



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

*Estabilidade de Óleo Essencial de Laranja, Linalol e
Citral Microencapsulados em Goma Arábica por
Atomização*

PARECER

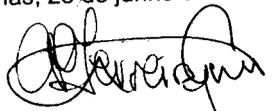
Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida por Alessandra Curiacos Bertolini aprovada pela Comissão Julgadora em 23 de junho de 1999.

Alessandra Curiacos Bertolini
Engenheira de Alimentos

Prof. Dr. Carlos R. Ferreira Grosso
Orientador

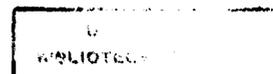
Antonio Carlos Siani
Co-orientador

Campinas, 23 de junho de 1999


Prof. Dr. Carlos R. F. Grosso
Presidente da Banca

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas, para obtenção de título de Mestre em Ciência da Nutrição Aplicada a Tecnologia de Alimentos

Campinas - São Paulo
Maio - 1999



UNIDADE	BC
N.º DE FOLHAS:	
Ex.	
38,676	
229,99	
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	04/09/99
N.º CPD	

CM-00134262-0

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA F.E.A. - UNICAMP

B462e

Bertolini, Alessandra Curiacos

Estabilidade de óleo essencial de laranja, linalol e citral microencapsulados em goma arábica por atomização. / Alessandra Curiacos Bertolini -- Campinas, SP: [s.n.], 1999.

Orientador: Carlos Raimundo Ferreira Grosso.

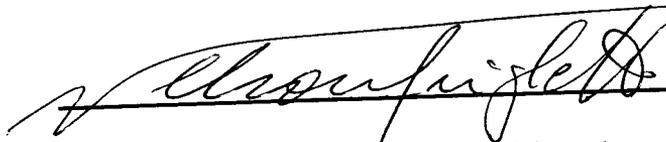
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1. Goma arábica. 2. Estabilidade. 3. Essencias e óleos essenciais. I. Grosso, Carlos Raimundo Ferreira. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. III. Título.

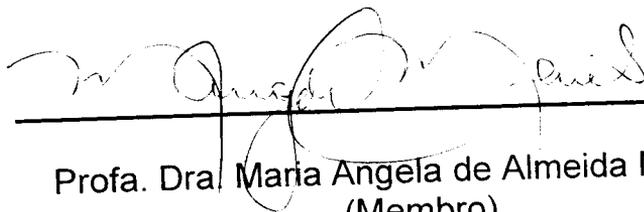
Membros da Banca Examinadora



Prof. Dr. Carlos R. Ferreira Grosso
(Orientador)



Prof. Nelson Frigueto
(Membro)



Profa. Dra. Maria Angela de Almeida Meireles
(Membro)

Profa. Dra. Maria Flávia Neto
(Membro)

Campinas, ___ de _____ de 1999

Dedico:

*Aos meus pais, Dorival e Maria Zilda, que
me deram a vida e a oportunidade de
chegar até aqui*

Agradeço:

*Ao meu esposo Carlos, pelo amor e
compreensão.*

*A minha irmã Andréa, a maior incentivadora
deste trabalho*

*E ao meu irmão Luís Augusto, pelo carinho e
atenção*

AGRADECIMENTOS

- À Faculdade de Engenharia de Alimentos e ao Departamento de Nutrição pela possibilidade de desenvolver esse trabalho.
- Ao CNPq pela concessão da bolsa de estudos.
- Ao Prof. Carlos pela orientação, total apoio e disponibilidade na realização deste trabalho.
- Ao Prof. Nelson Frigueto e Prof. Horácio pelas preciosas sugestões, desde a qualificação.
- Às professoras Maria Angela A. Meireles e Flávia Maria Neto pelas críticas e sugestões.
- Ao Prof. Siani pela co-orientação e grande ajuda técnica.
- Ao Laboratório de Frutas e Hortaliças pelos equipamentos cedidos, à Ana e a Priscila pela atenção e companhia nos períodos de análise.
- Ao Flávio e Eliete pela paciência e os valiosos ensinamentos.
- Ao Zé Carlos, o mágico dos vidros, pela eficiência e ajuda para realização da parte experimental do trabalho.
- À Yara e Profa. Débora pelo auxílio nas análises de microscopia.
- Aos funcionários do DEPAN, Suely, Eliana, Carla e Nice pelos empréstimos e sugestões, à Cidinha e Serginho pela atenção.
- Ao pessoal do laboratório Sônia, Rose, em especial Bete, Liana e Rose G. pela eficiência, paciência, cumplicidade e amizade.
- Ao Chico pela inestimável contribuição, pelas grandes descobertas (entre um cigarro e outro) e pela amizade.
- Aos amigos Luciane, Henelyta, Tonhão e Neuralúcia pelas trocas de experiências e pela amizade, à Andréa pelas dicas e lições de vida e ao Flávio pelo apoio técnico e pelas risadas.
- Aos amigos e companheiros de créditos Selma, Gabriela e Marcelo por compartilhar as descobertas e as alegrias. Aos amigos Carla, Carmem, Alessandra (Jiry) e Eduardo pela amizade que tornam a convivência na faculdade mais agradável.
- À todas as pessoas que me acompanharam nessa jornada e que de uma forma ou de outra contribuíram para essa conquista.

ÍNDICE

Índice de Figuras.....	I
Índice de Tabelas.....	II
1. Resumo.....	1
2. Summary.....	2
3. Introdução e Objetivos.....	3
4. Revisão Bibliográfica.....	7
4.1. – Microencapsulação.....	7
4.2. – Material de parede.....	10
4.2.1. – Goma arábica.....	10
4.3. – Material encapsulado.	12
4.3.1. – Limoneno.....	13
4.3.2. – Linalol.....	15
4.3.3. – Citral.....	16
4.4. – Fatores responsáveis pela retenção do material encapsulado.....	18
4.4.1. – O efeito do peso molecular e o efeito estérico.....	20
4.4.2. – Características químicas.....	21
4.4.3. – Polaridade.....	21
4.4.4. – Efeito da volatilidade relativa.....	22
4.4.5. – Influência das características do material de parede na retenção do material encapsulado.....	23
4.4.6. – Fatores associados ao processo de secagem por atomização.....	25
4.5. – Características físicas das microcápsulas.....	26
4.6. - Extração.....	27
5. – Materiais e Métodos.....	29
5.1. – Materiais.....	29
5.2. – Métodos.....	29
5.2.1. – Avaliação da retenção das microcápsulas.....	29
5.2.1.1. – Microencapsulação.....	29

5.2.1.2. – Extração.....	31
5.2.2. – Morfologia das microcápsulas.....	31
5.2.2.1. – Microscopia óptica.....	32
5.2.2.2. – Microscopia eletrônica.....	32
5.2.3. – Distribuição do tamanho das partículas.....	32
5.2.4. - Análise de estabilidade dos monoterpenos.....	33
6. – Resultados e Discussão.....	36
6.1.– Avaliação da retenção das microcápsulas.....	36
6.2.– Morfologia das microcápsulas.....	41
6.3.– Distribuição do tamanho das partículas.....	46
6.4. - Análise de estabilidade dos monoterpenos.....	52
6.4.1. – Decréscimo quantitativo dos óleos essenciais no estudo de vida útil.....	52
6.4.2. – Avaliação qualitativa dos produtos formados durante o estudo de vida útil.....	59
7. – Conclusões.....	72
8. - Bibliografia.....	74
Anexo I.....	82

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 – Estrutura química do limoneno	13
Figura 2 – Estrutura química do epóxido de limoneno e da carvona.....	14
Figura 3 – Estrutura química do linalol.....	15
Figura 4 – Estrutura química do geranial (citral a) e do neral (citral b).....	16
Figura 5 – Estrutura química do nerol e geraniol	17
Figura 6 – Obtenção de várias substâncias a partir do citral.....	18
Figura 7 – Recuperação dos produtos encapsulados através da extração realizada pelo método Clevenger.	40
Figura 8 – Microcápsulas de limoneno em goma arábica, produzidas por atomização, vista por microscopia eletrônica de varredura, aumento de 3500 vezes.....	42
Figura 9 – Microcápsulas de linalol em goma arábica, produzidas por atomização vista por microscopia eletrônica de varredura, aumento de 3500 vezes.....	43
Figura 10 – Microcápsulas de citral em goma arábica, produzidas por atomização , vista por microscopia eletrônica de varredura, aumento de 3500 vezes..	44
Figura 11 – Microcápsulas de linalol em goma arábica, produzidas por atomização e vista por microscopia óptica, aumento de 25 vezes.	45

Figura 12 – Histogramas e curvas de distribuição de tamanho de partículas. Limoneno encapsulado em goma arábica por atomização	49
Figura 13 – Histogramas e curvas de distribuição de tamanho de partículas. Linalol encapsulado em goma arábica por atomização	50
Figura 14 – Histogramas e curvas de distribuição de tamanho de partículas. Citral encapsulado em goma arábica por atomização	51
Figura 15 – Redução da quantidade inicial de material livre e encapsulado em goma arábica, submetidos a 50°C por 33 dias.	57
Figura 16 – Oxidação dos produtos avaliada através da redução inicial do material livre e encapsulado, submetidos a 50°C por 33 dias.....	58
Figura 17 – Cromatograma (CG) do limoneno livre (A), oxidado (B) e encapsulado (C)	63
Figura 18 – Cromatograma (CG) do linalol livre (A), oxidado (B) e encapsulado (C)	64
Figura 19 – Cromatograma (CG) do citral livre (A), oxidado (B) e encapsulado (C)	65
Figura 20 – Estruturas químicas dos componentes, identificados ou sugeridos, do limoneno.	69
Figura 21 – Estruturas químicas dos componentes, identificados ou sugeridos, do linalol.	70
Figura 22 – Estruturas químicas dos componentes, identificados ou sugeridos, do citral.	71

INDICE DE TABELAS

Tabela 1 – Comparação da viscosidade entre vários colóides.....	11
Tabela 2 – Porcentagem de recuperação média obtida nas extrações dos materiais encapsulados, nas concentrações de 10, 20 e 30%.....	38
Tabela 3 – Tamanho médio (μm) das microcápsulas obtido através da distribuição de tamanho de partículas.....	48
Tabela 4 – Variação percentual dos monoterpenos (limoneno, linalol e citral), na forma livre e encapsulados, submetidos a temperatura de 50°C , com avaliação cromatográfica semanal.....	53
Tabela 5 – Compostos do óleo essencial de laranja livre (oxidado ou não) e encapsulado, identificados ou sugeridos pela análise CG-EM e IR.....	66
Tabela 6 – Compostos do linalol livre (oxidado ou não) e encapsulado, identificados ou sugeridos pela análise CG-EM e IR.....	67
Tabela 7 – Compostos do citral livre (oxidado ou não) e encapsulado, identificados ou sugeridos pela análise CG-EM e IR.....	68

ANEXO

Anexo I – Dados (em mg/ml) da variação de óleo de laranja, linalol e citral, durante o estudo de estabilidade, avaliados cromatograficamente.....	82
---	----

1 – Resumo

Os óleos essenciais têm sido utilizados como aromas em alimentos. Alternativas para prolongar a vida útil foram necessárias devido a problemas de manuseio da forma líquida e concentrada dos óleos essenciais e da suscetibilidade à oxidação. A microencapsulação por atomização tem se mostrado uma alternativa eficiente. Limitações com relação a homogeneidade do material encapsulante, reprodutibilidade na distribuição de tamanho de partículas e o desconhecimento sobre a interação entre material ativo e de parede no controle da difusão, têm limitado o uso de produtos microencapsulados em larga escala. A estabilidade química de óleo essencial de laranja, linalol e citral encapsulados em goma arábica por atomização, foram avaliados em diferentes concentrações, com relação ao material de parede. As microcápsulas foram morfológicamente caracterizadas, incluindo distribuição de tamanho de partículas. Verificou-se que a estrutura externa das microcápsulas não apresentaram fissuras, indicando a formação de um filme contínuo na parede da cápsula. O perfil de distribuição do tamanho de partículas foi similar para os três agentes ativos, a concentração de 10% apresentou maiores partículas com tamanhos de 23,2; 19,8 e 22,9 μm para o óleo essencial de laranja, linalol e citral respectivamente. O maior rendimento após a secagem no atomizador foi obtido com 10% de material ativo e a porcentagem de recuperação foi 91,7% para o óleo essencial de laranja, 64,1% para o linalol e 86,2% para o citral. A razão de retenção do material encapsulado no fim do estudo de vida útil (50°C/33 dias) foi de 52,6%; 70,9% e 25,0% para o limoneno, citral e linalol respectivamente, quando comparado com valores iniciais. A eficiência do processo de encapsulação assim como o efeito protetivo à oxidação foram avaliados por cromatografia gasosa (CG) e cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massa (CG-EM). Os produtos de oxidação do óleo essencial de laranja, linalol e citral foram caracterizados e identificados com base no índice de retenção, nos dados de CG-EM e nos dados de literatura. Os resultados apontam que a goma arábica mostrou ser um bom material de parede para a retenção do óleo essencial de laranja e do citral, porém não muito eficiente na proteção à oxidação, em todos os casos estudados.

2 – Summary

Essential oils have been used as food aromas. Alternatives to extend their shelf life are required to handling problems of the concentrated liquid form and their susceptibility to oxidation. Microencapsulation by spray drying has been showed to be an efficient alternative. Limitations with respect to coating homogeneity, reproducible particle size distribution and a lack of knowledge of interactions between the core and wall material in the control of gas diffusion, have limited the use of microencapsulated products on a large scale. The stability of chemically diverse essential oils (limonene, linalool and citral) was evaluated at different concentrations relative to the wall material (10,20 e 30%), encapsulated in arabic gum by spray drying. Microcapsules were morphologically characterized including particle size distribution. The external structure obtained of the microencapsulated products showed no cracks, indicating the formation of a continuous film in the wall. The particle size distribution profile was similar for the three agents used, showing a concentration of 10% larger particles and average particle size of 23,2; 19,8 and 22,9 μm for limonene, linalool and citral respectively. The greatest yields during spray drying were obtained with 10% core material and % of recuperation was 91,7% for limonene, 64,1% for linalool and 86,2% for citral. Retention rates in the encapsulated materials at the end of storage (50°C/33 days) were 52,6% for limonene, 70,9% for citral and 25,0% for linalool, as compared to the initial values. The efficiency of the encapsulation process as well as the protective effect from the air oxidation were measured by means of gas chromatography (GC) and gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS) methods. The products of limonene, linalool and citral oxidation were characterized and attempted identified based on retention index and data from CG-MS and those reported in the literature. The results pointed out that arabic gum should be a good wall material to promote the retention of limonene and citral but failed to prevent the oxidation in all the cases studied.

3 – Introdução e Objetivos

O crescente emprego de aromas na indústria de alimentos, aliado à instabilidade característica dos voláteis, tornou necessário o desenvolvimento de técnicas para reduzir a instabilidade e prolongar o tempo de vida útil desses compostos sensíveis. De encontro à essas necessidades, a técnica de microencapsulação passou a ser uma alternativa relevante.

Vários aromas e fragrâncias são criados a partir de óleos essenciais (ERICKSON, 1976). Óleos essenciais, segundo a legislação brasileira, é o produto aromático, sávido, volátil, sob a forma oleosa, extraído de vegetais (LARA, 1986). No comércio mundial existem entre 80-90 óleos essenciais, sem contar as variedades como por exemplo, Citronela Ceilão e Citronela Java. O Brasil concorre com um número considerável de óleos essenciais no mercado (KIEFER, 1986). Os óleos essenciais, podem apresentar constituição complexa, em alguns casos chegam a ter uma centena de componentes, mas em outros casos possuem um componente dominante como o linalol, no óleo de pau rosa, ou eugenol, no óleo de cravo-da-índia (MAGALHÃES, 1986). De qualquer forma, sendo complexo ou não, cada óleo essencial tem um perfil característico e cada aroma e sabor é uma combinação dos perfis de seus constituintes. Pensando em manter o perfil característico protegido das condições adversas de meio, e assim resguardar o aroma e sabor de cada óleo essencial, é que desenvolveu-se a microencapsulação.

A microencapsulação é um processo no qual uma membrana envolve pequenas partículas de sólido, líquido ou gás com o objetivo de proteger o material das condições adversas do meio, como luz, umidade, oxigênio e interações com outros compostos; estabilizando o produto, aumentando sua vida útil e promovendo a liberação controlada do encapsulado em condições pré-estabelecidas (SHAHIDI & HAN, 1993).

Alem da encapsulação de agentes flavorizantes, outras áreas incluindo material de impressão, agentes agroquímicos (herbicidas e inseticidas), produtos com atividade farmacológica, cosméticos, adesivos, aditivos alimentícios e encapsulação de células vivas com atividade biológica, tem sido desenvolvidos por diferentes métodos utilizando diferentes materiais de cobertura.

O processo mais empregado para a encapsulação de aromas é a secagem por atomização (*spray dryer*), um processo de grande flexibilidade com relação aos materiais e condições empregadas, que produz microcápsulas de boa qualidade, com tamanhos uniformes e sem fissuras, e adicionalmente tem baixo custo. A primeira vez que a atomização foi usada para encapsulação de aromas foi em 1930, empregando goma arábica como material encapsulante (BLENFORD, 1986).

A escolha do material encapsulante, que forma a película protetora onde está adsorvido o encapsulado, é muito importante para uma boa encapsulação. É também chamado de material de parede e tem as funções de proteger o encapsulado das condições adversas do meio e de controlar a velocidade de liberação do mesmo (REINECCIUS, 1989).

Os principais materiais de parede utilizados incluem carboidratos (amido, maltodextrinas, sacarose e ciclodextrinas), celulose (carboximetilcelulose e derivados), gomas (arábica, agar, alginato e carragena), lipídeos (ceras, parafinas e ácidos graxos) e proteínas (glúten, caseína, gelatina e outras).

As principais propriedades das microcápsulas que devem ser consideradas na caracterização e as técnicas típicas utilizadas são as seguintes de acordo com THIES (1995): a) estrutura geral, externa e interna (microscopia óptica e eletrônica), b) estrutura fina (raio X e análise térmica), c) tamanho e distribuição de tamanho (microscopia e analisador de tamanho de partículas), d) composição da casca e recheio (análise térmica, cromatografia e espectroscopia), e) comportamento de liberação

(mudanças de peso, cromatografia e espectroscopia), f) propriedades físicas (compressão estática, resistência ao cisalhamento, mobilidade eletroforética), g) estabilidade (dependente das condições empregadas para estocagem).

O ajuste das condições de processo do material encapsulante e da relação ótima recheio/cobertura, devem permitir o máximo rendimento durante a encapsulação. Adicionalmente, a cobertura deve também fornecer a proteção adequada contra a difusão do recheio ou da ação de agentes externos indesejáveis como; luz, umidade, etc.

Na busca de um melhor entendimento da técnica e das propriedades funcionais das cápsulas formadas, este trabalho visou estudar as possíveis interações entre material de parede (goma arábica) e o material encapsulado. Como recheio, foram avaliados limoneno, linalol e citral, todos componentes de óleos essenciais; porém portando funções químicas diferentes a saber, um hidrocarboneto, um álcool e um aldeído, respectivamente.

