

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
DEPARTAMENTO DE ALIMENTOS E NUTRIÇÃO

**PRODUÇÃO, CARACTERIZAÇÃO, ESTABILIDADE E APLICAÇÃO DE
MICROCÁPSULAS DE LICOPENO**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Engenharia de Alimentos, da Universidade
Estadual de Campinas, para obtenção do
título de Mestre em Alimentos e Nutrição.

Glaucia Aguiar Rocha
Mestranda

Carlos Raimundo Ferreira Grosso
Orientador

Carmen Sílvia Fávaro Trindade
Co-orientadora

Campinas – SP
Fevereiro – 2009

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FEA – UNICAMP

R582p Rocha, Glaucia Aguiar
Produção, caracterização, estabilidade e aplicação de microcápsulas
de licopeno / Gláucia Aguiar Rocha. -- Campinas, SP: [s.n.],2009.

Orientador: Carlos Raimundo Ferreira Grosso
Co-orientador: Carmen Sílvia Favaro Trindade
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Engenharia de Alimentos

1. Microencapsulação. 2. Licopeno. 3. Coacervação complexa.
4. Spray drying. 5. Estabilidade. I. Grosso, Carlos Raimundo
Ferreira. II. Trindade, Carmen Sílvia Favaro. II. Universidade
Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. III.
Título.

(cars/fea)

Titulo em inglês: Production, characterization, stability and application of microcapsules of
lycopene

Palavras-chave em inglês (Keywords): Microencapsulation, Lycopene, Complex coacervation,
Spray drying , Stability

Área de concentração: Consumo e Qualidade de Alimentos

Titulação: Mestre em Alimentos e Nutrição

Banca examinadora: Carlos Raimundo Ferreira Grosso

Mirian Dupas Hubinger

Samantha Cristina de Pinho

Data de defesa: 20/2/2009

Programa de Pós Graduação: Programa em Alimentos e Nutrição

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Carlos Raimundo Ferreira Grosso
Faculdade de Engenharia de Alimentos – UNICAMP
Orientador

Prof^a. Dr^a. Miriam Dupas Hubinger
Faculdade de Engenharia de Alimentos – UNICAMP
Membro

Prof^a. Dr^a. Samantha Cristina de Pinho
Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos – USP
Membro

Dr^a. Alcina Maria Liserre
Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Laticínios – ITAL
Suplente

Dr. Rodney Alexandre Ferreira Rodrigues
Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas e Biológicas - UNICAMP
Suplente

“Seja você quem for, tenha sempre como meta muita força, muita determinação e sempre faça tudo com muito amor e com muita fé em Deus, que um dia você chega lá. De alguma maneira você chega lá”.

Ayrton Senna da Silva

*Aos meus pais, Leila e Umberto,
por todo amor, apoio e incentivo.
Dedico esse trabalho a vocês!*

Agradecimentos

Agradeço a Deus por minha vida, pela presença e proteção.

Ao Prof. Carlos, por me orientar e por toda dedicação e esforço destinados a esse trabalho. Esses dois anos foram muito enriquecedores para minha formação, muito obrigada!

À Prof. Carmen, por mais uma vez confiar no meu trabalho e por todo apoio, incentivo, trabalho e dedicação. Obrigada por estar sempre disponível a me ouvir e aconselhar e por ser mais que professora e orientadora.

Aos membros da banca, pela atenção e tempo dedicados à correção do trabalho. Obrigada pelas valiosas sugestões e correções.

Ao Prof. Áureo Yamada e toda sua equipe. Muito obrigada por permitir a realização das microscopias óticas.

À Yara, por seu competente trabalho, pela preciosa ajuda no laboratório e pelas agradáveis conversas.

Aos funcionários do DEPAN, muito obrigada pela ajuda, atenção, conversas, risadas e pipocas!

Ao Marcelo, por toda a ajuda, boas sugestões e conversas. Agradeço também aos alunos do Laprof, com quem pude passar agradáveis momentos nas idas a Pirassununga! Aline, obrigada pela hospedagem!

Aos meus queridos professores da FZEA, por toda bagagem e segurança para que eu pudesse continuar a caminhada.

Ao Cosme e aos demais funcionários da secretaria de pós-graduação, pelo trabalho tão bem realizado e por toda gentileza e disposição. Agradeço também a todos os funcionários da FEA.

Aos companheiros de laboratório: Alda, Andréa, Bárbara, Camila, Carol, Cris, Fernando e Noemí por serem muito mais que colegas de trabalho. Obrigada pela amizade tão querida, almoços descontraídos, conversas, "orgias gastronômicas", apoio e incentivo. Com vocês tudo foi mais fácil e muito mais agradável. Agradeço também aqueles que, apesar do pouco tempo que passaram conosco, proporcionaram momentos divertidos: Caro, Diego, Cláudia, Veronique. E aos demais amigos do departamento. Paula, obrigada pelas nossas boas conversas!

Aos amigos do Mendel, por nossa amizade tão bonita e por estarmos sempre comemorando nossas conquistas juntos. Obrigada também pelos agradáveis encontros de finais de semana!

À Carol por tantos anos de amizade (tantos, que é melhor nem fazer as contas...rs), pelas conversas noturnas e companhia. Foi muito bom ser sua vizinha!

À Vanessa e Roberta, amigas-irmãs, por serem tão especiais na minha vida. Obrigada pelo apoio e torcida de sempre!

À Vó Loira pelas orações e carinho (e pelos bolos de cenoura!!!), à Vó Maria pelas orações e apoio, aos tios, tias e primos pelo incentivo e aos meus avôs Lourenço e Flávio pela proteção lá de cima.

À Rose e ao Fernando por estarem sempre com as portas abertas e me receberem com carinho e à Fernanda e Roberta pelo espaço fornecido a mim e à "Celma".

Ao Rodrigo, por seu meu anjo da guarda! Obrigada pelo seu amor, carinho, paciência, companheirismo e atenção. Agradeço por sempre caminharmos juntos e por me fazer ver a vida de uma forma mais leve. Amo você!

E aos meus pais... não tenho palavras para expressar o quanto amo vocês. Obrigada pelo amor incondicional, por sonharem os meus sonhos e por serem meu exemplo de vida.

A todos vocês, os meus sinceros agradecimentos!

ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	3
2.1. Objetivo geral	3
2.2. Objetivos específicos	3
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
3.1. Microencapsulação	4
3.1.1. Métodos utilizados para microencapsulação	7
3.1.1.1. Microencapsulação pelo processo de coacervação complexa.....	7
3.1.1.2. Microencapsulação por spray drying	11
3.1.2. Mecanismos de liberação	14
3.1.3. Agentes Encapsulantes	16
3.1.3.1. Gelatina.....	17
3.1.3.2. Goma arábica.....	18
3.1.3.3. Amidos Modificados.....	19
3.1.4. Material Ativo.....	20
3.1.4.1. Licopeno	21
3.1.4.1.1. Microencapsulação de licopeno	23
4. MATERIAL E MÉTODOS	25
4.1. Material.....	25
4.2. Metodologia.....	25
4.2.1. Produção das micropartículas por coacervação complexa	25
4.2.1.1. Caracterização das micropartículas – seleção para o teste de estabilidade.....	28
4.2.1.1.1. Diâmetro médio, distribuição de tamanho e morfologia	28
4.2.1.1.2. Eficiência de encapsulação (%EE)	28
4.2.1.2. Determinação da estabilidade à temperatura do material liofilizado	29
4.2.1.3. Caracterização.....	29
4.2.1.3.1. Avaliação morfológica, diâmetro médio e distribuição de tamanho.....	29

4.2.1.3.2. Densidade	30
4.2.1.3.3. Higroscopicidade.....	30
4.2.2. <i>Produção de micropartículas por spray drying</i>	31
4.2.2.1. <i>Eficiência de Encapsulação</i>	31
4.2.2.2. <i>Estabilidade à temperatura</i>	32
4.2.2.3. <i>Caracterização</i>	32
4.2.3. <i>Aplicação em sistema alimentício</i>	32
4.2.3.1. <i>Avaliação Instrumental de cor do sistema alimentício</i>	33
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	35
5.1. Produção das micropartículas por coacervação complexa	35
5.1.1. <i>Morfologia das micropartículas coacervadas</i>	35
5.1.2. <i>Diâmetro médio e distribuição de tamanho das micropartículas coacervadas</i>	39
5.1.3. <i>Eficiência de Encapsulação das micropartículas coacervadas liofilizadas</i>	42
5.2. Produção das micropartículas por spray drying	43
5.2.1. <i>Eficiência de Encapsulação das micropartículas atomizadas</i>	43
5.3. Estabilidade das micropartículas coacervadas liofilizadas e obtidas por spray drying	44
5.4. Caracterização das micropartículas obtidas por coacervação e spray drying.....	49
5.4.1. <i>Morfologia</i>	49
5.4.1.1. <i>Microscopia ótica das micropartículas coacervadas</i>	49
5.4.1.2. <i>Microscopia eletrônica de varredura – micropartículas coacervadas liofilizadas e obtidas por spray drying</i>	53
5.4.2. <i>Densidade</i>	56
5.4.3. <i>Higroscopicidade</i>	57
5.5. Aplicação em sistema alimentício	59
6. CONCLUSÕES	62
7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	63
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	64
9. ANEXOS	80
9.1. Espectro de varredura de licopeno (10% disperso em óleo) em acetona.	80

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Modelo esquemático de microencapsulação por coacervação complexa.	9
Figura 2: Modelo esquemático de <i>spray dryer</i> Lab Plant SD-05 (VALDUGA <i>et al.</i> , 2003).....	12
Figura 3: Estrutura do licopeno	21
Figura 4: Fluxograma de produção das micropartículas por coacervação.	26
Figura 5 : Imagens obtidas por microscopia ótica de micropartículas coacervadas úmidas, elaboradas com 2,5% de concentração de polímeros de parede. A = sistema 1 (25% de recheio); B = sistema 2 (50% recheio) e C = sistema 3 (75% de recheio). Barras = 100 µm.....	37
Figura 6: Imagens obtidas por microscopia ótica de micropartículas coacervadas úmidas, elaboradas com 5% de concentração de polímeros de parede. A = sistema 4 (25% de recheio); B = sistema 5 (50% recheio) e C = sistema 6 (75% de recheio). Barras = 100 µm.....	38
Figura 7: Imagens obtidas por microscopia ótica de micropartículas coacervadas úmidas, elaboradas com 7,5% de concentração de polímeros de parede. A = sistema 7 (25% de recheio); B = sistema 8 (50% recheio) e C = sistema 9 (75% de recheio). Barras = 100 µm.....	39
Figura 8: Histogramas de distribuição de tamanho das micropartículas coacervadas. (A: concentração da solução de polímeros de parede = 2,5% e B = 5,0%) (1= 25% de recheio, 2 = 50% e 3 = 75%).....	41
Figura 9: Retenção de licopeno nos sistemas coacervados 1 e 6 durante 73 dias.	46
Figura 10: Retenção de licopeno nos sistemas produzidos por <i>spray drying</i> (R = porcentagem de recheio) durante 73 dias.....	47
Figura 11: Retenção de licopeno no sistema 6 de coacervação em comparação ao licopeno livre armazenado nas mesmas condições.	48
Figura 12: Imagens obtidas por microscopia ótica de micropartículas coacervadas do sistema 6 (P5% R75%). A = úmidas antes da liofilização; B = liofilizadas	

(captação em glicerol); C = 5 minutos após reidratação; D = 1 hora após reidratação, E = 24 horas após reidratação. Barras = 100 μm	51
Figura 13: Histogramas de distribuição de tamanho das micropartículas coacervadas do sistema 6 (P5% R75%). A = úmidas antes da liofilização; B = liofilizadas; C = 5 minutos após reidratação; D = 1 hora após reidratação, E = 24 horas após reidratação.....	52
Figura 14: Imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) de micropartículas atomizadas em <i>spray drying</i> com 5% de recheio (A: barra = 10 μm ; B: barra = 10 μm ; C: barra = 1 μm).....	54
Figura 15: Imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) de micropartículas atomizadas em <i>spray drying</i> com 10% de recheio (A: barra = 10 μm ; B: barra = 10 μm).....	55
Figura 16: Imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) de micropartículas atomizadas em <i>spray drying</i> com 15% de recheio (A: barra = 10 μm ; B: barra = 10 μm).....	55
Figura 17: Imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) de micropartículas coacervadas liofilizadas (sistema 6: parede 5%, recheio 75%) (A: barra = 100 μm ; B: barra = 10 μm).....	56
Figura 18: Absorção de água em função do tempo pelas micropartículas atomizadas em <i>spray dryer</i> (R= porcentagem de recheio) e coacervadas do sistema 6 (parede 2,5% e recheio 75%).....	58
Figura 19: Fatias de bolo produzidas com licopeno na forma livre, com adição de micropartículas obtidas por <i>spray drying</i> , coacervação, coacervação seguida de liofilização e sem adição de licopeno.....	61
Figura 20: Distribuição de licopeno em bolos. A = livre; B = atomizado em <i>spray dryer</i> ; C = coacervado; D = coacervado liofilizado (as setas apontam para aglomerados de licopeno).....	61

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Condições utilizadas na produção de micropartículas coacervadas.....	27
Tabela 2: Sistemas de produção das micropartículas.....	27
Tabela 3: Diâmetro médio das micropartículas obtidas por coacervação complexa pelos sistemas 1 ao 6.	40
Tabela 4: Eficiência de encapsulação de micropartículas obtidas por coacervação complexa.....	43
Tabela 5: Eficiência de Encapsulação para as micropartículas obtidas por <i>spray drying</i>	44
Tabela 6: Equações e coeficientes de relação da regressão linear da retenção de licopeno encapsulado	47
Tabela 7: Retenção de licopeno nas micropartículas e na forma livre após 73 dias	48
Tabela 8: Diâmetro médio das micropartículas obtidas por coacervação complexa, úmidas, liofilizadas e reidratadas por diferentes tempos.	50
Tabela 9: Densidade das micropartículas coacervadas liofilizadas do sistema 6 e atomizadas em <i>spray dryer</i> (R= porcentagem de recheio).....	57
Tabela 10: Higroscopicidade das micropartículas coacervadas liofilizadas do sistema 6 e atomizadas em <i>spray dryer</i> (R= porcentagem de recheio)	58
Tabela 11: Valores das coordenadas “a” para bolos produzidos com licopeno em diferentes meios e sem licopeno.....	60

Resumo

O interesse no licopeno cresceu em anos recentes, devido aos estudos que o associam à diminuição do risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares e câncer. Porém, devido ao seu alto grau de insaturação, este carotenóide é propenso à isomerização e oxidação durante o processamento e a estocagem, dificultando sua utilização na indústria de alimentos. A microencapsulação pode amenizar essa situação, aumentando sua estabilidade e tornando possível sua incorporação em sistemas alimentícios sem a perda de suas propriedades funcionais. Assim, o objetivo deste trabalho foi microencapsular licopeno pelos métodos de coacervação complexa e *spray drying*, utilizando gelatina e goma arábica como agentes encapsulantes para o primeiro método, seguido de secagem do material coacervado por liofilização e amido modificado (Capsul®) para o segundo método. As variáveis na obtenção das micropartículas foram a concentração de polímeros de parede (somente na coacervação) e a quantidade de recheio. As micropartículas obtidas foram avaliadas morfológicamente por microscopia ótica (somente coacervadas) e quanto à eficiência de encapsulação. Foram submetidas a um teste de estabilidade em comparação ao material de recheio na forma livre e foram também caracterizadas quanto à densidade, higroscopicidade e morfologia (ótica e eletrônica de varredura). Foi realizada a incorporação das micropartículas e do material livre em uma formulação de bolo, que foi utilizada como sistema modelo, a qual foi avaliada quanto à cor. Os valores de eficiência de encapsulação foram superiores a 90% para as micropartículas coacervadas e entre 20 e 30% para as obtidas por *spray drying*. Através do teste de estabilidade foi possível verificar que os dois métodos de microencapsulação ofereceram maior proteção ao licopeno em relação à sua forma livre. A aplicação em bolo das micropartículas coacervadas não liofilizadas e das obtidas por *spray drying* foi satisfatória, enquanto que para a aplicação das micropartículas coacervadas liofilizadas houve baixa transferência de cor.

Palavras-chave: microencapsulação, licopeno, coacervação complexa, *spray drying*, estabilidade.

Abstract

The interest in lycopene increased in recent years due the studies that associate it with the reduction of the risk of cardiovascular diseases and cancer development. However, due the high degree of insaturation, this carotenoid is propense to isomeration and oxidation during the processing and storage, being difficult its use in food industry. The microencapsulation can improve this situation, increasing its stability and rendering possible its addition in food systems without losses of its functional properties. Thus, the aim of this work was to microncapsulate lycopene by complex coacervation and spray drying methods, using gelatin and arabic gum as wall materials to the first method, followed by the drying of the coacervated material by liofilization, and modified starch (Capsul®) for the second method. The differences in the process to obtain the microcapsule were the polymers concentration (only for coacervation) and amount of lycopene. The microcapsules obtained were morphologically evaluated by optic microscopy (only coacervates) and about the encapsulation efficiency. They were submitted to a stability test in comparison with the free material and also were characterized about density, hygrosopicity and morphology (optical and scanning electron). The addition of capsules and free lycopene in a cake formulation was carried out and they were evaluated about the intensity of the color. The values of encapsulation efficiency were higher than 90% to coacervates capsules and between 20 and 30% to those obtained by spray drying. The study of stability showed that microencapsulation offered higher protection to lycopene than its in free way. The addition of coacervates (no freeze dried) and spray dried microcapsules in cake was satisfactory, whereas for the application of freeze dried coacervates particles, the color transference was low.

Keywords: microencapsulation, lycopene, complex coacervation, spray drying, stability.

1. INTRODUÇÃO

Os carotenóides compõem um grupo de compostos responsáveis pelas cores amarela, laranja e vermelha de muitos alimentos de origem vegetal e alguns de origem animal. O licopeno é um carotenóide acíclico com 11 duplas ligações conjugadas, responsável pela cor vermelha de frutos como tomate, mamão, pitanga, goiaba vermelha e melancia. Diversos estudos associam o aumento do consumo de licopeno com a diminuição do risco de desenvolvimento de diversos tipos de câncer, arteriosclerose e doenças coronárias.

O licopeno pode ser incorporado em alimentos, com o objetivo de pigmentar e conferir características funcionais, porém é bastante susceptível à isomerização e oxidação. Uma possível solução para este problema é o emprego da microencapsulação, que é a técnica mais utilizada para aumentar a estabilidade de carotenóides.

A microencapsulação é uma tecnologia que tem sido empregada com êxito na indústria de cosméticos, farmacêutica e alimentícia. Essa técnica tem solucionado limitações no emprego de ingredientes e aditivos alimentícios, uma vez que pode mascarar *flavors* indesejáveis, reduzir a volatilidade, a higroscopicidade e a reatividade, além de possibilitar um aumento na estabilidade destes em condições ambientais adversas.

A coacervação complexa consiste em uma separação espontânea de fases, pela formação de um complexo que pode ser insolúvel entre dois ou mais polímeros, resultante de interações eletrostáticas. A composição e concentração dos polímeros de parede, condições do meio como pH e força iônica, dentre outros estão diretamente relacionados com a eficiência de produção das microcápsulas e com características variadas de estrutura, tamanho e porosidade, entre outros.

A técnica de microencapsulação por *spray drying* vem sendo utilizada há décadas, em diversos processos industriais, para a obtenção de materiais desidratados na forma de pó e é a mais utilizada pela indústria alimentícia. Essa técnica consiste na transformação de um material fluido (solução, dispersão ou

pastas) em partículas secas na forma de pó, pela aspersão desse fluido em um meio de secagem aquecido, geralmente o ar.

Na literatura são encontrados estudos de microencapsulação de licopeno, com objetivo de torná-lo menos susceptível à isomerização e oxidação durante o processamento e estocagem, pelas técnicas de liofilização, *spray drying* e complexação em ciclodextrinas (MATIOLI & RODRIGUEZ-AMAYA, 2002; MATIOLI & RODRIGUEZ-AMAYA, 2003, SHU *et al.*, 2006).

Não foi encontrado nenhum trabalho na literatura em que tivesse sido feita a microencapsulação de licopeno por coacervação complexa e tampouco a aplicação deste material encapsulado em sistemas alimentícios. Santos *et al.* (2006) incorporaram microcápsulas de oleoresina de páprica obtidas por *spray drying* em bolo e gel de gelatina e constataram que a presença da oleoresina encapsulada não interferiu no sabor, aroma ou textura dos sistemas analisados.

O objetivo do presente trabalho foi microencapsular licopeno utilizando os métodos de coacervação complexa e *spray drying*, caracterizar as partículas formadas e medir a estabilidade do carotenóide durante a estocagem. A avaliação da liberação do pigmento em um sistema modelo alimentício (bolo) também foi testada.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Microencapsular licopeno através das técnicas de coacervação complexa e *spray drying*, visando retardar o processo de oxidação do material, a fim de viabilizar seu uso em sistemas alimentícios.

2.2. Objetivos específicos

- a) Determinar a eficiência de encapsulação dos processos empregados;
- b) Fazer o estudo de estabilidade do licopeno nas formas encapsulado e livre;
- c) Caracterizar as micropartículas segundo a morfologia, densidade e higroscopicidade;
- d) Incorporar as micropartículas em bolos e caracterizá-los quanto à intensidade de cor.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Microencapsulação

O conceito de microencapsulação tem sua origem na idealização do modelo celular, no qual o núcleo é envolvido por uma membrana semipermeável que o protege do meio externo e ao mesmo tempo controla a entrada e a saída de substâncias na célula. De modo semelhante, a microcápsula consiste em uma camada de material de cobertura que atua como um filme protetor, isolando a substância ativa e evitando os efeitos de sua exposição inadequada (JIZOMOTO *et al.*, 1993; RÉ, 2000).

Microencapsulação é uma tecnologia de recobrimento aplicável em sólidos, gotículas de líquidos ou material gasoso, formando partículas denominadas microcápsulas, que podem liberar seu conteúdo sob velocidade e condições específicas (TODD, 1970).

