-594, 2009.
- BLANK, A.F., SILVA, P.A., ARRIGONI-BLANK, N.F., SILVA-MANN, R., BARRETO, M.C.V. Influência da adubação orgânica e mineral no cultivo de manjeriço cv. Genovese. **Revista Ciência Agronômica**, v. 36, p. 175-180, 2005.
- BOUAOUINA, H., DESRUMAUX, A., LOISEL, C. LEGRAND, J. Functional properties of whey proteins as affected by dynamic high-pressure treatment. **International Dairy Journal**, v, 16, p. 275- 284, 2006.
- BRUNETON, J. **Farmacognosia: fitoquímica, plantas medicinales**. 2^o. ed. Zaragoza (Espanã): Editora Acribia, 2001.
- BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential application in foods – a review. **International Journal of Food Microbiology**, v. 94, p. 223-253, 2004.

BYLAITE, E., VENSKUTONIS, P.R., MAPDPIERIENE, R. Properties of caraway (*Carum carvi* L.) essential oil encapsulated into milk protein-based matrices. **European Food Research and Technology**, v. 212, p. 661-670, 2001.

CAI, Y. Z.; CORKE, H. Production and properties of spray-dried *Amaranthus* betacyanin pigments. **Journal of Food Science**, v. 65, p. 1248-1252, 2000.

CALÍN-SANCHÉZ, Á, LECH, K., SZUMNY, A., FIGIEL, A., CARBONELL-BARRACHINA, A. A. Volatile composition of sweet basil essential oil (*Ocimum basilicum* L.) as affected by drying method. **Food Research International**, v. 48, p. 217-225, 2012.

CAMPANELLA, O. H., DORWARD, N.M., SINGH, H. A study of the rheological properties of concentrated food emulsions. **Journal of Food Engineering**, v. 25, 1995.

CHAROEN, R., JANGCHUD, A., JANGCHUD, K., HARNSILAWAT, T., NAIVIKUL, O., McCLEMENTS, D.J. Influence of biopolymer emulsifier type on formation and stability of rice bran oil-in-water emulsions: whey protein, gum Arabic and modified starch. **Journal of Food Science**, v. 76, p. E165-E172, 2011.

CHAROEN, R., JANGCHUD, A., JANGCHUD, K., HARNSILAWAT, T., DECKER, E.A., McCLEMENTS, D.J. Influence of interfacial composition on oxidative stability of oil-in-water emulsions stabilized by biopolymer emulsifiers. **Food Chemistry**, v. 131, p. 1340-1345, 2012.

CHARVE, J.; REINECCIUS, G. A. Encapsulation performance of proteins and traditional materials for spray dried flavors. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 57, n. 6, p. 2486-2492, 2009.

CHEMSPIDER (2012). <http://www.chemspider.com/> Acessado em 21 de julho de 2012.

COMUNIAN, T. A., MONTERREY-QUINTERO, E.S., THOMAZINI, M. BALIEIRO, J. C. C., PICCONE, P., PITTIA, P., FAVARO-TRINDADE, C.S. Assessment of production efficiency, physicochemical properties and storage stability of spray-dried chlorophyllide, a natural food colorant, using gum Arabic, maltodextrin and soy protein isolated-based carrier systems. **International Journal of Food Science and Tehnology**, v. 46, n. 6, p. 1259-1265, 2011.

Da SILVA, F, SANTOS, R. H. S.; ANDRADE, N.J.; BARBOSA, L.C.A.; CASALI, V.W.D.; LIMA, R.R.; PASSARINHO, R.V.M. Basil conservation affected by cropping season, harvest time and storage period. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, n.4, p. 323-328, 2005.

DAMBOLENA, J. S., ZUNINO, M. P., LÓPEZ, A. G., RUBINSTEIN, H. R., ZYGADLO, J. A., MWANGI, J. W., THOITHI, G. N., KIBWAGE, I. O., MWALUKUMBI, J. M., KARIUKI, S. T. Essential oils composition of *Ocimum basilicum* L. and *Ocimum gratissimum* L. from Kenya and their inhibitory effects on growth and fumonisin production by *Fusarium verticillioides*. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 11, n. 2, p. 410-414, 2010

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

DESRUMAUX, A., MARCAND, J. Formation of sunflower oil emulsions stabilized by whey proteins with high-pressure homogenization (up to 350 MPa): effect pressure on emulsion characteristics. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 37, p. 263-269, 2002.

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

DUARTE, M. C. T., LEME, E. E., DALARMELINA, C., SOARES, A. A., FIGUEIRA, G. M., SARTORATTO, A. Activity of essential oils from Brazilian medicinal plants on *Escherichia coli*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 111, p. 197-201, 2007.

DRUSCH, S., SERFERT, Y., SCHWARZ, K. Microencapsulation of fish oil with n-octenylsuccinate-derivatised starch: flow properties and oxidative stability. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 108, n. 6, p. 501-512, 2006.