Foram avaliadas: a capacidade de retenção de cada produto na microcápsula, a morfologia das cápsulas através da microscopia óptica e eletrônica de varredura e distribuição de tamanho de partículas. Esses produtos também foram avaliados quanto a sua estabilidade, quando submetido às condições críticas de temperatura, através de cromatografia gasosa, e cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas. Essa metodologia também foi utilizada para o monitoramento e caracterização dos compostos formados.

Esse trabalho teve por objetivo geral estudar as interações entre o material de parede (goma arábica) e os materiais de núcleo (limoneno, linalol e citral) encapsulados por atomização . E por objetivos específicos os seguintes:

- ◆ verificação da capacidade de retenção dos monoterpenos pela goma arábica
- ◆ caracterização morfológica e distribuição do tamanho das microcápsulas

- ◆ verificação do grau de proteção dos encapsulados à oxidação pelo oxigênio do ar
- ◆ monitoramento dos produtos secundários no processo de encapsulação e estudo de estabilidade dos encapsulados.

4 Revisão Bibliográfica

4.1 - Microencapsulação

Microencapsulação é definida como a tecnologia de envolver sólidos, líquidos ou gases em microcápsulas, que podem ter seu conteúdo liberado em condições específicas (TOOD, 1970). É uma tecnologia usada para proteger, estabilizar e controlar a liberação de um ingrediente alimentício, conferindo ou eliminando certas propriedades do ingrediente original (SHAHIDI & HAN, 1993), como por exemplo sabor e coloração indesejáveis.

Por muitos anos, o maior interesse nesta tecnologia foi centrada na área farmacêutica, onde se usava largamente a gelatina para cápsulas de ingestão oral (GOODWIN & SOMERVILLE 1971). Atualmente esse interesse se estendeu à indústria de alimentos onde a técnica tem sido utilizada para recobrimento de aromas e corantes, visando principalmente a retenção de componentes voláteis (SHAHIDI & HAN, 1993).

Basicamente, a microencapsulação visa a redução da reatividade do material microencapsulado em relação aos fatores do meio externo, como luz, oxigênio, temperatura e umidade; redução na taxa de transferência de massa; prevenção contra o efeito de aglomeração do produto; obtenção de um material com tamanho e superfície externa uniformes e controle da liberação gradativa do produto microencapsulado (ANDRES, 1977).

Existem também vários tipos de microencapsulados utilizados como aditivos para enriquecer ou alterar a aparência de produtos. Muitas vezes eles contribuem para o aumento da vida útil do produto. (VERSIC, 1988)

O processo de encapsulação pode ser descrito em três etapas: 1) Formação de uma parede ou “casca” em torno do material de núcleo (encapsulado); 2) Conservação do material dentro da casca, assegurando que esse não se perca e que seja prevenida a entrada de material que possa atacar o núcleo; 3) Liberação do material encapsulado em tempo certo e com controle da taxa de liberação. (VERSIC, 1988)

Atualmente, existem diversos métodos para preparação ou obtenção de microcápsulas, os quais podem ser classificados em: a) Métodos Físicos: *Spray dryer*, *spray chilling*, *spray cooling*, leite fluidizado, extrusão, extrusão centrífuga de multi-orifícios, co-cristalização e liofilização, b) Métodos Químicos: Inclusão molecular e polimerização interfacial, c) Métodos Físico-químicos: Coacervação, separação de fase orgânica e formação de lipossomas.

Existem vários mecanismos para a liberação do material de núcleo, entre eles destacam-se: fratura, difusão, dissolução ou “melting” e biodegradação. (SHAHIDI & HAN, 1993). Em geral, a liberação da substância “ativa” depende do tipo de geometria da partícula e do material utilizado para formar a microcápsula. A liberação da substância encapsulada pode ocorrer devido ao efeito do solvente, difusão, degradação ou fratura da partícula. A liberação por solvente e por difusão são os mecanismos de liberação mais relevantes, uma vez que a maioria dos *flavors* são secos por atomização (WHORTON, 1995).

A seleção do método de encapsulação depende do custo da operação, da sensibilidade do encapsulado, do tamanho desejado para a microcápsula, das propriedades físicas e químicas do encapsulado e da parede, da aplicação do produto e do mecanismo de liberação (SHAHIDI & HAN, 1993). O tamanho das partículas formadas por encapsulação ou recobrimento pode ser classificado como: a) Macro (> 5000 μ), b) Micro (0,2 – 5000 μ) e c) Nano (<0,2 μ). (BAKAN apud KING, 1993).

A secagem por atomização é o processo mais empregado para produzir aromas secos. Essa popularidade é histórica, pois foi um dos primeiros processos usados na indústria de agentes aromáticos. Isto se deve a fatores como a disponibilidade do equipamento, o baixo custo, a variedade na escolha do material de parede, a boa retenção de voláteis e a boa estabilidade do produto final (REINECCIUS, 1988). A encapsulação de aromas acontece por várias razões, incluindo a proteção contra a volatilização durante a estocagem, proteção contra interações indesejáveis com outros componentes, ou reações deteriorativas induzidas pela luz e proteção contra oxidação (WHORTON 1995).

Visando aumentar a vida útil, o aroma deve ser protegido da oxidação. Considerações devem ser feitas sobre a presença de antioxidante naturais, traços de metais, ar de entrada e propriedades de barreira ao O₂ na partícula seca por atomização. Provavelmente, o principal determinante da vida útil do flavorizante, seco por atomização, é a porosidade da cápsula ao oxigênio (REINECCIUS, 1988).

A microencapsulação obtida com a secagem por atomização tem sido um dos métodos de recobrimento mais utilizados na indústria de alimentos, por ser um processo econômico e facilmente adaptável, produzindo microcápsulas de boa qualidade. (SHAHIDI & HAN, 1993). Os vários processos de encapsulação por atomização diferenciam-se no tamanho, tipo e forma do atomizador (REINECCIUS, 1988). O processo basicamente envolve quatro etapas: preparação da dispersão ou emulsão, homogeneização da emulsão, atomização e desidratação das gotículas atomizadas.

Na preparação da dispersão, as pesquisas da literatura demonstram que a concentração de sólidos iniciais é um dos fatores mais importantes para a retenção dos componentes voláteis, durante a microencapsulação por atomização (REINECCIUS, 1991), sendo a concentração ótima de sólidos única para cada material encapsulante (BANGS & REINECCIUS, 1981).

4.2 - Material de parede

O passo inicial para a encapsulação de aditivos alimentares é a escolha de um material de cobertura adequado (REINECCIUS, 1988). Este material pode ser chamado de casca, material de parede, agente encapsulante, carregador ou matriz.

Um material de parede ideal deve apresentar as seguintes propriedades: ser emulsificante, bom formador de filme, ter baixa viscosidade com altos níveis de sólidos, alta higroscopicidade, favorecer a adequada liberação do conteúdo quando reconstituído no produto final, apresentar sabor suave e estável durante o armazenamento, dar boa proteção ao produto encapsulado e apresentar baixo custo (SHAHIDI & HAN, 1993). A dificuldade de encontrar um material de parede que apresentasse todas essas características, induziu ao trabalho com combinações de componentes, com o intuito de se aproximar ao máximo das condições desejadas. Os materiais mais utilizados atualmente como encapsulantes são: a) Carboidratos: amidos, maltodextrinas, xarope de milho, dextranas, sacarose, ciclodextrinas. b) Celulose e derivados: carboximetilcelulose, metilcelulose, etilcelulose, nitrocelulose e outras. c) Gomas: goma arábica (acácia), ágar, alginato de sódio, carragena. d) Lipídeos: ceras, parafinas, monoglicerídeos, diglicerídeos, óleos e gorduras. e) Proteínas: glúten, caseína e albumina. (SHAHIDI & HAN, 1993).

4.2.1 - Goma arábica

A goma arábica, também chamada de goma acácia, é um colóide vegetal obtido de exudação de troncos e galhos de plantas da família das acácias. Existem muitas espécies de acácias que estão concentradas em regiões semidesérticas do continente africano, porém somente algumas delas produzem goma (THEVENET, 1988).

A goma arábica é um polímero constituído principalmente de ácido D-glucorônico, D-galactose, L-arabinose e L-raminose, contendo em torno de 5% de proteína. Esta

fração de proteína é responsável pela propriedade emulsificante da goma (SHAHIDI & HAN, 1993). O peso molecular da goma arábica é de aproximadamente 500.000 daltons (THEVENET, 1988).

Essa goma é tradicionalmente usada para encapsulação de *flavors* através de secagem por atomização e tem a vantagem de ser considerada natural em quase todos os países. Uma interessante propriedade dessa goma é sua baixa viscosidade em soluções aquosas, mesmo em concentrações elevadas na faixa de 40 a 50% e a tendência em formar emulsões estáveis com óleos (SHAHIDI & HAN, 1993). Essa goma tem sido considerada padrão de excelência como material encapsulante de agentes de sabor (REINECCIUS, 1988).

A estrutura altamente ramificada da goma arábica faz com que ela seja solúvel em água até a concentração de 50% (THEVENET, 1995), possibilitando assim a obtenção de uma solução com baixa viscosidade e alta concentração de sólidos, quando comparada a outros polissacarídeos, conforme pode ser observado na Tabela 1.

Tabela 1 - Comparação da viscosidade entre vários colóides.

Colóides	Viscosidade
Guar	3.500 cps
Locust bean	3.000 cps
Xantana	3.000 cps
Goma arábica	5 cps

Solução com 1% de concentração em água, medida com Brookfield RVT 20 RPM.

A goma arábica apresenta excelente capacidade de emulsificação devido à sua característica hidrofílica/hidrofóbica proveniente da pequena porcentagem de proteína (5%) contida na molécula, apresentando também boa capacidade de retenção de compostos voláteis durante a encapsulação por atomização. Apresenta porém,

proteção limitada contra a oxidação causada pela permeação de oxigênio através da parede (WESTING et. al. 1988). A maior parte dos trabalhos com encapsulados utilizam a proporção de 1:4 entre material de recheio e material encapsulante (REINECCIUS 1988).

4.3 - Material encapsulado

O material encapsulado, material ativo ou núcleo, é o composto que será envolvido e terá sua liberação em condições específicas. Os materiais encapsulados considerados nesse estudo incluem o óleo essencial de laranja (95% de limoneno), o linalol e o citral. Estas substâncias, limoneno, linalol e citral, são monoterpenos, porém com diferentes funções químicas, caracterizando um hidrocarboneto, um álcool e um aldeído, respectivamente.

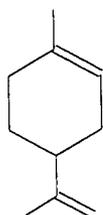
Os monoterpenos podem ser definidos como moléculas que contêm dez átomos de carbono derivado, por dimerização, de duas moléculas de isopreno, algumas vezes seguida de oxidação, redução, rearranjos ou outras reações químicas. São importantes constituintes de plantas e um grande número de monoterpenos pode ser isolado diretamente dos óleos essenciais. Por outro lado muitos são preparados a partir de monoterpenos, já isolados, ou são obtidos sinteticamente.

Os monoterpenos podem ser divididos de acordo com suas categorias estruturais em: acíclicos, monocíclicos ou bicíclicos. Todas as categorias podem apresentar as diferentes funções: hidrocarbonetos, álcoois, aldeídos, acetonas e ésteres. Os monoterpenos podem ser usados como ingredientes para compor flavors, como o citral, obtido do óleo de capim-limão (*Cymbopogum citratus*) que pode ser usado para reproduzir ou criar *flavor* de limão. Os monoterpenos são muito utilizados como fonte de matérias primas, na produção de *flavor* e fragrâncias de alto valor comercial (ERICKSON, 1976).

Os óleos essenciais representam os componentes voláteis das plantas e são obtidos através de processos físicos como destilação com vapor, com água ou uma combinação de ambos, extração por compressão envolvendo exclusivamente força mecânica (ERICKSON, 1976), extração com solvente e extração com fluidos super crítico. Vários óleos essenciais são usados para recriar *flavors* naturais e fragrâncias.

4.3.1. Limoneno

Os hidrocarbonetos de vários tipos estruturais são comuns e normalmente abundantes nos óleos essenciais, servindo geralmente como matéria prima para perfumaria e na reconstituição de aromas. O limoneno é um terpeno cíclico com função hidrocarboneto, existem várias outras substâncias com estrutura similar, as principais sendo: α -terpineno, β -terpineno, γ -terpineno, terpinoleno, α -felandreno e β -felandreno (BAUER & GARBE, 1985). O limoneno apresenta um anel de 6 membros monocíclico, contendo uma insaturação e uma unidade metil alílica exocíclica.



Limoneno

Figura 1 – Estrutura química do limoneno

O limoneno é um líquido com odor de limão. É uma substância suscetível à agentes externos como por exemplo, luz e oxigênio, e sua oxidação normalmente gera mais de um produto. É empregado como fragrância em produtos domésticos e como componentes de óleo essencial artificial. Em grande quantidade também é utilizado como matéria prima para a produção de álcoois e cetonas terpênicos (BAUER & GARBE, 1985).

A principal fonte natural do limoneno é o óleo essencial de laranja (*Citrus sinensis*, subesp. Linné), com teor acima de 90% deste monoterpreno. Outras fontes desta substância são o óleo de limão e o óleo de lima. (ERICKSON, 1976). Quanto ao processo de oxidação que pode ocorrer no limoneno, existem vários estudos na literatura. WESTING et al. (1988) sugeriram que o produto de oxidação do limoneno mais facilmente identificado e quantificado é o 1,2 - epóxido de limoneno. ANANDARAMAN & REINECCIUS (1986) observaram que a concentração de 1,2 - epóxido de limoneno e carvona (Figura 2) podem ser bons indicadores químicos, para a medida de estabilidade do óleo essencial de laranja encapsulado. Através da análise sensorial, os autores estabeleceram que a concentração de 2 mg de epóxido ou carvona por g de óleo é suficiente para que todos os provadores detectassem a oxidação, de forma sensorial. Desta forma, essa concentração estabelece o fim do vida útil para o óleo essencial de laranja encapsulado.

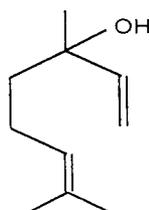


Figura 2 – Estrutura química do 1,2- epóxido de limoneno e da carvona.

Substâncias como álcool perílico, aldeído e ácido perílico são naturalmente formados, em pequenas quantidades, em óleo de limão e óleo “perilla”, portanto não servem como indicadores de oxidação. Por outro lado, são utilizadas como *flavorizantes* e antimicrobianos em alimentos e produtos farmacêuticos. (CHANG & ORIEL, 1994)

4.3.2. Linalol

O linalol pode ser classificado como um álcool monoterpreno acíclico. Os álcoois estão presentes em muitos óleos essenciais e podem ser isolados quando em grandes quantidades, porém hoje, através da síntese de terpenóis, são produzidos em larga escala de forma independente e controlada (BAUER & GARBE, 1985). Os terpenos acíclicos geraniol, linalol e citronelol são os álcoois mais importantes usados como agentes flavorizantes.



Linalol

Figura 3 – Estrutura química do linalol.

O linalol está presente em vários óleos essenciais, em alguns como componente principal, por exemplo no óleo de Shiu, com 80 – 85% da composição. O linalol é um líquido incolor com odor de floral-fresco. Juntamente com os ésteres, o linalol é uma das substâncias mais frequentemente usadas em fragrâncias e é produzido em larga escala (BAUER & GARBE, 1985).

O linalol pode ser obtido extraído-se o acetato de linalila (derivado do linalol) do óleo de *petigrain* (*Citrus aurantium*, subesp. Linné) e do óleo de bergamota (*Citrus bergamia*, subesp. Linné) que posteriormente é convertido em linalol. Outra fonte de linalol é o óleo do pau rosa (*Aniba rosaeodora*, subesp. Ducke) (ERICKSON, 1976).

Até 1950 todo o linalol empregado em perfumaria era isolado de óleo essencial, através do processo de destilação fracionada. Atualmente isso só ocorre quando a

planta apresenta alto conteúdo de linalol em seu óleo essencial. Esse álcool é um importante intermediário para a produção de vitamina E e bastante usado em perfumaria para produtos de fragrâncias florais. Apresenta boa estabilidade em meio alcalino e pode ser aplicado em detergentes e sabões (BAUER & GARBE, 1985).

Na presença de ácidos, o linalol isomeriza-se rapidamente originando geraniol e nerol. Atualmente, 96% do geraniol puro sintetizado é originado da isomerização do linalol. O linalol é oxidado para citral na presença de ácido crômico, já a hidrogenação desse álcool gera tetrahidrolinalol (BAUER & GARBE, 1985).

4.3.3. Citral

O citral é classificado como um terpeno acíclico com função aldeído, sendo utilizado na obtenção de agentes flavorizantes e como matéria prima para síntese de outros terpenóides. O citral pode se apresentar nas formas *trans* e *cis*, (Figura 4) que correspondem ao citral *a*, E-citral ou geranial e citral *b*, Z-citral ou neral. (BAUER & GARBE, 1985)

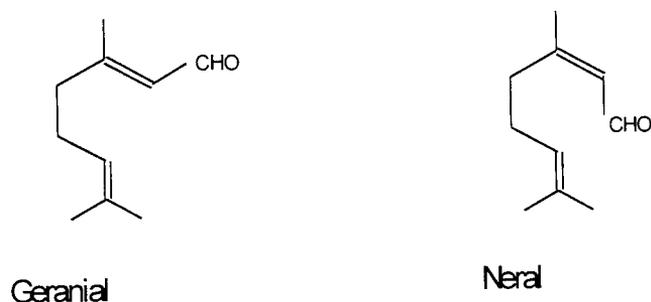


Figura 4 – Estrutura química do geranial (citral a ou E-citral) e neral (citral b ou Z-citral)

O composto do *flavor* de maior significância entre os voláteis do óleo de limão é o citral, o qual é formado pelos isômeros geométricos, neral e geranial. (GROSCH & SCHIEBERLE, 1987)

O citral pode ser extraído do óleo de capim-limão, onde é o principal componente (85%); do óleo de lima e de muitos outros óleos essenciais em pequenas quantidades. Apresenta-se como um líquido incolor, levemente amarelado, com odor remanescente de limão e pode ser empregado como matéria prima para a síntese de vitamina A e de *iononas* (BAUER & GARBE, 1985).

O citral é isolado pela destilação do óleo de limão. O geraniol é um dos compostos sintéticos mais importantes obtido através do citral e da mesma forma a desidrogenação do geraniol e nerol é um conveniente caminho para obtenção do citral. Processos de larga escala têm sido desenvolvidos para a produção do geraniol. (BAUER & GARBE, 1985)

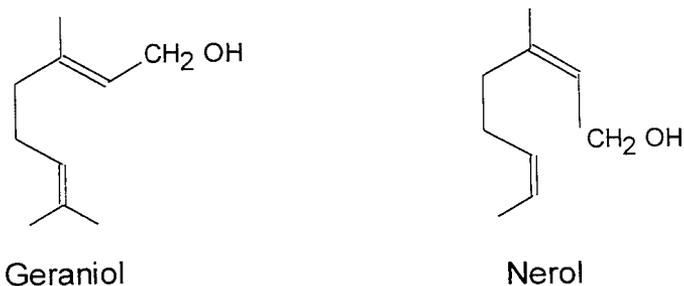


Figura 5 – Estrutura química do geraniol e nerol

O citral é uma importante matéria prima para a síntese de outros monoterpenos como mostrado na Figura 6.