Pode ser definida também como um processo no qual um material de parede envolve um recheio, com o objetivo de protegê-lo das condições adversas do meio, tais como luz, umidade, oxigênio e interações com outros compostos, estabilizando o produto, aumentando a vida útil e promovendo a liberação controlada da microcápsula em condições pré-estabelecidas (SHAHIDI & HAN, 1993).

Embora a técnica de microencapsulação venha sendo estudada desde a década de 30, sua primeira aplicação comercial ocorreu por volta de 1950, por Green e Scheicher, para a produção de papel cópia sem carbono (ARSHADY, 1990). Esse papel recebia uma fina camada de microcápsulas contendo uma tinta sem cor e tal camada era recoberta com um reagente incolor. A pressão da ponta do lápis na superfície do papel rompia as microcápsulas liberando a tinta incolor, que ao entrar em contato com o reagente, tornava-se colorida produzindo em outra folha uma cópia idêntica ao que estava sendo escrito no primeiro papel (RÉ, 2000). Depois foram microencapsulados produtos como óleo de laranja para aplicações em indústrias de aroma, combustíveis para foguetes e produção de

pílulas e comprimidos na indústria farmacêutica (DZIEZAK, 1988). Na área de alimentos, os primeiros estudos foram nos anos 60, com a microencapsulação de óleos essenciais para a prevenção da oxidação e perda de compostos voláteis e para o controle da liberação do aroma (RÉ, 2000).

Os estudos da técnica de microencapsulação permitiram a ampliação de seu uso para diversos tipos de indústrias, tais como alimentícia, farmacêutica, de aromas, química e agrícola (FANGER, 1974; POTHAKAMURY & BARBOSA-CÁNOVAS, 1995; RÉ, 1998; WIELAND-BERGHAUSEN *et al.*, 2002). No campo da pesquisa, segundo Gouin (2004), o crescente interesse de pesquisadores no potencial oferecido pela microencapsulação é comprovado pelo grande crescimento no número de publicações ao longo dos anos, desde a metade dos anos 50 até os dias atuais.

Sofisticadas técnicas têm sido desenvolvidas, e uma variedade extremamente ampla de funcionalidades pode agora ser obtida por meio da microencapsulação (GOUIN, 2004).

Microcápsulas podem ser descritas como embalagens extremamente pequenas, compostas por um polímero como material de parede e um material ativo chamado de núcleo. Enquanto as embalagens convencionais normalmente são empregadas para facilitar transporte, armazenagem, manipulação e apresentação, as microcápsulas são geralmente empregadas para melhorar o desempenho do material ou criar novas aplicações. O ingrediente ativo pode ser, por exemplo, um aditivo alimentício ou um medicamento (ARSHADY, 1993). De acordo com Ré (1998), para ser considerada uma microcápsula, a partícula deve apresentar um tamanho entre 0,2 e 500 μm . Abaixo de 0,2 μm é considerada nanocápsula e acima de 500 μm , macrocápsula.

Nos últimos anos, as definições e empregos da microencapsulação têm sido ampliados, devido às novas necessidades que a indústria de alimentos apresenta em propriedades cada vez mais complexas nas formulações, que muitas vezes só podem ser conferidas através da microencapsulação (GOUIN, 2004).

Os propósitos gerais da microencapsulação incluem: solidificar um líquido, viabilizando seu uso em sistemas desidratados; separar materiais reativos,

evitando interações entre eles; reduzir a toxidez do material ativo; controlar a liberação do material; aumentar a vida de prateleira por prevenir evaporação e oxidação e mascarar propriedades indesejáveis como sabor, odor e susceptibilidade ao pH (GOODWIN & SOMERVILLE, 1974; JACKSON & LEE, 1991; ARSHADY, 1993; SHAIDI & HAN, 1993; RÉ, 1998).

A microencapsulação tem sido utilizada com sucesso na indústria alimentícia para a proteção de substâncias sensíveis à temperatura, luz, oxigênio e umidade, para a diminuição da taxa de transferência do recheio ao meio em que se encontra o produto e para a modificação de características físicas do material, facilitando o manuseio (DESAI & PARK, 2005).

Algumas características das microcápsulas podem ser alteradas para atender necessidades específicas de aplicação, tais como: composição, mecanismo de liberação, tamanho de partícula, morfologia e custo. Quando as micropartículas são utilizadas em outros processos industriais, há uma série de questões que devem ser levadas em consideração na escolha do processo de microencapsulação: a funcionalidade que o ingrediente a ser microencapsulado deve fornecer ao produto final; o tipo de material de parede que pode ser utilizado; as condições de processamento às quais o material microencapsulado deve resistir sem liberar seu conteúdo; a concentração ótima de material ativo na microcápsula; o mecanismo de liberação do recheio; necessidades de tamanho de partícula, densidade e estabilidade e o limite de custo do material microencapsulado (DESAI & PARK, 2005).

Entre os métodos utilizados para caracterização das microcápsulas e posterior avaliação do processo de microencapsulação se incluem: as microscopias ótica e eletrônica de varredura, que avaliam as estruturas gerais (externa e interna); raios-X e a análise térmica, que avaliam a estrutura fina; a microscopia e a análise de diâmetro médio e distribuição de tamanho de partículas; a cromatografia e os métodos espectroscópicos, que avaliam a composição da parede e do recheio, entre outros (THIES, 1995).

A caracterização morfológica das microcápsulas é uma análise essencial, pois através dela pode-se observar visualmente se ocorreu a formação das

microcápsulas, a integridade das paredes e também a distribuição de tamanho das mesmas e do material encapsulado (ROSENBERG *et al.*, 1988).

3.1.1. Métodos utilizados para microencapsulação

Existem várias técnicas que podem ser utilizadas para microencapsulação de ingredientes alimentícios, sendo que a seleção do método é dependente da aplicação que será dada à microcápsula, tamanho desejado, mecanismo de liberação e propriedades físico-químicas tanto do material ativo, quanto dos agentes encapsulantes. De uma forma geral, a diferença está no tipo de envolvimento do material de recheio pelo agente encapsulante (JACKSON & LEE, 1991; RÉ, 2000).

Os métodos utilizados podem ser divididos de acordo com a seguinte classificação (SOUTHWEST RESEARCH INSTITUTE, 1991; SHAHIDI & HAN, 1993; DESAI & PARK, 2005; MADENE *et al.*, 2006) :

- Físico-químicos: Coacervação simples e complexa, lipossomas, lipoesferas, evaporação de solvente, inclusão molecular;
- Químicos: Polimerização interfacial, polimerização *in situ*;
- Físicos: *Spray drying*, *freeze drying*, *spray cooling*, *spray chilling*, *spray coating*, extrusão, extrusão centrífuga, leite fluidizado, co-cristalização.

Normalmente, três fases estão envolvidas na formação da microcápsula: preparação de uma solução contendo o material de parede e o recheio, deposição do material de parede ao redor do recheio e fixação ou solidificação da estrutura da parede (BAKAN, 1973).

3.1.1.1. Microencapsulação pelo processo de coacervação complexa

A coacervação, também chamada de separação espontânea de fases, foi desenvolvida no início do século passado e, devido à formação de partículas bem

pequenas com recheio uninuclear, o processo de coacervação é considerado por muitos como a técnica original e verdadeira de microencapsulação. O termo é oriundo do latim “co” e “acervus”, que significa união e agregação de partículas (SHAHIDI & HAN, 1993; THIES, 1995; MENGER *et al.*, 2000; DUCEL *et al.*, 2004; STRAUSS & GIBSON, 2004).

Diversas aplicações industriais foram desenvolvidas para as micropartículas coacervadas, entre elas, a purificação de macromoléculas, substituição de gordura em produtos *light*, embalagens biodegradáveis e biomaterial para a utilização na área médica. O método também é utilizado por diversos segmentos, incluindo o farmacêutico, alimentício, químico e cosmético para a veiculação de diversos tipos de material ativo (aromas, enzimas, fármacos e tintas) com aplicações variadas (TOLSTOGUZOV, 1991; SCHMITT *et al.*, 1998; KRUIF *et al.*, 2004; STRAUSS & GIBSON, 2004).

De um modo geral, o processo de microencapsulação por coacervação complexa envolve três etapas: formação de um sistema trifásico quimicamente imiscível (solvente, material de cobertura e material de recheio); deposição de uma segunda solução de cobertura e solidificação da cobertura (DESAI & PARK, 2005). A Figura 1 apresenta um esquema geral do processo de coacervação complexa, onde a gelatina é empregada como um dos constituintes do sistema.

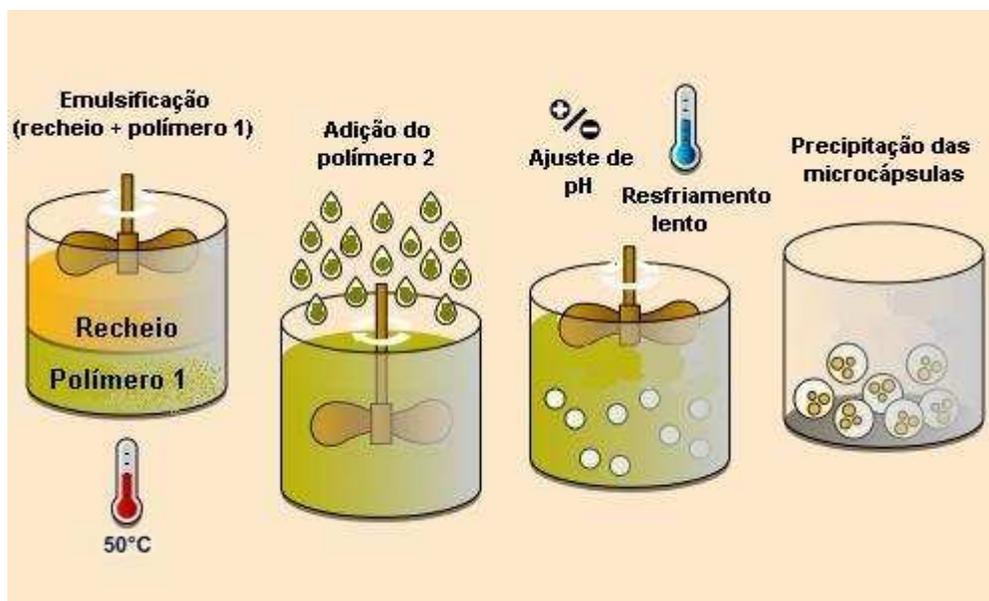


Figura 1: Modelo esquemático de microencapsulação por coacervação complexa.

A coacervação complexa pode ser induzida em sistemas onde estão dispersos dois colóides hidrofílicos com cargas opostas elétricas. A neutralização de cargas positivas de um dos colóides pela carga negativa do outro é usada para ocasionar a separação da fase do complexo coacervado (SCHERI *et al.*, 2003).

Esta técnica consiste em uma separação espontânea de fases, pela formação de um complexo insolúvel entre dois ou mais polímeros. Para que isso aconteça, duas condições devem ser atendidas: os biopolímeros devem estar juntos em solução e as cargas opostas entre as suas cadeias devem estar em quantidades estequiométricas. A composição e concentração dos polímeros de parede, condições do meio como pH e força iônica estão diretamente relacionados com a eficiência de produção das microcápsulas e com características variadas de estrutura, tamanho e porosidade (YEO *et al.*, 2005).

A mistura de soluções poliméricas pode resultar em dois tipos de interação: segregativas, nas quais ocorre repulsão entre as cadeias de biopolímeros (incompatibilidade) ou associativas, nas quais ocorre atração entre os polímeros (complexação) (TOLSTOGUZOV, 1997; SCHMITT *et al.*, 1998; KRUIF & TUINIER, 2001; KRUIF *et al.*, 2004).

Os complexos formados pela coacervação a partir da mistura de soluções de substâncias com cargas opostas precipitam por interações eletrostáticas, formando duas fases, uma chamada de “rica em polímeros” que contém o coacervado precipitado e outra chamada de “pobre em polímeros”, na qual permanece o solvente da solução (BACHTSI & KIPARISSIDES, 1996; STOTT *et al.*, 1996; REMUNAN-LOPEZ & BODMEIER, 1996; TOLSTOGUZOV, 1997; SCHMITT *et al.*, 1998; WANG *et al.*, 1999; WANG *et al.*, 2000; HASHIDZUME *et al.*, 2002; DICKINSON, 2003; STRAUSS & GIBSON, 2004).

As características dos polímeros empregados, do recheio e do complexo formado influenciam a eficiência de microencapsulação. Fatores como tensão superficial do sistema, capacidade de adsorção dos polímeros ao recheio, polaridade do recheio e viscoelasticidade do complexo têm grande importância na formação da parede das microcápsulas e, por esta razão, influenciam a eficiência do complexo em reter o material de recheio. Normalmente, compostos líquidos ou particulados hidrofóbicos e partículas sólidas com baixa solubilidade são microencapsulados com sucesso pela técnica de coacervação complexa. No caso de microencapsulação de recheios hidrossolúveis, essa técnica é dificilmente aplicada, uma vez que o recheio ficaria dissolvido na solução polimérica (SCHMITT *et al.*, 1998; KRUIF *et al.*, 2004).

Condições físicas como temperatura, tipo / tempo de agitação e pressão podem influenciar a formação e estabilidade dos coacervados produzidos (SCHMITT *et al.*, 1999; TURGEON *et al.*, 2003).

Os biopolímeros ideais para serem empregados na coacervação complexa são aqueles que apresentam propriedades coloidais hidrofílicas, densidades de cargas adequadas e cadeias lineares. Alguns exemplos de biopolímeros passíveis de serem utilizados são: gelatinas, alginatos, albuminas, caseína, ágar, gomas e pectinas (VANDERGAER, 1974; THIES, 1995). Diversos sistemas de materiais de parede já foram avaliados no processo de coacervação complexa, mas o mais estudado e compreendido é o sistema gelatina / goma arábica (GOUIN, 2004).

A coacervação complexa utilizando o par gelatina / goma arábica só é possível em pH abaixo do ponto isoelétrico da gelatina. É nesse pH que a gelatina

se torna positivamente carregada, mas a goma arábica continua negativamente carregada. O material a ser encapsulado é emulsionado na gelatina e então a goma é adicionada ao sistema. O pH é ajustado para que se forme o coacervado e a temperatura é reduzida para que as paredes da microcápsula se formem e ocorra separação de fase, após o que as partículas podem ser separadas e manuseadas. Por fim, as microcápsulas podem ser coletadas e secas (THIES, 1995; SCHERI *et al.*, 2003).

As micropartículas coacervadas podem ser secas, para que se estenda o tempo de estocagem das mesmas e para que se torne viável seu uso em produtos desidratados. Para isso podem ser utilizados os seguintes métodos de secagem: liofilização, secagem em estufa, remoção da água por solventes e secagem em condições ambientes. Um problema desses métodos, é que a maioria não permite a obtenção de partículas individualizadas, interferindo no tamanho do produto final e nas propriedades de liberação do recheio. Já com o uso de secagem em *spray dryer*, é possível a obtenção de partículas individualizadas, porém, a baixa resistência física da parede restringe a aplicação desse processo para a secagem (THIES, 1995; BURGESS & PONSART, 1998).

3.1.1.2. Microencapsulação por *spray drying*

A secagem por atomização ou *spray drying*, pode ser definida pela transformação de um material fluido (solução, dispersão ou pasta) em partículas secas na forma de pó, pela aspersão desse fluído em um meio de secagem aquecido, geralmente o ar (RÉ, 1998).

A microencapsulação por esta técnica vem sendo realizada há décadas, em diversos processos industriais, para a obtenção de materiais desidratados na forma de pós finos, e é o método mais utilizado na indústria alimentícia (JACKSON & LEE, 1991, RÉ, 1998). É o processo mais empregado de conversão de líquido para sólido com significado comercial (MUTKA & NELSON, 1988).

O princípio da microencapsulação por *spray drying* baseia-se na obtenção de uma matriz que retém o composto de interesse na sua estrutura, que

normalmente é do tipo “esponja”, ou seja, com o núcleo disperso ao longo da mesma (TEUNOU & PONCELET, 2002).

O processo é contínuo e envolve basicamente as seguintes etapas: formação de uma emulsão ou suspensão do agente encapsulante e do material ativo, atomização dessa em uma câmara de secagem contendo ar quente circulando, evaporação do solvente com conseqüente secagem das gotículas atomizadas e separação do produto seco (JACKSON & LEE, 1991; SHAHIDI & HAN, 1993; BUFFO *et al.*, 2001). As micropartículas formadas pelo processo de *spray drying* apresentam tamanhos variando entre 10 e 100 μm (BUFFO *et al.*, 2001) A Figura 2 ilustra o esquema de um *spray dryer* de bancada.

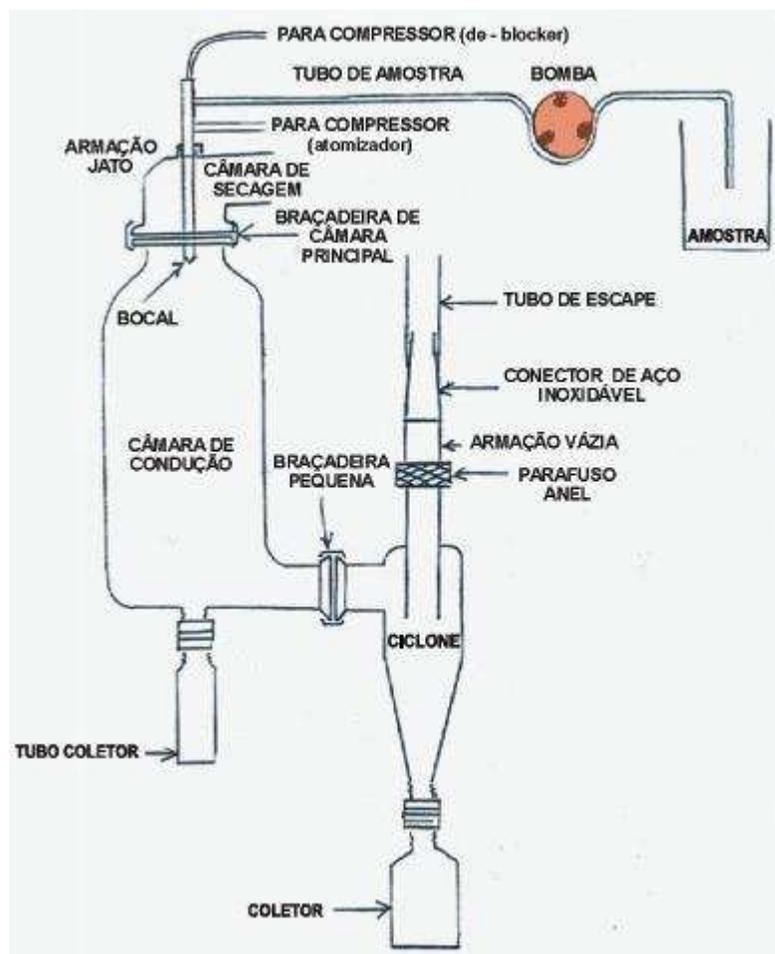


Figura 2: Modelo esquemático de *spray dryer* Lab Plant SD-05 (VALDUGA *et al.*, 2003)

A formação das micropartículas é resultado da rápida perda de umidade da gotícula aspergida pelo atomizador e conseqüente formação de uma matriz rígida composta pelo material de parede. O processo resulta em partículas esféricas devido à suspensão livre das gotículas líquidas no meio gasoso, e a eficiência na retenção do recheio está relacionada a parâmetros do processo (temperatura de secagem e tamanho de gotícula formada), características do material de parede (temperatura de transição vítrea, tamanho das moléculas) e características do recheio (polaridade, pressão de vapor, tamanho de molécula) (BALASSA & FANGER, 1971; REINECCIUS, 1988; RÉ, 1998; CARDOSO, 2000).

Segundo Brannon-Peppas (1993), Filková & Mujumdar (1995) e Ré (1998), esse processo oferece as seguintes vantagens: relativo baixo custo (quando comparado à liofilização); as propriedades e a qualidade do produto são mais eficientemente controladas; alimentos sensíveis à temperatura podem ser secos à pressão atmosférica e baixas temperaturas; alta produtividade e rapidez (para instalações industriais); grandes produções em operação contínua com equipamento relativamente simples; produção de partículas relativamente uniformes e esféricas com aproximadamente a mesma proporção de compostos voláteis do produto inicial e possibilidade de utilização de uma grande variedade de materiais de paredes. A desvantagem é que a dispersão das cápsulas pode ser difícil devido à formação de partículas extremamente pequenas.

Segundo Jackson & Lee (1991) esse processo pode ser utilizado inclusive para materiais termosensíveis desde que a secagem seja muito rápida e o material de cobertura seja aquecido a temperaturas menores que 100 °C, porém, perdas podem ocorrer. Este processo também se mostrou adequado para a microencapsulação de materiais biológicos, inclusive microrganismos (FÁVARO-TRINDADE & GROSSO, 2002).

Entre as variáveis do processo de secagem, destacam-se os de ordem operacional do equipamento, tais como: temperatura do ar de entrada e de saída, fluxo de ar, distribuição de temperatura e umidade e tempo de residência; os de ordem estrutural: geometria da câmara e tipo de ciclone e as variáveis relativas ao material a ser microencapsulado: viscosidade, solubilidade e estabilidade da

solução/suspensão/emulsão formada (RÉ, 1998; CARDOSO, 2000; TEUNOU & PONCELET, 2002).

Hidrocolóides como gelatina, gomas vegetais, amidos, dextrinas e proteínas não-geleificantes, geralmente são utilizados como agentes encapsulantes neste processo (SHAHIDI & HAN, 1993; JACKSON & LEE, 1991).

Microcápsulas obtidas por *spray drying* que apresentam fissuras na superfície podem ter sua eficiência comprometida. A microscopia eletrônica de varredura fornece informações sobre a morfologia das microcápsulas além de permitir a avaliação da integridade das mesmas (ROSENBERG *et al.*, 1985).