EL-SAYED, T., WALLACK, D. A.; KING, C. J. Changes in particle morphology during drying of drops of carbohydrate solutions and food liquids. 1. Effects of composition and drying conditions. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, v. 29, p. 2346-2354, 1990.

FAO (2012) <http://www.fao.org/ag/agn/jecfa-flav/search.html>. Versão online de "Specification for Flavourings". Acessado em 21 de julho de 2012.

FENNEMA, O. R. **Food Chemistry**. 3^o ED. Marcel Dekker, New York, 1996.

FERNANDES, L.P.; TURATTI, I.C.C.; LOPES, N.P.; FERREIRA, J.C.; CANDIDO, R.C.; OLIVEIRA, W.P. Volatile retention and antifungal properties of spray-dried microparticles of *Lippia sidoides* essential Oil. **Drying Technology**, v.26, n.12, p.1534-1542, 2008.

FINNEY, J., BUFFO, R., REINECCIUS, G.A. Effects of type of atomization and processing temperatures on the physical properties and stability of spray-dried flavours. **Journal of Food Science**, v. 7, n. 3, 2002.

FLOURY J., DESRUMAUX A., LARDIERES, J. Effect of high pressure homogenization on droplet size distributions and rheological properties of model oil-in-water emulsions. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v.1, p. 127-134, 2000.

FLOURY J., DESRUMAUX A., LEGRAND, J. Effect of ultra-high-pressure homogenization on structure and on rheological properties of soy protein-stabilized emulsions. **Food Engineering and Physical Properties**, v.67, n. 9, p. 3388-3395, 2002.

FLOURY J., DESRUMAUX A., AXELOS, M.A.V., LEGRAND, J. Effect of high pressure homogenization on methylcellulose as food emulsifier. **Journal of Food Engineering**, v.58, n. 3, p. 227-238, 2003.

FLOURY J., LEGRAND, J., DESRUMAUX A. Analysis of a new type of high pressure homogenizer. Part B. study of droplet break-up and recoalescence phenomena. **Chemical Engineering Science**, v. 59, p. 1285-1294, 2004.

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, n. 3, p. 413-424, 2012.

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

GOUIN, S. Micro-encapsulation: Industrial appraisal of existing technologies and trends. **Trends in Food Science and Technology**, v.15, p. 330–347, 2004.

HUSSAIN, A I., ANWAR, F., SHERAZI, S.T.H.; PRZYBYLSKI,R. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. **Food Chemistry**, v.108, p. 986-995, 2008.

HUYNH, T. V.,CAFFIN, N., DYKES, G., BHANDARI, B. Optimization of the microencapsulation of lemon myrtle oil using response surface methodology. **Drying Technology**, v. 26, p. 357-368, 2008.

JAFARI, S. M., HE, Y., BHANDARI, B. Encapsulation of nanoparticles of d-limonene by spray-drying: role of emulsifiers and emulsifying techniques. **Drying Technology**, v. 25, p. 1079-1089, 2007.

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.

JIN, I., KIM, J., SEO, J., LEE S. Physicochemical properties of soy protein isolate gels emulsified with various oils using a microbial transglutaminase. **Food Science and Biotechnology**, v. 22, p, 129-136, 2013.

JOHNSON, J.D.; VORA, J.D. Natural citrus essences. **Food Technology**, v.35, p.92, 1983.

JORNAL DA CIENCIA. <http://www.jornaldaciencia.org.br/Detalhe.jsp?id=2294>
Manjeriço pode salvar árvore amazônica da extinção, 2002. Acessado em 1 de outubro, 2009.

KIM, Y. D., MORR, C. V. Microencapsulation properties of gum Arabic and several food proteins: spray-dried orange oil emulsion particles. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 44, n. 5, p. 1314-1320, 1996.

KRISHMAN, S., BHOSALE, R., SINGHAL, R. S. Microencapsulation of cardamom oleoresin: Evaluation of blends of gum Arabic, maltodextrin and a modified starch as wall materials. **Carbohydrate Polymers**, v. 61, p. 95-102, 2005.

KUHN, K.R., CUNHA, R.L. Flaxseed oil – whey protein isolate emulsions: Effect of high pressure homogenization. **Journal of Food Engineering**, v. 111, p. 449-457, 2012.

LANGE, D. D., CAMERON, A. C. Postharvest shelf life of sweet basil (*Ocimum basilicum*). **Postharvest Technology**, v. 29, p. 102-103, 1994.

LANGE, D. D., CAMERON, A. C. Pre - and postharvest temperature conditioning of greenhouse-grown sweet basil. **Postharvest Technology**, v. 32 p. 114-116, 1997.

LAPPLE, C.E. Processes use many collection types. **Chemical Engineering**, v. 58, p. 145–151, 1951.

LEE, S., UMANO, K. SHIBAMOTO, T., LEE, K. Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. **Food Chemistry**, v. 91, n. 1, p. 131-137, 2005.