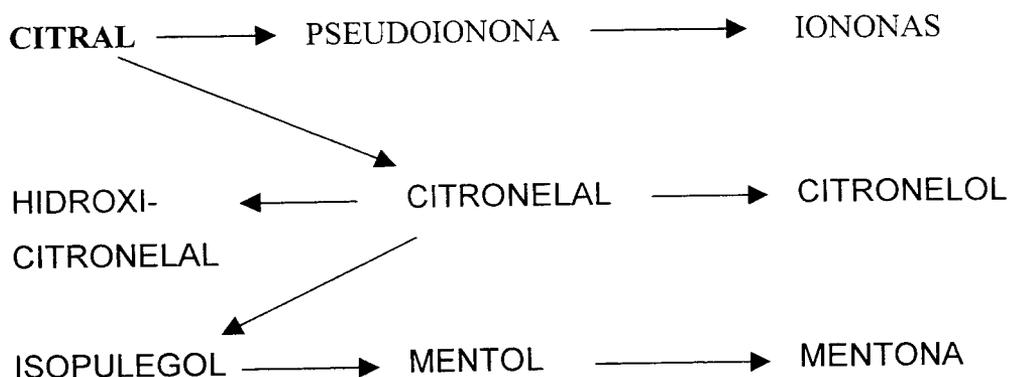


Figura 6 – Obtenção de várias substâncias a partir do citral. (ERICKSON, 1976)

4.4 – Fatores responsáveis pela retenção do material encapsulado

É de grande interesse conhecer o mecanismo de liberação e retenção dos aromas, pois serão esses mecanismos que determinarão a eficiência de proteção do conjunto encapsulante/encapsulado e conseqüentemente seu vida útil . De acordo com CHANG et. al. (1988), além de natureza do composto flavorizante, a retenção do *flavor* é governada pelo tipo de carregador, composição da solução de alimentação, concentração de sólidos, temperatura de entrada e saída do ar, velocidade e umidade do ar, velocidade de fluxo do material e características de atomização.

No processo de encapsulação existem vários fatores que afetam e interferem na retenção do material ativo: o processo de atomização, a quantidade de sólidos na secagem, a temperatura de processo e o tamanho de partículas. Outros aspectos, como a natureza do material ativo e do material de parede também são determinantes (ROSENBERG et al., 1990).

As microcápsulas possuem paredes finas, que funcionam como membranas semi-permeáveis. Portanto, o controle de liberação do encapsulado é freqüentemente acompanhado de um processo de difusão, ou seja, a permeação dirigida por um gradiente de concentração ou forças atrativas intermoleculares (SHAHIDI & HAN,

1993). Características físico-químicas do composto volátil, como peso molecular, presença de diferentes grupos químicos, polaridade e volatilidade relativa, podem explicar algumas dessas variações. Esses diferentes parâmetros atuam na capacidade de difusão da substância volátil, através da matriz (GOUBET et al., 1998).

De acordo com REINECCIUS (1995), a difusão é controlada pela solubilidade da substância encapsulada na matriz e pela sua permeabilidade ao material de cobertura. Segundo essa hipótese, se o recheio não apresenta solubilidade na matriz, ele não irá adentrar o material de parede para difundir-se através do mesmo. Ainda, segundo o autor, essa asserção deve ser balanceada com uma outra consideração determinante na difusão, que é a atividade ou o potencial químico relativo à pressão de vapor da substância volátil em cada lado da membrana, tornando secundário o efeito de solubilidade na liberação.

WHORTON, (1995) afirmou que a liberação por difusão depende da relação cinética entre os materiais de recheio e de parede, e da habilidade que o material de recheio apresenta para atravessar a parede. Segundo a autora, a difusão é estritamente determinada pelas propriedades químicas do polímero carregador e por suas características de estrutura e tamanho dos poros, observando que a liberação pode ser alterada pela mudança de condições de processo, que regulam o tamanho da partícula, pelo volume e diâmetro do poro e pela área de superfície da cápsula.

A influência de variáveis de processo e composição sobre a retenção de aromas voláteis durante a secagem, têm sido intensivamente estudada e várias hipóteses foram desenvolvidas para explicar esta retenção. As perdas de voláteis são frequentemente menores do que poderia ser esperado pelas características de volatilidade dos compostos, existindo dois mecanismos propostos para explicar a retenção de aromas homoganeamente dissolvidos durante a secagem: a) através da hipótese de formação de micro-regiões proposta por FLINK & KAREL (1970) b) através do conceito de difusão seletiva proposto por RULKENS & THIJSSSEN (1972) e revisto

por KIECKBUSH & KING (1980). Os resultados experimentais obtidos por RULKENS & THIJSEN (1972), mostraram que a retenção aumentava com mudanças nas condições que pudessem favorecer, mais rapidamente, a formação de uma região de superfície de alto conteúdo de sólidos dissolvidos. Desvios dessa hipótese foram atribuídos, pelos autores, à atomização incompleta, fissuras formadas na casca, e perdas ocorridas durante a atomização.

4.4.1 - O efeito do peso molecular e o efeito estérico

Quanto maior o peso molecular da substância volátil a ser encapsulada, menor será sua perda. Isso foi observado por ROSENBERG et al. (1990), encapsulando diferentes ésteres em goma arábica por atomização. O hexanoato de etila (PM=144) apresentou melhor retenção do que o butirato de etila (PM=116), o que foi atribuído à diferença entre os pesos moleculares das duas substâncias. Segundo os autores, isso é devido à maior habilidade do composto de menor peso molecular difundir-se através da matriz durante a secagem.

O peso molecular está relacionado com o tamanho da molécula, que é fator determinante na difusão. Quando o peso molecular aumenta, o tamanho da molécula também aumenta, ocorrendo uma redução da difusão. Como consequência, o composto volátil não migra para a superfície da matriz com rapidez, o que favorece sua retenção (REINECCIUS, 1988).

O efeito estérico teve maior relevância quando β -ciclodextrina foi usada como material encapsulante, facilitando ou não a inclusão do material ativo na cavidade da molécula (GOUBET et al., 1998).

4.4.2 - Características químicas

Outra característica importante na retenção dos voláteis são seus grupos químicos funcionais (GOUBET et al., 1998). Vários autores (ROSENBERG et al., 1990; VOILLEY, 1995), têm estudado a interação entre diferentes grupos químicos tais como: álcoois, cetonas, ésteres, aldeídos e ácidos encapsulados por carboidratos, e a taxa de retenção desses compostos em processo de microencapsulação.

A retenção dos voláteis parece decrescer de acordo com grupos funcionais do composto volátil na seguinte ordem: álcoois > cetonas = ésteres > ácidos. Exceções para essa tendência foram observadas, indicando que somente a função química do volátil não é suficiente para determinar a retenção do mesmo (GOUBET et al., 1998).

4.4.3 - Polaridade

Outro aspecto importante a ser considerado na retenção é a polaridade do material encapsulado. A retenção de voláteis parece depender de sua polaridade. Observações anteriores indicam que o composto mais polar foi menos retido, em encapsulados obtidos por secagem em atomização (ROSENBERG et al., 1990; VOILLEY, 1995).

Considerando as condições de processamento e formulação, a quantidade retida de hexanoato de etila encapsulado por atomização em goma arábica foi maior que a de butirato de etila (ROSENBERG et al., 1990). O autor observou que o resultado poderia ser explicado pela maior solubilidade da molécula menor (butirato) em água. Durante a secagem compostos mais polares, e assim mais solúveis, poderiam se difundir mais facilmente através da matriz do que os compostos apolares, volatilizando-se durante a formação da parede externa da microcápsula (GOUBET et al., 1998).

Os componentes do aroma e água são perdidos por difusão através da matriz, mas quando o conteúdo de água é reduzido, o coeficiente de difusão do composto volátil

decrece muito mais rapidamente que o da água. O gradiente de concentração de água criado durante o processo de desidratação forma uma casca seca na superfície da matriz, a qual atua como uma membrana semi permeável que previne a perda dos voláteis. O volátil polar é mais solúvel em água, o que facilita sua difusão através da matriz, explicando assim sua menor retenção (ROSENBERG et al., 1990).

Outros fenômenos ainda podem estar envolvidos na perda de voláteis. Quando os compostos de aromas encontram-se no limite da solubilidade, estes podem formar gotículas na matriz perdendo-se (ROSENBERG et al., 1990). No caso do processamento com atomização esse fenômeno parece acentuar-se, devido ao arranjo interno que carrega os voláteis para a superfície da cápsula (GOUBET et al., 1998).

Os grupos químicos e a polaridade do composto aromático são importantes para a difusão dos voláteis e estabilidade do complexo e conseqüentemente, para a retenção dos mesmos. Tais características influenciam na volatilidade dos compostos, aspecto este importante para a retenção no interior das microcápsulas. (GOUBET et al., 1998).

4.4.4 - Efeito da volatilidade relativa

A volatilidade reflete a habilidade de uma substância em alcançar a fase gasosa, o que pode ser avaliada através da medida da pressão de vapor do composto puro. A volatilidade relativa é a medida de volatilidade quando a substância é introduzida em uma solução ou mistura, o que pode ser estimado através da pressão de vapor da substância na solução de estudo (GOUBET et al., 1998).

As substâncias octanol, octenol, octanona e octanal encapsulados por atomização em maltodextrina apresentaram retenção inversamente proporcional às suas volatilidades relativas. Observou-se que o aumento da volatilidade relativa, proporcionou a redução na quantidade de composto retido (BANGS & REINECCIUS, 1981).

4.4.5 - Influência das características do material de parede na retenção do material encapsulado.

Materiais encapsulantes como maltodextrina, goma arábica, amido modificado e β -ciclodextrina têm sido empregados no processo de encapsulação (SHAHIDI & HAN, 1993). Suas características físico-químicas e seu estado físico podem influenciar na difusão de voláteis, através da matriz. As principais características que parecem afetar a retenção são: peso molecular, conformação, função química e estado físico do encapsulante (GOUBET et al., 1998).

BANGS E REINECCIUS (1981) mostraram que a retenção da mistura de doze substâncias aromáticas, encapsuladas em maltodextrina, decrescia conforme o número de dextrose equivalente (DE) da maltodextrina aumentava (ordem de retenção: DE 10 > DE 15 > DE 20 > DE 25 > DE 36,5), indicando que o aumento do peso molecular médio provocou uma maior retenção dos voláteis. O aumento da retenção, observada pelo alto peso molecular do encapsulante, foi explicado através da redução da difusividade da solução, durante a secagem, e através do aumento na taxa de formação da casca seca na superfície da cápsula (BANGS & REINECCIUS, 1990).

ANANDARAMAN & REINECCIUS (1986) observaram por outro lado que um aumento de DE melhorava a vida útil do óleo essencial encapsulado. Segundo os autores, o aumento de dez vezes no DE resultou em três a seis vezes maiores valores de vida útil do produto encapsulado. MENTING & HOOGSTAD (1967) observaram um aumento na retenção de voláteis com o aumento da concentração de maltodextrina na solução de alimentação do atomizador. Os autores relacionaram o aumento com a mais rápida formação da casca ou membrana sobre as gotas na superfície, permitindo a difusão da água, mas evitando a passagem dos voláteis.

De acordo com REINECCIUS (1988), uma redução na viscosidade da emulsão a ser desidratada poderia provocar uma desorganização interna na matriz durante a

secagem, retardando a formação da superfície semipermeável e favorecendo a perda do aroma (GOUBET et al., 1998).

O estado físico do encapsulante (forma amorfa ou cristalina) também pode influenciar na retenção do aroma. A rápida desidratação da matriz e consequente redução da atividade de água, leva o encapsulante ao estado vítreo (WHORTON & REINECCIUS, 1995), caracterizado por baixa mobilidade de suas moléculas. Neste estado a liberação ou retenção dos compostos depende mais da capacidade do aroma de migrar até a superfície do que das volatilidades relativas dos mesmos (WHORTON, 1995).

Aumentando-se o conteúdo de água, o material passa do estado vítreo para o borrachento. Neste estado as pontes de hidrogênio se enfraquecem e a difusão do aroma em água aumenta, o que dificulta sua retenção (WHORTON, 1995). A redução da viscosidade do encapsulante e a manutenção de um alto conteúdo de água resultam no estado de colapso, em que há perda de porosidade e redução na difusão. Em alguns casos, o colapso pode resultar em reencapsulação do composto aromático (WHORTON & REINECCIUS, 1995).

Dependendo do encapsulante, após o estado de colapso pode ocorrer a cristalização. Na forma cristalina há redução da viscosidade e formação de junções cristalinas, o que reduz a área entre as cadeias, forçando os voláteis para a superfície da matriz e portanto, reduzindo sua retenção (LABROUSSE et al., 1992). A forma amorfa em estado vítreo parece ser mais eficiente para a retenção dos voláteis; o estado de colapso leva à perda de *flavor* e a cristalização favorece a liberação dos compostos encapsulados (GOUBET et al., 1998).

4.4.6 – Fatores associados ao processo de secagem por atomização

A encapsulação por atomização, de materiais solúveis ou parcialmente solúveis em água, geram cápsulas com estrutura do tipo matriz (SHEU & ROSENBERG 1998). Isso significa que o material encapsulado, na forma de pequenas gotas, encontra-se disperso na estrutura sólida formada pelo material de parede.

As microcápsulas formadas por atomização apresentam microestruturas, que podem ser afetadas pela composição e propriedades do material de parede; pela proporção material de parede/material de núcleo e pelos parâmetros de secagem e condições de estocagem (ROSENBERG et al., 1985)

A quantidade de volátil liberada também pode ser afetada pela composição da matriz, tamanho dos poros, tamanho das partículas e espessura e área da parede em torno do composto volátil (WHORTON, 1995).

De acordo com BANGS (1985) *apud* REINECCIUS (1989), os parâmetros de processo que apresentam influência na retenção de compostos de *flavors* voláteis durante a secagem por atomização são: a) conteúdo de sólidos do material de alimentação; b) peso molecular e a pressão de vapor dos compostos de *flavor*; c) tipo e peso molecular do carregador utilizado; d) viscosidade do material a ser alimentado; e) velocidade do ar de secagem; f) temperatura de entrada e saída do ar; g) percentual de umidade do ar de entrada; h) tamanho de partícula da gota atomizada e i) temperatura de alimentação do material a ser atomizado.

KIECKBUCH & KING (1980) estudaram a perda de voláteis, durante a secagem por atomização, utilizando diversos acetatos em solução de sacarose e maltodextrinas e observaram que as perdas de acetato em função da altura do aspersor, dentro do atomizador, foram fortemente influenciadas pelas condições de operação, pela natureza da solução a ser seca e pelo modelo do aspersor.

4.5 – Características físicas das microcápsulas

Muitas propriedades de um sistema microencapsulado estão relacionadas com sua estrutura. A retenção do material volátil e a proteção do mesmo está diretamente relacionada à porosidade e ao grau de integridade da microcápsula. Da mesma forma, a propriedade de escoamento do pó encapsulado está ligada à estrutura e à topografia das partículas (ROSENBERG et al., 1985).

A microscopia eletrônica de varredura fornece informações sobre as características morfológicas das cápsulas como a presença de fissuras e poros, permitindo uma análise rápida e direta da eficiência do processo de encapsulação (ROSENBERG et al., 1985). A presença de fissuras e rachaduras na superfície da microcápsula pode comprometer a proteção oferecida ao material de parede.

Além da observação morfológica de aspectos externos e internos das cápsulas, através da microscopia eletrônica, (em que é possível observar se as paredes são contínuas, se apresentam fissuras ou interstícios), pode-se também avaliar a homogeneidade do tamanho das microcápsulas formadas.

A importância do tamanho de partículas das gotas atomizadas na determinação da retenção do *flavor* ainda é polêmica. Vários trabalhos observaram que partículas de tamanhos maiores resultam em melhoria da retenção do *flavor* (RULKES & THIJSSSEN 1972). Por outro lado, REINECCIUS & COULTER (1969) observaram ausência de efeito do tamanho da partícula sobre a retenção do *flavor*.

CHANG et al. (1988) trabalharam com óleo essencial de laranja encapsulado em amido modificado (Capsul[®]) e observaram que o total de óleo retido foi maior para partículas de tamanho intermediário, em relação às partículas de menor ou maior tamanho. Segundo os autores, ocorre um aumento na porcentagem de retenção até um determinado tamanho das partículas, a partir do qual inicia-se um decréscimo na

retenção dos voláteis. A justificativa dos autores foi a de que o aumento do tamanho melhora a relação área de superfície/volume que contribui para o aumento da retenção. No entanto este aumento implica em menor tempo para a formação do filme, acarretando maior perda de voláteis. Foi observado também um número maior de imperfeições morfológicas superficiais nas partículas de maior tamanho. A concentração de epóxido de limoneno, um indicador do processo de oxidação, aumentou linearmente após um período de indução na estocagem, independentemente do diâmetro das partículas.

4.6 - Extração

Para avaliar a retenção do material de núcleo pelo processo de atomização, deve-se proceder a extração do material encapsulado e posterior quantificação e qualificação do mesmo, sendo a preparação da amostra e o método de extração, os pontos críticos em sua análise quantitativa e qualitativa. Com métodos adequados de extração e concentração, pode-se alcançar um melhor desempenho dos instrumentos analíticos. Em produtos alimentícios, a análise de componentes de *flavor* é extremamente difícil, devido à complexa diversidade química e a presença de apenas traços em muitos produtos (COULIBALY & JEON, 1996).

Existem muitas técnicas para extração de *flavor*. A escolha do método é importante e é determinada por alguns critérios: a) volatilidade e ponto de ebulição do composto; b) polaridade do composto (para a escolha do solvente é importante a afinidade que o composto terá com o solvente); c) estabilidade dos compostos à temperatura e oxigênio; d) concentração do composto volátil no produto, a qual determinará a quantidade do produto a ser processado; e) finalidade da análise (quantitativa ou qualitativa); f) distribuição dos voláteis no produto e g) estado físico e composição do produto a ser avaliado. (MAARSE, 1985)

Muitos compostos de *flavor* apresentam grande solubilidade em solventes orgânicos, como éter dietílico, diclorometano e pentano, podendo ser extraídos e isolados por esses agentes, preferencialmente por serem solventes de baixo ponto de ebulição. Este método é denominado extração por solvente e sua grande vantagem é a simplicidade do processo, o que inclui o manuseio (HEATH & REINECCIUS, 1986).