A técnica de atomização em *spray drying* também vem sendo utilizada em associações entre processos de microencapsulação, para melhorar as propriedades e diversificar o uso das microcápsulas. Depois da formação de microcápsulas pelos métodos como gelificação iônica, coacervação, inclusão molecular (ciclodextrinas), elas vem sendo desidratadas em *spray dryer* ou liofilizadores, na maioria das vezes com o propósito de aumentar a estabilidade ao armazenamento, melhorar o manuseio e aplicabilidade das mesmas e em alguns casos, visando alterações em propriedades de liberação do recheio (BURGESS & PONSART, 1998; LAMPRECHT *et al.*, 2001; ONEDA & RÉ, 2003; MARTINS, 2003). Há também uma associação em que a atomização é feita na primeira etapa e posteriormente as cápsulas são submetidas à técnica de aglomeração, que permite uma modulação do tamanho das partículas finais e das taxas de dissolução desse material. Essa associação pode ainda promover um recobrimento adicional, influenciando na cinética de liberação dos compostos aglomerados (JONES, 1988; DEWETTINCK *et al.*, 1999; BUFFO *et al.*, 2002).

3.1.2. Mecanismos de liberação

Um dos objetivos da microencapsulação que tem se tornado bastante importante industrialmente é a liberação controlada, ou seja, a liberação do recheio de uma forma controlada sob um período de tempo pré-determinado (GOUIN, 2004).

As características de liberação do material ativo microencapsulado variam de acordo com a natureza do agente encapsulante, sendo que normalmente ocorrem devido a mecanismos como: variação de temperatura e de pH, ruptura mecânica, dissolução em solventes (o modo mais comumente utilizado na indústria alimentícia), ação de força osmótica, ação de enzimas, por difusão e permeabilidade seletiva (BAKAN, 1973; BRANNON-PEPPAS, 1993; REINECCIUS, 1995; GOUIN, 2004).

As etapas envolvidas na liberação do recheio são: absorção de solvente pela cápsula (na maioria das vezes água); dissolução da parede; dissolução do recheio e permeação do recheio pela parede e difusão do recheio no solvente (HEGER, 2001).

A liberação controlada é uma tecnologia que pode ser utilizada para aumentar a eficácia de diversos ingredientes, garantir efetividade do recheio, ampliar a gama de aplicabilidade, garantir a dose desejada e liberar o material ativo em locais determinados. As primeiras aplicações foram em fármacos e posteriormente a tecnologia se expandiu para outras áreas, entre elas, a indústria de alimentos, sendo que o método mais comum para se obter liberação controlada em alimentos é a microencapsulação (POTHAKAMURY & BARBOSA-CÁNOVAS, 1995; VOLOSOV *et al.*, 2000).

Entre as variáveis que permitem o controle na taxa de liberação estão: o coeficiente de difusão, espessura de parede da cápsula e sua porosidade, a variação na concentração de saturação do material de recheio e sua distribuição na partícula (HEGER, 2001).

As vantagens da liberação controlada são: o material ativo é liberado em taxas controladas ao longo do tempo, a perda de ingredientes durante o processamento pode ser evitada ou diminuída e componentes reativos ou incompatíveis podem ser separados (POTHAKAMURY & BARBOSA-CÁNOVAS, 1995).

3.1.3. Agentes Encapsulantes

Muitos materiais podem ser utilizados como cobertura para as microcápsulas entre eles a goma arábica, agar, alginato e carragena; os carboidratos amido, dextrinas e sacarose; as celuloses carboximetilcelulose, acetilcelulose, nitrocelulose; os lipídeos parafina, mono e diglicerídeos, óleos e gorduras; os materiais inorgânicos sulfato de cálcio e silicatos; as proteínas glúten, caseína, gelatina e albumina (JACKSON & LEE, 1991).

As funções do material de parede são: cobrir e dar forma à microcápsula, prolongar a vida de prateleira, prevenir a perda de componentes voláteis encapsulados, reter o recheio, protege-lo da oxidação, luz, umidade e do contato com outras substâncias e permitir a sua liberação quando desejável (KING *et al.*, 1976; JACKSON & LEE, 1991; NORI, 1996).

A escolha do agente encapsulante depende de uma série de fatores, entre eles a não reatividade com o material a ser encapsulado, as propriedades físico-químicas do material (tais como massa molar, solubilidade e difusividade), o processo utilizado para a formação das microcápsulas e a aplicação final destas. Normalmente, polímeros hidrossolúveis são utilizados para microencapsular núcleos lipossolúveis e vice-versa (BAKAN, 1973; FANGER, 1974; JACKSON & LEE, 1991; ARSHADY, 1993; CARDOSO, 2000).

Para ser considerado um bom material de parede, ele deve apresentar, segundo Shahidi & Han (1993), Ré (1998) e Cardoso (2000), as seguintes características: boa propriedade emulsificante e de formação de filmes, baixa viscosidade (mesmo em soluções com alta concentração de sólidos), baixa higroscopicidade, boas propriedades de secagem, estabilidade, ausência de sabores desagradáveis e boa proteção ao recheio.

Quando se deseja dar às micropartículas características especiais de solubilidade, permeabilidade, rigidez, entre outras, os polímeros de parede podem ser submetidos a alterações por meio do uso de reticulantes, enzimas, modificadores químicos, tratamentos na superfície e múltiplas coberturas

(JACKSON & LEE, 1991; RÉ, 1998; LAMPRECHT *et al.*, 2000; LAMPRECHT *et al.*, 2001; LEE & ROSENBERG, 2000).

3.1.3.1. Gelatina

A gelatina é uma proteína hidrossolúvel de alto peso molecular, pobre em triptofano, tirosina, cistina e metionina, obtida pela hidrólise parcial do colágeno. O colágeno é o principal constituinte das cartilagens e outros tecidos conectivos, representa 40-60% do estroma e é caracterizado pelo elevado conteúdo de glicina, prolina e hidroxiprolina, e completa ausência de aminoácidos sulfurados e de triptofano. Os colágenos são solubilizados pela ação de ácidos diluídos a pH 3,0-4,0 e precipitam em pH neutro. Por meio do aquecimento prolongado em água fervente converte-se também o colágeno em gelatina (SGARBIERI, 1996; POPPE, 1997; CHAMBI, 2004).

As propriedades da gelatina dependem do método de produção (ácido ou básico), sua origem, o tipo e número de aminoácidos e a massa molar (COESTER *et al.*, 2000).

As gelatinas possuem caráter anfótero, sendo que se apresentam negativamente carregadas acima de seu ponto isoelétrico e positivamente abaixo dele. O ponto isoelétrico varia em função da obtenção da gelatina, sendo em torno de 7,0 a 9,4 para gelatinas do tipo A (pré-tratamento de hidrólise com pH ácido) e entre 4,5 e 5,3 para as do tipo B (pré-tratamento alcalino) (IMESON *et al.*, 1997; BERTAN, 2003).

Observa-se um aumento da utilização da gelatina ao longo dos anos nas indústrias farmacêuticas, alimentícias e de cosméticos. Na indústria de alimentos, ela é utilizada como um ingrediente para aumentar a estabilidade dos produtos, sendo então imprescindível que a mesma apresente boas propriedades reológicas. As propriedades de força de gel, viscosidade e ponto de fusão são influenciadas pelos seguintes fatores: concentração da solução de gelatina, tempo e temperatura de maturação do gel, pH e teor de sal (CHOI & REGENSTEIN, 2000).

Trata-se também de um importante material de parede, atóxico e barato. Apresenta boa capacidade de formação de géis e filmes termo-reversíveis, sendo considerada um bom material de parede para a produção de microcápsulas por diversas técnicas diferentes (SHAHIDI & HAN, 1993; POPPE 1997; BERTAN, 2003). O caráter anfótero da gelatina permite seu emprego na técnica de microencapsulação por coacervação (SHAHIDI & HAN, 1993).

3.1.3.2. Goma arábica

As gomas são polímeros de cadeias longas, de alto peso molecular e que podem se dispersar ou dissolver em água fria ou quente, produzindo um efeito espessante ou gelificante (ZANALONI, 1992). Sua principal propriedade é dar textura aos produtos alimentícios, sendo utilizadas na estabilidade de emulsões, controle de viscosidade, cristalização, suspensão de partículas, inibição da liberação de água dos produtos alimentícios processados, podendo também funcionar como importante agente encapsulante (GLICKSMAN, 1982). Gomas e colóides de base vegetal são normalmente usados para a microencapsulação de ingredientes alimentícios por serem comestíveis, sendo a grande maioria constituinte da dieta alimentar humana (ARSHADY, 1993).

A goma arábica (também conhecida como goma acácia e goma indiana) é uma goma natural exsudada de determinadas árvores e obtida como resposta à ferida por incisão no tronco e galhos da planta. Aproximadamente 75% da produção da goma vem da espécie *Acacia senegal* (THEVENET, 1988). Segundo Osman *et al.* (1993), ela é a mais antiga das gomas conhecidas (2.650 a.C.). Era utilizada como bandagem em mumificação e recentemente como adesivo nos selos postais.

Quimicamente, a goma arábica é um sal neutro ou levemente ácido, constituída por uma mistura complexa de sais (íons cálcio, magnésio e potássio) do ácido arábico (PRAKASH & MANGINO, 1990; BUFFO *et al.*, 2001).

A goma arábica possui frações com diferentes estruturas químicas. A fração principal (que representa cerca de 70% da goma) é constituída de cadeias de

polissacarídeos com pouco ou nenhum material nitrogenado. Há também uma fração que parece ser a responsável pelas suas propriedades emulsificantes e estabilizantes, a fração protéica (cerca de 2%) ligada covalentemente ao carboidrato (BUFFO *et al.*, 2001; RODRIGUES-HUEZO *et al.*, 2004).

Esta goma é inodora, quase insípida, insolúvel em álcool etílico, mas solúvel em água e apresenta baixa viscosidade quando comparada a outros polissacarídeos de massa molar similar. Sabe-se que a goma é negativamente carregada acima de pH 2,2, e a baixos pHs (<2,2) a dissociação dos grupos carboxilas é suprimida.

A goma arábica é um dos agentes encapsulantes mais utilizados devido às suas propriedades emulsificante, estabilizante, alta solubilidade, baixa viscosidade e pela ação protetora contra a oxidação de voláteis, durante processamento e estocagem (BUFFO *et al.*, 2001; SANCHEZ *et al.*, 2002).

3.1.3.3. Amidos Modificados

O mercado de amidos tem crescido e se aperfeiçoado nos últimos anos, levando à busca de produtos com características específicas, que atendam às exigências da indústria. Os amidos em sua forma natural apresentam desvantagens para o uso industrial, tais como insolubilidade em água fria e retrogradação. A produção de amidos modificados é uma alternativa que vem sendo utilizada com o objetivo de superar uma ou mais limitações dos amidos nativos. As modificações alteram as propriedades do amido, aumentando sua utilidade nas aplicações industriais (XIE *et al.*, 2005; SILVA *et al.*, 2006). A funcionalidade do amido pode ser modificada por meios físicos, químicos e biotecnológicos (XIE *et al.*, 2005).

De acordo com Bemiller (1997), os objetivos da modificação dos amidos são: diminuir a retrogradação e a tendência das pastas em formarem géis; aumentar a estabilidade ao resfriamento e descongelamento e a adesividade; melhorar a textura das pastas ou géis e a formação de filmes; adicionar grupamentos hidrofóbicos e introduzir poder emulsificante.

A modificação física pode ser realizada para melhorar a solubilidade em água e alterar o tamanho da partícula. Os métodos de modificação física incluem o tratamento dos grânulos sob diferentes combinações de temperatura / umidade, pressão, irradiação e atrito mecânico. O amido é largamente modificado quimicamente, e os métodos químicos mais comumente utilizados são: tratamento ácido, *cross-linking*, oxidação e substituição. A biotecnologia fornece meios de modificações durante o crescimento da planta. Podem ser produzidos amidos com diferentes níveis de amilose e fósforo. Amidos com novas funcionalidades também podem ser encontrados em plantas com mutações naturais e têm sido largamente utilizados nas indústrias alimentícias, devido as suas propriedades naturais (XIE *et al.*, 2005).

O Capsul® é um amido modificado quimicamente pela incorporação de um componente lipofílico. Esta modificação dá ao material uma excelente capacidade de retenção de voláteis durante a atomização em *spray dryer* (SHAHIDI & HAN, 1993; REINECCIUS, 1991; MARCHAL *et al.*, 1999). De acordo com o laudo analítico fornecido pelo fabricante, o Capsul® é um amido alimentício modificado obtido de milho ceroso, com valor de pH em torno de 3,25 e altamente solúvel em água (97%).

3.1.4. Material Ativo

Os materiais utilizados como recheio das microcápsulas podem estar em qualquer estado físico e qualquer material que necessite de proteção, isolamento ou liberação controlada pode ser microencapsulado (JACKSON & LEE, 1991; RISCH, 1995).

Entre os materiais que podem ser encapsulados, para aplicação na indústria alimentícia, incluem-se óleos, vitaminas, aminoácidos, hidrolisados protéicos, ácidos, aromatizantes, edulcorantes, minerais, corantes, enzimas e microrganismos (JACKSON & LEE, 1991; AUGUSTIN *et al.*, 2001; FÁVARO-TRINDADE *et al.*, 2008).

3.1.4.1. Licopeno

O licopeno é um carotenóide pertencente ao grupo dos carotenos, acíclico, com 40 átomos de carbono, 11 duplas ligações conjugadas e 2 não conjugadas, como pode ser observado na Figura 3. É um pigmento natural, lipofílico, sintetizado por plantas e microrganismos e responsável pela cor vermelha de frutos como tomate, mamão, pitanga, goiaba vermelha e melancia. Na alimentação humana, a maior fonte de licopeno é o tomate. No tomate maduro, cerca de 80 a 90% dos pigmentos presentes é licopeno. O nome científico deste fruto é "*Lycopersicon esculentum*", de onde surgiu o nome "licopeno" (WONG, 1995; EDGE *et al.*, 1997; CLINTON, 1998; NGUYEN & SCHWARTZ, 1999; RAO & AGARWAL, 1999; MORAIS, 2001; OMINI & ALUKO, 2005).

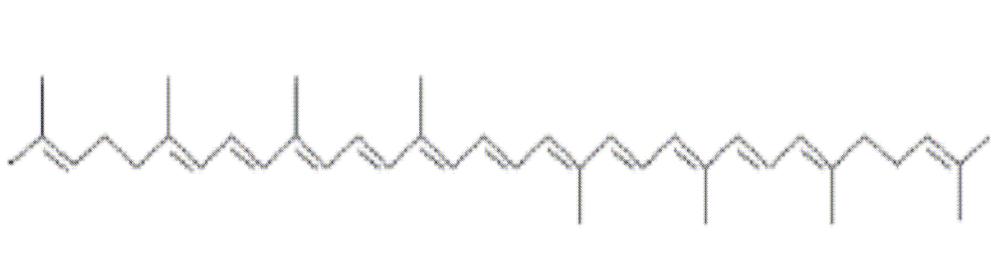


Figura 3: Estrutura do licopeno

O licopeno é um dos carotenóides mais encontrados no soro sanguíneo humano e o predominante no plasma (STAHL & SIES, 1996; AGARWAL & RAO, 2000). Devido ao elevado número de duplas ligações conjugadas, é considerado um dos mais potentes antioxidantes entre os carotenóides. A atividade antioxidante é destacada pela capacidade de seqüestrar o oxigênio singlete e por reagir com os radicais peróxidos. A capacidade do licopeno em seqüestrar oxigênio singlete equivale ao dobro da capacidade do β -caroteno e dez vezes maior que a do α -tocoferol (DIMASCIO *et al.*, 1989).

Segundo Stahl e Sies (1996), as primeiras observações nas atividades biológicas do licopeno ocorreram em 1959, em estudos com ratos que sofreram irradiações e na resistência contra bactérias infecciosas. O interesse neste

carotenóide cresceu em anos recentes, devido aos estudos que o associam à diminuição do risco de doenças cardiovasculares e câncer.

O aumento do consumo de tomate e de outros produtos que contenham licopeno tem sido associado com a proteção contra diversos tipos de câncer. O licopeno ainda previne a oxidação do colesterol LDL, reduz o risco de desenvolvimento de arteriosclerose e previne contra doenças coronárias (MORAIS, 2001).

Giovannucci (1999) constatou que a maioria dos estudos da relação do consumo de tomate ou licopeno com o risco de câncer de pulmão e estômago aponta para uma associação inversa. Três estudos de caso relataram que há uma diminuição de cerca de 60% na incidência de câncer de colo e de reto quando associada uma alta ingestão de tomate (HU *et al.*, 1991; FRANCESCHI *et al.*, 1994; FRANCESCHI *et al.*, 1997).

Um estudo mostrou que o consumo de tomate ou licopeno diminuiu em 39% o risco de câncer de esôfago em homens, porém nenhuma relação foi obtida para mulheres (COOK-MOZAFFARI *et al.*, 1979). Giovannucci (1999) também relatou que 4 estudos apontaram para uma relação inversa entre o consumo de tomate ou licopeno e o risco de câncer de pâncreas.

Em relação ao câncer de próstata, estudos mostram que o consumo de licopeno está relacionado com a diminuição deste tipo de câncer e que homens, com elevados níveis de licopeno no plasma sanguíneo, têm aproximadamente 25% de redução no risco de desenvolver a doença e 44% de redução a desenvolver a forma agressiva deste tipo de câncer (GIOVANNUCCI *et al.*, 1995; CHAN *et al.*, 1998).

Os resultados do estudo de Levy *et al.* (1995) mostraram que o licopeno inibe a proliferação de células carcinogênicas no endométrio, mamas e pulmão mais eficientemente que α e β -carotenos.

Diversos estudos indicam que o consumo de licopeno pode reduzir o risco de doenças cardiovasculares e proteger contra o desenvolvimento de arteriosclerose (OMINI & ALUKO, 2005). Há também um estudo que sugere que

uma dieta rica em licopeno pode reduzir o risco de osteoporose em mulheres, com idade entre 50 e 60 anos (RAO *et al.*, 2007).

A incorporação deste pigmento em alimentos objetiva principalmente a coloração e a conferência de características funcionais. Entretanto, devido ao elevado número de duplas ligações conjugadas, o licopeno é susceptível à isomerização e oxidação durante o processamento e estocagem (MATIOLI & RODRIGUEZ-AMAYA, 2002).

3.1.4.1.1. Microencapsulação de licopeno

A busca de alguma maneira de preservar o licopeno durante o processamento e a estocagem de alimentos é intensa (MATIOLI & RODRIGUEZ-AMAYA, 2002). Atualmente são realizados estudos visando proteger os pigmentos instáveis por microencapsulação, suspensão ou pelo uso de outros antioxidantes naturais (PSZCZOLA, 1998). A alternativa mais aplicada para aumentar a estabilidade de carotenóides é a técnica de microencapsulação (NUNES & MERCADANTE, 2007).

Matioli e Rodriguez-Amaya (2002) encapsularam licopeno extraído de goiaba vermelha, pelos métodos da liofilização e de *spray drying*. Os agentes encapsulantes foram goma arábica e o par goma arábica / maltodextrina. O estudo de estabilidade foi realizado em temperatura ambiente, na presença e ausência de luz por um período de 40 dias. Foi constatado que o licopeno encapsulado em goma arábica e maltodextrina pelo método da liofilização apresentou maior tempo de meia vida.

Matioli e Rodriguez-Amaya (2003) estudaram a microencapsulação de licopeno utilizando ciclodextrinas (CD) como agentes encapsulantes (α -CD, β -CD e γ -CD). Foram formados complexos de inclusão molecular com as β -CD e γ -CD, no entanto, isso não ocorreu com as α -CD. Foi constatado que após 180 dias de armazenamento a 15 °C, o licopeno não se degradou no complexo com γ -CD e quanto a estabilidade à luz, houve retenção de 100% em 40 dias de monitoramento à temperatura ambiente. Utilizando os mesmos três tipos de

ciclodextrinas para a encapsulação, Blanch *et al.* (2007) constataram que a β -CD foi o agente encapsulante mais favorável na estabilização do licopeno, em temperatura ambiente na presença de oxigênio e luz.

Shu *et al.* (2006) microencapsularam licopeno por *spray drying*, utilizando como agentes encapsulantes misturas de gelatina e sacarose e constataram que a estabilidade a 0 °C do licopeno microencapsulado foi significativamente maior em relação ao material livre armazenado na mesma temperatura.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Material

Coacervação complexa: Material ativo encapsulado: licopeno disperso em óleo (20% de licopeno) (BASF – lote: 74709816KO - Alemanha) e polímeros de parede: gelatina suína tipo A (Gelita South América – lote: 240P/6 - Brasil) e goma arábica (CNI-Rouen - lote: IRX49345 - França).

Atomização em *spray dryer*: licopeno disperso em óleo (10% de licopeno) (DSM – lote: UE00603001 - Suécia) como material ativo encapsulado e amido alimentício modificado - Capsul® (National Starch - lote: MFY-212 - EUA) como material de parede.

4.2. Metodologia

4.2.1. *Produção das micropartículas por coacervação complexa*

A metodologia utilizada para a obtenção das micropartículas por coacervação complexa pode ser observada no fluxograma da Figura 4 e foi adaptada dos procedimentos descritos em Thies (1995) e Lamprecht *et al.* (2000). A solução de gelatina e o licopeno foram misturados em agitador ultra turrax (IKA T18 Basic, Rio de Janeiro – Brasil) a 10.000 rpm, por 3 minutos, a fim de se obter uma emulsão. Em seguida, a emulsão foi misturada à solução de goma arábica em agitador mecânico adicionando-se água (o dobro do volume do sistema). O pH foi ajustado para $4,0 \pm 0,01$, com ácido clorídrico (0,5 M). Durante todo o processo a temperatura foi controlada e mantida a $50 \pm 3^\circ \text{C}$.

O sistema foi mantido sob agitação durante o resfriamento (em banho de gelo) até atingir 10°C , depois acondicionado em refrigerador a 3°C por 24 horas para a completa precipitação das partículas. Para a secagem do material foi retirado o excesso de água, utilizando-se uma peneira (Mesh de $25 \mu\text{m}$). O coacervado foi disposto em placas de plaxiglass cobertas com papel alumínio

contendo pequenos orifícios e levado ao congelamento lento, em freezer a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 24 horas. A secagem foi realizada por liofilização. As amostras permaneceram no liofilizador (Edwards Pirani 501 – West Sussex, Inglaterra) por aproximadamente 3 dias consecutivos, nas seguintes condições operacionais: temperatura do condensador $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$, pressão 10^{-1} mbar e temperatura final de $25\text{ }^{\circ}\text{C}$.