LEIMANN, F. V., GONÇALVES, O. H., MACHADO, R.A.F., BOLZAN, A. Antimicrobial activity of microencapsulated lemongrass essential oil and the effect of experimental parameters on microcapsules size and morphology. **Materials Science and Engineering C**, v. 29, n. 2, p. 430-436, 2009.

LETIZIA, C.S, COCCHIARA, J. LALKO, J., API, A.M. Fragrance material review on linalol. **Food and Chemical Toxicology**, v. 41, p. 943-964, 2003.

LIU, X.D.; ATARASHI, T.; FURUTA, T.; YOSHII, H.; AISHIMA, S.; OHKAWARA, M.; LINKO, P. Microencapsulation of emulsified hydrophobic flavors by spray-drying. **Drying Technology**, v.19, n.7, p.1361-1374, 2001.

MADENE, A.; JACQUOT, M.; SCHER, J.; DESOBRY, S. Flavour encapsulation and controlled release – a review. **International Journal of Food Science and Technology**, v.41, n.1, p.1-21, 2006.

MARIE, P., PERRIER-CORNET, J.M., GERVAIS, P. Influence of major parameters in emulsification mechanisms using high-pressure jet.. **Journal of Food Engineering**, v. 53, p. 43-51, 2002.

MAROTTI, M., PICCAGLIA, R., GIOVANELLI, E. Differences in essential oil composition of Basil (*Ocimum basilicum* L.) Italian cultivars related to morphological characteristics. **Journal of Agricultural Food Chemistry** v.44, n.12, p.3926-3929, 1996.

MARTINS, A.G. L. A. **Atividade antibacteriana dos óleos essenciais do manjeriço (*Ocimum basilicum* Linnaeus) e do gengibre (*Zingiber officinale***

Roscoe) frente a linhagens de Escherichia coli enteropatogênicas, isoladas de hortaliças. 2010, 179p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Centro Tecnológico, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa.

MATSUNO, R.; ADACHI, S. Lipid encapsulation technology – Techniques and applications to food. **Trends in Food Science and Technology**, v.4, n.8, p.256–261, 1993.

McCLEMENTS, D.J. **Food Emulsions: Principles, Practices and Techniques**, 2^o ed.; CRC Press: Boca Raton, FL, 2005.

McCLEMENTS, D. J. Critical review of techniques and methodologies for characterization of emulsion stability. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 47, p. 611-649, 2007.

MONTES-BELMONT, R.; CARVAJAL, M. Control of *Aspergillus flavus* in maize with plant essential oils and their components. **Journal of Food Protection**, v.61, n.5, p.616-619, 1998.

MORTENSON, M. A., REINECCIUS, G. A. Encapsulation and release of menthol. Part 1: the influence of OSAN modification of carriers on the encapsulation of l-menthol by spray-drying. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 23, p. 392-397, 2008.

NESTERENKO, A., ALRIC, I., SILVESTRE, F., DURRIEU, V. Vegetable proteins in microencapsulation: a review of recent interventions and their effectiveness. **Industrial Crops and Products**, v. 42, p. 469-479, 2013.

OLSON, D.W., WHITE, C.H., RICHTER, R.L. Effect of pressure and fat content on particle sizes in microfluidized milk. **Journal of Dairy Science**, v. 87, p. 3217-3223, 2004.

OUSSALAH, M., CAILLET, S., SAUCIER, L., LACROIX, M. Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E. coli*

- O157:H7, *Salmonella Typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. **Food Control**, v.18, n. 5, p. 414-420, 2006.
- PARAMITA, V., IIDA, K. YOSHII, H. FURUTA, T. Effect of feed liquid temperature on the structural morphologies of d-limonene microencapsulated powder and its preservation. **Journal Engineering and Physical Properties**, v. 75, n. 1, p. E39-E45, 2010.
- PENBUNDITKUL, P., YOSHII, H., RUKTANONCHAI, U., CHARINPANITKUL, T., ASSABUMRUNGRAT, S., SOOTTITANTAWAT, A. The loss of OSA-modified starch emulsifier property during the high pressure homogeniser and encapsulation of multi-flavour bergamot oil by spray-drying. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 47, n. 11, p. 2325-2333, 2012.
- PERRIER-CORNET, J. M., MARIE, P., GERVAIS, P. Comparison of emulsification efficiency of protein-stabilized oil-in-water emulsions using jet, high pressure and colloid mill homogenization. **Journal of Food Engineering**, v. 66, p. 211-217, 2005.
- PRATA, A.S., ZANIN, M.H.A., RÉ, M.I., GROSSO, C.R.F. Release properties of chemical and enzymatic crosslinked gelatin-gum Arabic microparticules containing a fluorescent probe plus vertiver essential oil. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v.67, p. 171-178, 2008.
- PRAVUSCHI, P. R., RIGOLIN, B. H. M., MARQUES, P. A. A. Manjeriço irrigado: alternativa a extração predatória do pau-rosa. In: **III Fórum Ambiental da Alta Paulista**, 2007, Tupa, SP. UNESP, 2007. v. 3.
- PRAVUSCHI, P., MARQUES, P. A. A., RIGOLIN, B. H. M. Efeito de diferentes lâminas de irrigação na produção de óleo essencial do manjeriço (*Ocimum basilicum* L.). **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 32, p. 687-693, 2010.