A extração líquido-líquido pode ser incluída na extração por solvente. Este método é definido como a extração de um composto químico em meio líquido por solvente orgânico, apresentando como vantagens a simplicidade do equipamento e a técnica consolidada pelo largo uso. Como desvantagens, pode-se citar a formação de compostos originados da oxidação devido à utilização de temperaturas elevadas; o longo tempo de processo e baixa seletividade; além do fato de gerar um produto diluído que precisa ser concentrado. Neste processo, como qualquer outro que utilize solvente, a escolha do mesmo é um ponto muito importante. (COULIBALY & JEON, 1996)

Outra técnica bastante utilizada é a destilação por arraste de vapor. Esse método é muito antigo e tem sido empregado com sucesso em diferentes processos, para o isolamento de compostos voláteis. A destilação, definida como a evaporação seguida da condensação de líquidos ou mistura de líquidos, tem-se mostrado muito eficiente no isolamento de óleos essenciais e na recuperação de compostos voláteis de óleos e gorduras, à pressão atmosférica. Contudo, a exemplo da extração líquido-líquido, também apresenta a desvantagem da formação de subprodutos, devido à utilização de altas temperaturas (COULIBALY & JEON, 1996).

5 - Materiais e Métodos

5.1. - Materiais

Material de parede: Goma Arábica – Synth (lote 28162). Farinha de amido de arroz – Colombo. Gelatina – Leiner-Davis (GAP 5, mesh 30, bloom 221).

Material encapsulado: Óleo essencial de laranja contendo 95% de D-limoneno fornecido por Citrosuco, Citral sintético produzido pela Dierberger Óleos Essenciais S. A., com teor de 98% e Linalol sintético importado pela Petit Marie Importadora, teor de 98%.

5.2. - Métodos

5.2.1. - Avaliação da capacidade de retenção das microcápsulas

5.2.1.1.- Microencapsulação

Para a avaliação da melhor proporção entre o material encapsulante e o encapsulado, os três produtos foram encapsulados em três diferentes concentrações, usando como material de parede, goma arábica. As proporções empregadas no delineamento foram 10%, 20% e 30% para os três agentes encapsulados, óleo essencial de laranja, linalol e citral, totalizando nove tratamentos.

Foi empregado um planejamento totalmente aleatorizado, tanto para o material encapsulado, quanto para as concentrações que seriam processadas.

As suspensões do material de núcleo, goma arábica e água, contendo 30% de sólidos (peso/peso), foram homogeneizadas vigorosamente em alta rotação (5000 rpm/3min.), à temperatura ambiente (23° a 25°C) e com quantidades de encapsulantes que variavam em 10, 20 e 30% com relação à quantidade de sólidos da solução. Em seguida foram atomizadas. As soluções foram mantida sob agitação, em um agitador

mecânico com barra magnética (Marca Fisatom, modelo 752), a temperatura ambiente (23° a 25°C), ao longo de todo o processamento (45 min).

O equipamento empregado no processo de secagem foi um Spray Dryer Lab-Plant modelo SD 04 (Inglaterra). As condições do processo de encapsulação foram as seguintes: temperatura de entrada e de saída 150° e 93°C respectivamente, pressão do ar 5kgf/cm², vazão da solução 15 ml/min e bico aspersor com diâmetro de 1 mm. Cada tratamento foi processado em triplicata no atomizador; em seguida as amostras, do mesmo tratamento, foram homogeneizadas com o objetivo de minimizar as variações do processo.

Após ser encapsulado, o material foi armazenado sob refrigeração (-8°C), em frascos que não permitiam a passagem de luz ou permeação de gases, a fim de evitar alterações nas características do produto obtido. No dia seguinte o material era submetido à extração.

Nesta etapa também foram realizados testes, empregando como material encapsulante, o amido purificado a partir de farinha de arroz, seguindo os mesmos procedimentos anteriores. O material de núcleo e suas proporções também foram mantidos. A solução apresentava 30% de sólidos totais, incluindo o amido, o material a ser encapsulado e 1% de gelatina. A gelatina, que funciona como agente ligante, foi previamente dissolvida em água a 60°C e incorporada à solução, segundo método descrito por ZHAO & WHISTLER (1994)

5.2.1.2 - Extração

Para extração do óleo essencial encapsulado, empregou-se a hidrodestilação, utilizando o extrator Clevenger (RISCH & REINECCIUS, 1988), sobre o qual foi acoplado um condensador com circulação de água/etanol à temperatura de 2°C.

Num balão de 300 ml contendo pérolas de vidro, foram suspensas 10 g de material encapsulado em 150 ml de água deionizada e foram adicionadas duas gotas de antiespumante.

Através de uma manta térmica acoplada à um termostato, o balão com a amostra foi submetido ao aquecimento controlado (por volta de 100°C), suficiente para que a suspensão, da amostra em água, entrasse em ebulição e possibilitasse o processo. O processo foi mantido por duas horas, a partir do momento em que o sistema entrava em regime de extração. Entende-se por regime de extração, o momento em que o vapor, proveniente da suspensão em ebulição, adentra no corpo do extrator e se inicia a condensação, desencadeando a separação dos produtos. O tempo ideal de destilação foi estabelecido usando-se uma emulsão com quantidade conhecida de óleo essencial.

A quantidade de óleo extraída foi medida em mililitros, através da graduação existente no braço coletor do extrator. Para a obtenção dos dados finais em gramas (peso/peso), usou-se a densidade específica de cada produto à 23°C (Óleo essencial de laranja 0,84g/ml, Linalol 0,86g/ml, Citral 0,89g/ml). A extração também foi realizada em triplicata, totalizando 27 processamentos.

5.2.2 - Morfologia das microcápsulas

A morfologia das microcápsulas foi avaliada através de microscopia óptica e microscopia eletrônica de varredura.

5.2.2.1 - Microscopia óptica

Nesta etapa foi utilizado um microscópio óptico modelo Jenaval, marca Zeiss, e objetiva com aumento de 25 vezes. As nove amostras encapsuladas, contendo 10%, 20% e 30% dos materiais de núcleo, foram fixadas em lâminas empregando-se óleo de silicone como agente dispersante.

5.2.2.2 - Microscopia eletrônica

As amostras encapsuladas foram fixadas em cilindros metálicos, de 1 cm de altura, com fita metálica adesiva de dupla face. O material foi recoberto com uma fina camada de ouro por um aparelho evaporador Balzers, modelo SCD 050. Aplicou-se uma corrente de 40 mA por 75 segundos gerando um filme de ouro com espessura de aproximadamente 19nm, de acordo com a metodologia descrita por KIM & MORR (1996).

O material recoberto foi mantido em dissecador para análise de microscopia eletrônica de varredura, através de um equipamento modelo JSM – T300 da Jeol. As condições de operação foram: voltagem de aceleração 15 kV, e o aumento observado de 3500 vezes.

5.2.3 - Distribuição do tamanho das partículas

Para a avaliação da distribuição do tamanho de partículas foi utilizado um equipamento do tipo Lumosed Photo-Sedimentometer (Anton Paar – Austria). Esse equipamento é dotado de três sensores, que são acionados por feixes de laser, os quais atravessam uma cubeta de quartzo contendo uma suspensão da amostra a ser avaliada.

Através desses feixes mediu-se a transmitância em cada um dos três pontos ao longo do tempo, calculando a porcentagem e em seguida o tamanho das partículas em

cada ponto. Para o desenvolvimento dos cálculos foram utilizados: densidade do solvente (isopropanol 786 kg/m^3), viscosidade do solvente ($0,00286 \text{ Pa sec}$) e densidade da amostra encapsulada (500 kg/m^3), que foi calculada dividindo massa conhecida da amostra pelo seu volume de deslocamento, quando suspensa no isopropanol.

A suspensão foi preparada em isopropanol, até o volume indicado na cubeta. A amostra em pó ($0,35\text{g}$) foi adicionada e homogeneizada com uma haste apropriada. O isopropanol foi escolhido como solvente, pelo fato da amostra ser totalmente insolúvel neste solvente, favorecendo a suspensão.

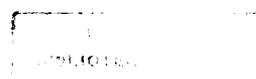
As análises foram realizadas à temperatura de 23°C , durante 20 minutos, em triplicata. Avaliaram-se nove amostras encapsuladas nas concentrações de 10, 20 e 30%, totalizando 27 processamentos.

5.2.4 - Análise de estabilidade dos materiais encapsulados

Para a avaliação da estabilidade o limoneno, o linalol e o citral foram encapsulados na concentração de 20%, usando goma arábica como material de parede, totalizando três tratamentos.

Os três produtos foram encapsulados no mesmo dia, para que a avaliação da vida útil fosse simultânea. Cada tratamento foi processado em triplicata no atomizador. O pó obtido de vários processos foi misturado, a fim de minimizar as variações. A obtenção do encapsulado foi feita conforme descrito anteriormente.

Um grama de cada material encapsulado no atomizador foi acondicionado em frasco âmbar com capacidade de 60ml. Em seguida, os frascos foram mantidos em estufa, à temperatura de 50°C , por 33 dias. Como referência para o desenvolvimento oxidativo, foram acondicionados sob o mesmo tratamento, frascos contendo 1ml dos



referidos materiais na forma líquida e sem encapsulação (mesmas condições de temperatura, proteção da luz e períodos de retirada). Foram retiradas amostras semanais dos materiais encapsulados e na forma livre, para extração e análise cromatográfica.

A extração do material encapsulado foi feita usando acetona como solvente, conforme método descrito por WESTING et al. (1988). Às amostras retiradas da estufa foram adicionados 6 ml de água e agitadas vigorosamente, em agitador vortex, (Cole-Parmer, modelo Super-Mixer 4722) por aproximadamente um minuto, para permitir a dissolução e liberação do encapsulado. Em seguida, foram adicionados 14 ml de acetona com nova agitação para promover a máxima extração. Posteriormente, o material contendo o solvente foi acondicionado sob refrigeração (-8°C) por 12 horas, antes da análise cromatográfica.

Às amostras retiradas da refrigeração, foram adicionados 7,0 g de sulfato de sódio anidro com agitação vigorosa, em agitador vortex, para a retirada da água. Posteriormente as amostras foram centrifugadas a 3.000 rpm por 8 minutos e o sobrenadante foi analisado cromatograficamente, em duas repetições. Para o material não encapsulado, na forma livre e concentrada, somente foi realizada a diluição na proporção de 1:1, (50 µl de acetona e 50 µl de amostra) para análise cromatográfica.

O material extraído foi submetido à cromatografia em fase gasosa. A calibração do equipamento foi realizada com padrão externo e com referência a uma curva obtida, a partir de diferentes diluições dos óleos essenciais não oxidados.

O equipamento usado foi um cromatógrafo Varian modelo 3600. As condições de trabalho foram: coluna capilar DB-WAX 30 m de comprimento, diâmetro interno de 0,252 mm e espessura do filme (PEG) de 0,25 µm, detector de ionização de chama (FID) a 250°C, gás de arraste hidrogênio com vazão 1,0 ml/min., razão de split 1:30,

injetor a 200°C, pressão na coluna 7,0 psi, perfil de temperatura 70°C por 4 min, 70°-130°C, 6°C/min; 130°-190°C, 10°C/min e 190°C/4 min.

A identificação dos compostos do material encapsulado e do material livre foi realizada através de espectrometria de massas acoplada ao cromatógrafo. O equipamento utilizado foi CG-EM tipo 5988 da Hewlett Packard. A coluna empregada foi Ultra 2 (equivalente a DB5) com 25 m de comprimento e 0,20 mm de diâmetro interno, o filme de fenilmetilsilicone com 0,33 µm de espessura, detector a 250°C e injetor a 200°C, split 1:100 e volume injetado 1,0 µl. As condições de temperatura foram as mesmas empregadas na análise cromatográfica descritas acima.

A identificação dos componentes dos óleos essenciais foi feita através da análise do espectro de massas e dos índices de retenção (IR) de cada substância. Os cálculos dos índices de retenção foram feitos usando-se o tempo de retenção de cada composto e da série homóloga de carbonos (C5 a C40), analisados em CG-EM nas condições acima descritas. O software utilizado para análise CG-EM foi o MS – Chem Station, versão B.00.01 Hewlett-Packard, acoplado à biblioteca Wiley Library – HP – G1035A. As amostras usadas para essa análise foram as mesmas submetidas à análise de CG.

6. – Resultados e Discussão

6.1. - Avaliação da retenção das microcápsulas

Nos estudos realizados observou-se que houve maior retenção do encapsulado com 10% de material ativo independente do material de recheio utilizado (limoneno, linalol e citral), conforme pode ser observado na Tabela 2. A variação na retenção do encapsulado foi atribuída às diferentes porcentagens do óleo essencial utilizado. Entre as porcentagens de recheio estudadas, quanto menor a porcentagem de material de núcleo, maior foi sua retenção. Esse mesmo resultado foi obtido por ROSENBERG et al. (1990). De acordo com os autores, com o aumento da quantidade inicial de óleo na emulsão, ocorre um aumento na concentração de gotículas de óleo nas paredes da cápsula. A exposição desse material ao ar de secagem, durante a formação das cápsulas, leva à redução na retenção dos voláteis. Maiores porcentagens de recheio aparentemente permite que uma maior fração de óleo fique exposta na superfície da microcápsula, aumentando assim a perda do material durante a secagem. BHANDARI et al. (1992) também verificaram a redução na retenção de citral (de 82,0 para 72,4%), encapsulado em goma arábica, quando houve aumento da concentração do volátil (de 20% para 25%) na solução de encapsulação.

Em geral, uma porcentagem de recheio de 20% é tradicionalmente utilizada na secagem por atomização; e cargas contendo maior porcentagem resultam em perdas inaceitavelmente altas do agente flavorizante durante a secagem (REINECCIUS 1989). EMBERGER (1981) observou que ao redor de 1/3 e 1/2 da carga total de *flavor* foi retida durante a secagem por atomização quando porcentagens iniciais de 25% e 10% de *flavor* foram utilizados. Por outro lado, BRENNER et. al. (1976) utilizaram uma mistura de polímeros como agente de cobertura (goma arábica, derivados de amido e hidrolizados de amido) associados a compostos polihidroxílicos, e conseguiram processar altas porcentagens (acima de 75%) de material encapsulante, obtendo ainda uma recuperação de 80% para essas altas porcentagens de carga.

O limoneno apresentou maior porcentagem de recuperação e o linalol a menor porcentagem, nas três concentrações utilizadas de material de núcleo. A maior recuperação foi obtida na concentração de óleo igual a 10%, posteriormente a 20 e a 30%, conforme pode ser observado nas Tabela 2 e Figura 7.

A maior porcentagem de retenção foi a do limoneno, com média de 91%, depois do citral com 86% e por último o linalol, com 64%, todos para o nível de 10% de recheio (Tabela 2). ANANTHA & MILFORD (1997) obtiveram porcentagens menores para linalol (44%). Nesse mesmo trabalho os autores afirmam que o linalol foi o composto com maior recuperação, quando comparado ao aldeído, ácido e cetonas, os quais apresentaram retenções menores que 33%.

Por outro lado, os estudos de BANG & REINECCIUS (1981) indicaram que as porcentagens de retenção decresceram na seguinte ordem: aldeído (41%) > álcool (21 a 33%) > cetonas. Embora os rendimentos obtidos aqui, com relação ao aldeído e ao álcool utilizados (citral e linalol respectivamente) tenham sido maiores que os obtidos pelos autores acima citados, a ordem entre as diferentes funções químicas foram as mesmas, com o aldeído apresentando maior rendimento que o álcool.

Avaliando as porcentagens médias de recuperação, obteve-se 91% para o limoneno, o que está em concordância com os estudos realizados por RISCH & REINECCIUS (1988), ANKER & REINECCIUS (1988), TRUBIANO & LACOURSE (1988), que alcançaram médias de 81,8%, 86,0% e 83,5% respectivamente, para o mesmo material e empregando método similar.

Trabalhos desenvolvidos por diversos pesquisadores (ROSENBERG et. al., 1990; VOILLEY 1995) indicam que a retenção de voláteis dependia de sua polaridade, sendo o composto mais polar, aquele menos retido na matriz, o que no presente trabalho poderia justificar as maiores porcentagens de recuperação obtidas para o limoneno encapsulado quando comparado ao álcool e ao aldeído utilizado. A maior polaridade

indica a maior solubilidade em água e conseqüentemente maior habilidade de difusão através da matriz durante o processo de atomização e secagem, acarretando assim maior perda durante no processo.

Tabela 2 – Porcentagem de recuperação média obtida nas extrações dos materiais encapsulados, nas concentrações de 10, 20 e 30%.

Material Encapsulado	Recuperação Média (%) (g/g)	Desvio Padrão
Limoneno 10%	91	3,3
Limoneno 20%	88	0
Limoneno 30%	75	0
Linalol 10%	64	1,0
Linalol 20%	56	1,2
Linalol 30%	44	3,8
Citral 10%	86	2,4
Citral 20%	63	2,6
Citral 30%	47	0,9

A comparação da capacidade de retenção entre os aglomerados de amido e da goma arábica não foi possível, uma vez que os experimentos utilizando-se o primeiro como agente encapsulante levaram à perda total do óleo essencial, durante o processo no atomizador. Esta perda foi constatada no processo de extração, realizado logo em seguida ao processo de secagem. A razão para tal perda, independentemente do óleo essencial utilizado, parece estar diretamente associada à característica física do aglomerado poroso de amido. Neste, os grânulos não gelatinizados, condição necessária para a formação da matriz (ZHAO & WHISTLER, 1994), são “colados” com

gelatina, porém são ainda porosos, levando a não formação do filme contínuo responsável pela retenção de agente de *flavor* no interior da cápsula. A partir dessas observações experimentais, esse agente de cobertura foi abandonado. No entanto, a utilização do aglomerado poroso é descrita como bem sucedida na encapsulação de ácido ascórbico (TRINDADE, 1998), cuja volatilidade relativa é insignificante frente aos óleos essenciais. Este fato aparentemente determina os altos níveis de recuperação, no caso da utilização deste recheio.

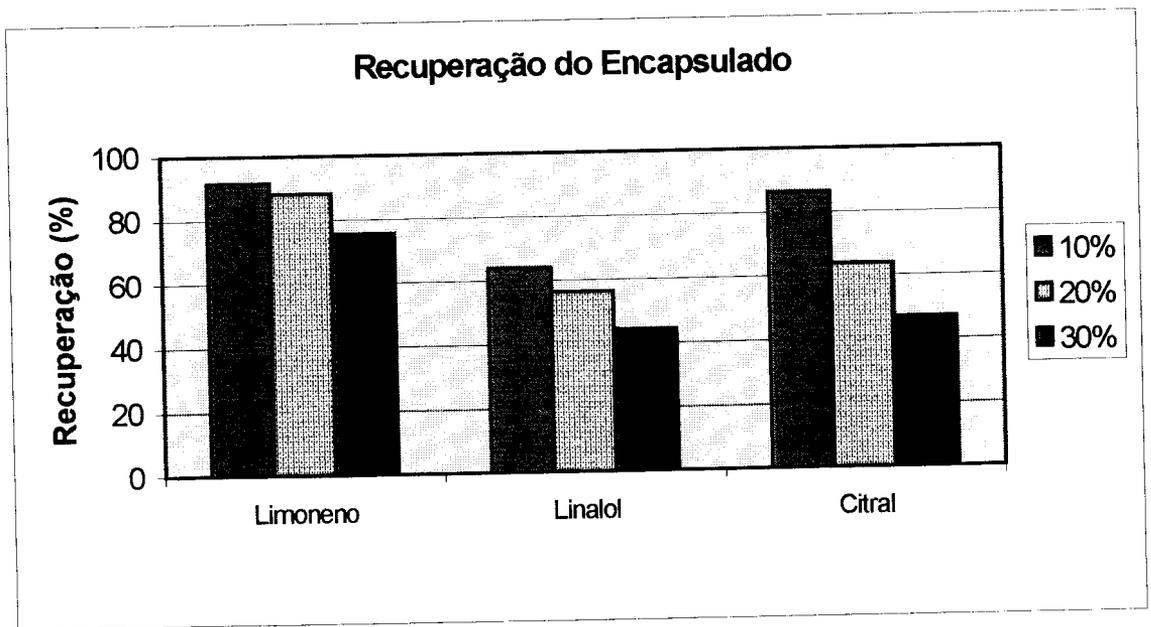


Figura 7 - Recuperação dos produtos encapsulados através da extração realizada pelo método Clevenger.