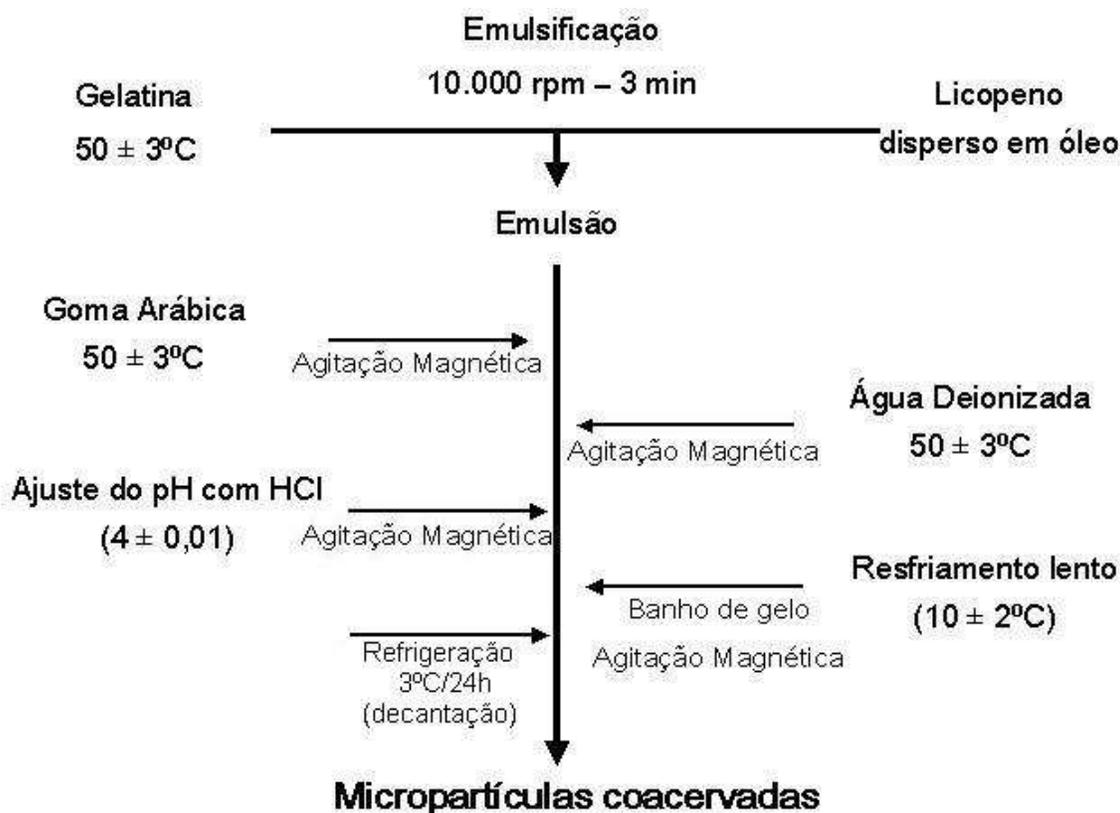


Figura 4: Fluxograma de produção das micropartículas por coacervação.

As condições de produção utilizadas estão descritas na Tabela 1 e foram baseadas no trabalho de Alvim (2005), que estudou diferentes condições de produção de micropartículas coacervadas utilizando gelatina e goma arábica como materiais de parede.

Tabela 1: Condições utilizadas na produção de micropartículas coacervadas

Emulsificação recheio-gelatina	Ultraturrax (10.000 rpm / 3 min)
Agitação durante o processo	Agitador magnético
Temperatura durante o processo	50 ± 3 °C
pH de coacervação	4,00 ± 0,01
Temperatura final de resfriamento	10 °C
Decantação das micropartículas	Geladeira – 3 °C / 24 h

Os sistemas diferiram entre si em relação à concentração das soluções de polímeros de parede (2,5; 5,0; 7,5%) e à quantidade de recheio em relação ao peso total de polímeros de parede (25, 50,75%), resultando em nove sistemas, descritos na Tabela 2. A proporção entre os dois materiais de parede foi mantida em 1:1 para todos os sistemas. A escolha desses valores foi baseada em trabalhos realizados anteriormente (ALVIM, 2005 e PRATA, 2006) que estudaram diferentes concentrações de recheio e parede.

Para a avaliação dos sistemas foram consideradas a morfologia das micropartículas e a eficiência de encapsulação (%EE).

Tabela 2: Sistemas de produção das micropartículas

Sistema	Solução de polímeros de Parede (%)	Quantidade de recheio em relação à parede (%)
1	2,5	25
2	2,5	50
3	2,5	75
4	5,0	25
5	5,0	50
6	5,0	75
7	7,5	25
8	7,5	50
9	7,5	75

4.2.1.1. Caracterização das micropartículas – seleção para o teste de estabilidade

4.2.1.1.1. Diâmetro médio, distribuição de tamanho e morfologia

Para avaliar as características morfológicas das micropartículas, foi utilizado um microscópio ótico (Nikon Eclipse E800 – Tóquio, Japão) munido do software Image Pro Plus 4.0 para a obtenção das imagens. Para o cálculo do diâmetro, mediu-se um mínimo de 300 partículas de cada sistema, com o auxílio do mesmo software.

4.2.1.1.2. Eficiência de encapsulação (%EE)

A eficiência de encapsulação foi calculada como a quantidade de licopeno presente nas micropartículas, em relação ao licopeno inicialmente utilizado na produção das mesmas.

O licopeno foi quantificado por espectrofotometria (Espectrofotômetro Biochrom Libra S22 – Cambridge, Inglaterra). O rompimento das micropartículas foi realizado por meio da adaptação dos métodos descritos em Yeo *et al.* (2005) e Prata (2006). Às partículas (aproximadamente 10 mg) foram adicionados 10 mL de solução de NaCl 0,5 M e 10 mL de solução de dodecil sulfato de sódio (SDS) 1%. Os tubos contendo tal mistura foram agitados por 1 minuto. Depois foram adicionados 20 mL de éter de petróleo e 10 mL de álcool etílico absoluto. Retirou-se a fração de éter de petróleo (que carregava o licopeno), leu-se a absorção no visível no comprimento de onda 470 nm e realizou-se o cálculo da concentração de licopeno utilizando o coeficiente de absorção 3450 e a Equação 1, de acordo com Rodriguez-Amaya (2001). A eficiência de encapsulação foi calculada por meio da Equação 2:

$$[\text{licopeno}](\mu\text{g} / \text{g}) = \frac{\text{Absorbância} \times \text{Vol}(\text{éter de petróleo})(\text{mL}) \times 10^4}{\text{Massa de amostra}(\text{g}) \times \text{Coeficiente de absorção}}$$

Equação 1

$$EE(\%) = \frac{\text{Licopeno \cdot quantificado}}{\text{Licopeno \cdot inicial \cdot utilizado}} \times 100$$

Equação 2

4.2.1.2. Determinação da estabilidade à temperatura do material liofilizado

Os dois melhores tratamentos, em relação à eficiência de encapsulação e à morfologia, foram avaliados em relação à estabilidade frente à temperatura, em comparação ao licopeno livre. Pequenas quantidades de cada amostra (micropartículas liofilizadas e licopeno na forma livre) foram acondicionadas em frascos de vidros com tampas de borracha e fechados a vácuo na função “fechamento a vácuo” de um liofilizador (Terroni LC 1500 – São Carlos, Brasil) e armazenadas nos frascos recobertos com papel alumínio, nas temperaturas de 10 e 25 °C. As amostras foram quantificadas aproximadamente a cada 7 dias, por um período de 73 dias, segundo a metodologia adotada para o cálculo da eficiência de encapsulação. Para cada dia de análise, um frasco de cada amostra era aberto, preservando as demais amostras do contato com o oxigênio e a luz.

4.2.1.3. Caracterização

O sistema que apresentou melhor desempenho no teste de estabilidade do material liofilizado seguiu para a etapa de caracterização.

4.2.1.3.1. Avaliação morfológica, diâmetro médio e distribuição de tamanho

Foram realizadas análises por microscopia ótica (MO) e por microscopia eletrônica de varredura (MEV).

Por meio de microscopia ótica, realizou-se a determinação de diâmetro médio e distribuição de tamanho do sistema, nas formas úmido, liofilizado e reidratado. Utilizou-se um microscópio ótico (Nikon Eclipse E800) munido do

software Image Pro Plus 4.0 para a obtenção das imagens e para a determinação do tamanho das partículas. No mínimo 300 partículas foram medidas para cada amostra analisada. A dispersão das amostras para a captação das imagens foi feita em água (para as amostras úmida e reidratadas) ou glicerol (para a amostra liofilizada).

Para a observação por MEV, as partículas liofilizadas foram fixadas em fitas adesivas metálicas aderidas em *stubs* também metálicos. Os *stubs* foram submetidos a um recobrimento por uma fina camada de ouro em evaporador (Balzer SCD50 – Lichtenstein, Áustria) por 180 segundos e corrente de 40 mA. A observação das amostras se deu em um microscópio eletrônico de varredura (Jeol JMS-T300 – Tóquio, Japão) com voltagem de 10kV.

4.2.1.3.2. Densidade

Para a determinação da densidade, adotou-se a metodologia descrita em Goula & Adamopoulos (2005), transferindo-se 2,0 g de material para uma proveta graduada. A densidade foi calculada dividindo-se a massa pelo volume ocupado e o teste foi realizado em triplicata.

4.2.1.3.3. Higroscopicidade

Para a determinação da higroscopicidade, amostras de 2 g de material, em placas de petri, foram acondicionadas por uma semana em dessecador contendo solução saturada de Na_2SO_4 (81% de umidade relativa). A higroscopicidade é medida através da massa de água absorvida pela amostra. Esta metodologia foi adotada de Cai & Corke (2000).

4.2.2. Produção de micropartículas por *spray drying*

Para a obtenção de micropartículas por *spray drying*, foram utilizados o amido modificado (Capsul®) com agente encapsulante e a dispersão de licopeno em óleo (10% de licopeno) com material ativo a ser encapsulado.

Foram preparadas 3 suspensões que diferiram entre si em relação à concentração de recheio (5, 10 e 15% em relação aos sólidos totais da solução). Todas as suspensões continham 30% de sólidos totais.

O Capsul® foi previamente dissolvido em água destilada e posteriormente adicionou-se o licopeno. Para a obtenção da emulsão, a solução foi misturada em agitador ultra turrax (IKA T18 basic) a 10.000 rpm, por 3 minutos. A emulsão foi mantida sob agitação, em um agitador mecânico com barra magnética, ao longo de todo o processamento da secagem, que foi realizada em atomizador (Lab Plant SD-05 – Huddersfield, Inglaterra). As condições operacionais de trabalho foram fixadas em: diâmetro do bico atomizador (0,5 mm), vazão de líquido (10 mL/min), temperaturas de entrada e de saída do ar 180 e 98 ± 2 °C respectivamente.

4.2.2.1. Eficiência de Encapsulação

Adaptou-se o método descrito em Risch & Reineccius (1988) para o cálculo da eficiência de encapsulação: cerca de 10 mg de amostra foram dissolvidas em 0,5 mL de água, para que houvesse o rompimento das micropartículas. A seguir foram adicionados 10 mL de acetona. Depois de agitados, os tubos permaneceram em repouso no escuro, por cerca de 2 horas para que ocorresse a decantação do material de parede. Leu-se a absorção em espectrofotômetro (Beckman DU70 – Califórnia, Estados Unidos) e por meio de uma curva-padrão previamente elaborada, pôde-se calcular a concentração de licopeno presente nas micropartículas.

A eficiência de encapsulação foi calculada como a quantidade de licopeno presente nas micropartículas, em relação ao licopeno inicialmente utilizado na produção das mesmas.

4.2.2.2. Estabilidade à temperatura

As três amostras de micropartículas foram avaliadas quanto à estabilidade à temperatura. O fechamento e armazenamento das amostras (micropartículas e licopeno livre) foram realizados de forma análoga ao teste de estabilidade para as micropartículas coacervadas (item 4.2.1.2.). A quantificação foi realizada por 73 dias, a cada 7 dias, por meio da metodologia utilizada para o cálculo da eficiência de encapsulação das micropartículas obtidas por *spray drying*.

4.2.2.3. Caracterização

A caracterização morfológica das três amostras foi realizada por MEV, conforme descrito anteriormente (item 4.2.1.3.1). Também realizaram-se as análises de densidade e higroscopicidade descritas nos itens 4.2.1.3.2 e 4.2.1.3.3 respectivamente.

4.2.3. Aplicação em sistema alimentício

O sistema modelo escolhido para a aplicação das micropartículas foi bolo. Foram preparados os seguintes bolos: (i) com micropartículas coacervadas úmidas, (ii) com micropartículas coacervadas liofilizadas, (iii) com micropartículas obtidas por *spray drying*, (iv) com licopeno na forma livre e (v) um bolo padrão (sem adição de licopeno).

Para a preparação do bolo padrão (sem adição de licopeno), foram batidos em batedeira doméstica 150 g de margarina (Leco) e 2 ovos, depois, sem parar de bater, foram adicionados 240 g de açúcar cristal (União) e posteriormente 240 g de farinha de trigo (Sol) e 240 mL de leite integral (Líder), intercaladamente. Desligou-se a batedeira e adicionaram-se 10 g de fermento em pó (Royal). A mistura foi colocada em fôrma untada e enfarinhada e levada ao forno (pré-aquecido) por aproximadamente 40 minutos.

A adição das micropartículas para a formulação dos bolos (i), (ii), (iii) se deu misturando as mesmas ao leite a 50 °C. O licopeno na forma livre (formulação (iv)) foi adicionado à massa após a adição da farinha e do leite.

Para as formulações (i) e (ii) foram utilizadas as micropartículas coacervadas do sistema 6 (com recheio de licopeno disperso em óleo – 20% de licopeno). Com base no valor de umidade calculada para as micropartículas coacervadas úmidas (estufa/105 °C), pôde-se calcular a quantidade a ser adicionada da mesma, para manter a mesma concentração de licopeno nas formulações. Para a formulação (iii), preparou-se micropartículas por *spray drying* com uma concentração de recheio (licopeno disperso em óleo – 10% de licopeno) igual a 10% e foi utilizada na formulação do bolo uma quantidade de micropartículas de forma a conter a mesma quantidade de licopeno em relação às formulações (i) e (ii). O mesmo foi feito para se calcular a quantidade de licopeno não encapsulado que foi adicionado na formulação (iv). Desse modo, as formulações (i), (ii), (iii) e (iv) continham a mesma concentração de licopeno. A determinação da quantidade de micropartículas utilizada em cada amostra foi baseada em Santos (2003), que utilizou uma proporção de 0,31 g de encapsulado/250 g de massa de bolo antes de assar. Sendo assim, cada formulação continha 0,096 g de licopeno puro (descontando o óleo contido nas dispersões).

4.2.3.1. Avaliação Instrumental de cor do sistema alimentício

A análise da cor aparente dos bolos foi realizada pela medição das coordenadas Lab, utilizando-se um colorímetro (Hunter Lab - Color Quest II – Virgínia, Estados Unidos), por medidas objetivas, por meio de reflexão direta. A leitura foi realizada com o iluminante D65, ângulo de visão com abertura de 10° e em modo RSIN.

Para a medição de cada amostra de bolo foram cortadas fatias de aproximadamente 2 cm de espessura. Para evitar danos no equipamento por entrada de pequenos pedaços de amostra, utilizou-se um filme plástico em sua

abertura durante a calibração, para que o filme pudesse permanecer durante a análise das amostras sem alterar o resultado. Para cada amostra foram realizadas 5 leituras em diferentes pontos aleatórios.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Produção das micropartículas por coacervação complexa

Foram produzidos nove sistemas de coacervação complexa, identificados como: 1, 2 e 3 com parede 2,5% e recheios 25, 50 e 75% em relação ao peso total de polímeros de parede, respectivamente; 4, 5 e 6 com parede 5,0% e recheios 25, 50 e 75% e sistemas 7, 8 e 9 com parede 7,5% e recheios 25, 50 e 75% .

Para todos os sistemas produzidos houve formação de precipitado e sobrenadante límpido.

Analisando os resultados de morfologia e eficiência de encapsulação, foi possível determinar os melhores sistemas para serem avaliados em relação à estabilidade, e posteriormente escolher o sistema a ser caracterizado e utilizado na aplicação em sistema alimentício.

5.1.1. Morfologia das micropartículas coacervadas

Por microscopia ótica, observou-se que as micropartículas dos sistemas 1 ao 6 eram esféricas, multinucleadas e com parede definida (Figuras 5 e 6). As micropartículas dos sistemas 7 ao 9 (parede 7,5%) diferiram das demais em relação ao formato, se apresentando sem forma definida (Figura 7). Bueno (2008) também observou micropartículas não esféricas para sistemas de coacervação de oleoresina de páprica em gelatina e goma arábica, com concentração de polímeros igual a 7,5%. De acordo com Schmitt *et al.* (1999), polímeros em excesso podem ocasionar um excedente de cargas, prejudicando a formação do complexo. Além disso, Thies (1995) e Burgess (1994) afirmam que o aumento da viscosidade, causado pela alta concentração de polímeros em solução também pode interferir na formação das micropartículas, uma vez que a mobilidade das macromoléculas pode diminuir a ponto da competição com as moléculas do solvente se tornar maior. Em estudos de coacervação complexa utilizando gelatina e quitosana como materiais de parede, Remunan-Lopez & Bodmeier (1996)

também concluíram que a quantidade total de polímeros de parede é decisiva para a formação das micropartículas coacervadas.

Independente da concentração de polímeros, observou-se um aumento aparente de recheio nas micropartículas conforme se aumentava a concentração do mesmo, de acordo com o observado por Alvim (2005) e Bueno (2008). Lamprecht *et al.* (2001) observaram esse mesmo comportamento de aumento aparente de recheio, porém até um certo limite, depois do qual observava-se recheio fora das micropartículas.

Nas micropartículas com 25% de recheio (sistemas 1, 4 e 7) e no sistema 2 houve a formação de micropartículas praticamente vazias (Figuras 5A, 6A, 7A, 5B), comportamento observado por Alvim (2005) e Bueno (2008), para micropartículas coacervadas com 25% de recheio.

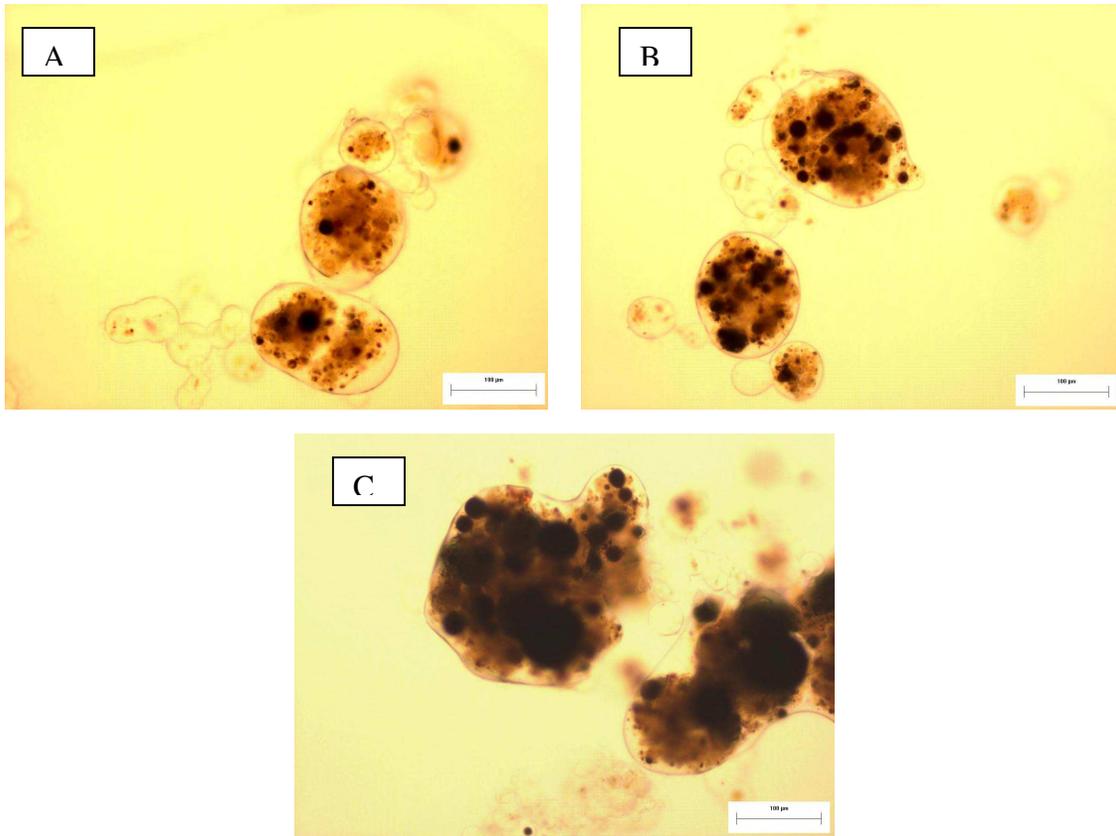


Figura 5 : Imagens obtidas por microscopia ótica de micropartículas coacervadas úmidas, elaboradas com 2,5% de concentração de polímeros de parede. A = sistema 1 (25% de recheio); B = sistema 2 (50% recheio) e C = sistema 3 (75% de recheio). Barras = 100 µm