POLITEO, O., JUKIC, M., MILOS, M. Chemical composition and antioxidant capacity of free volatile aglycones from basil (*Ocimum basilium* L.) compared with its essential oil. **Food Chemistry**, v. 101, p. 379-385, 2007.

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.

REÉ, M. I. Microencapsulation by spray-drying. **Drying Technology**. v. 16, n. 3, p. 1195-1236, 1998.

REINECCIUS, G. A. Spray-drying of food flavors. In G. A. Reineccius, S. J. Risch (Eds.), **Flavor encapsulation**. Washington, DC: American Chemical Society, p. 55-66, 1988.

REINECCIUS, G. A. Flavor encapsulation. **Food Reviews International**. Chicago, v. 5, n. 2, p.147-173, 1989.

REINECCIUS, G.A. **Source Book of Flavours**. Aspen; Gaithersburg, MD, 1999.

REINECCIUS, G. A. **The spray-drying of food flavours**. In: The microencapsulation of Food Ingredients, Leatherhead, UK: Leatherhead Publishing Co. Forthcoming, 2001.

REINECCIUS, G. A. The spray-drying of food flavours. **Drying Technology**, v.22, n.6, p.1289-1324, 2004.

RODEA-GONZÁLEZ, D.A., CRUZ-OLIVARES, J., ROMÁN-GUERRERO, A., RODRÍGUEZ-HUEZO, M. E., VERNON-CARTER, E.J., PÉREZ-ALONSO, C. Spray-dried encapsulation of chia essential oil (*Salvia hispânica* L.) in whey protein concentrate-polysaccharide matrices. **Journal of Food Engineering**, v. 111, n. 1, p. 102-109, 2012.

ROSENBERG, M., KOPELMAN I. J., TALMON, Y. A scanning electron microscopy study of microencapsulation. **Journal of Food Science**, n. 50, p.139-144, 1985.

ROSENBERG, M., KOPELMAN I. J., TALMON, Y. Factors affecting retention in spray-drying microencapsulation of volatile materials. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, n. 38, p. 1288-1294, 1990.

SANTOS, J.E., LUZ, J.M.Q., FURLANI, P.R., MARTINS, S.T., HABER, L.L., LANA, R.M.Q. Cultivo de alfavaca em sistema hidropônico sob diferentes concentrações de solução nutritiva. **Bioscience Journal**, v. 21, n. 2, p. 21-24, 2005.

SANTOS, F.A., RAO, V.S.N. Antiinflammatory and antinociceptive effects of 1,8 cineole a terpenoid oxide present in many plant essential oil. **Phytotherapy Research**, v. 14, p. 240-244, 2000.

SARKAR, S., GUPTA, S., VARIYAR, P.S., SINGHAL, R.S. Irradiation depolymerized guar gum as partial replacement of gum Arabic for microencapsulation of mint oil. **Carbohydrate Polymers**, v. 90, n. 4, p. 1685-1694, 2012.

SCANAVINI, H. F. A. **Destilação em batelada de aroma natural de caju e óleo essencial de manjeriço: investigação via simulação computacional**. 2006, 138p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

SCHULZ, M.B., DANIELS, R. Hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) as emulsifier for submicron emulsions: Influence of molecular weight and substitution type on the droplet size after high-pressure homogenization. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 49, n. 3, p. 231–236, 2000.

SHAIKH, J., BHOSALE, R., SINGHAL, R. Microencapsulation of black pepper oleoresin. **Food Chemistry**, v. 94, n. 1. p. 105-110, 2006.

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

SIMON, J.E.,MORALES, M.R., PHIPPEN, W.B., VIEIRA, R.F., HAO, Z. **Basil: a source of aroma compounds and a popular culinary and ornamental herb.** Perspectives on new crops and new uses, 1999. ASHS Press, Alexandria, VA.

SINGH,H., SARKAR, A. Behavior of protein-stabilized emulsions under various physiological conditions. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 165, n. 1, p. 47-57, 2011.

SOARES, R. D., CHAVES, M. A., SILVA, A. A. L., SILVA, M. V., SOUZA, B. S. Influence of drying temperature and air velocity related to essential oil and linalol contents of the basil (*Ocimum basilicum* L.). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, n. 4, p. 1108-1113, 2007.

SOOTTITANTAWAT, A., YOSHI, H. OHKAWARA, M., LINKO, P. Microencapsulation by spray-drying: influence of emulsion size on the retention of volatile compounds. **Food Engineering and Physical Properties**. v. 68, n. 7, p. 2256-2262, 2003.