6.2.- Morfologia das microcápsulas

Os três materiais de núcleo, limoneno, linalol e citral, nas três porcentagens testadas, 10, 20 e 30%, apresentaram morfologia externa muito parecidas. As cápsulas apresentam superfície externa arredondada com formação de dentes ou concavidades, conforme pode ser observado nas Figuras 8, 9 e 10.

O aparecimento de dentes na superfície é atribuído à rápida evaporação das gotículas de líquido durante o processo de secagem no atomizador. A presença de dentes, que é característica de polímeros como a goma arábica e maltodextrinas, afeta as condições de escoamento (ROSENBERG et al. 1985).

As superfícies externas não apresentaram fissuras ou porosidade aparente, o que é extremamente importante para garantir prevenção de sua perda e deterioração, garantindo assim uma boa proteção do material encapsulado. Todas as amostras apresentaram partículas de tamanhos variados. Microcápsulas com estruturas dentadas, arredondas, sem fissuras ou poros e com variação de tamanho das partículas, foram características também observadas por ROSENBERG et al. (1988) e TRINDADE (1998).

Com o aumento da quantidade de material encapsulado ou da umidificação das microcápsulas (umidade relativa), pode ocorrer fusão das cápsulas reduzindo a retenção do material de núcleo (ROSENBERG et. al 1988). Contudo, isso não foi observado, mesmo nas amostras contendo maior teor dos agentes encapsulados com concentração de 30% (Figuras 8 C, 9 C e 10 C).



A - Limoneno encapsulado em concentração de 10%

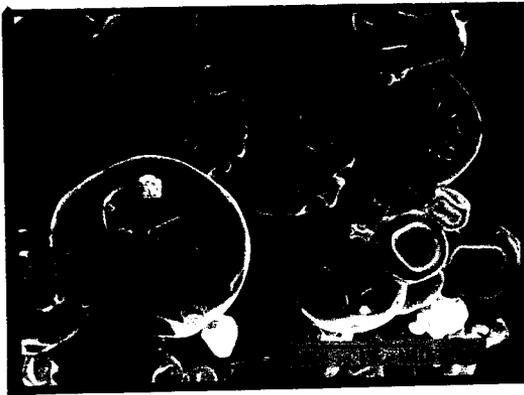


B - Limoneno encapsulado em concentração de 20%

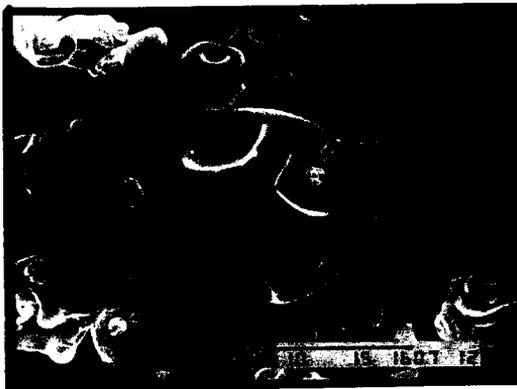


C - Limoneno encapsulado em concentração de 30%

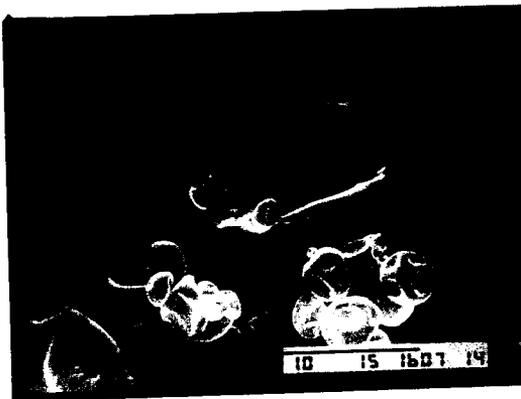
Figura 8 – Microcápsulas de limoneno em goma arábica, produzidas por atomização, vista por microscopia eletrônica de varredura, aumento de 3500 vezes



A – Linalol encapsulado em concentração de 10%



B – Linalol encapsulado em concentração de 20%



C – Linalol encapsulado em concentração de 30%

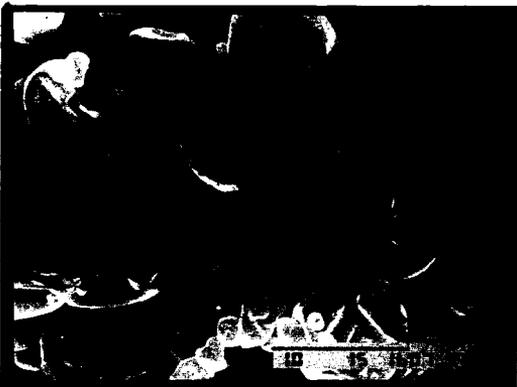
Figura 9 – Microcápsulas de linalol em goma arábica, produzida por atomização, vista por microscopia eletrônica de varredura, aumento de 3500 vezes.



A – Citral encapsulado em concentração de 10%



B –Citral encapsulado em concentração de 20%



C – Citral encapsulado em concentração de 30%

Figura 10 – Microcápsulas de citral em goma arábica, produzida por atomização, vista por microscopia eletrônica de varredura, aumento de 3500 vezes.



A – Linalol encapsulado
em concentração de 10%

Figura 11 – Microcápsulas de linalol em goma arábica, produzidas por atomização e vista por microscopia óptica, aumento de 25 vezes.

As estruturas externas similares das microcápsulas com diferentes materiais de núcleo, também foram constatadas no trabalho de ROSENBERG et al. (1985), ao estudarem diferentes materiais encapsulados em goma arábica.

Pequenas partículas ao redor de partículas maiores, formando um aglomerado foram observadas nas amostras, efeito semelhante ao relatado por BHANDARI et al. (1992) e BAKAN (1973).

A microscopia óptica forneceu um instrumento de avaliação preliminar das microcápsulas. Apesar de não apresentar uma grande resolução, essa é uma técnica rápida, simples e de baixo custo, que auxilia na avaliação do processo de atomização. A Figura 11 mostra a microcápsula formada por linalol e goma arábica como agente encapsulante.

6.3. – Distribuição do tamanho das partículas

As análises da distribuição do tamanho de partículas geraram, para cada amostra, um gráfico de porcentagem de partículas X tamanho de partículas e uma curva de porcentagem acumulada X tamanho de partículas, representados nas Figuras 12, 13 e 14. Pode-se observar nas Figuras que as amostras apresentam uma distribuição normal unimodal para tamanhos de partículas.

As Figuras 12, 13 e 14 e a Tabela 3 revelam que o comportamento com relação ao tamanho das partículas, foi semelhante para os três tipos de recheio utilizados (limoneno, linalol e citral). Partículas maiores foram obtidas quando a menor concentração de recheio foi utilizada. Além disso, o aumento da porcentagem de recheio de 10 para 20% e posteriormente para 30%, gerou tamanho de partículas decrescente. Quando a comparação entre os diferentes produtos é feita para um mesmo nível de recheio, pode-se observar (Tabela 3) que o linalol, nas três concentrações, apresentou tamanho médio de partículas menor do que para os outros

dois encapsulados, enquanto que as partículas com limoneno apresentaram os maiores tamanhos.

Cabe observar que embora os três materiais de núcleo possuam 10 carbonos em sua estrutura básica, estes apresentam pequenas diferenças de peso molecular (PM limoneno 136,2; citral 152,2 e linalol 154,2) que poderiam se refletir em volumes espaciais diferentes, gerando diferentes tamanhos de cápsulas. A estrutura cíclica do limoneno em relação à estrutura acíclica do citral e linalol (Figuras 1, 3 e 4) pode ter favorecido a formação de cápsulas com tamanhos médios ligeiramente superiores ao citral e linalol. As diferenças observadas entretanto são pequenas, com variações que vão de 15,7 a 23,2 μm para o tamanho médio entre todas as amostras analisadas. Os tamanhos médios obtidos estão de acordo com os resultados de literatura para cápsulas produzidas por atomização (THIES, 1995).

A Tabela 3 demonstra que o limoneno, na concentração de 10%, apresenta o maior tamanho médio de partículas entre as amostras. O tamanho médio obtido foi de 23,2 μm com uma variação de 5 a 70 μm , valores muito próximos aos obtidos por ABURTO et al. (1998), que estudaram a microencapsulação deste composto em goma arábica e maltodextrina e obtiveram tamanho médio de 20 μm com variação de 2 a 40 μm no tamanho das partículas.

Outro trabalho realizado por BHANDARI et al. (1992) mostrou que o citral, na concentração de 30%, apresenta microcápsulas com tamanhos entre 2 e 20 μm , enquanto que, no presente trabalho, essa variação foi de 5 a 70 μm .

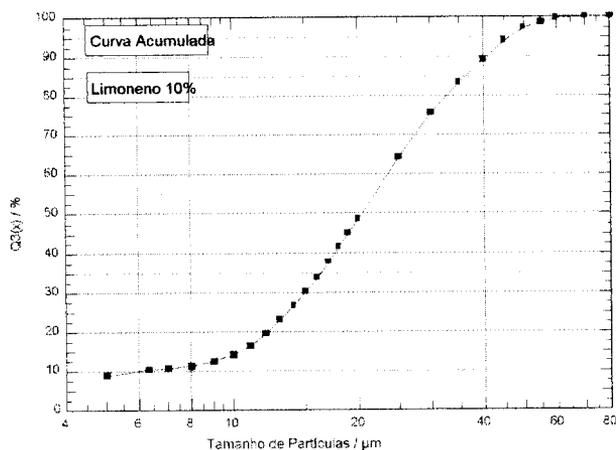
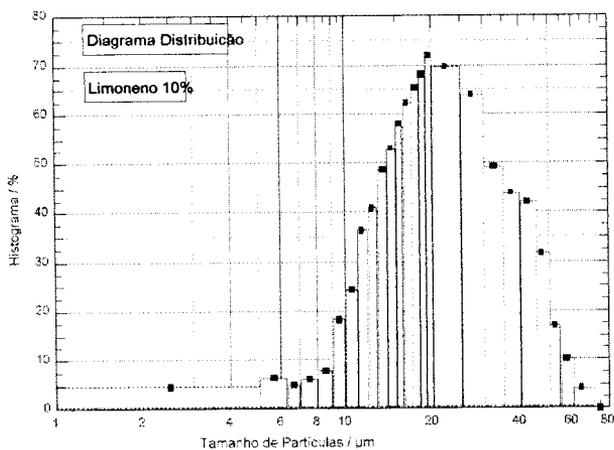
A comparação entre os resultados da distribuição do tamanho de partículas e das porcentagens de retenção (Tabela 3) indicaram que para maiores tamanhos de partículas também ocorreu maior porcentagem de recuperação, as quais apresentavam as maiores quantidades de recheio. Apesar de haver controvérsia na literatura, conforme discutido na introdução, com relação a variação do tamanho de partículas na

retenção dos voláteis, os resultados aqui obtidos estão em concordância com os apresentados por CHANG et. al. (1988), onde foi observado aumento de retenção com o crescente tamanho das cápsulas.

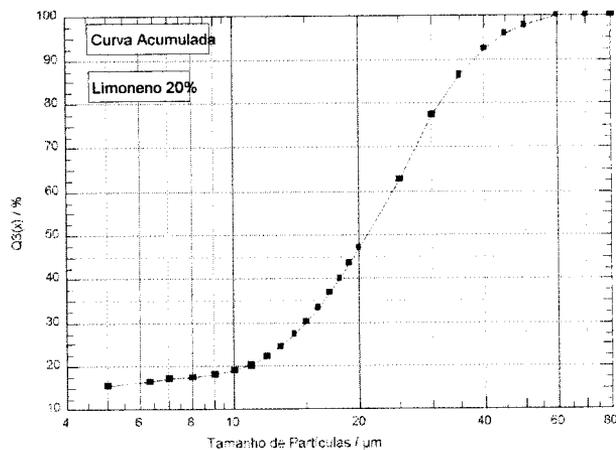
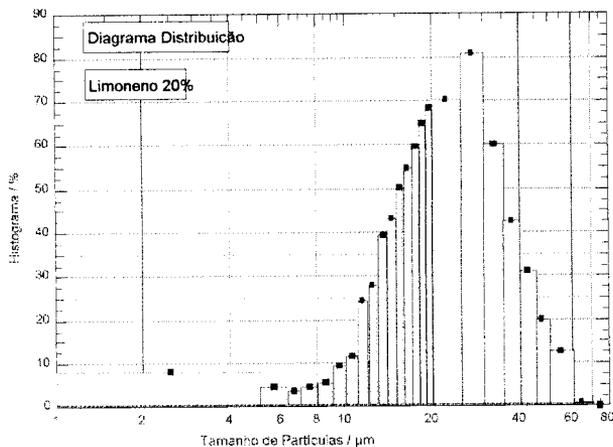
Os resultados do presente estudo demonstram que limoneno, linalol e citral, a 10% de concentração de recheio, apresentam tamanhos de partículas médias (23,2; 18,9 e 22,9 μm) e valores de retenção (91, 64, 86% - Tabela 2) maiores que as demais concentrações. A mesma relação foi também observada por CHANG et al (1988) e BAKAN (1973). Este último obteve partículas de tamanho médio variando de 20 a 750 μm , com porcentagem de retenção entre 59,2 e 86,1%. CHANG et al. (1988) observou que as partículas maiores tinham menor relação entre área de superfície e volume da partícula, o que resultou em uma melhor retenção do agente de *flavor*, devido à dificuldade de difusão do volátil para alcançar a superfície.

Tabela 3 – Tamanho médio (μm) das microcápsulas obtido através da distribuição de tamanho de partículas.

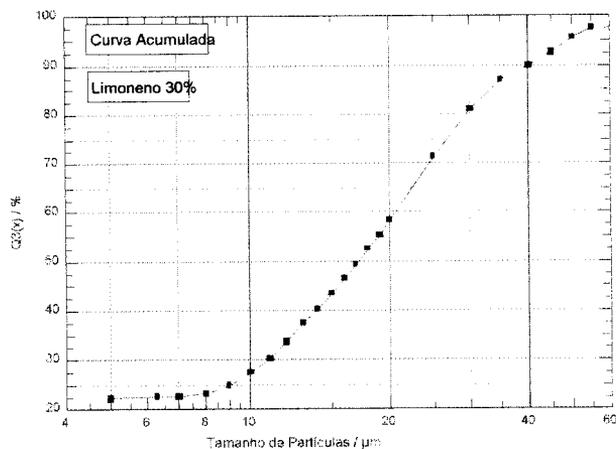
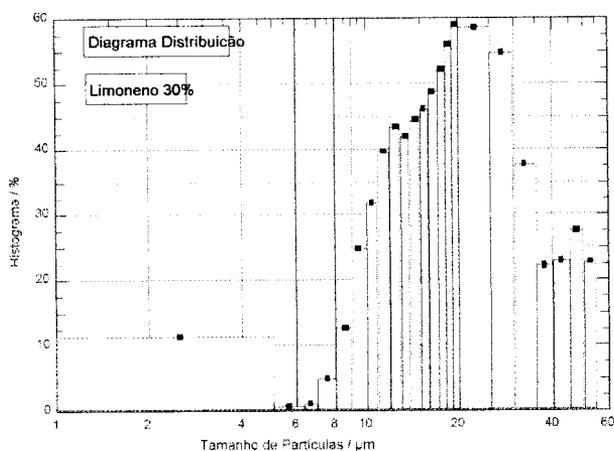
Amostras	Tamanho Médio das Partículas (μm)	Desvio Padrão
Limoneno 10%	23,2	1,4
Limoneno 20%	22,1	0,6
Limoneno 30%	18,9	1,0
Linalol 10%	19,0	2,4
Linalol 20%	17,3	1,1
Linalol 30%	15,8	0,3
Citral 10%	22,9	1,3
Citral 20 %	19,5	0,9
Citral 30%	17,8	0,7



A e B – Limoneno encapsulado a 10%

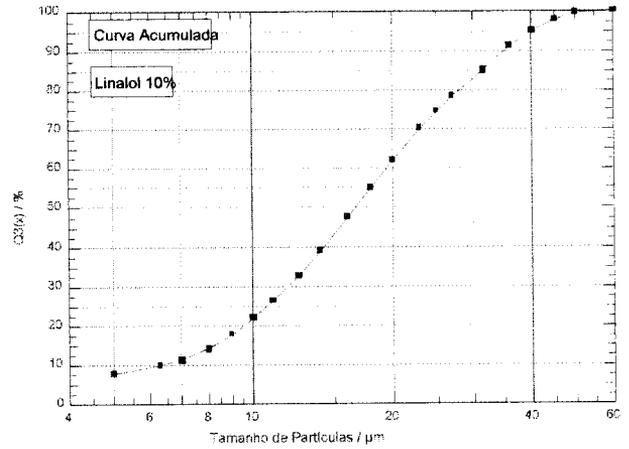
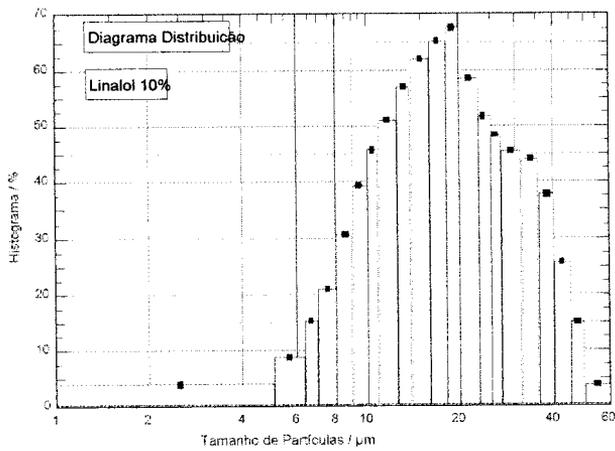