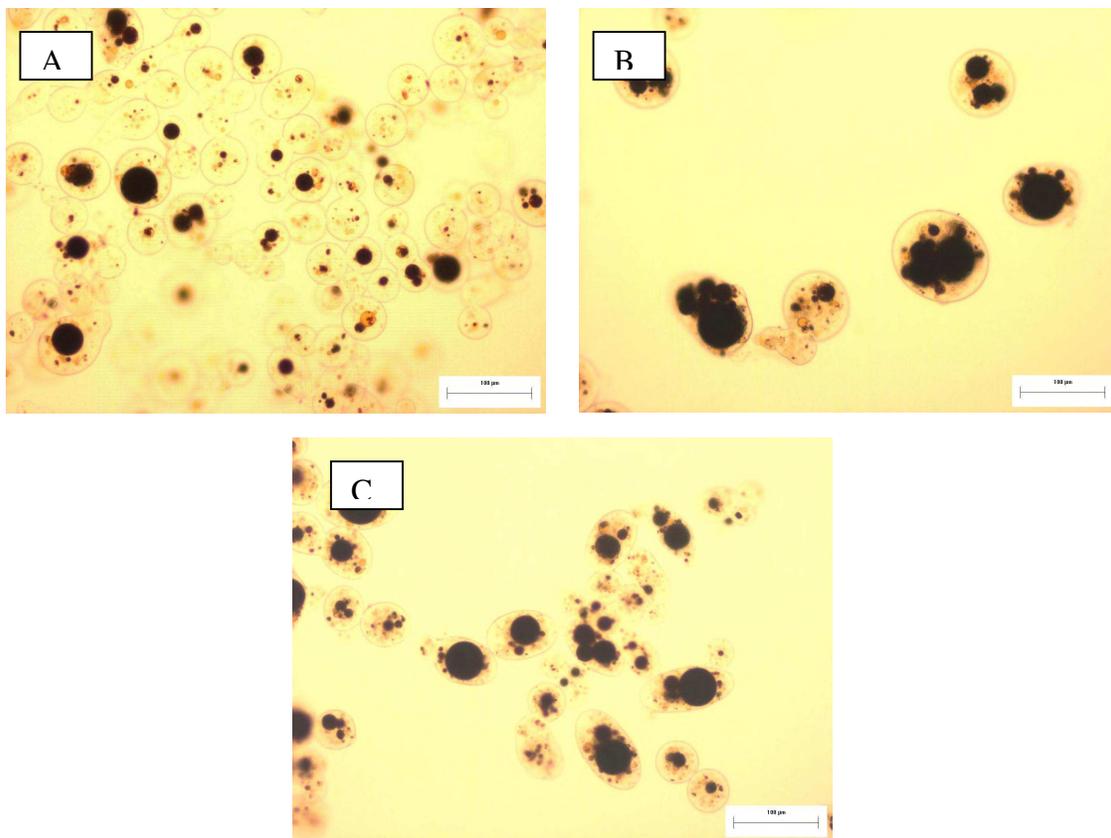


Figura 6: Imagens obtidas por microscopia ótica de micropartículas coacervadas úmidas, elaboradas com 5% de concentração de polímeros de parede. A = sistema 4 (25% de recheio); B = sistema 5 (50% recheio) e C = sistema 6 (75% de recheio). Barras = 100 µm

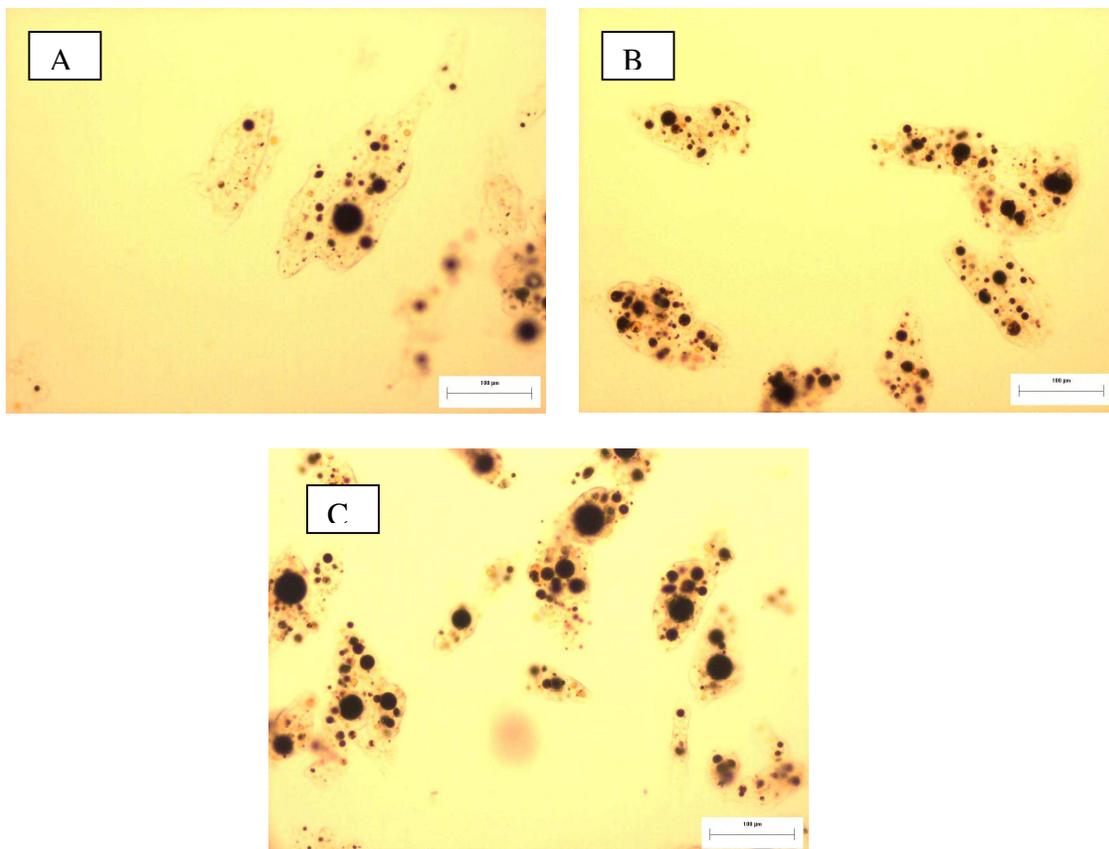


Figura 7: Imagens obtidas por microscopia ótica de micropartículas coacervadas úmidas, elaboradas com 7,5% de concentração de polímeros de parede. A = sistema 7 (25% de recheio); B = sistema 8 (50% recheio) e C = sistema 9 (75% de recheio). Barras = 100 µm

5.1.2. Diâmetro médio e distribuição de tamanho das micropartículas coacervadas

Foram calculados os diâmetros médios e a distribuição de tamanho das partículas dos sistemas de 1 a 6. Por não apresentarem a esfericidade necessária, não foi possível determinar os diâmetros dos sistemas 7, 8 e 9. Os valores de diâmetro médio encontram-se na Tabela 3 e as distribuições de tamanho, na Figura 8.

O diâmetro médio das micropartículas analisadas variou entre 61 e 144 μm (Tabela 3), em concordância com trabalhos da literatura, que citam variações entre 1 e 500 μm (FÁVARO-TRINDADE *et al.*, 2008). Os desvios padrão obtidos são altos e inerentes à técnica de microencapsulação utilizada, conforme pode também ser observado através das microscopias ótica e eletrônica, apresentadas nesse trabalho. Porém, pelos histogramas da Figura 8, verifica-se que as distribuições de tamanho das micropartículas de todos os sistemas são unimodais e estão próximas à normal.

Houve diferença de tamanho de partículas entre os sistemas 1, 2 e 3 (parede 2,5%) em relação aos sistemas 4, 5 e 6 (parede 5%), indicando que houve influência da concentração de polímeros de parede no tamanho das micropartículas. Essa influência é citada em estudos que fazem associações do tamanho das micropartículas com parâmetros de produção, tais como: proporção entre os polímeros de parede, concentração de polímeros utilizados, quantidade de recheio, velocidade de agitação, taxa de resfriamento e tipo de secagem (BACHTSI & KIPARISSIDES, 1996; MENGER *et al.*, 2000; LAMPRECHT *et al.*, 2001; NAKAGAWA *et al.*, 2004).

Tabela 3: Diâmetro médio das micropartículas obtidas por coacervação complexa pelos sistemas 1 ao 6.

Sistema	Diâmetro médio \pm desvio padrão (μm)
1	144 ^a \pm 79
2	134 ^a \pm 60
3	144 ^a \pm 98
4	64 ^b \pm 17
5	72 ^b \pm 26
6	61 ^b \pm 20

Letras diferentes na mesma coluna indicam que houve diferença significativa entre as amostras ($p < 0,05$)

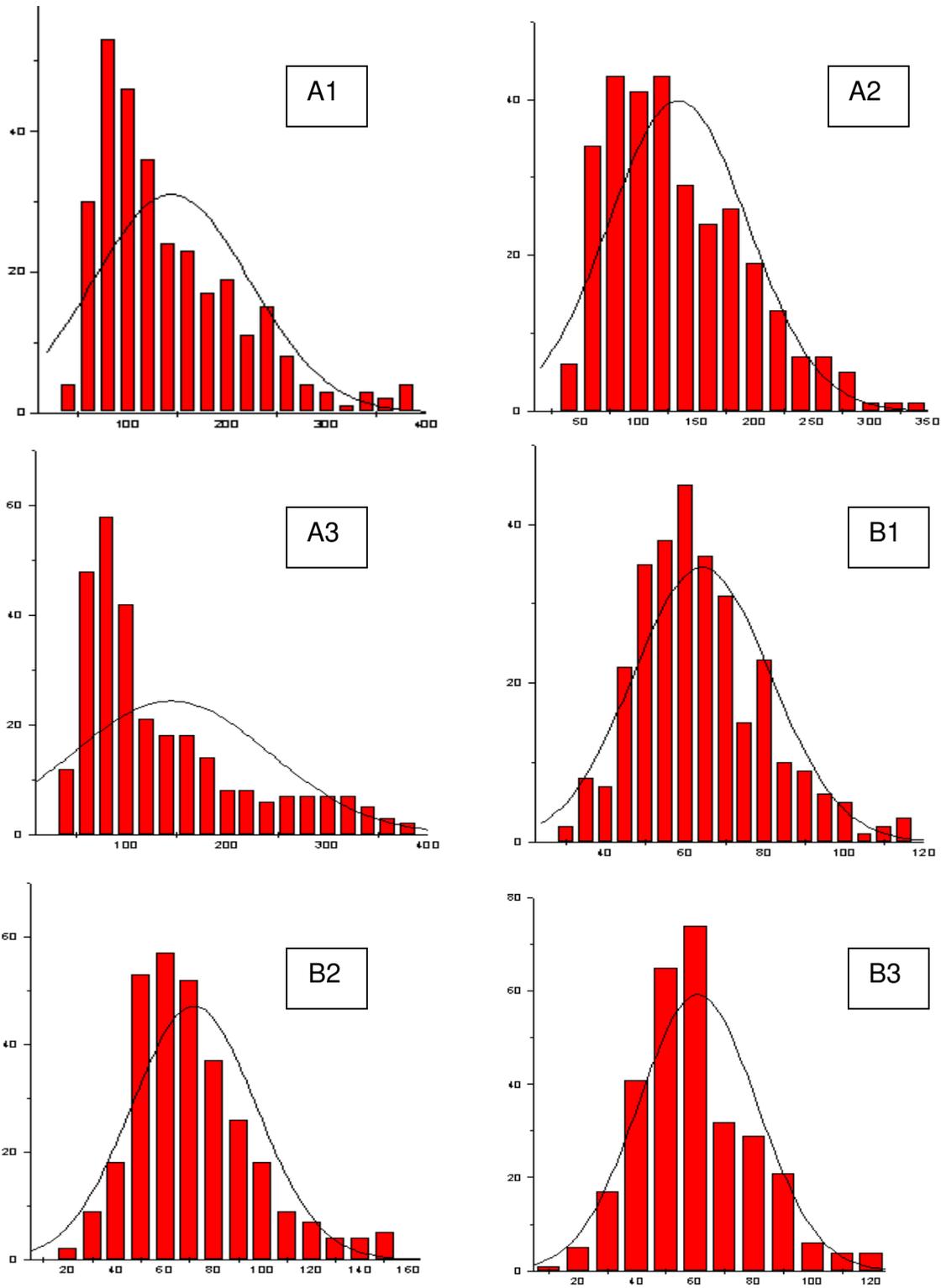


Figura 8: Histogramas de distribuição de tamanho das micropartículas coacervadas. (A: concentração da solução de polímeros de parede = 2,5% e B = 5,0%) (1= 25% de recheio, 2 = 50% e 3 = 75%).

5.1.3. Eficiência de Encapsulação das micropartículas coacervadas liofilizadas

Os valores de eficiência de encapsulação obtidos para as micropartículas coacervadas estão apresentados na Tabela 4.

Somada à avaliação morfológica, a eficiência de encapsulação foi utilizada para determinar os dois melhores sistemas, para serem utilizados na continuação do estudo. Verifica-se que o maior valor encontrado foi para o sistema 7, porém, na avaliação morfológica observou-se a formação de partículas disformes, inviabilizando a escolha desse sistema. Dessa forma os dois seguintes maiores valores obtidos foram os dos sistemas 1 e 6, e por isso, foram os sistemas de coacervação escolhidos para o estudo de estabilidade.

Alvim (2005) também encontrou altos valores de eficiência de encapsulação (máximo de 94,7%) para sistemas de coacervação complexa de oleoresina de páprica, com condições de processamento similares aos deste estudo.

Alguns valores extrapolam os 100% de eficiência de encapsulação. Isso indica que houve uma superestimação pelo método utilizado, no entanto, considerou-se que o mesmo erro de metodologia foi empregado para todos os sistemas, não afetando a escolha das maiores eficiências para o teste de estabilidade. Além disso, considerou-se que a superestimação não foi grande, uma vez que os sobrenadantes de todos os sistemas se apresentaram límpidos após a precipitação dos sistemas, indicando que não havia presença de recheio não encapsulado, pois caso houvesse, haveria separação de fases visível.

Tabela 4: Eficiência de encapsulação de micropartículas obtidas por coacervação complexa

Sistema	Eficiência de encapsulação (%)
1	101,19 ^{ab} ± 3,88
2	91,94 ^c ± 3,42
3	99,63 ^{abc} ± 3,58
4	97,59 ^{abc} ± 1,93
5	99,75 ^{abc} ± 1,24
6	101,37 ^{ab} ± 1,07
7	103,24 ^a ± 1,12
8	93,79 ^{bc} ± 4,55
9	95,04 ^{bc} ± 1,57

Letras diferentes na mesma coluna indicam que houve diferença significativa entre as amostras ($p < 0,05$)

5.2. Produção das micropartículas por *spray drying*

A produção de micropartículas por *spray drying* resultou em pós finos de coloração rosada. Após o término de cada secagem, as micropartículas eram recolhidas, acondicionadas em frascos fechados recobertos com papel alumínio e mantidas em freezer.

5.2.1. Eficiência de Encapsulação das micropartículas atomizadas

Os valores de eficiência de encapsulação variaram entre 21 e 29%, e diferiram significativamente entre as três amostras (Tabela 5). Observa-se uma influência inversamente proporcional da quantidade de recheio no valor da eficiência de encapsulação.

Shu *et al.* (2006) microencapsularam licopeno em gelatina e sacarose por atomização em *spray dryer* e também verificaram que quanto maior a quantidade de recheio, menor a eficiência de encapsulação. Variando parâmetros como a

proporção parede:recheio, proporção massa de gelatina:massa de sacarose e a temperatura de entrada do ar no *spray dryer*, eles observaram uma faixa de eficiência de encapsulação de 12,1 a 82,2%. Rodríguez-Huezo *et al.* (2004) encontraram valores de 25,6 a 87,5% na eficiência de encapsulação por atomização de emulsões contendo carotenóides e parede de goma arábica, goma gelana e maltodextrina.

O licopeno é um composto facilmente oxidado quando exposto à alta temperatura e um dos motivos da baixa eficiência encontrada pode estar relacionado à temperatura do ar de entrada utilizada no *spray dryer* (180°C). Adicionalmente, Shu *et al.* (2006) afirmam que a alta temperatura do ar de entrada pode quebrar o equilíbrio entre a taxa de evaporação e a de formação da partícula, reduzindo a eficiência de encapsulação.

Tabela 5: Eficiência de Encapsulação para as micropartículas obtidas por *spray drying*.

% Recheio nas micropartículas	Eficiência de Encapsulação
5%	29,73 ^a ± 1,09
10%	24,47 ^b ± 2,42
15%	21,01 ^c ± 1,37

Letras diferentes na mesma coluna indicam que houve diferença significativa entre as amostras ($p < 0,05$)

5.3. Estabilidade das micropartículas coacervadas liofilizadas e obtidas por *spray drying*

As Figuras 9 e 10 apresentam os resultados de retenção de licopeno ao longo do tempo e da temperatura de estocagem nas micropartículas coacervadas liofilizadas e nas obtidas por *spray drying*, respectivamente. Os resultados obtidos seguem uma tendência linear, sendo que a escolha do ajuste linear foi subsidiada pelos altos valores de coeficiente de correlação (R^2) obtidos a partir desse ajuste.

Para a maioria dos sistemas estudados, o valor de R^2 foi superior a 0,91 (Tabela 6)

A Tabela 7 apresenta a retenção após 73 dias dos sistemas microencapsulados e do licopeno livre correspondente nas duas diferentes temperaturas estudadas. A retenção do licopeno foi bastante influenciada pela temperatura de armazenamento. Para todos os sistemas estudados, a retenção foi significativamente maior quando mantidos a 10 °C em relação ao armazenamento a 25 °C, conforme o esperado, uma vez que o processo de oxidação do licopeno é maior quanto maior a temperatura (Tabela 7).

A comparação da estabilidade do licopeno encapsulado em relação ao livre apresentou o mesmo perfil de comportamento, independentemente do sistema estudado, conforme exemplificado na Figura 11, que apresenta a retenção de licopeno no sistema de coacervação 6 e na forma livre, armazenados a 10 °C. Para todos os sistemas, as maiores perdas são observadas para o licopeno livre na forma de dispersão, indicando que os sistemas microencapsulados foram mais protetivos para o licopeno.

Quando estocadas a 10 °C, as micropartículas produzidas por *spray drying* apresentaram melhor desempenho comparado ao desempenho dos sistemas de coacervação. No armazenamento a 25 °C, o melhor desempenho foi do sistema 6 de coacervação, seguido dos sistemas obtidos por *spray drying*.

A quantidade de recheio nas micropartículas influenciou de forma diferente as micropartículas produzidas por coacervação e por *spray drying*. No primeiro caso, o sistema com maior concentração de recheio (6) obteve um melhor desempenho do que o sistema com menor concentração (1), especialmente quando armazenados a 25 °C. Para as micropartículas obtidas por *spray drying* quanto menor a concentração de recheio, melhor o desempenho no teste para as duas temperaturas.

No estudo de estabilidade (na ausência de luz e temperatura ambiente) de licopeno microencapsulado por *spray drying*, utilizando goma arábica como material de parede, Matioli & Rodriguez-Amaya (2002) constataram que no 18^o dia, houve perda de 50% de licopeno. Shu *et al.* (2006) avaliaram a estabilidade

de microcápsulas de licopeno encapsulado em gelatina e sacarose por *spray drying*, armazenadas a 0 °C em sacos plásticos transparentes e constataram que houve perda de cerca de 15% após 28 dias. Estes desempenhos estão abaixo do desempenho dos sistemas estudados e isto pode ser atribuído à presença de oxigênio durante a estocagem nos estudos desses autores.

Matioli & Rodriguez-Amaya (2003) observaram que o licopeno microencapsulado em γ -ciclodextrina se manteve estável durante 40 dias, tanto na presença como na ausência de luz, armazenado na ausência de oxigênio e em temperatura variando de 25 a 35 °C.

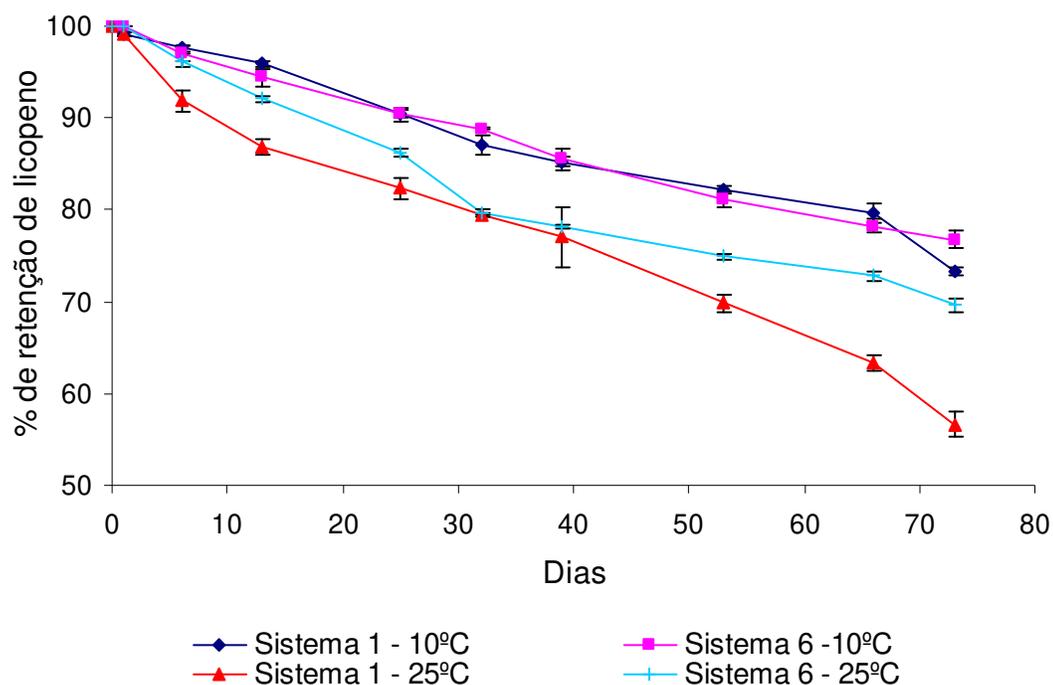


Figura 9: Retenção de licopeno nos sistemas coacervados 1 e 6 durante 73 dias.