SOOTTITANTAWAT, A., BIGEARD, F., YOSHI, 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 and Emerging Technologies**. v. 6, p. 107-114, 2005a.

SOOTTITANTAWAT, A., TAKAYAMA, K; OKAMURA, K., MURANAKA, D., YOSHI, H., FURUTA, T., OHKAWARA, M., LINKO, P. Microencapsulation of l-menthol by spray-drying and its release characteristics. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 6, p. 163-170, 2005b.

SOUZA, R.C.Z., EIRAS, M.M., CABRAL, E.C., BARATA, L.E.S., EBERLIN, M.N.,. CATHARINO, R. The famous Amazonian Rosewood essential oil: characterization

and adulteration monitoring by Electrospray Ionization Mass Spectrometry Fingerprinting. **Analytical Letters**, v. 15, n. 15, p. 2417 -2422, 2011.

SUPPAKUL, P., MILTZ, J., SONNEVELD, K., BIGGER, S. Antimicrobial properties of basil and its possible application in food packaging. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 3197-3207, 2003.

TEIXEIRA, M.I., ANDRADE, L.R., FARINA, M., ROCHA-LEÃO, M.H.M. Characterization of short chain fatty acid microcapsules produced by spray-drying. **Materials Science and Engineering C**, v.24, p. 653-658, 2004.

TONON, R. V., BRABET, C., HUBINGER, M. D. Influence of process conditions on the physicochemical properties of açai (*Euterpe oleraceae* Mart.) powder produced by spray-drying. **Journal of Food Engineering**, v. 88, p. 411-418, 2008.

TOURÉ, A., XIAOMING, Z., JIA, C. S., ZHIJIAN, D. Microencapsulation and oxidative stability of ginger essential oil in maltodextrina/whey protein isolate (MD/WPI). **International Journal of Dairy Science**, v. 2, n. 4, p. 387-392, 2007.

UMERIE, S.C., ANASO, H.U.; ANYASORO, L.J.C. Insecticidal potentials of *Ocimum basilicum* leaf extracts. **Bioresource Technology**, v.64, n.3, p.237-239, 1998.

VAIDYA, S., BHOSALE, R., SINGHAL, R.S. Microencapsulation of cinnamon oleoresin by spray-drying using different wall materials. **Drying Technology**, v. 24, p. 983-992, 2006.

WALSTRA, P., SMULDERS, P. A. E. Emulsion formation. In B. P. Binks (Ed.) **Modern aspects of emulsion science**. Cambridge, UK. Royal Society of Chemistry, p. 56-99, 1998

YOUNG, S. L., SARDA, X., ROSENBERG, M. Microencapsulating properties of whey proteins. 1. Microencapsulation of Anhydrous Milk Fat. **Journal of Dairy Science**, v. 76, p. 2868-2877, 1993a.

YOUNG, S. L., SARDA, X., ROSENBERG, M. Microencapsulating properties of whey proteins. 2. Combination of whey proteins with carbohydrates. **Journal of Dairy Science**, v. 76, p. 2878-2885, 1993b.

YOUSIF, A.N., SCAMAN, C.H., DURANCE, T.D., GIRARD, B. Flavor volatiles and physical properties of vacuum-microwave and air dried sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, n. 11, p. 4777-4781, 1999.

ZELLER, B. D., LO PRESTI M., BARATA, L. E. S., DUGO, P., DUGO, G., MONDELLO, L. Evaluation of leaf-derived extracts as an environmentally sustainable source of essential oils by using gas chromatography-mass spectrometry and enantioselective gas chromatography-olfactometry. **Analytical Chemistry**, v. 78, p. 883-890, 2006.

ANEXO A

Especificações técnicas do Óleo Essencial de Manjeriço



www.linax.com.br

LINAX Comércio de Óleos Essenciais LTDA
Votuporanga – SP – Brasil

Analyse Certificate

Commercial name: Basil Essential Oil
Botanical Name: *Ocimum basilicum* L.
Extraction: Steam Distillation
Expressed organ: leaves
CAS # 8015-73-4
EINECS # 283-900-8

Physical Parameters

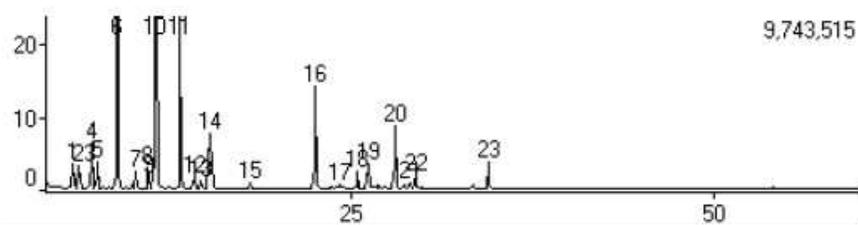
Product/Standard: Basil Essential Oil 100% Pure & Natural
Color: Pale Yellow Transparent Liquid
Odor: Herbal Spicy
Relative density: 0.873 - 0.943
Polarization: -6.50 to -16.00
Refraction Number: 1.465 – 1.480
Boiling Point: 212-215⁰C
Composition: Linalool, geraniol, methylhavicol, nerol, citronellol, bornylacetate, eugenol, limonene, etc. (see chromatography).
Application: Perfumery and cosmetics, soap production, pharmaceutical industry, medicine, food industry.