C e D – Limoneno encapsulado a 20%

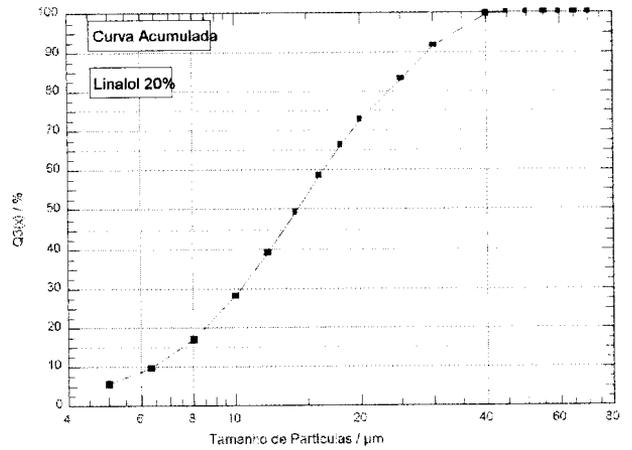
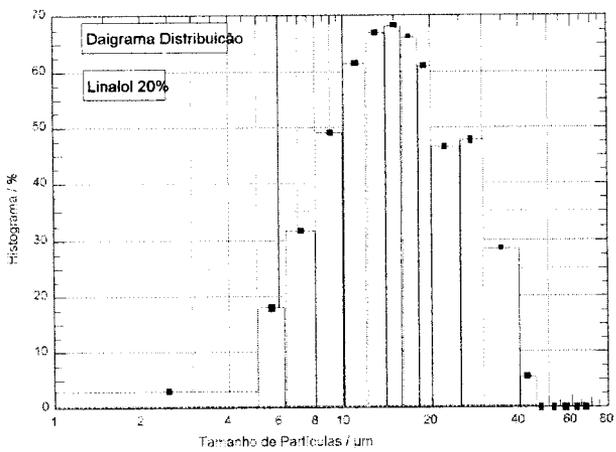


E e F – Limoneno encapsulado a 30%

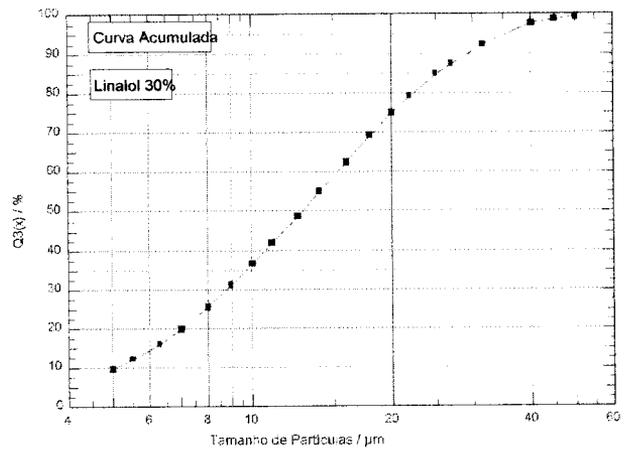
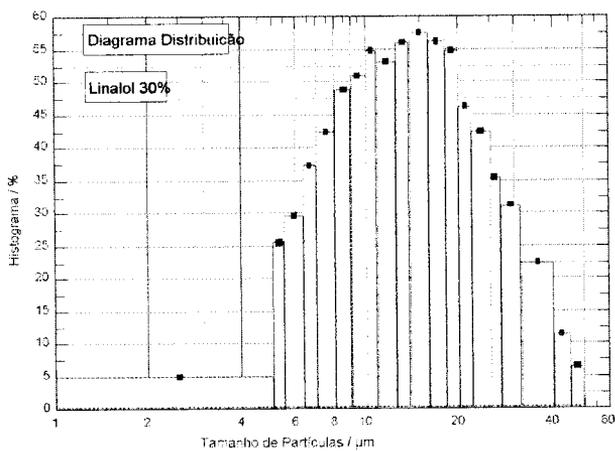
Figura 12 – Histogramas e curvas de distribuição de tamanho de partículas. Limoneno encapsulado em goma arábica por atomização



A e B – Linalol encapsulado a 10%

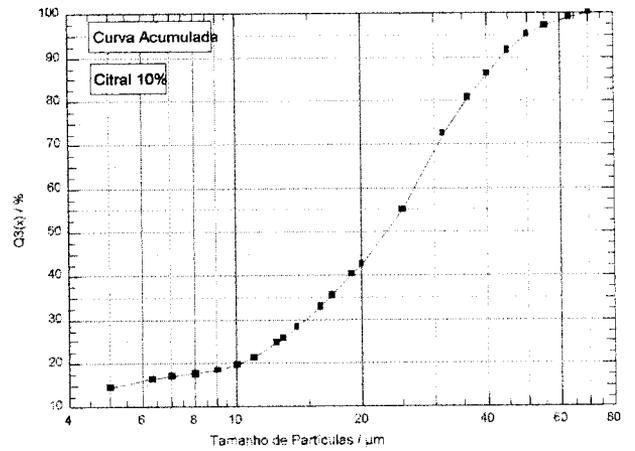
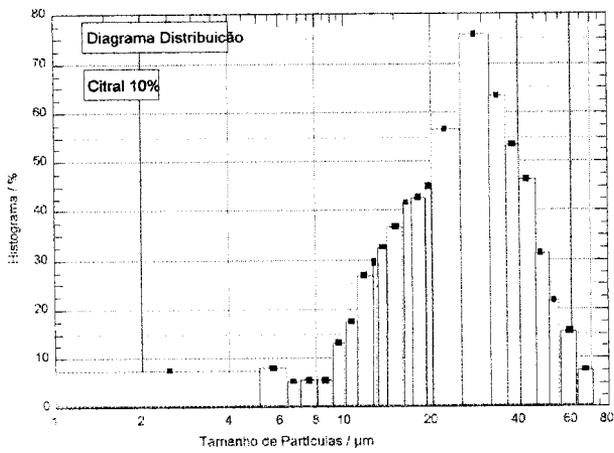


C e D – Linalol encapsulado a 20%

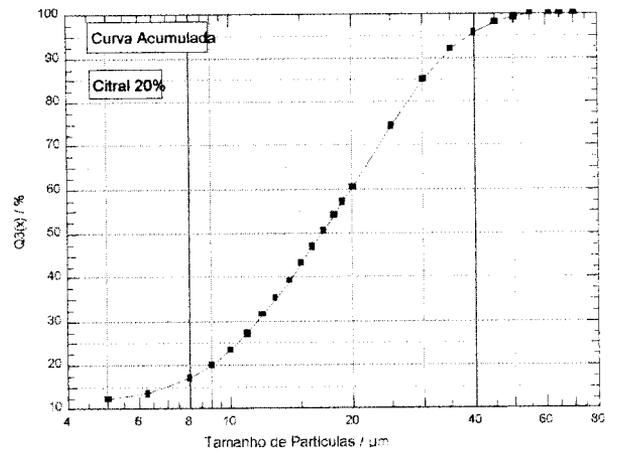
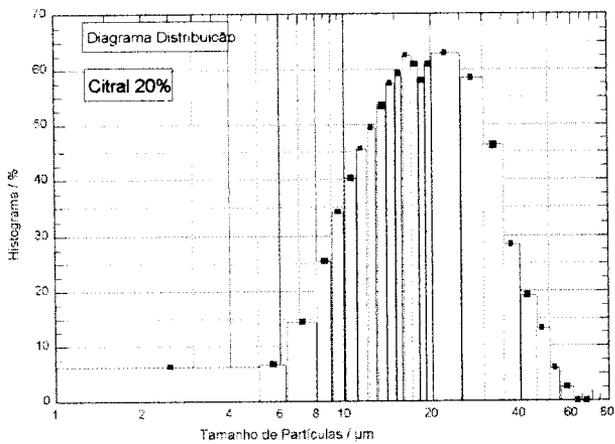


E e F – Linalol encapsulado a 30%

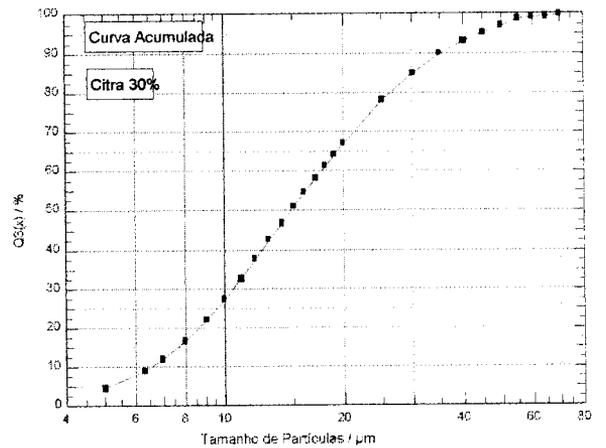
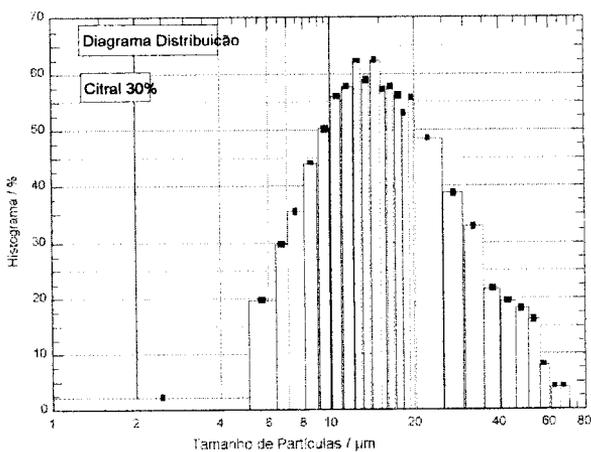
Figura 13 – Histogramas e curvas de distribuição de tamanho de partículas. Linalol encapsulado em goma arábica por atomização



A e B – Citral encapsulado a 10%



C e D – Citral encapsulado a 20%



E e F – Citral encapsulado a 30%

Figura 14 – Histogramas e curvas de distribuição de tamanho de partículas. Citral encapsulado em goma arábica por atomização.

6.4. - Análise de estabilidade dos materiais encapsulados

6.4.1. – Decréscimo quantitativo do limoneno, linalol e citral no estudo de vida útil.

Enquanto para os cálculos do rendimento de encapsulação foram utilizados os resultados obtidos através da extração em aparato Clevenger, os resultados de estabilidade foram obtidos através de cromatografia gasosa, comparando-se as áreas remanescente dos compostos de interesse ao longo de um estudo de vida útil (33 dias/50°C). A Figura 15 apresenta os perfis obtidos para os três materiais estudados, comparando-se o óleo essencial livre ao encapsulado, submetidos as mesmas condições de ensaio. A Figura 16 A agrupou os materiais na forma livre e a Figura 16 B agrupou-os na forma encapsulada. Em ambas as figuras foi possível observar comportamentos diferenciados entre os óleos estudados. Os três produtos, na forma livre ou encapsulada, apresentaram redução em relação à quantidade inicial durante o período de estudo. A Tabela 4 contém porcentagens que expressam essa redução dos monoterpenos ao longo de 33 dias, a quantidade inicial de massa utilizada foi tomada como referência e convertida a um valor de 100%. Posteriormente, as amostras submetidas aos testes de estabilidade foram analisadas em um sistema de CG-EM, de forma a permitir uma melhor avaliação qualitativa dos produtos de degradação, principalmente a oxidativa, formados durante o período de ensaio.

Os valores utilizados para exprimir a perda dos monoterpenos no período de tempo foram obtidos a partir da curva de calibração traçada com as substâncias padrões utilizadas, e inserida na programação da do processador de dados acoplado ao cromatógrafo. Os valores representam razões de concentrações (mg/ml), que explicitam a diminuição da massa de substância em função dos parâmetros adotados, representando o processo de oxidação do monoterpeno livre e encapsulado.

A observação dos resultados apresentados na Tabela 4 mostrou que o processo oxidativo ocorreu tanto nos produtos livres quanto nos encapsulados em diferentes intensidades. Os dados (em mg/ml) que geraram esta tabela se encontram no anexo I. Entre os produtos encapsulados, o linalol apresentou maior perda que o limoneno e este maior taxa de oxidação que o citral. As quantidades remanescente, expressas percentualmente, foram de 70,9; 52,6 e 25,0% para o citral, limoneno e linalol respectivamente, com relação às quantidades iniciais presentes no tempo zero do experimento. Comparando-se a forma livre à encapsulada de cada material estudado observa-se que, para o limoneno, o efeito protetivo da cápsula foi bastante acentuado, uma vez que as porcentagens remanescentes após 33 dias foram de 18,7 e 52,6% para o limoneno livre e encapsulado respectivamente.

Tabela 4 – Variação percentual dos monoterpenos (limoneno, linalol e citral), na forma livre e encapsulados, submetidos a temperatura de 50° C, com avaliação cromatográfica semanal.

VARIAÇÃO PERCENTUAL DOS MONOTERPENOS						
Tempo (dias)	Limoneno (%)		Linalol (%)		Citral (%)	
	Livre	Encapsulado	Livre	Encapsulado	Livre	Encapsulado
0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
6	98,5	95,9	97,7	98,5	97,1	96,7
12	72,3	111,4	85,1	94,3	107,2	97,8
19	39,6	86,8	70,9	91,4	64,2	100,9
26	25,5	75,4	64,6	37,9	74,2	74,2
33	18,7	52,6	70,5	25,0	74,7	70,9

Para o citral, as porcentagens remanescente foram muito próximas (74,7% para o citral livre e 70,9% para o encapsulado), indicando que o processo de encapsulação praticamente não apresentou efeito protetivo com relação a manter a quantidade do monoterpeno próximo ao inicial. Com relação ao linalol, a encapsulação mostrou-se ineficiente uma vez que a quantidade remanescente de linalol livre (70,5%), foi maior que material encapsulado (25,0%).

A retenção e a integridade da massa inicial do monoterpeno encapsulado depende basicamente dos seguintes fatores: a) características físicas e químicas do material de recheio (monoterpenos apresentando diferentes funções químicas), b) características do material da parede (goma arábica) e c) o processo de microencapsulação, associado às metodologia de extração e avaliação utilizadas. Para uma análise mais consistente dos resultados, a) e b) devem ser considerados conjuntamente, levando-se em consideração as possíveis interações químicas entre as diferentes moléculas e a estrutura da goma arábica, assim como a capacidade de cada monoterpeno em migrar através da cápsula. O material de parede mantém-se o mesmo em todos os experimentos (goma arábica); enquanto que cada monoterpeno ensaiado possui natureza específica e propriedades peculiares. Quanto ao item c) deve-se ressaltar que as condições de processamento característica do atomizador utilizado, tais como; temperatura de entrada e saída do ar, fluxo de alimentação, diâmetro do injetor, etc., foram as mesmas para todos os ensaios, o mesmo ocorrendo com o método de extração e de quantificação, não sendo o objetivo desse trabalho um estudo no sentido de otimizar esses parâmetros.

Os valores obtidos na Tabela 4 refletem o conjunto de interações que contribuem para a manutenção ou a liberação da substância na microcápsula, assim como a influência do método de extração adotado, com uso de acetona/água/sulfato de sódio.

Quanto ao limoneno, os resultados indicam que o processo de encapsulação favorece efetivamente sua retenção (Figura 15 A). O inverso ocorre com o linalol, cuja

perda na cápsula se acelera, em contraposição à diminuição provocada pela oxidação da substância livre (Figura 15 B). Os resultados obtidos para o citral revelam que a diminuição demonstrada na Tabela 4 ocorre indiferentemente ao processo de encapsulamento.

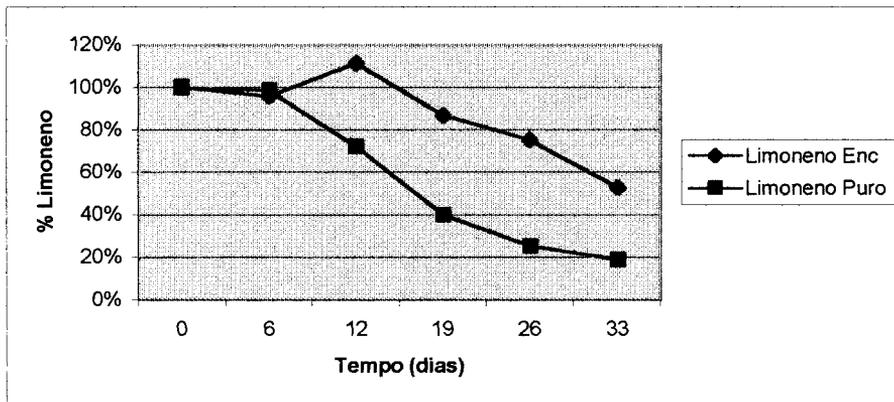
A estabilidade observada para o limoneno encapsulado em relação ao limoneno livre está de acordo com o descrito na literatura. Este resultado pode ser atribuído à menor solubilidade do limoneno em água devido à sua menor polaridade, desfavorecendo a difusão através da matriz e conseqüentemente diminuindo a perda do composto para o meio, em relação ao limoneno livre.

O linalol, um álcool terciário, é uma substância bastante suscetível à desidratação, principalmente em meio que contenha traços de ácidos (GUENTHER 1975). A desidratação do linalol resulta em produtos rearranjados e mais predispostos à oxidação. O fato da goma arábica possuir uma estrutura que contém carboidratos, e portanto grupamentos hidroxílicos, poderia favorecer o processo de desidratação e conseqüentemente favorecer a oxidação de seus produtos rearranjados, levando assim a uma alta taxa de degradação, quando comparado ao linalol livre.

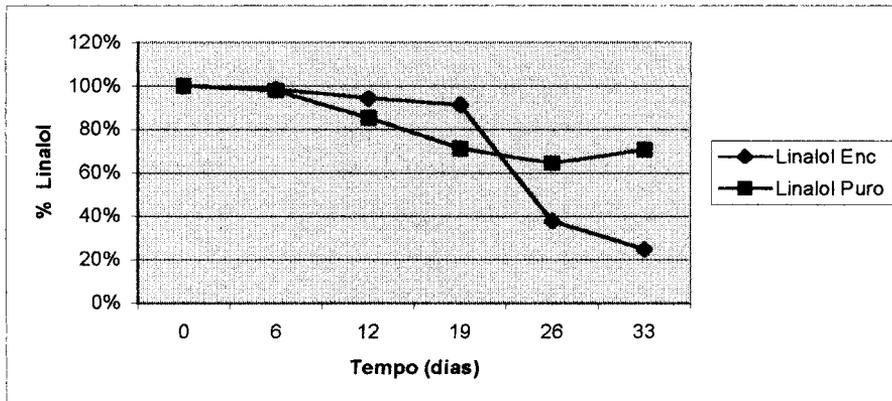
É importante salientar a presença de certos açúcares com propriedades ácidas na composição da goma arábica. Este fato pode ser um dos principais responsáveis pelo forte decréscimo na quantidade do linalol encapsulado, a partir da segunda semana (Figura 15 B), em comparação com o linalol livre, quando submetidos as mesmas condições de temperatura e estocagem.