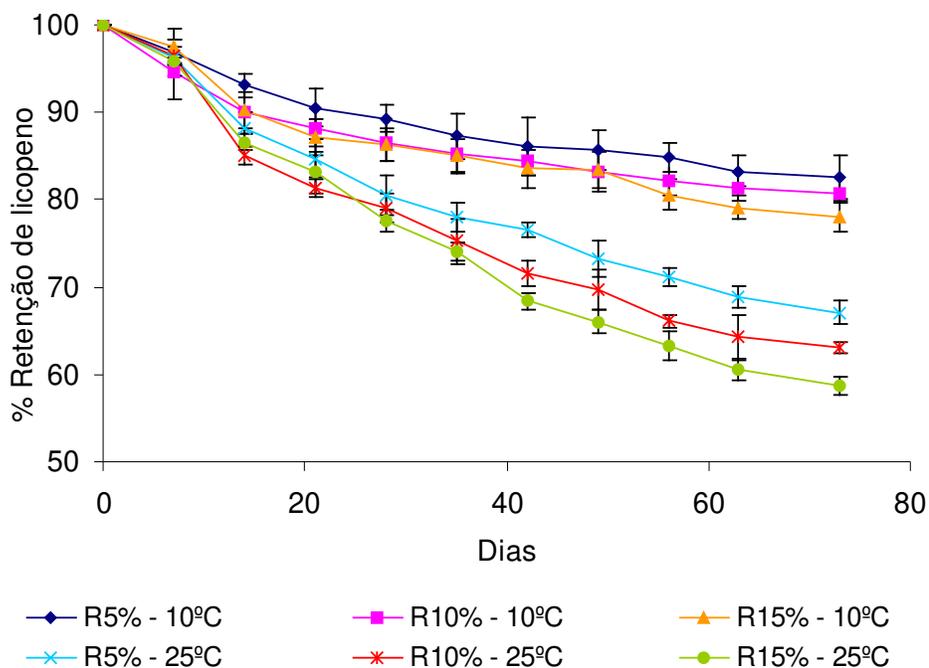


Figura 10: Retenção de licopeno nos sistemas produzidos por *spray drying* (R = porcentagem de recheio) durante 73 dias.

Tabela 6: Equações e coeficientes de relação da regressão linear da retenção de licopeno encapsulado

Temperatura	Sistema	Equação	Coefficiente de correlação (R^2)
10 °C	Coacervação sistema 1	$-0,3391x + 99,474$	0,9819
10 °C	Coacervação sistema 6	$-0,3242x + 99,201$	0,9906
10 °C	<i>Spray drying</i> (R= 5%)	$-0,2276x + 97,081$	0,9148
10 °C	<i>Spray drying</i> (R= 10%)	$-0,234x + 95,224$	0,8947
10 °C	<i>Spray drying</i> (R= 15%)	$-0,2823x + 96,389$	0,8956
25 °C	Coacervação sistema 1	$-0,5384x + 97,236$	0,9796
25 °C	Coacervação sistema 6	$-0,4203x + 97,947$	0,9505
25 °C	<i>Spray drying</i> (R= 5%)	$-0,4457x + 96,145$	0,9453
25 °C	<i>Spray drying</i> (R= 10%)	$-0,5088x + 95,38$	0,9321
25 °C	<i>Spray drying</i> (R= 15%)	$-0,5841x + 96,451$	0,9602

(R = quantidade de recheio nas micropartículas obtidas por *spray drying*)

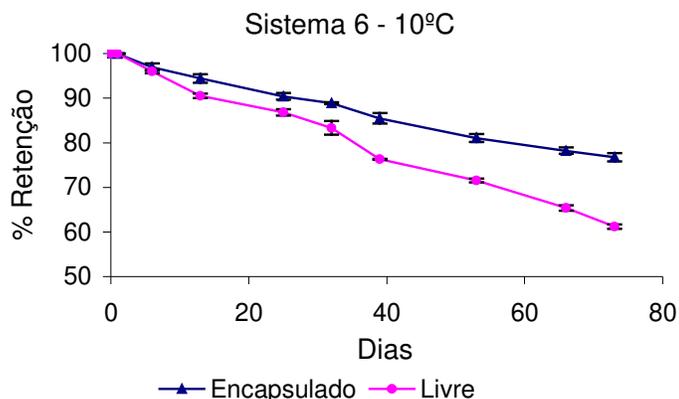


Figura 11: Retenção de licopeno no sistema 6 de coacervação em comparação ao licopeno livre armazenado nas mesmas condições.

Tabela 7: Retenção de licopeno nas micropartículas e na forma livre após 73 dias

Temperatura	Sistema	% Retenção (Encapsulado)	% Retenção (Livre)
10 °C	Coacervação sistema 1	^{de} 73,29 ^A ± 0,42	^a 61,18 ^B ± 0,53
10 °C	Coacervação sistema 6	^{cd} 76,73 ^A ± 0,95	^a 61,18 ^B ± 0,53
10 °C	<i>Spray drying</i> (R= 5%)	^a 82,53 ^A ± 2,53	^a 63,74 ^B ± 0,74
10 °C	<i>Spray drying</i> (R= 10%)	^{ab} 80,76 ^A ± 1,16	^a 63,74 ^B ± 0,74
10 °C	<i>Spray drying</i> (R= 15%)	^{bc} 78,06 ^A ± 1,81	^a 63,74 ^B ± 0,74
25 °C	Coacervação sistema 1	^h 56,62 ^A ± 1,35	^b 51,82 ^A ± 2,3
25 °C	Coacervação sistema 6	^{ef} 69,65 ^A ± 0,71	^b 51,82 ^B ± 2,3
25 °C	<i>Spray drying</i> (R= 5%)	^f 67,11 ^A ± 1,42	^b 54,26 ^B ± 0,95
25 °C	<i>Spray drying</i> (R= 10%)	^g 63,05 ^A ± 0,62	^b 54,26 ^B ± 0,95
25 °C	<i>Spray drying</i> (R= 15%)	^h 58,69 ^A ± 0,97	^b 54,26 ^A ± 0,95

(R = quantidade de recheio nas micropartículas obtidas por *spray drying*)

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam que houve diferença significativa entre as amostras ($p < 0,05$).

Letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam que houve diferença significativa entre as amostras ($p < 0,05$).

5.4. Caracterização das micropartículas obtidas por coacervação e *spray drying*.

Para esta etapa, seguiram os três sistemas obtidos por *spray drying* e o sistema 6 de coacervação, por ter tido melhor desempenho no teste de estabilidade em comparação ao sistema 1 de coacervação.

5.4.1. Morfologia

5.4.1.1. Microscopia ótica das micropartículas coacervadas

Aparentemente o processo de secagem por liofilização não causou grandes danos à estrutura morfológica das micropartículas, uma vez que a reidratação foi bem sucedida, restituindo a esfericidade das micropartículas e mantendo um aspecto semelhante à amostra úmida (Figura 12). Observou-se que houve uma absorção significativa de água pelas amostras liofilizadas reidratadas, comprovada pelos diâmetros médios (Tabela 8), que apresentaram valores próximos aos tamanhos originais das micropartículas úmidas, antes do processo de secagem. O mesmo comportamento foi observado por Alvim (2005) na reidratação de micropartículas coacervadas com recheio de oleoresina de páprica.

Alvim (2005) estudou três formas de secagem para micropartículas coacervadas (liofilização, estufa com circulação de ar e *spray dryer*) e concluiu que a liofilização foi o único processo de secagem eficiente para micropartículas coacervadas sem reticulação. O uso de *spray dryer* causou destruição das partículas e a secagem em estufa resultou na formação de um filme contínuo, duro e quebradiço, ficando as partículas aderidas umas às outras. Na secagem em estufa com circulação de ar, Mukai-Corrêa (2003) observou a perda da forma esférica e ruptura de micropartículas obtidas por geleificação iônica, mas realizando a secagem por liofilização observou boa reidratação e recuperação parcial da forma original. A escolha de um método ideal para a retirada da água do sistema é de grande importância, uma vez que a água presente contribui na sustentação da estrutura das micropartículas e a sua retirada pode ocasionar

ruptura da parede e, conseqüentemente, desestruturação das micropartículas (MUKAI-CORRÊA *et al.*, 2005).

O tipo de congelamento utilizado previamente à liofilização foi o congelamento lento (em freezer). A escolha do tipo de congelamento também é importante por determinar a estrutura dos cristais de gelo formados (DAWSON & HOCKLEY, 1991). Alvim (2005) e Prata (2006) estudaram os congelamentos lento e rápido em micropartículas coacervadas e concluíram que o lento foi o mais adequado para este tipo de amostra.

Comparando-se o diâmetro médio das micropartículas úmidas em relação ao das micropartículas liofilizadas, observa-se que a retirada da água ocasionou uma diminuição de aproximadamente 36% no diâmetro médio das partículas. O valor encontrado é próximo ao valor de 25% observado por Alvim (2005).

Em relação à distribuição de tamanho, observa-se que a liofilização não causou grandes alterações na mesma (Figura 13).

Tabela 8: Diâmetro médio das micropartículas obtidas por coacervação complexa, úmidas, liofilizadas e reidratadas por diferentes tempos.

<i>Condição das cápsulas</i>	<i>Diâmetro médio (μm)</i>
Liofilizada (captação em glicerol)	$30,82^c \pm 7,56$
Úmida	$48,32^a \pm 10,95$
Reidratada por 5 min	$44,14^b \pm 14,53$
Reidratada por 1 hora	$47,92^a \pm 12,95$
Reidratada por 24 horas	$47,84^a \pm 12,17$

Letras diferentes na mesma coluna indicam que houve diferença significativa entre as amostras ($p < 0,05$)

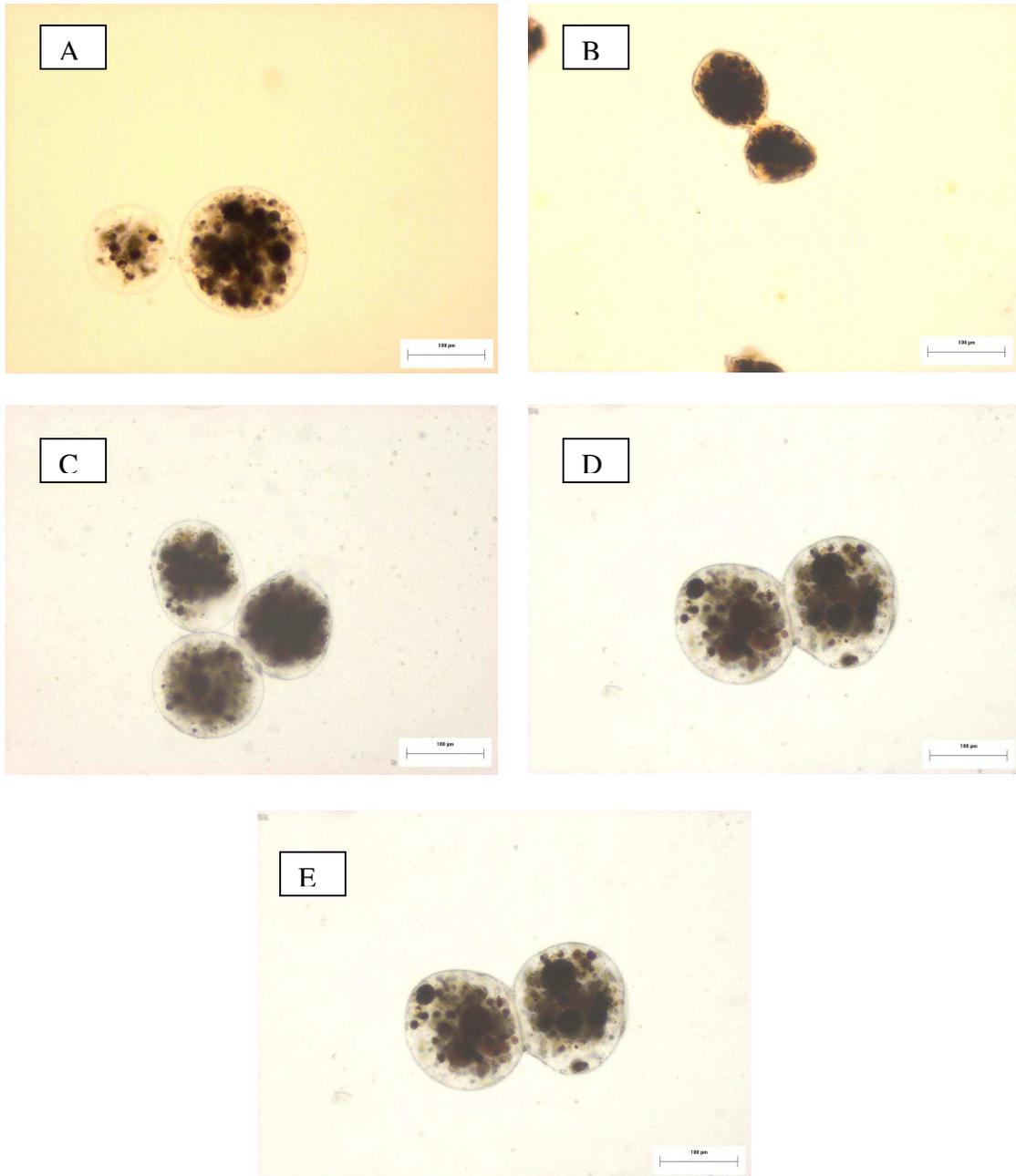


Figura 12: Imagens obtidas por microscopia ótica de micropartículas coacervadas do sistema 6 (P5% R75%). A = úmidas antes da liofilização; B = liofilizadas (captação em glicerol); C = 5 minutos após reidratação; D = 1 hora após reidratação, E = 24 horas após reidratação. Barras = 100 µm

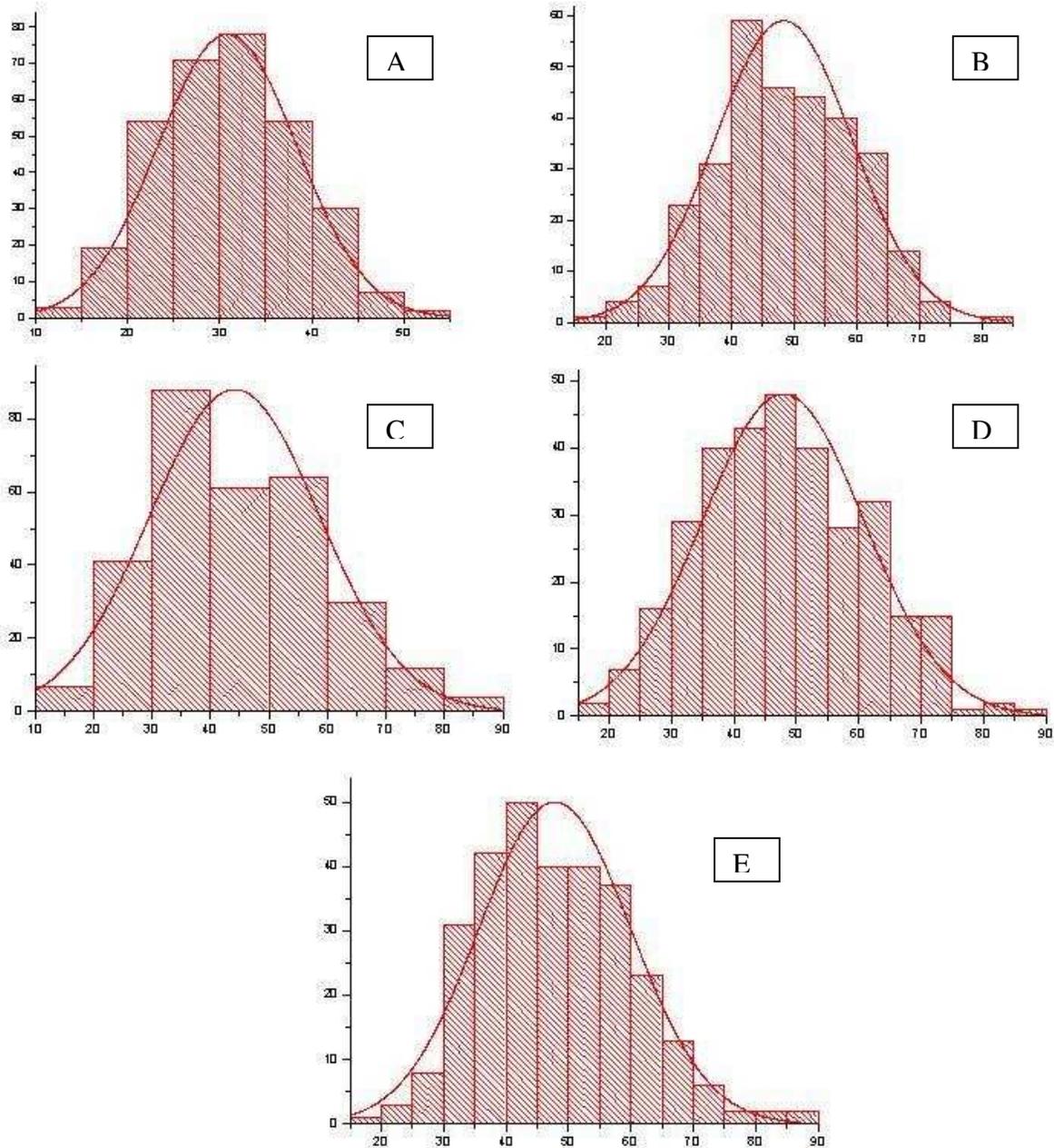


Figura 13: Histogramas de distribuição de tamanho das micropartículas coacervadas do sistema 6 (P5% R75%). A = úmidas antes da liofilização; B = liofilizadas; C = 5 minutos após reidratação; D = 1 hora após reidratação, E = 24 horas após reidratação.

5.4.1.2. Microscopia eletrônica de varredura – micropartículas coacervadas liofilizadas e obtidas por *spray drying*

As micropartículas obtidas por atomização em *spray dryer* apresentaram superfície externa arredondada com formação de dentes ou concavidades e com tamanhos variados (Figuras 14, 15 e 16). O aparecimento de dentes na superfície é atribuído à rápida evaporação das gotículas de líquido durante o processo de secagem no atomizador (ROSENBERG *et al.*, 1985). Na microencapsulação por *spray drying* utilizando Capsul® como material de parede, Buffo *et al.* (2002) e Finotelli & Rocha-Leão (2005) obtiveram partículas com morfologias semelhantes, com recheio de óleo essencial de laranja e ácido ascórbico respectivamente. Imagens semelhantes também foram observadas por Loksuwan (2007), em micropartículas obtidas por *spray drying* contendo β -caroteno microencapsulado em amido de tapioca modificado.

A Figura 14C mostra uma microcápsula fragmentada, podendo-se observar a parede da mesma, que se apresenta compactada e homogênea.

As micropartículas obtidas por coacervação complexa (Figura 17) se apresentaram esféricas, com paredes contínuas, lisas, sem fissuras aparentes e conectadas entre si por pontes sólidas nas superfícies. Alvim (2005), Prata (2006) e Bueno (2008) também observaram essas pontes entre as micropartículas e as associaram ao processo de secagem por liofilização, que ocasiona uma tendência à aglomeração.

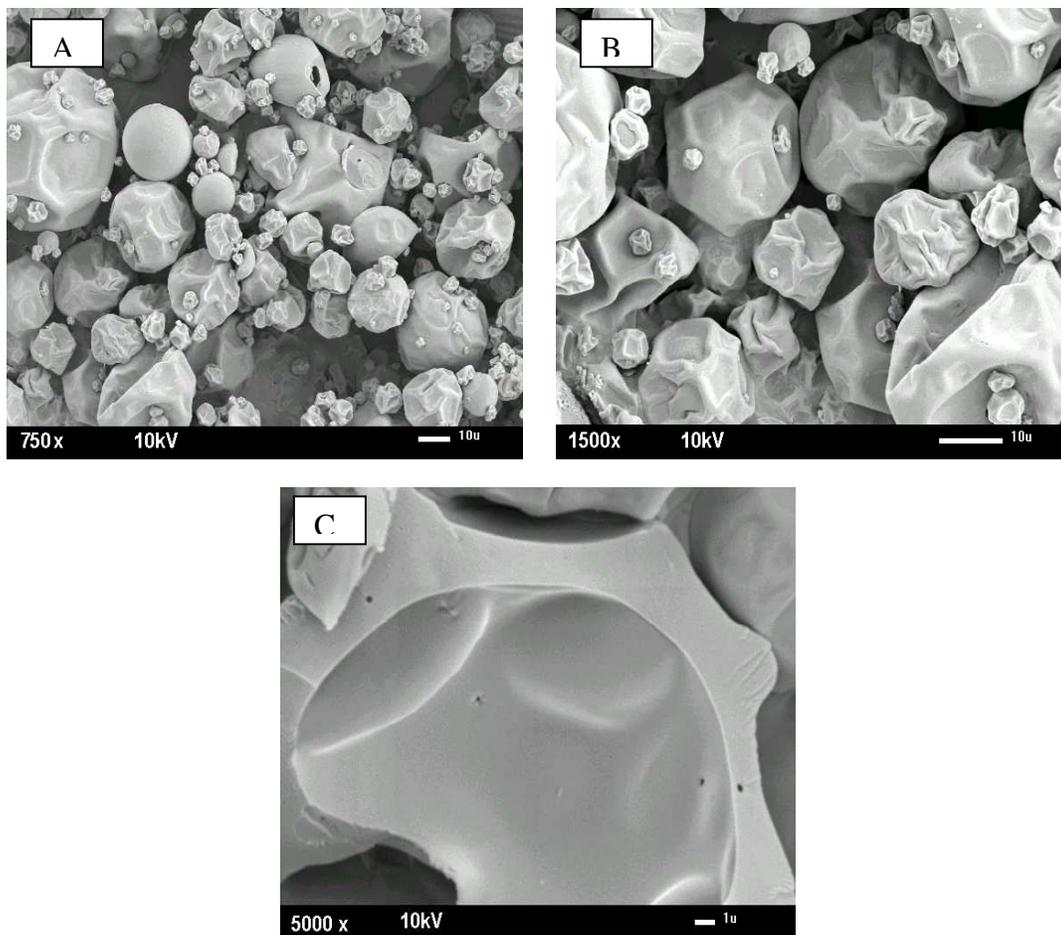


Figura 14: Imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) de micropartículas atomizadas em *spray drying* com 5% de recheio (A: barra = 10 μm ; B: barra = 10 μm ; C: barra = 1 μm).