Handlyng and Storage

Recommended Storage conditions: Keep well closed, cool and protected from light, not more than 35 °C.

Product best use before under 3 years.

LINAX BASIL ESSENTIAL OIL
GAS CHROMATOGRAPHY – GC/MS



PKNO	R.TIME	I.TIME	F.TIME	A/H(sec)	AREA	HEIGHT	MARK	%Total	NAME
1	5.948	5.908	6.017	2.166	2959782	1366527		0.65	
2	6.353	6.308	6.425	2.181	2620691	1201491		0.58	
3	7.048	6.950	7.108	2.400	3058195	1274404	V	0.67	
4	7.169	7.108	7.283	2.528	6180062	2444964	V	1.36	
5	7.565	7.517	7.650	2.420	3349884	1384450		0.74	
6	8.959	8.783	9.750	3.077	117350052	38135667	VS	25.76	
7	10.256	10.200	10.367	2.959	2853798	964304		0.63	
8	11.022	10.967	11.083	3.203	3546078	1107226	V	0.78	
9	11.121	11.083	11.225	3.277	2129572	649836	V	0.47	
10	11.618	11.342	13.200	4.643	180209873	38815862	VS	39.56	
11	13.283	13.200	14.400	3.655	57735280	15794090	VS	12.67	
12	14.270	14.208	14.400	3.853	2244550	582539	T	0.49	
13	14.767	14.700	14.900	3.796	1700550	447946	V	0.37	
14	15.320	15.242	15.467	3.507	10490489	2990986		2.30	
15	18.158	18.108	18.358	4.136	1190512	287819		0.26	
16	22.628	22.392	22.850	3.907	21720701	5558903	VS	4.77	
17	24.369	24.242	24.475	5.161	1246374	241478		0.27	
18	25.538	25.383	25.692	4.200	3705755	882347	V	0.81	
19	26.274	26.200	26.908	4.198	5824502	1387464	S	1.28	
20	28.144	28.042	28.258	4.096	13967091	3409653	V	3.07	
21	29.162	29.075	29.267	5.463	1441270	263805		0.32	
22	29.503	29.358	29.592	4.178	2888864	691507	V	0.63	
23	34.510	34.358	35.625	4.865	7110782	1461720	VS	1.56	

PKNO 06) 1-8 Cineol (~ 26%)

PKNO 10) linalol (~ 40%)

PKNO 11) canphor (~ 13%)

ANEXO B

ESPECIFICAÇÕES TÉCNICAS DOS MATERIAIS DE PAREDE

Goma Arábica

129,Chemin de Croisset
B.P. 4151
76723 Rouen cedex 3
France
TI : + 33 (0) 2 32 83 18 18
Fax : + 33 (0) 2 32 83 19 19



TECHNICAL DATA SHEET	INSTANTGUM BA	
Version :4	Created on : 14/10/2005	Last update : 06/12/2006
Content : Acacia gum purified and instantised		
Legal position : E414, 96/77/EC, 95/2/EC, USP/NF, FCC, Eur.Ph.		
Standard Packaging : Net 25 kg paper bags with inner polyethylene liner		
Maximun Storage : 3 years Storage Condition : Keep closed in cool and dry place		

MATERIAL CHARACTERISTICS

Physical and chemical data					
Analysis	Description	MINI	MAXI	Unit	Test method
Moisture	5h @ 105°C		10	%	USP <921> Method III
Colour @ 25%	Aqueous solution 25% - Lovibond AF900		10	-	-
Ashes @ 600°C	8h @ 600°C		4	%	Eur. Ph.
Acid insoluble ashes	Ashes + acid hydrolysis		0,5	%	USP<561>
Acid insoluble matters	Gravimetric determination after acid hydrolysis		0,1	%	-
pH	25% aqueous solution, @ 20°C	4,1	5,0	-	Eur. Ph. 2.3.3
Viscosity 25%	25%, Brookfield LVF 60 rpm @ 20°C	60	100	mPa.s	-
Mesh size powder through 63µm	Vacuum sieving		15	%	-
Tanin test	réaction with iron chloride	negative		-	Pharmacopea
Bacteriology					
Analysis	Description	MINI	MAXI	Unit	Test method
Total Plate Count	72 h @ 30°C - PCA		500	ufc/g	ISO 4833
Yeast	5 days @ 25°C - YGC		50	ufc/g	ISO 7954
Moulds	5 days @ 25°C - YGC		50	ufc/g	ISO 7954
E. coli (test for the presence of)	48 h @ 44°C - EP without indole + Kovacs reagent		abs/5g	-	NF V 08-017
Aerobic Mesophilic Sporeformers	10 min @ 80°C, 72 h @ 30°C - PCA		300	ufc/g	ISO 4833
Salmonella (test for the presence of)	Pré-enrich, 24 h @ 41°C - SRTEM (Oxoid)		abs/25g	-	ISO 6579