Quanto ao citral, não houve diferença significativa entre as quantidades retidas no composto livre e no encapsulado após a oxidação (Figura 15 C). Quando comparado com o limoneno e o linalol, a porcentagem remanescente do citral encapsulado é maior. Aparentemente, não há resistência nem favorecimento à oxidação acrescentada pelo material de parede, que poderia estar regulando a

A – Redução do Limoneno



B – Redução do Linalol



C – Redução do Citral

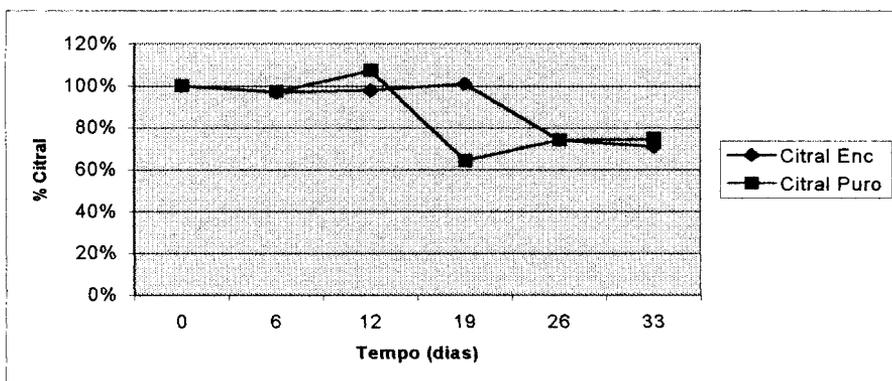
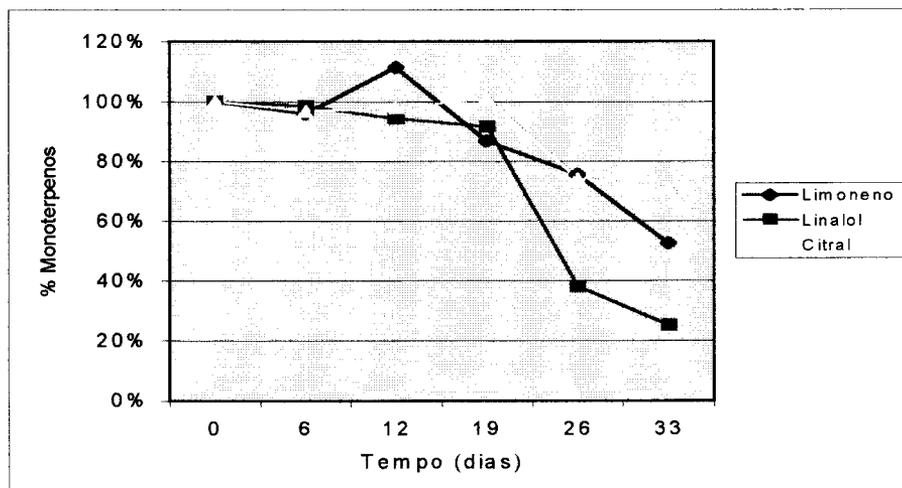


Figura 15 – Redução da quantidade inicial de material livre e encapsulado em goma arábica, submetidos a 50° C por 33 dias.

A – Materiais Encapsulados



B – Materiais Livres

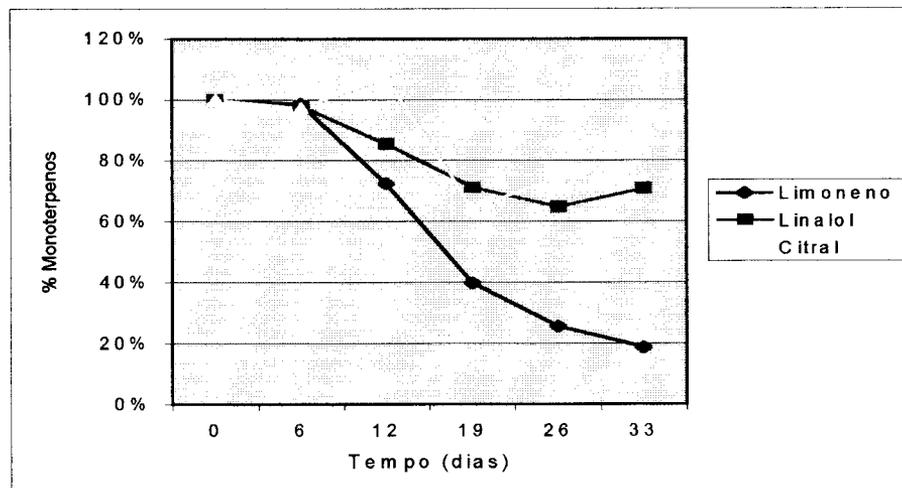


Figura 16 – Oxidação dos monoterpenos avaliada através da redução inicial do óleo essencial livre e encapsulado, submetidos a 50° C por 33 dias.

6.4.2 – Avaliação qualitativa dos produtos formados durante o estudo de vida útil

Além da medida da capacidade e eficiência de retenção, o processo de encapsulação foi avaliado qualitativamente quanto a proteção à oxidação, para os diferentes materiais, através da avaliação das composições de cada cromatograma, após oxidação dos materiais livres e encapsulados oxidados, conforme procedimento descrito em Materiais e Métodos.

Para esta finalidade, os componentes secundários, presentes em cada monoterpeno, foram tentativamente identificados (Tabela 5, 6 e 7). O processo de identificação baseou-se na análise cromatográfica em fase gasosa acoplada à espectrometria de massas, juntamente com a medida do Índice de Retenção, segundo metodologia que utiliza o cromatograma de uma mistura de alcanos lineares, na mesma programação empregada para avaliar as amostras encapsuladas ou livres, como referência (ADAMS). Por comparação da composição do composto livre com as formas oxidadas livre e encapsulada, é possível obter-se uma avaliação da proteção ou não do material frente à oxidação, oferecida pelo encapsulamento em goma arábica.

Para o caso do limoneno, foi possível a identificação da maioria dos componentes, através do somatório de informações oriundas do espectro de massas e do cálculo do IR. Algumas substâncias, ainda que sem IR descritos em literatura, puderam ter a estrutura “fortemente” sugeridas com base na interpretação do espectro de massas, com o auxílio da biblioteca Wiley Library – HP – G1035A utilizada.

Os resultados obtidos para o limoneno estão apresentados na Tabela 5 onde 13 sinais, correspondentes às substâncias minoritárias, excetuando-se os picos referentes ao limoneno, seus óxidos e a carvona, foram assinalados e identificados. Submetido a um processo oxidativo, o monitoramento destes sinais residuais, assim como o

surgimento de outros, fornece os indícios da suscetibilidade do material de núcleo à oxidação e portanto, da medida de proteção oferecida pela parede.

A literatura (ANANDARAMAN & REINECCIUS, 1986; WESTING et. al., 1988) descreve o óxido de limoneno, a carvona, os derivados de carveol e os derivados perílicos, como os principais subprodutos de oxidação do limoneno. Como pode ser observado na Tabela 5, com exceção do álcool perílico, acetato de perilila e do acetato de carveol, todos os outros compostos já estavam presentes no perfil do limoneno livre (original), assim como no limoneno livre oxidado. As três substâncias citadas são subprodutos produzidos pelo processo de encapsulamento em goma arábica.

Estudos sobre a composição do óleo essencial de laranja, como o desenvolvido por THEVENET (1988), apontam o α -pineno, sabineno, mirceno e linalol como compostos originalmente presentes neste óleo essencial, mesmo que em baixas concentrações, portanto sinais como 1, 2, 3 e 5 eram esperados no produto livre.

Algumas das substâncias desaparecem no cromatograma do óleo essencial de laranja encapsulado, e isso poderia ser explicado pela alta volatilidade das mesmas. Como originalmente estão presentes apenas em traços, a perda ultrapassa os limites da detecção (caso dos picos 1, 2, 3, 5, 9 e 13 na Tabela 5). A observação dos cromatogramas correspondentes (Figura 17 A, B e C) permite a verificação do aumento na abundância dos sinais que representam estados oxidados (normalmente incorporando hidroxilas) do limoneno, como é o caso explícito dos principais subprodutos de oxidação: o óxido de limoneno (cis e trans), a carvona e o carveol (cis e trans). No caso do óleo essencial livre oxidado, em particular, o cromatograma apresentou perfil muito próximo ao obtido por WESTING et al. (1988) com relação à ordem de eluição e ao número de picos.

Para o linalol (Tabela 6) não foi possível completar a identificação de algumas substâncias, porém a análise dos EM das mesmas sugere o tipo de estrutura a que

pertencem e que são compatíveis àquelas já presentes ou esperadas na oxidação. Esse é o caso dos sinais 1 (Tabela 6) que tem sua estrutura originada do óxido de linalol (cis e trans), 8 e 9 que são possivelmente derivados da estrutura aberta dos óxidos de linalol e sinal 10 que possui o esqueleto carbônico semelhante ao do linalol.

O linalol (origem comercial) apresentou originariamente apenas um sinal secundário, (plinol, identificação não confirmada, Tabela 6). Sete outras substâncias minoritárias aparecem no cromatograma do linalol livre oxidado. Todas representam subprodutos de oxidação do linalol em contato com o oxigênio do ar (50°C), e algumas não foram completamente identificadas. Várias delas desaparecem no cromatograma do linalol encapsulado oxidado, provavelmente também devido à volatilidade, ou mesmo devido a um processo de formação desfavorecido na presença da goma arábica. Como se pode observar na Figura 18 B e C, os sinais que representam as substâncias oxidadas com estrutura consolidada, aumentam bastante a abundância no encapsulado; como é o caso do óxido de linalol (cis e trans), que são indicadores do processo oxidativo e do terpendiol (identificação não confirmada), em detrimento da abundância do sinal do linalol.

A oxidação do citral (Tabela 7), por sua vez produziu substâncias que ainda não foram descritas na literatura, portanto a sugestão para a estrutura das mesmas está baseada exclusivamente na interpretação dos fragmentos fornecidos pelos EM. Dessa maneira, no caso do citral, o grau de identificação das novas moléculas ainda é bastante incompleto. A consolidação das estruturas formadas pela oxidação exige um trabalho mais detalhado e direcionado para este objetivo.

Quanto ao citral livre e o composto oxidado pode-se observar (Tabela 7) que as variações são mínimas, diferenciando-se apenas em um sinal que aparece neste último (pico 11). Outro ponto a se observar é que praticamente não há diferenças entre as intensidades e a abundância dos sinais secundários, nos cromatogramas das duas amostras (Figuras 19 A e B). No entanto há nítida evidência da influência da

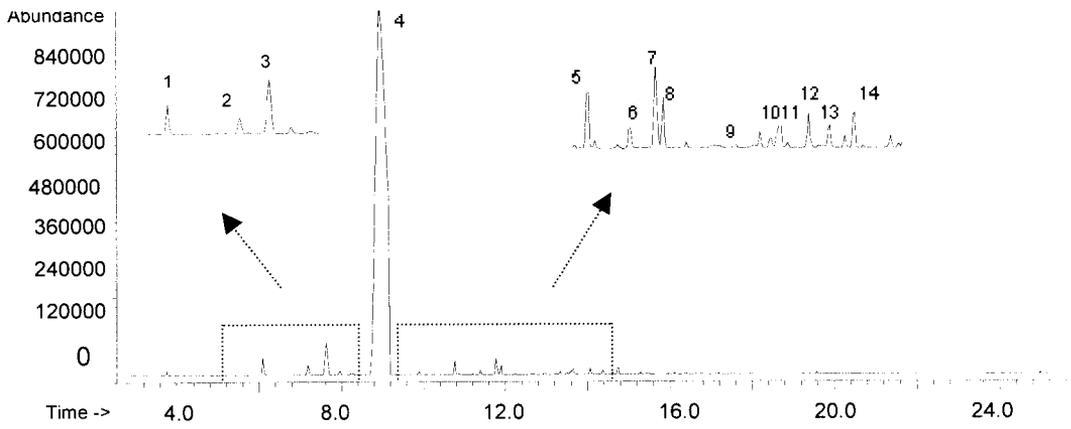
encapsulação na produção de subprodutos de oxidação do citral e consequente, redução dos sinais 8 e 9 que correspondem ao neral e geranial respectivamente.

Os sinais correspondentes aos picos 2, 3, 4, 10, 12, 15 e 16 apenas estão presentes no citral oxidado encapsulado. De alguma maneira, a goma arábica cataliza a produção destes subprodutos. Pode-se observar também que os sinais minoritários correspondentes ao citral livre oxidado não se reproduzem no citral encapsulado. Este fato não é relevante, desde que estas substâncias estejam presentes apenas como traços, tanto no citral livre oxidado como no citral original. A volatilidade destes materiais pode em parte ser responsável pelo desaparecimento ou insignificância de seus sinais no cromatograma do encapsulado (Figura 19 C).

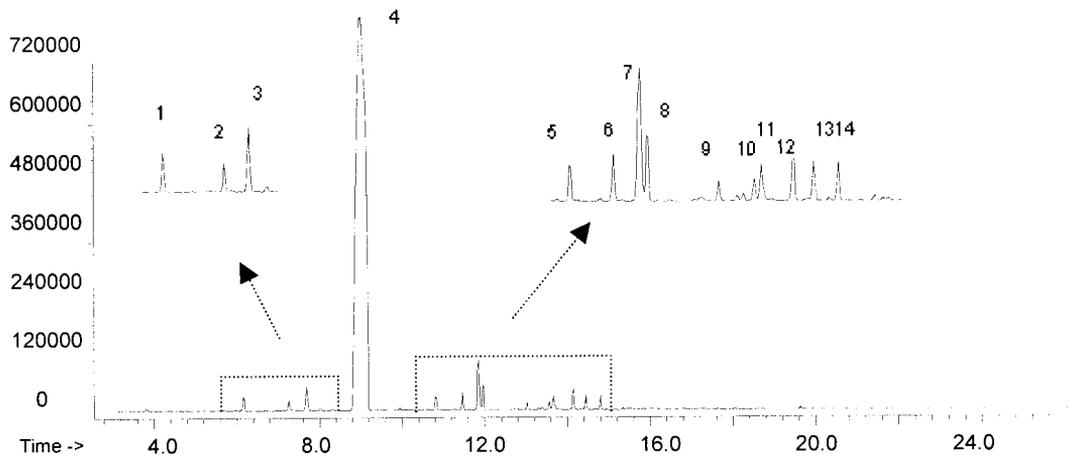
As Figuras 20, 21 e 22 contêm as representações espaciais das estruturas dos compostos identificados ou sugeridos para limoneno, linalol e citral respectivamente, nas condições livre, livre oxidado e encapsulado.

A grande maioria dos produtos de oxidação do citral teve a estrutura apenas sugerida. Isto se deve ao fato de todas elas não possuírem descrição na literatura. A sugestão de identificação das mesmas, apenas pode se basear na interpretação dos espectros de massas. Contudo a partir dessas informações, alguns aspectos da estrutura dos subprodutos podem ser confirmados como, a incorporação de mais uma hidroxila na estrutura e a conformação estrutural, que pode ser cíclica ou linear (a partir da interpretação dos fragmentos).

A – Limoneno Livre



B- Limoneno Livre Oxidado



C- Limoneno Encapsulado

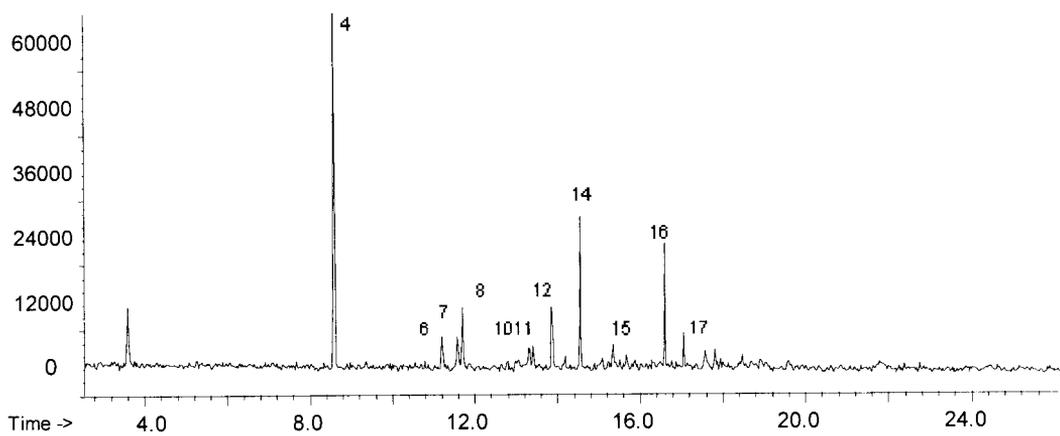
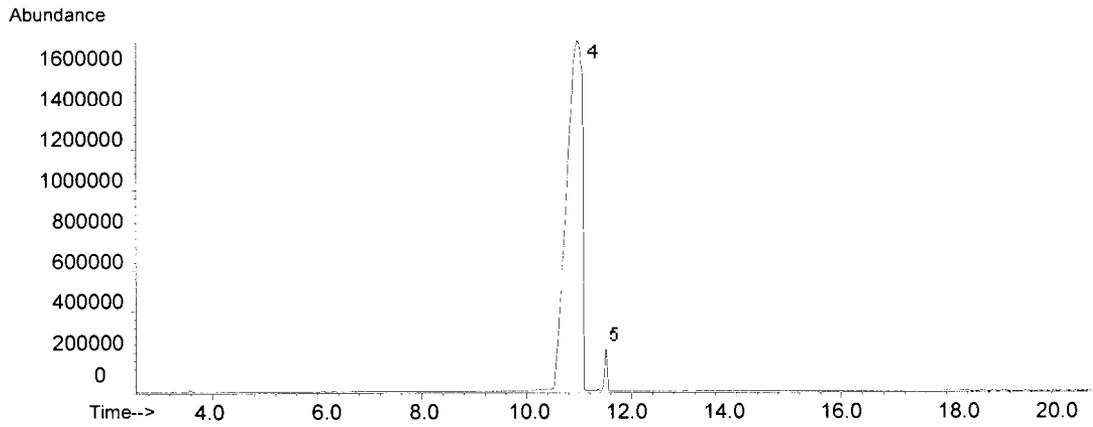
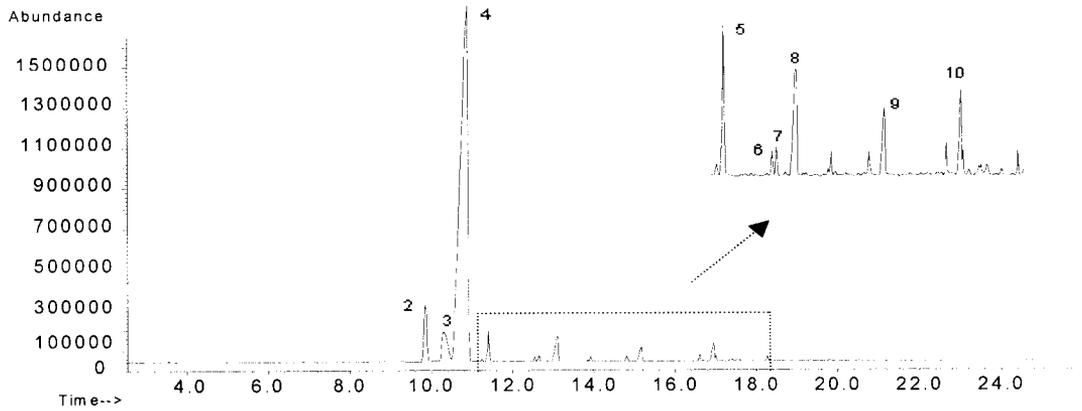