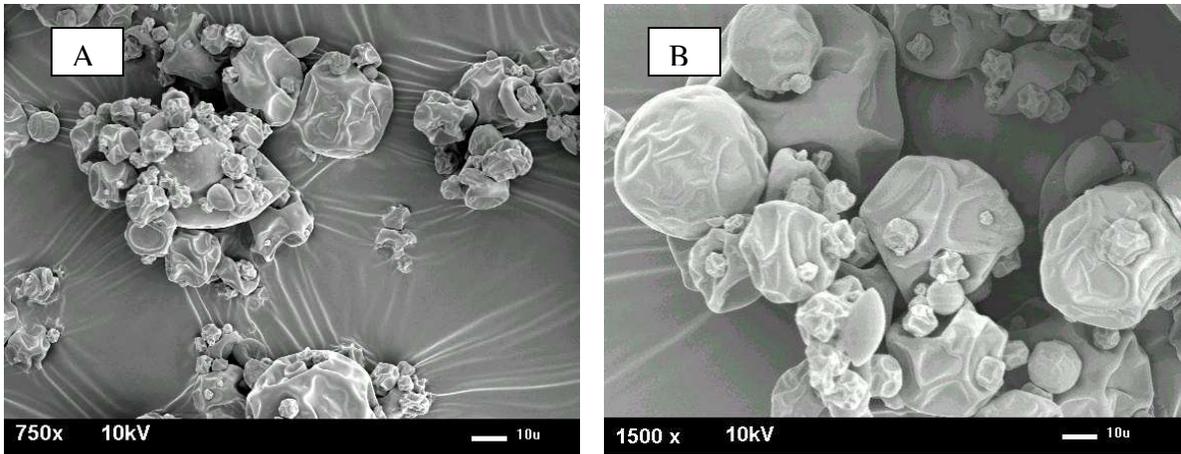


Figura 15: Imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) de micropartículas atomizadas em *spray drying* com 10% de recheio (A: barra = 10 µm; B: barra = 10 µm).

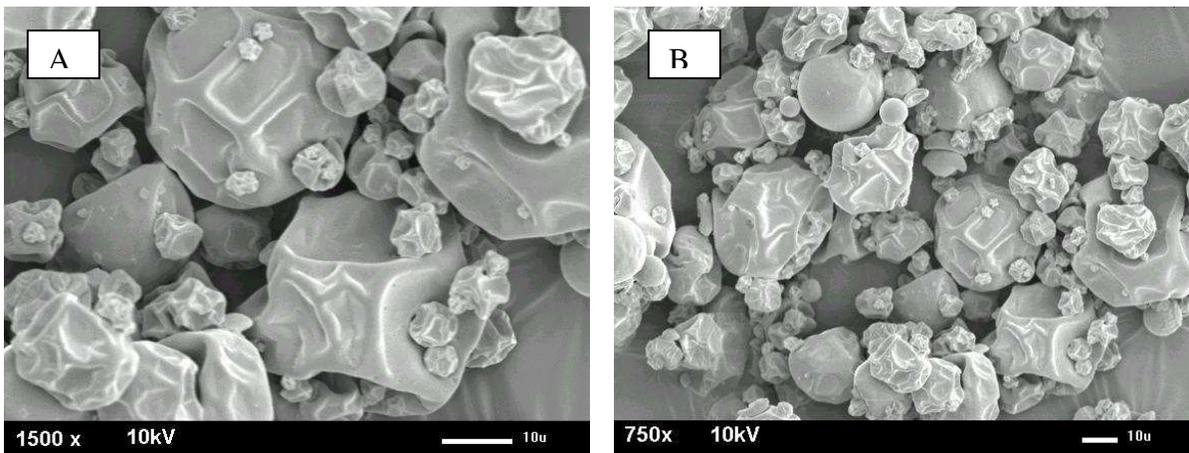


Figura 16: Imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) de micropartículas atomizadas em *spray drying* com 15% de recheio (A: barra = 10 µm; B: barra = 10 µm).

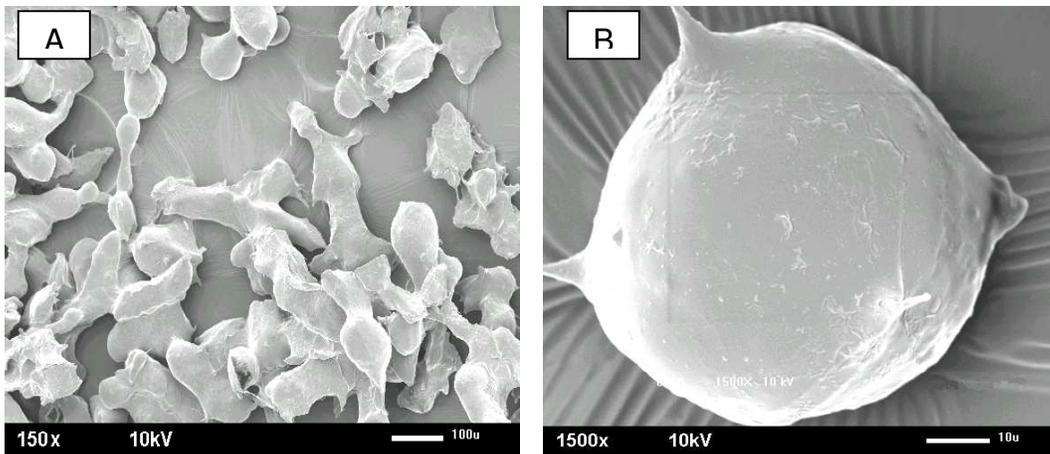


Figura 17: Imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) de micropartículas coacervadas liofilizadas (sistema 6: parede 5%, recheio 75%) (A: barra = 100 µm; B: barra = 10 µm).

5.4.2. Densidade

Os valores encontrados para a densidade estão na Tabela 9. De acordo com Cai & Corke (2000), quanto menor a densidade da micropartícula maior a quantidade de ar presente nela, aumentando a possibilidade de degradação oxidativa dos pigmentos e conseqüentemente reduzindo a estabilidade dos mesmos. As micropartículas coacervadas e as obtidas por *spray drying* com 15% de recheio apresentaram os maiores valores de densidade. Entre as obtidas por *spray drying*, observou-se que quanto maior a quantidade de recheio, maior o valor de densidade.

Tabela 9: Densidade das micropartículas coacervadas liofilizadas do sistema 6 e atomizadas em *spray dryer* (R= porcentagem de recheio)

Amostras	Densidade (g/mL)
Coacervação (Sistema 6)	0,4068 ^{ab} ± 0,06
<i>Spray drying</i> (R5%)	0,3878 ^c ± 0,03
<i>Spray drying</i> (R10%)	0,3975 ^{bc} ± 0,03
<i>Spray drying</i> (R15%)	0,4103 ^a ± 0,05

Letras diferentes na mesma coluna indicam que houve diferença significativa entre as amostras ($p < 0,05$).

5.4.3. Higroscopicidade

Higroscopicidade é a habilidade de absorver água presente no ar atmosférico apresentado por diferentes materiais (Marchal *et al.*, 1999). Os valores de higroscopicidade obtidos para as micropartículas armazenadas em umidade relativa (UR) 81% por 7 dias, estão descritos na Tabela 10 e estão de acordo com o valor de 28,3 g/100 g encontrado por Cai & Corke (2000) para micropartículas de amarantho com parede de amido modificado obtidas por *spray drying*. Observa-se também que não houve diferença significativa entre as amostras, o que sugere que o método utilizado para produção das micropartículas (coacervação complexa e *spray drying*), bem como a quantidade de recheio adicionada nas micropartículas atomizadas não influenciou tal parâmetro. De acordo com a Figura 18, a absorção de água foi maior nas primeiras 24 horas, o que permite inferir que as micropartículas devem ser embaladas logo após o processamento, para evitar absorção de umidade ambiente. A partir do segundo dia de armazenamento, observou-se aglomeração entre as partículas, o que resulta em perda de sua funcionalidade caso armazenadas incorretamente.

Tabela 10: Higroscopicidade das micropartículas coacervadas liofilizadas do sistema 6 e atomizadas em *spray dryer* (R= porcentagem de recheio)

Amostras	Higroscopicidade (g H₂O / 100g amostra)
Coacervação (Sistema 6)	23,68 ^a ± 0,59
<i>Spray drying</i> (R5%)	24,47 ^a ± 0,72
<i>Spray drying</i> (R10%)	25,12 ^a ± 0,47
<i>Spray drying</i> (R15%)	23,91 ^a ± 0,61

Letras diferentes na mesma coluna indicam que houve diferença significativa entre as amostras ($p < 0,05$)

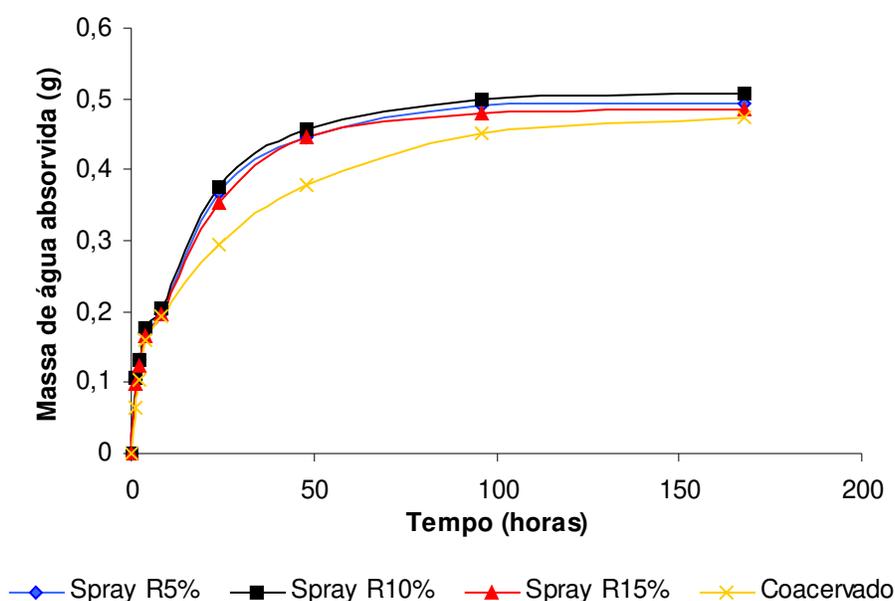


Figura 18: Absorção de água em função do tempo pelas micropartículas atomizadas em *spray dryer* (R= porcentagem de recheio) e coacervadas do sistema 6 (parede 2,5% e recheio 75%)

5.5. Aplicação em sistema alimentício

As micropartículas e o licopeno livre foram adicionados à formulação padrão de bolo e analisados quanto às coordenadas cromáticas pelo sistema Hunter, comparando-se com uma amostra padrão, que não continha licopeno.

A determinação da quantidade de micropartículas utilizada em cada amostra foi baseada em Santos (2003), que utilizou uma proporção de 0,31 g de encapsulado/250 g de massa de bolo antes de assar. Desse modo, foram adicionados 1,14 g de micropartículas coacervadas liofilizadas, 5,66 g de micropartículas coacervadas úmidas (79,85% de umidade), 9,77 g de micropartículas atomizadas em *spray dryer* e 0,48 g de licopeno livre (BASF – 20% de licopeno).

Mabon (1993) afirma que, em algumas situações, somente uma das coordenadas cromáticas é suficiente para avaliar o produto. Entre as amostras analisadas, as medidas do parâmetro “a” apresentaram amplitudes de 2 a 4 vezes maiores que as dos parâmetros “L” e “b”. Além disso Mabon (1993) associa a coordenada “a” como a mais importante para os produtos a base de tomate. Por essas razões, adotou-se tal coordenada para a análise da medida de cor dos sistemas modelos. A leitura de cor foi realizada em 5 pontos aleatórios em cada amostra. A medição foi realizada em fatias de aproximadamente 2 cm. A Tabela 11 apresenta os valores das coordenadas “a” para as amostras de bolo. Apenas a amostra com coacervado úmido não apresentou diferença significativa em relação ao bolo com licopeno livre. Entretanto todas as amostras diferiram do bolo padrão (sem licopeno), como esperado.

Por meio da Figura 19 é possível visualizar a variação de pigmentação do licopeno nas amostras. Na Figura 20 verifica-se uma distribuição homogênea do corante nas amostras com micropartículas obtidas por *spray drying* (Figura 20B) e com coacervados úmidos (Figura 20C) evidenciando a eficácia da funcionalidade destes encapsulados na pigmentação dos bolos. A mesma distribuição homogênea foi verificada para a amostra com licopeno livre (Figura 20A). Porém, na amostra com coacervado liofilizado (Figura 20D) observou-se uma

pigmentação menos intensa, distribuição heterogênea e a presença de licopeno aglomerado em alguns pontos (evidenciados pelas setas). Durante o preparo da massa as micropartículas não foram dissolvidas e o calor do forno não foi suficiente para rompe-las totalmente, e desta forma o recheio não foi totalmente liberado e distribuído por todo o bolo, o que restringe a utilização de partículas coacervadas liofilizadas diretamente neste tipo de aplicação testada. São necessários ajustes para a hidratação prévia das micropartículas liofilizadas para que ocorra a liberação do pigmento ao produto.

Tabela 11: Valores das coordenadas “a” para bolos produzidos com licopeno em diferentes meios e sem licopeno

<i>Amostra</i>	<i>Coordenada “a”</i>
Licopeno livre	33,65 ^a ± 0,46
Coacervado	32,83 ^a ± 0,37
<i>Spray dried</i>	26,59 ^b ± 0,61
Coacervado Liofilizado	18,50 ^c ± 0,27
Sem licopeno	1,70 ^d ± 0,21

Letras diferentes na mesma coluna indicam que houve diferença significativa entre as amostras (p<0,05)



Figura 19: Fatias de bolo produzidas com licopeno na forma livre, com adição de micropartículas obtidas por *spray drying*, coacervação, coacervação seguida de liofilização e sem adição de licopeno.

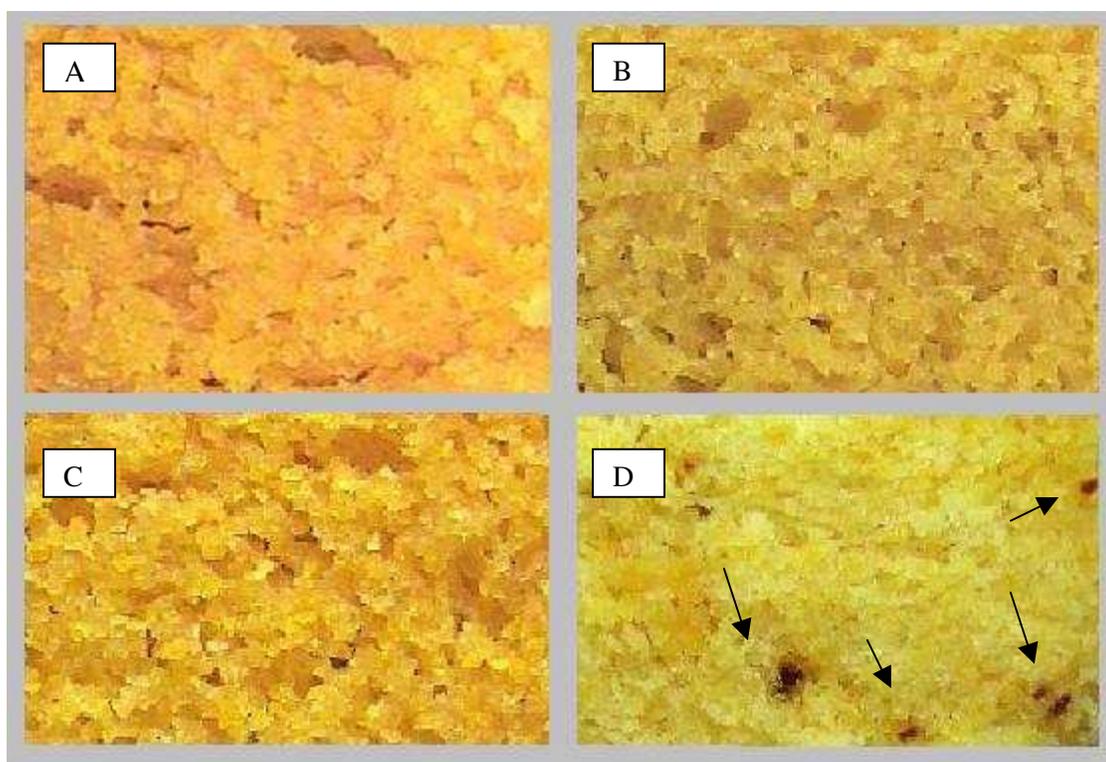


Figura 20: Distribuição de licopeno em bolos. A = livre; B = atomizado em *spray dryer*; C = coacervado; D = coacervado liofilizado (as setas apontam para aglomerados de licopeno).

6. CONCLUSÕES

Houve formação de micropartículas para todos os sistemas estudados nesse projeto. As micropartículas coacervadas se apresentaram esféricas (com exceção dos sistemas com 7,5% de parede), multinucleadas, com parede definida e tamanho variando de 61 a 144 μm de acordo com o sistema estudado. Os valores de eficiência de encapsulação foram maiores para as partículas coacervadas (acima de 90%) em relação às obtidas por *spray drying* (entre 20 e 30%), corroborando a grande sensibilidade do licopeno às condições térmicas utilizadas nesse processo de microencapsulação.

O processo de liofilização foi eficiente para a secagem das micropartículas coacervadas, pois quando reidratadas, as mesmas recuperaram o tamanho e a aparência inicial.

Por meio de microscopia eletrônica de varredura, observou-se que as partículas obtidas por *spray drying* apresentaram superfície externa arredondada com formação de concavidades e parede compacta e homogênea. As partículas coacervadas liofilizadas apresentaram paredes lisas, sem fissuras aparentes e ligadas umas às outras por pontes sólidas.

O teste de estabilidade indicou que a microencapsulação foi eficiente na proteção do licopeno, uma vez que a retenção do mesmo foi maior nos sistemas encapsulados em relação ao material livre. Também foi observado que a temperatura influenciou significativamente a estabilidade do pigmento, conforme esperado.

A aplicação das micropartículas no bolo foi satisfatória quando foram utilizadas as micropartículas coacervadas não liofilizadas e as obtidas por *spray drying*, sendo que, com as primeiras não houve diferença significativa de coloração em relação ao bolo com licopeno na forma livre. Para a aplicação das micropartículas coacervadas liofilizadas são necessários ajustes prévios de hidratação, para que possa haver uma maior liberação de licopeno na amostra.

7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Avaliar a estabilidade das micropartículas frente a outros fatores além da temperatura, como oxigênio e luz.

Otimizar a produção das micropartículas por *spray dryer* no intuito de melhorar a eficiência de encapsulação utilizando diferentes materiais de parede, individualmente ou em misturas, e reduzindo a temperatura de secagem.

Estudar diferentes possibilidades de incorporação das micropartículas coacervadas no sistema alimentício, de forma a melhorar a transferência de cor.

Fazer o estudo da estabilidade do licopeno após a incorporação no sistema alimentício.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGARWAL, S.; RAO, A.V. Tomato lycopene and its role in human health and chronic diseases. *Canadian Medical Association Journal*, v.163, n.6, p.739-744, 2000.

ALVIM, I.D. Produção e caracterização de micropartículas obtidas por *spray drying* e coacervação complexa e seu uso para alimentação de larvas de peixes. Tese. Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos. Campinas, 2005.

ARSHADY, R. Microspheres and microcapsules a survey of manufacturing techniques - Part II: coacervation. *Polymer Engineering and Science*, v.30, n.15, p. 905-914, 1990.

ARSHADY, R. Microcapsules for food. *Journal of Microencapsulation*, v.10, n.4, p. 413-435, 1993.

AUGUSTIN, M.A.; SANGUANSRI, L.; MARGETTS, C.; YOUNG, B. Microencapsulation of food ingredients. *Food Australia*, v.53, n.6, p.220-223, 2001.

BACHTSI, A.R.; KIPARISSIDES, C. Synthesis and release studies of oil containing poly(vinyl alcohol) microcapsules prepared by coacervation. *Journal of Controlled Release*, v.38, p.49-58, 1996.

BAKAN, J.A. Microencapsulation of foods and related products. *Food Technology*, v.27, n.11, p.34-44, 1973.

BALASSA, L.; FANGER, G. Microencapsulation in the food industry. *Critical Reviews in Food and Technology*, v.2, n.2, p.245-265, 1971.

BEMILLER, J.N. Starch modification: challenges and prospects. *Starch/Stärke*, v.49, n.4, p.31-127, 1997.

BERTAN, L. C. Desenvolvimento e caracterização de filmes simples e compostos a base de gelatina, ácidos graxos e breu branco. Dissertação. Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2003.

BLANCH, G.P.; CASTILLO, M.L.R.; CAJA, M.M.; PÉREZ-MÉNDEZ, M.; SÁNCHEZ-CORTÉS, S. Stabilization of all-trans-lycopene from tomato by encapsulation using cyclodextrins. *Food Chemistry*, v.105, p.1335-1341, 2007.

BRANNON-PEPPAS, L. Controlled release in the food and cosmetics industries In: *Polymeric delivery systems: properties and applications*, 1993.

BUENO, C.M.M. Extração e caracterização de gelatina de pele de tilápia e aplicação como agente encapsulante de óleo de salmão em micropartículas obtidas por coacervação. Dissertação. Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos. Campinas, 2008.

BUFFO, R.A.; FINNEY, J.; REINECCIUS, G.A. Effects of type of atomization and processing temperatures on the physical properties and stability of spray dried flavors. *Abstracts of Papers of the American Chemical Society*, 221: 138-AGFD, Part 1 APR 1, 2001.

BUFFO, R. A.; PROBST, K.; ZEHENTBAUER, G.; REINECCIUS, G. A. Effects of agglomeration on the properties of spray-dried encapsulated flavours. *Flavour and Fragrance Journal*, v.17, p.292-299, 2002.