Isolado Proteico de Soja

CERTIFICADO DE ANÁLISE

Página 1 de 2
Data: 30 Setembro

Enviar para: COMPANHIA BANDEIRANTES DE ARMAZ GERAIS AVE PRES WILSON 5.031 04220-001 SAO PAULO-IPIRANGA - SP	Enviado de: Solae do Brasil Ind. e Com. Alim. Ltda. Rodovia BR116, 702 93270-000 Esteio - RS																
Material: 10005194 ISP SUPRO® 783 IP 20KG PROTEINA ISOLADA DE SOJA País de origem: Brasil	Encomenda / Artigo Entrega / Artigo 70024737 / 000020 80560807 / 900002																
Lote / Quantidade E330017277 / 3.680 KG <i>Data de Fabricação: 08 Jul 2011</i>	N.º N.E.: 1138																
<table border="1"> <thead> <tr> <th>Característica</th> <th>Valor</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Umidade</td> <td>5,2 %</td> </tr> <tr> <td>Proteína, base seca</td> <td>92,5 %</td> </tr> <tr> <td>E. coli</td> <td>< 3 /G</td> </tr> <tr> <td>Salmonella (/375g)</td> <td>Negativo</td> </tr> <tr> <td>Contagem Total em Placas</td> <td>300 /G</td> </tr> <tr> <td>Bolores e Leveduras</td> <td>< 10 /G</td> </tr> <tr> <td>Válido Até</td> <td>08 Jan 2013</td> </tr> </tbody> </table>	Característica	Valor	Umidade	5,2 %	Proteína, base seca	92,5 %	E. coli	< 3 /G	Salmonella (/375g)	Negativo	Contagem Total em Placas	300 /G	Bolores e Leveduras	< 10 /G	Válido Até	08 Jan 2013	
Característica	Valor																
Umidade	5,2 %																
Proteína, base seca	92,5 %																
E. coli	< 3 /G																
Salmonella (/375g)	Negativo																
Contagem Total em Placas	300 /G																
Bolores e Leveduras	< 10 /G																
Válido Até	08 Jan 2013																

Os resultados certificados acima baseiam-se em Métodos Homologados e podem ser obtidos a partir de análises laboratoriais reais, tecnologia de medição rápida, resultados de plano de amostragem definidos estatisticamente, ou através de estudos de correlação. A Solae, LLC garante que o produto que você está recebendo está em conformidade com as características especificadas.

A316-ZQCA-PT-PP1



CERTIFICADO DE ANÁLISE

Página 2 de 2
Data: 30 Setembro

Enviar para: COMPANHIA BANDEIRANTES DE ARMAZ GERAIS AVE PRES WILSON 5.031 04220-001 SAO PAULO-IPIRANGA - SP	Enviado de: Solae do Brasil Ind. e Com. Alim. Ltda. Rodovia BR116, 702 93270-000 Esteio - RS
Material: 10005194 ISP SUPRO® 783 IP 20KG PROTEINA ISOLADA DE SOJA País de origem: Brasil	Encomenda / Artigo Entrega / Artigo 70024737 / 000020 80560807 / 900002
Lote / Quantidade E330017277 / 3.680 KG <i>Data de Fabricação: 08 Jul 2011</i>	N.º N.E.: 1138

Característica	Valor
<p>Certificamos que o lote de produto acima mencionado foi produzido através de ingredientes convencionais com Identidade Preservada, originados a partir de soja não geneticamente modificada. A conformidade com o Sistema de Identidade Preservada (IP) da Solae, LLC é certificada pela Société Générale de Surveillance (SGS) ou CertID. Estes produtos com Identidade Preservada não são sujeitos às exigências de rotulagem oriundas dos regulamentos 1829/2003 e 1830/2003 da Comunidade Europeia.</p> <p>A Solae, LLC desenvolveu um Programa Identidade Preservada (IP) que fornece aos clientes a opção de escolha por produtos com Identidade Preservada (non GM), fundamentado desde a fonte de origem de soja não transgênica. O lote de produto mencionado acima foi produzido a partir de ingredientes derivados de uma fonte de soja não geneticamente modificada e em conformidade com nosso Sistema de Identidade Preservada, que assegura limite adventício máximo de 0,9% de organismos geneticamente modificados em sua composição. As sementes de soja são cultivadas, colhidas, transportadas e processadas, convertendo-se em produtos com Identidade Preservada Solae e posteriormente armazenados e transportados em conformidade com as melhores práticas de preservação de identidade, a fim de evitar contaminações adventícias em cada etapa do processo.</p>	

Os resultados certificados acima baseiam-se em Métodos Homologados e podem ser obtidos a partir de análises laboratoriais reais, tecnologia de medição rápida, resultados de plano de amostragem definidos estatisticamente, ou através de estudos de correlação. A Solae, LLC garante que o produto que você está recebendo está em conformidade com as características especificadas.