BURGESS, D.J.; PONSART, S. Beta-Glucuronidase activity following complex coacervation and spray drying microencapsulation. *Journal of Microencapsulation*, v.15, n.5, p.569-579, 1998.

BURGESS, D.J. Complex coacervation: microcapsule formation. In *Macromolecular complexes in chemistry and biology*. Springer-Verlag: Berlim, cap. 17, p. 285-325, 1994.

CAI, Y.Z.; CORKE, H. Production and Properties of spray-dried Amaranthus Betacyanin Pigments. *Journal of Food Science*, v. 65, n. 6, p.1248-1252, 2000.

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

CHAMBI, H.N.M. Desenvolvimento de filmes a partir de caseína e gelatina modificadas enzimaticamente com tripsina e transglutaminase. Dissertação. Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos. Campinas, 2004.

CHAN, J.M.; STAMPFER, M.J.; GIOVANNUCCI, E.L. What causes prostate cancer? A brief summary of the epidemiology. *Cancer Biology*, v.8, p. 263-273, 1998.

CHOI, S.; REGENSTEIN, J. M.; Physicochemical and sensory characteristics of fish gelatin. *Journal of Food Science*, v. 65, p. 194-199, 2000.

CLINTON, S.K. Lycopene: Chemistry, biology, and implications for human health and disease. *Nutrition Reviews*, v.56, p.35-51, 1998.

COESTER, C.J.; LANGUER, K. ; BRIESEN, H.V. ; KREUTER, J. Gelatin nanoparticles by two step desolvation. *Journal of Microencapsulation*, v. 17, n. 2, p. 187-193, 2000.

COOK-MOZAFFARI, P.J.; AZORDEGAN, F.; DAY, N.E.; RESSICAUD, A.; SABAI, C.; ARAMESH, B. Oesophageal cancer studies in the Caspian Littoral of Iran: results of a case-control study. *British Journal of Cancer*, v.39, p.293-309, 1979.

DAWSON, P.J.; HOCKLEY, D.J. Scanning electron microscopy of freeze-dried preparations: Relationship of morphology and freeze-drying parameters. *Developments in Biological Standardization*, v.74, p.185-192, 1991.

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

DEWETTINCK, K.; VISSCHER, A.D.; DEROO, L.; HUYGHEBAERT, A. Modeling the steady-state thermodynamic operation point of top-spray fluidized bed processing. *Journal of Food Engineering*, v.39, p. 131-143. 1999.

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

DIMASCIO, P.; KAISER, S.; SIES, H. Lycopene as the most effective biological carotenoid singlet oxygen quencher. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, v.274, p.532-538, 1989.

DUCEL, V.; RICHARD, J.; SAULNIER, P.; POPINEAU, Y.; BOURY, F. Evidence and characterization of complex coacervates containing plant proteins: application to the microencapsulation of oil droplets. *Colloids And Surfaces A: Physicochemical And Engineering Aspects*, v. 232, n. 2-3, p. 239-247, 2004.

DZIEZAK, J.D. Microencapsulation and Encapsulated Ingredients. *Food Technology*, April, p. 136-157, 1988.

EDGE, R.; MCGARVEY, D.J.; TRUSCOOT, T.G. The carotenoids as anti-oxidants – a review. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. v.41, p.198-200, 1997.

FANGER, G.O. Microencapsulation: A brief history and introduction. In: *Microencapsulation: Processes and applications*. VANDEGAER, J.E. ed Plenum Press, New York, p.1-20, 1974.

FÁVARO-TRINDADE, C. S.; GROSSO, C. R. F. Microencapsulation of *L.acidophilus* (La-05) and *B. Lactis* (Bb-12) and evaluation of their survival at the pH values of the stomach and in bile. *Journal of Microencapsulation*, v.19, n.4, p. 485-494,2002.

FÁVARO-TRINDADE, C.S.; PINHO, S.C; ROCHA, G.A. Microencapsulação de ingredientes alimentícios. *Brazilian Journal of Food Technology*, v.11, n.2, p.103-112, 2008.

FILKOVÁ, I.; MUJUMDAR, A. S. Industrial spray drying systems. In: *Handbook of Industrial Drying*. Arun S. Mujumdar. Marcel Dekker Inc. New York. 742 p., 1995.

FINOTELLI, P.V.; ROCHA-LEÃO, M.H.M. Microencapsulation of ascorbic acid in maltodextrin and capsul using spray-drying. *Anais do 4º Mercosur Congress on Process Systems Engineering*, 2005.

FRANCESCHI, S.; BIDOLI, E.; LA VECCHIA, C.; TALAMINI, R.; D'AVANZO, B.; NEGRI, E. Tomatoes and risk of digestive-tract cancers. *International Journal of Cancer*, v.59, p.181-184, 1994

FRANCESCHI, S.; FAVERO, A.; LA VECCHIA, C.; NEGRI, E.; CONTI, E.; MONTELLA, M. Food groups and risk of colorectal cancer in Italy. *International Journal of Cancer*, v.72, p.56-61, 1997

GIOVANNUCCI, E.; ASCHERIO, A.; RIMM, E.B.; STAMPFER, M.J.; COLITZ, G.A.; WILLETT, W.C. Intake of carotenoids and retinol in relation to risk of prostate cancer. *Journal of the National Cancer Institute*, v.87, p. 1767-1776, 1995.

GIOVANNUCCI, E. Tomatoes, tomatoes-based products, lycopene, and cancer: review of the epidemiologic literature. *Journal of the National Cancer Institute*, v.91, n.4, p. 317-331, 1999

GLICKSMAN, M. Functional properties of hydrocolloids. In: *Food Hydrocolloids*, Florida, CRC Press, v. 1, p. 219, 1982.

GOODWIN J.T.; SOMEERVILLE G.R. Physical methods for preparing microcapsules in: *Microencapsulation: Processes and applications*. VANDEGAER, J.E. ed Plenum Press, New York, p. 1-20, 1974.

GOUIN, S. Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends. *Food Science and Technology*, v. 15, p. 330-347, 2004.

GOULA, M. A.; ADAMOPOULOS, K. G. Spray drying of tomato pulp in dehumidified air: II. The effect on powder properties. *Journal of Food Engineering*, v. 66, p. 35-42, 2005.

HASHIDZUME, A.; OHARA, T.; MORISHIMA, Y. Coacervation of Hydrophobically Modified Polyanions by Association with Nonionic Surfactants in Water. *Langmuir*, v. 18, p. 9211-9218, 2002.

HEGER, R. Release kinetics/mechanism in: *Microencapsulation of Food Ingredients*, VILSTRUP, P. Heatherhead publishing, p. 55 – 75, 2001.

HU, J.F.; LIU, Y.Y.; YU, Y.K.; ZHAO, T.Z., LIU, S.D.; WANG, Q.Q. Diet and cancer of the colon and rectum: a case-control study in China. *International Journal of Epidemiology*, v.20, p.362-367, 1991.

IMESON, A. P.; LEDWARD, D. A.; MITCHELL, J. R. On the nature of the interaction between some anionic polysaccharides and proteins. *Journal Science of Food Agricultural*, v.28, p.661-667, 1997.

JACKSON, L.S.; LEE, K. Microencapsulation and Food Industry, *Lebensmittel-Wissenschaftat Technologie*, v. 24, n.4, p. 289-297, 1991.

JIZOMOTO, H.; KANAOKA, E.; SUGITA, K.; HIRANO, K. Gelatin-Acacia microcapsules for trapping micro oil droplets containing lipophilic drugs and ready disintegration in the gastrointestinal tract. *Pharmaceutical Research*, v.10, n. 8, p. 115-122, 1993.

JONES, D.M. Controlling particle size and release properties. Chapter 17. *American Chemical Society*, 1988.

KING, W.; TRUBIANO, P.; PERRY, P. Modified starch-encapsulating agents offer superior emulsification, filming, and low surface oil. *Food Product Development*, December, p.54-57, 1976.

KRUIF, C.G.; TUINIER, R. Polysaccharide protein interactions. *Food Hydrocolloids*, v.15, p.555-563, 2001.

KRUIF, C. G.; WEINBRECK, F.; VRIES R. Complex coacervation of proteins and anionic polysaccharides. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, v. 9, p. 340–349, 2004.

LAMPRECHT, A.; SHÄFER, U.F.; LEHR, C.-M. Characterization of microcapsules by confocal laser scanning microscopy: structure, capsule wall composition and encapsulation rate. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v. 49, p. 1 – 9, 2000.

LAMPRECHT, A.; SCHÄFER, U.; LEHR, C.M. Influences of process parameters on preparation of microparticle used as a carrier system for ω 3 unsaturated fatty acid ethyl esters used in supplementary nutrition *Journal of. Microencapsulation*, v. 18, n. 3, p. 347-357, 2001.

LEE, S.J.; ROSENBERG, M. Whey protein-based microcapsules prepared by double emulsification and heat gelation. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, v. 33, p. 80-88, 2000.

LEVY, J.; BOSIN, E.; FELDMAN, B.; GIAT, Y.; MIINSTER, A.; DANILENKO, M. Lycopene is a more potent inhibitor of human cancer cell proliferation than either α -carotene or β -carotene. *Nutrition and Cancer*, v.24, p.257-266, 1995.

LOKSUWAN, J. Characteristics of microencapsulated β -carotene formed by spray drying with modified tapioca starch, native tapioca starch and maltodextrin. *Food Hydrocolloids*, v.21, p.928-935, 2007.

MABON, T. J. Color measurement of food. *Cereal Foods World*, vol. 38, n.1, p. 21-25, 1993.

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

MARCHAL, L.M.; BEEFTINK, H.H.; TRAMPER, J. Towards a rational design of commercial maltodextrins. *Trends in Food Science and Technology*, v.10, p. 345-355, 1999.

MARTINS, F. Estudo do processo de encapsulação do bioaroma de gorgonzola em β -ciclodextrina e em lipossomas. Tese. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2003.

MATIOLI, G.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Licopeno encapsulado em goma arábica e maltodextrina: Estudo da estabilidade. *Brazilian Journal of Food Technology*, v.5, p.197-203, 2002.

MATIOLI, G.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Microencapsulação do licopeno com ciclodextrinas. *Ciência e Tecnologia dos Alimentos*, v.23, p. 102-105, 2003.

MENGER, F. M.; PERESYPKIN, A. V.; CARAN, K. L.; APKARIAN, R. P. A Sponge Morphology in an Elementary Coacervate. *Langmuir*, v. 16, p. 9113-9116, 2000.

MORAIS, R. *Functional Foods: An introductory course*. Escola Superior de Biotecnologia/UCP. 1ª edição, 132p., 2001.

MUKAI-CORRÊA. R. Preparo e caracterização de microcapsulas obtidas por polimerização iônica para alimentação de larvas de peixe. Dissertação. Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2003.

MUKAI-CORRÊA R.; PRATA, A.S.; ALVIM I. D.; GROSSO, C. R. F. Caracterização de Microcápsulas contendo caseína e gordura vegetal hidrogenada obtidas por geleificação iônica. *Brazilian Journal of Food Technology*, v.8, n.1, p. 73-80, 2005.

MUTKA, J. B.; NELSON, D. B. Preparation of encapsulated flavors with high flavor level. *Food Technology*, v.42, n.4, p.154-157, 1988.

NAKAGAWA K.; IWAMOTO S.; NAKAJIMA, M.; SHONO A.; SATO K. Microchannel emulsification using gelatin and surfactant-free coacervate microencapsulation. *Journal of Colloid and Interface Science*, v.278, p.198-205, 2004.

NGUYEN, M.L.; SCHWARTZ, S.J. Lycopene: Chemical and biological properties. *Food Technology*, v.53 p.38-45, 1999.

NORI, M. A. Ingredientes e aditivos microencapsulados na indústria de alimentos. *Engenharia de Alimentos*. São Paulo, v. 1, p. 33-34, 1996.

NUNES, I.L.; MERCADANTE, A.Z. Encapsulation of lycopene using spray-drying and molecular inclusion process. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, v.50, n.5, p. 893-900, 2007.

OMINI, A.O.; ALUKO, R.E. The anti-carcinogenic and anti-atherogenic effects of lycopene: a review. *Trends in Food Science and Technology*, v.16, p.344-350, 2005.

ONEDA, F.; RÉ, M.I. The effect of formulation variables on the dissolution and physical properties of spray-dried microspheres containing organic salts. *Powder Technology*, v.130, p.377– 384, 2003.

OSMAN, M.E.; WILLIAMS, P.A.; MENZIES, A.R.; PHILLIPS, G.O. Characterization of commercial samples of gum arabic. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 41, n.1, 71-77, 1993

POPPE, J. Gelatin, in Thickening and gelling agents for food, NY, Ed. Alan Imeson, Blackie Academic & Professional, cap.7, p. 44-168, 1997.

POTHAKAMURY, U.R.; BARBOSA-CÁNOVAS, G.V. Fundamental aspects of controlled release in foods. Trends in Food Science and Technology, v.6, p. 397-406, 1995.

PRAKASH, A.J.M.; MANGINO, M.E. The effects of added proteins on the functionality of gum arabic in soft drink emulsion systems. Food Hydrocolloids, v.4, n.3, p.177-187, 1990.

PRATA, A.S. Estudo dos parâmetros físico-químicos envolvidos na formação de microcápsulas produzidas por coacervação complexa. Tese. Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos. Campinas, 2006.

PSZCZOLA, D.E. Natural colors pigments of imagination. Food Technology, v.52, n.6, p.70-82, 1998.

RAO, A.V.; AGARWAL, S. Role of lycopene as antioxidant carotenoid in the prevention of chronic diseases: a review. Nutrition Research, v.19, n.2, p.305-323, 1999.

RAO, L.G.; MACKINNON, E.S.; JOSSE, R.G.; MURRAY, T.M.; STRAUSS, A.; RAO, A.V. Lycopene consumption decrease oxidative stress and bone resorption markers in postmenopausal women. Osteoporosis International, v.18, p.109-115, 2007.

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

RÉ, M. I. Cápsulas inteligentes. Ciência Hoje, v.27, n.162, p.24-29, 2000.

REINECCIUS, G.A. Spray drying of food flavors. In: *Flavor Encapsulation*, RISCH, S.J., REINECCIUS, G.A., Eds, ACS Symposium Series 370, American Chemical Society: Washington, p. 55-64, 1988.

REINECCIUS, G. A. Carbohydrates for flavor encapsulation. *Food Technology*, Chicago, p. 144-146, 1991.

REINECCIUS, G. A. Controlled release techniques in the food industry. In: *Encapsulation and controlled release of food ingredients*. ACS Symposium Series. American Chemical Society, Washington, 1995

REMUNAN-LÓPEZ, C.; BODMEIER, R. Effect of formulation and process variables on the formation of chitosan-gelatin coacervates. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 135, p. 63-72, 1996.

RISCH, S.J. Encapsulation: overview of uses and techniques. *American Chemical Society*, n.590, 1995

RISCH, S.J.; REINECCIUS, G.A. Spray-dried orange oil – effect of emulsion size on flavor retention and shelf stability. In: *Flavor Encapsulation*, cap 8, p. 68-77, American Chemical Society, Washington, 1988.

RODRIGUES-HUEZO, M.E.; PREDROZA-ISLAS, R.; PRADO-BARRAGAN, L.A.; BERISTAIN, C.I. VERNON-CARTER, E.J. Microencapsulation by spray drying of multiple emulsions containing carotenoids. *Journal of Food Science*, v. 69, E351-E359, 2004.

RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. A guide to carotenoid analysis in food. ILSI Press: Washington, 71p., 2001.

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

ROSENBERG, M.; TALMON, Y.; KOPELMAN, I. J. The microstructure of spray-dried microcapsules. *Food Microstructure*, v. 7, p. 15-23, 1988.

SANCHEZ, C.; RENARD, D; ROBERT, P.; SCHMITT, C.; LEFEBVRE, J. Structure and rheological properties of acacia gum dispersions. *Food Hydrocolloids*, v. 16, p.257-267, 2002.

SANTOS, A.B. Funcionalidade da Encapsulação de oleoresina de páprica por atomização em goma arábica e em aglomerados porosos de amido/gelatina: Estabilidade e aplicação. Tese. Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos. Campinas, 2003.

SANTOS, A. B.; FAVARO-TRINDADE, C.S.; GROSSO, C. R.F. Funcionalidade da oleoresina de páprica microencapsulada em goma-arábica e amido de arroz/gelatina. *Pesquisa agropecuária brasileira*, v. 41, n. 2, 2006 .

SCHERI, D.P.R.; MARQUEZ, M.O.M.; MARTUCCI, E.T. Microencapsulação de óleo essencial de laranja: seleção de material de parede. *Ciência e Tecnologia dos Alimentos*, v.23, p. 1-6, 2003.

SCHMITT, C.; SANCHEZ, C.; DESOBRY-BANON, S.; HARDY, J. Structure and technofunctional properties of protein-polysaccharide complexes: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v. 38, p. 689 – 753, 1998.

SCHMITT, C.; SANCHEZ, C.; THOMAS, F.; HARDY, J. Complex coacervation between b-lactoglobulin and acacia gum in aqueous medium. *Food Hydrocolloids*, v. 13, p. 483 – 496, 1999.

- SGARBIERI, V.C. Proteínas em Alimentos Protéicos. São Paulo: Varela, 1996.
- SHAHIDI, F.; HAN, X.Q. Encapsulation of food ingredients. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v. 33, n. 6, p. 501-547, 1993.
- SHU, B.; YU, W.; ZHAO, Y.; LIU, X. Study on microencapsulation of lycopene by spray-drying. *Journal of Food Engineering*, v. 76, p. 664-669, 2006.
- SILVA, G.O.; TAKIZAWA, F.F.; PEDROSO, R.A.; FRANCO, C.M.L.; LEONEL, M.; SARMENTO, S.B.S.; DEMIATE, I.M. Características físico-químicas de amidos modificados de grau alimentício comercializados no Brasil. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 26, n. 1, p. 188-197, 2006.
- SOUTHWEST RESEARCH INSTITUTE. A capability statement for microencapsulation. San Antonio, 1991. 31p.
- STAHL, W.; SIES, H. Lycopene: A Biologically Important Carotenoid for Humans?. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, v.336, n.1. p.1-9, 1996.
- STOTT, P. W.; WILLIAMS, A. C.; BARRY, B.W. Characterization of complex coacervates of some tricyclic antidepressants and evaluation of their potential for enhancing transdermal flux. *Journal of Controlled Release*, v. 41, p. 215-227, 1996.
- STRAUSS, G.; GIBSON S.M. Plant phenolics as cross-linkers of gelatin gels and gelatin-based coacervates for use as food ingredients. *Food Hydrocolloids*, v.18, p. 81–89, 2004.
- TEUNOU, E.; PONCELET, D. Batch and continuous fluid bed coating – review and state of art. *Journal of Food Engineering*, v.53, p. 325-340, 2002.

THEVENET, F. Acacia Gums. Stabilizers for flavor encapsulation. Chapter 5 in Flavor encapsulation, ACS Symposium Series 370, Risch S.J.; Reineccius, G.A. eds, American Chemical Society, DC, USA, p. 37-44, 1988.

THIES, C. Complex Coacervation. How to make Microcapsules - Lecture and Laboratory Manual. 1995.

TODD, R.D. Microencapsulation and flavour industry. Flavour Industry, v.1, n.11, p.768-771, 1970.

TOLSTOGUSOV V.B. Functional properties of food proteins and roles of proteins-polysaccharides. Food Hydrocolloids, v.4, p. 429-468., 1991.

TOLSTOGUZOV, V. Thermodynamic aspects of dough formation and functionality. Food Hydrocolloids, v.11, p.181–193, 1997.

TURGEON, S.L.; BEAULIEU, M.; SCHMITT, C.; SANCHEZ, C. Protein-polysaccharide interactions: phase-ordering kinetics, thermodynamic and structural aspects. Current Opinion in Colloid and Interface Science, v. 8, p. 401–414, 2003.

VALDUGA, A.T.; BATTESTIN, V.; FINZER, J.R.D. Secagem de extratos de erva-mate em secador por atomização. Ciência e Tecnologia de Alimentos, v.23, n.2, p. 184-189, 2003.

VANDERGAER, J.E. Encapsulation by coacervation in: Microencapsulation: Processes and applications. VANDEGAER, J.E. ed Plenum Press, New York, p. 1-20, 1974.

VOLOSOV, A.; BIALER, M.; YAGEN, B. Pharmaceutical compositions containing low-melting waxes. Patente nº WO 00/01416, 2000.

WANG, Y.; KIMURA, K.; HUANG, Q.; DUBIN, P. L.; JAEGER, W. Effects of Salt on Polyelectrolyte-Micelle Coacervation. *Macromolecules*, v. 32, p. 7128-7134, 1999

WANG, Y.; KIMURA, K.; DUBIN, P. L.; JAEGER, W. Polyelectrolyte-Micelle Coacervation: Effects of Micelle Surface Charge Density, Polymer Molecular Weight, and Polymer/Surfactant Ratio. *Macromolecules*, v.33, p. 3324-3331, 2000.

WIELAND-BERGHAUSEN S., SCHOTE U., FREY M., SCHMIDT F Comparison of microencapsulation techniques for the water-soluble drugs nitenpyram and clomipramine HCl. *Journal of Controlled Release*, v. 85, n. 1-3, p. 35–43, 2002.

WONG, D.W.S. *Química de los alimentos: mecanismos y teoría*. Editorial Acribia S.A., Zaragoza, 1995, p. 165-215.

XIE, S.X.; LUI, Q.; CUI, S.W. Starch modifications and applications. In: *Food carbohydrates – chemistry, physical properties, and applications*. CUI, S.W. (ed), cap 8, Florida, 2005.

YEO. Y ; BELLAS, E. ; FIRESTONA, W. ; LANGUER, R. ; KOHANE, D.S. Complex Coacervates for Thermally Sensitive Controlled Release of Flavour Compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.53, n. 53, p. 7518-7525, 2005.

ZANALONI, E. Uso de gelificantes y espesantes en heladería. *Heladeria Panaderia Latinoamericana*, v. 19, n. 107, p. 39-46, 1992.

9. ANEXOS

9.1. Espectro de varredura de licopeno (10% disperso em óleo) em acetona.