Concentrado Proteico de Soro**ESPECIFICAÇÕES TÉCNICAS**

Alibra WPC 80

*Concentrado Protéico de Soro - 80% proteínas***1. DESCRIÇÃO DO PRODUTO**

Produto em pó, de coloração branco a ligeiramente creme, obtido a partir da remoção de quantidade suficiente de constituintes não protéicos do soro pasteurizado, obtendo-se um produto com teor mínimo de 76% de proteínas.

2. INGREDIENTES

Soro de leite concentrado resfriado. **NÃO CONTÉM GLÚTEN**

3. ESPECIFICAÇÕES**3.1. CARACTERÍSTICAS DO PRODUTO**

- Pó uniforme isento de substâncias estranhas.
- Sabor e odor lácteo característico.
- Cor branco a amarelado.

3.2. CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS

Contagem Padrão de Mesófilos (UFC/g)	< 50.000
Coliformes Totais (UFC/g)	< 100
Coliformes Fecais (UFC/g)	< 10
Estafilococos coag. positiva (UFC/g)	< 100
Bolores e Leveduras (UFC/g)	< 50

3.3. CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS

pH (solução 10%)	6,1 a 6,7
Umidade (%)	Max 5,5
Lipídeos (%)	Max 7
Proteínas (%)	Min 76
Cinzas (sais minerais) (%)	Max 3,5
Partículas Queimadas (ADPI)	Max Disco B

4. APLICAÇÃO

Pode ser utilizado para várias aplicações na indústria de alimentos como produtos de panificação, sobremesas, confeitaria, laticínios, snack, entre outros, em acordo com as boas práticas de fabricação.

5. INFORMAÇÕES NUTRICIONAIS

INFORMAÇÃO NUTRICIONAL	
Porção de 100g	
Calorias	397 kcal / 1667 kj
Carboidratos	8,0 g
Proteínas	77 g
Gorduras totais	7,0 g
Gorduras saturadas	1,0 g
Gorduras Trans	0,2 g
Colesterol	130 mg
Fibras alimentares	0 g
Cálcio	560 mg
Ferro	1,0 mg
Sódio	200 mg

6. ARMAZENAMENTO/CONSERVAÇÃO

Na embalagem original, à temperatura ambiente, ao abrigo da luz e calor, em local fresco, seco e arejado.

7. VALIDADE

12 meses a partir da data de fabricação, quando estocado nas condições recomendadas. Depois de aberta a embalagem, recomenda-se consumir o seu conteúdo em até 30 dias.

8. EMBALAGEM

Sacos de papel multifolhados, com saco de polietileno interno, contendo 20 kg.

9. TRANSPORTE

Transportar em veículo limpo, protegido contra umidade e calor, não devendo ser transportado com outros materiais que possam de alguma forma contaminar o produto.

10. INFORMAÇÕES ADICIONAIS

Nº de Registro-SIF/MAPA DIPOA N° 0023/1235
Código - WPC 80

alibra ingredientes ltda

R. Pedro Stancato, n° 320 – Bairro Amarais – Campinas – SP / Brasil – CEP 13082-050 - Tel.: 55 (19) 3716-8888 – FAX: 55 (19) 3246-1800
<http://www.alibra.com.br> e-mail: alibra@alibra.com.br

As informações contidas nesse documento expressa o melhor de nosso conhecimento do produto. A Alibra Ingredientes Ltda reserva-se o direito de modificar as especificações do produto.
ET-WPC 80-08

Pág. 01/01

APÊNDICE A

PUBLICAÇÕES RESULTANTES DESTE TRABALHO

Artigos completos publicados ou submetidos para análise em periódicos:

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.

Trabalhos completos publicados em anais de congressos

GARCIA, L. C.; TONON, R. V.; HUBINGER, M. D. . Effect of oil concentration and homogenization pressure on the microencapsulation of basil essential oil. In: 11th International Congress on Engineering and Food (ICEF11), 2011, Atenas. *Proceedings of the 11th International Congress on Engineering and Food (ICEF11)*, 2011. v. 1.

Resumos publicados em anais de congresso

GARCIA, L. C.; TONON, R. V.; HUBINGER, M. D. Effect of high pressure homogenization on the emulsion properties and oil retention of microencapsulated basil essential oil.. In: South-American Symposium on Microencapsulation hold in Limeira, 2012, Limeira. *Proceedings of the South-American Symposium on Microencapsulation*, 2012.