Figura 17 – Cromatograma do limoneno livre (A), oxidado (B) e encapsulado (C)

A - Linalol Livre



B – Linalol Livre Oxidado



C – Linalol Encapsulado

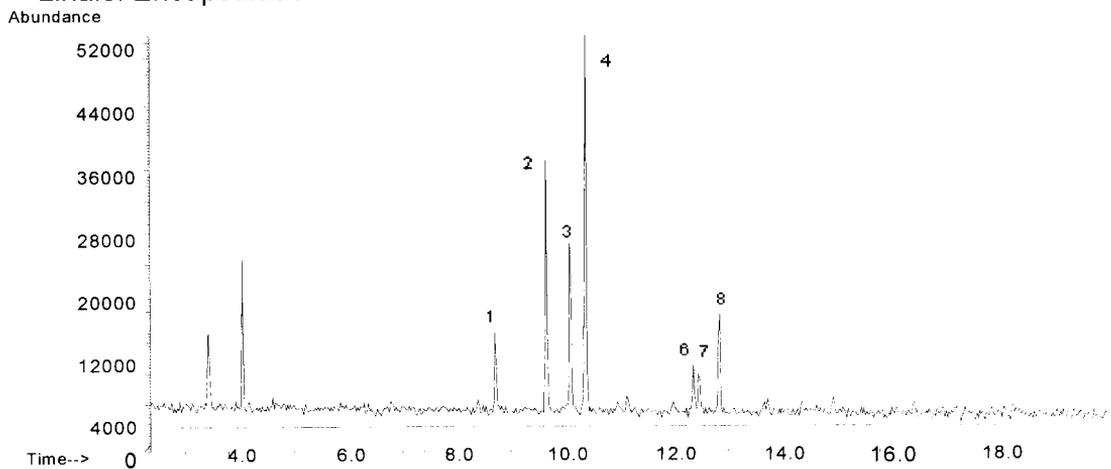
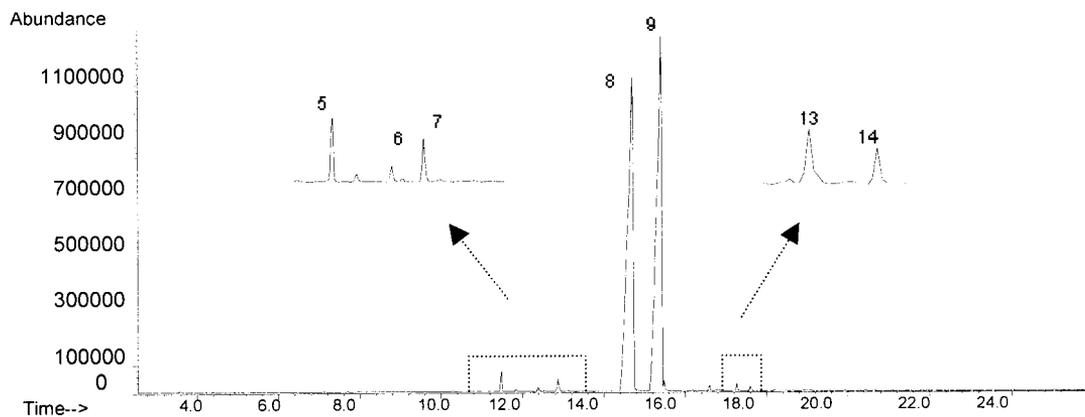
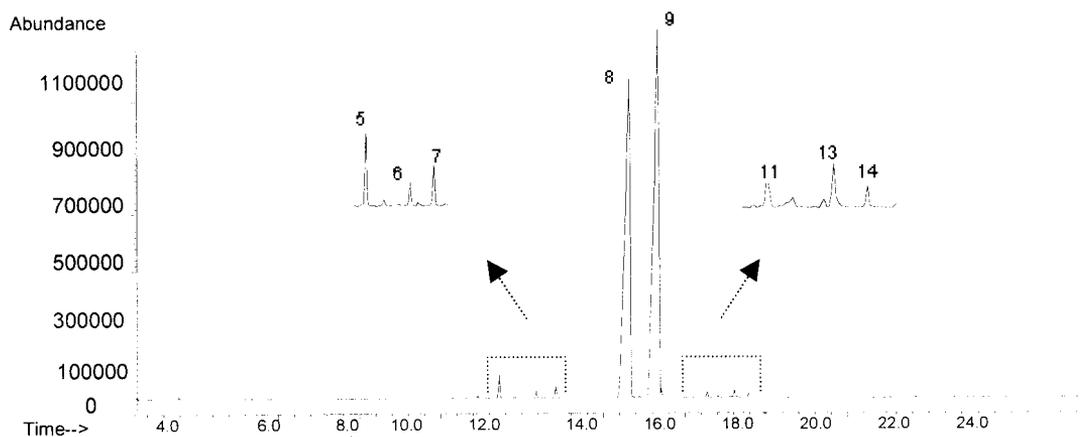


Figura 18 – Cromatograma do linalol livre (A), oxidado (B) e encapsulado (C)

A – Citral Livre



B – Citral Livre Oxidado



C – Citral Encapsulado

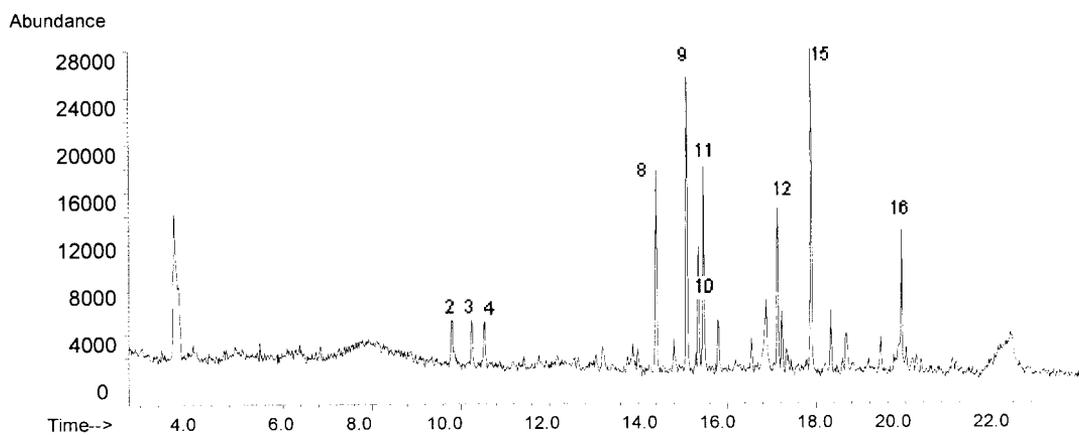


Figura 19 – Cromatograma do citral livre (A), oxidado (B) e encapsulado (C)

Tabela 5 – Compostos do óleo essencial de laranja livre (oxidado ou não) e encapsulado, identificados através da análise CG-EM e IR

COMPONENTES IDENTIFICADOS OU CARACTERIZADOS NO ÓLEO ESSENCIAL DE LARANJA *							
Pico	t _R (min)	IR	Substância	Identificação / Sugestão	Livre	Livre Oxidado	Encapsulado Oxidado
1	5,924	935	α-pineno	CG/EM, IR	X	X	-
2	7,021	976	sabineno	CG/EM, IR	X	X	-
3	7,460	993	mirreno	CG/EM, IR	X	X	-
4	8,720	1037	limoneno	CG/EM, IR	X	X	X
5	10,581	1102	linalol	CG/EM, IR	X	X	-
6	11,210	1125	p-ment-2,8(9)-dien-1-ol	CG/EM	X	X	X
7	11,580	1138	cis-óxido de limoneno	CG/EM, IR	X	X	X
8	11,720	1143	trans-óxido de limoneno	CG/EM, IR	X	X	X
9	12,799	1182	1,8-menta-dien-4-ol	CG/EM	X	X	-
10	13,336	1202	isodihidrocarveol	CG/EM	X	X	X
11	13,482	1208	ment-1,8-dien-3-ol	CG/EM	X	X	X
12	13,897	1225	trans-carveol	CG/EM, IR	X	X	X
13	14,189	1229	cis-carveol	CG/EM, IR	X	X	-
14	14,580	1254	carvona	CG/EM, IR	X	X	X
15	15,300	1284	álcool perílico	CG/EM, IR	-	-	X
16	16,600	1347	acetato de carveol	CG/EM, IR	-	-	X
17	17,100	1373	acetato de perillia	CG/EM, IR	-	-	X

t_R = tempo de retenção; coluna Ultra 2 (equivalente a DB5), cromatógrafo HP;

IR = Índice de Retenção calculado, coluna Ultra 2 (equivalente a DB5).

X = presente

- = não presente

* em consonância com a indicação do banco de dados acoplada ao equipamento utilizado

Tabela 6 – Compostos do linalol livre (oxidado ou não) e encapsulado, identificados através da análise CG-EM e IR

COMPONENTES IDENTIFICADOS OU CARACTERIZADOS NO LINALOL *							
Pico	t _R (min)	IR	Substância	Identificação / Sugestão	Livre	Livre Oxidado	Encapsulado Oxidado
1	8,89	1043	lavender lactona	CG/EM, IR	-	-	X
2	9,90	1078	cis-óxido de linalol	CG/EM, IR	-	X	X
3	10,36	1094	trans-óxido de linalol	CG/EM, IR	-	X	X
4	10,59	1113	linalol	CG/EM, IR	X	X	X
5	11,40	1132	plinol	CG/EM	X	X	-
6	12,55	1177	"esqueleto mentano"	EM	-	X	X
7	12,65	1191	"esqueleto mentano"	EM	-	X	X
8	13,14	1195	terpendiol I	CG/EM	-	X	X
9	15,19	1279	terpendiol II	CG/EM	-	X	-
10	16,99	1367	octatrienol	CG/EM	-	X	-

t_R = tempo de retenção : coluna Ultra 2 (equivalente a DB5), cromatógrafo HP;

IR = Índice de Retenção calculado, coluna Ultra 2 (equivalente a DB5).

X = presente

- = não presente

* em consonância com a indicação do banco de dados acoplada ao equipamento utilizado

Tabela 7 – Compostos do citral livre (oxidado ou não) e encapsulado, identificados através da análise CG-EM e IR

COMPONENTES IDENTIFICADOS OU CARACTERIZADOS NO CITRAL *							
Pico	t _R (min)	IR	Substância	Identificação / Sugestão	Livre	Livre Oxidado	Encapsulado Oxidado
1	3,61	834	?	CG/EM	X	X	X
2	9,81	1075	cis-óxido de linalol	CG/EM, IR	-	-	X
3	10,25	1090	trans-óxido de linalol	CG/EM, IR	-	-	X
4	10,55	1101	linalol	CG/EM, IR	-	-	X
5	11,48	1134	?		X	X	-
6	12,38	1167	?		X	X	-
7	12,87	1185	?		X	X	-
8	14,60	1255	neral (Z-citral)	CG/EM, IR	X	X	X
9	15,31	1284	geranial (E-citral)	CG/EM, IR	X	X	X
10	15,34	1285	Produto de oxidação com estrutura análoga ao óxido de linalol	CG/EM	-	-	X
11	15,46	1288	Estrutura isomérica do pico 10	CG/EM	-	X	X
12	17,13	1375	Análogo ao hidróxicitral	CG/EM	-	-	X
13	17,26	1381	Estrutura isomérica do pico 12	CG/EM	X	X	-
14	17,60	1399	?		X	X	-
15	17,89	1417	Esqueleto mentano oxidado	CG/EM	-	-	X
16	19,92	1541	Estrutura isomérica do pico 10	CG/EM	-	-	X

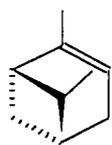
t_R = tempo de retenção : coluna Ultra 2 (equivalente a DB5), cromatógrafo HP;

IR = Índice de Retenção calculado, coluna Ultra 2 (equivalente a DB5).

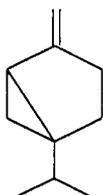
X = presente

- = não presente

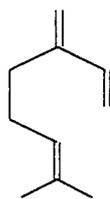
* em consonância com a indicação do banco de dados acoplada ao equipamento utilizado



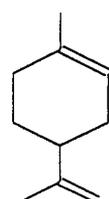
Pineno



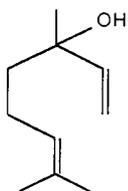
Sabineno



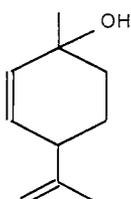
Mirreno



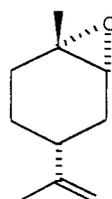
Limoneno



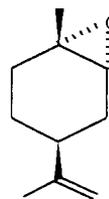
Linalol



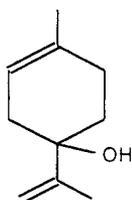
p-ment-2,8(9)-dien-1-ol



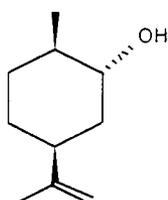
cis-óxido de limoneno



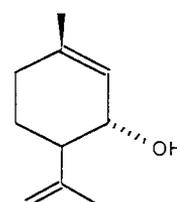
trans-óxido de limoneno



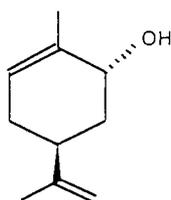
1,8-mentha-dien-4-ol



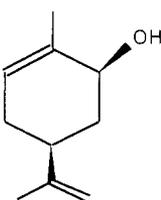
iso-diidrocarveol



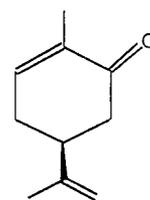
ment-1,8-dien-3-ol



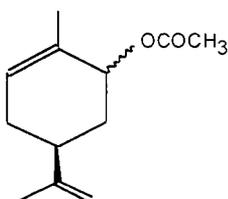
trans-carveol



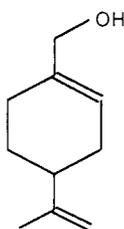
cis-carveol



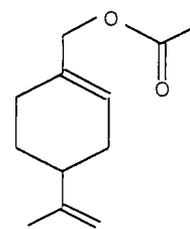
Carvona



acetato de carveol



álcool perílico

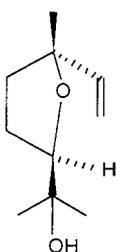


acetato de perilila

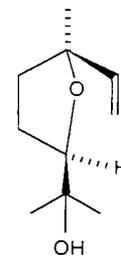
Figura 20 – Estruturas dos componentes, identificados ou sugeridos, do limoneno.



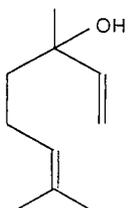
Lavender lactona



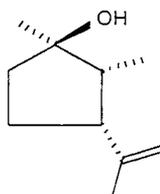
trans-óxido de linalol



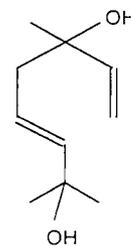
cis-óxido de linalol



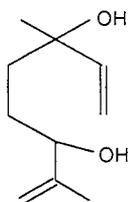
Linalol



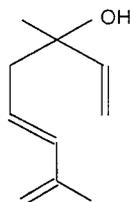
Plinol



Terpendiol I



Terpendiol II



3,7-dimetil-1,5,7-octatrien-3-ol

Figura 21 – Estruturas dos compostos, identificados ou sugeridos, do linalol.

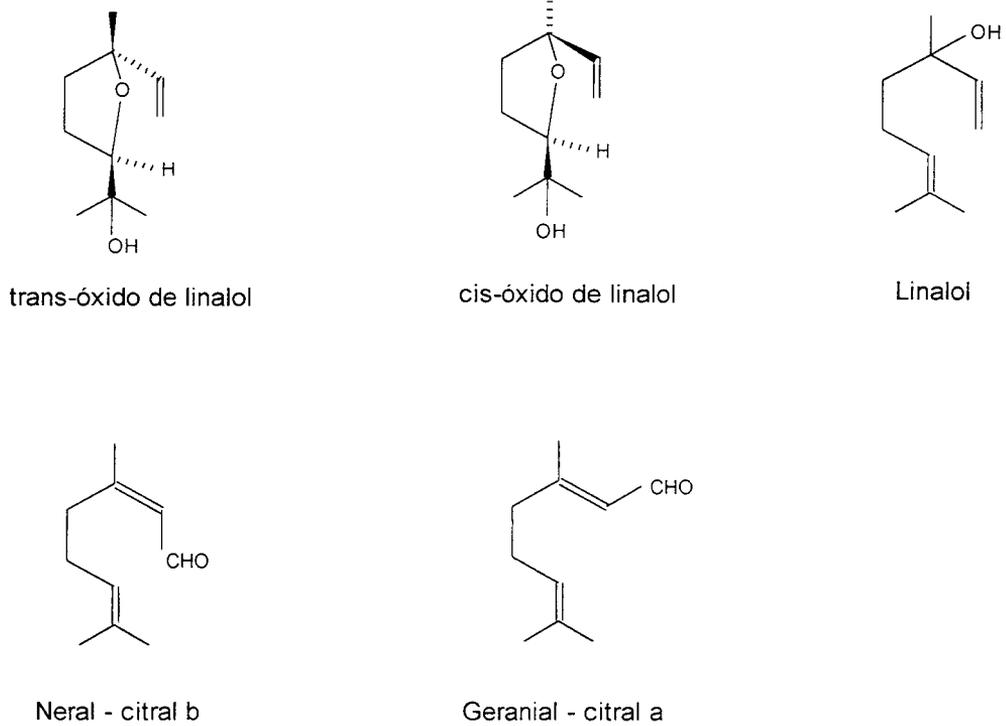


Figura 22 – Estruturas dos componentes, identificados ou sugeridos, do citral

7. Conclusões

As seguintes conclusões foram obtidas nesse trabalho:

- Independente da porcentagem de material encapsulado (limoneno, linalol ou citral) utilizado, a microscopia eletrônica de varredura indicou que as microcápsulas apresentaram morfologias externas similares, com cápsulas arredondadas, superfície dentada, sem fissuras ou poros aparentes. Os tamanhos médios de partículas variaram de 17,8 a 23,2 μm , as cápsulas que contêm limoneno apresentaram tamanhos médios ligeiramente maiores que o citral e o linalol. As distribuições apresentadas foram unimodais e a variação para a distribuição completa foi de 5 a 70 μm . Menores concentrações de recheio produziram maiores tamanhos médios de partículas.
- Os maiores índices de retenção de 91, 86 e 64% foram obtidos para o limoneno, citral e linalol respectivamente, quando a porcentagem de recheio foi igual a 10%. Óleo essencial de laranja utilizado como encapsulado apresentou melhor retenção em todos os níveis (10, 20 e 30%) de recheio.
- A estabilidade das cápsulas (50°C/33 dias) apresentou um perfil distinto para cada produto. As quantidades remanescente produtos encapsulados foram de 52,6; 25,0 e 70,9% para o limoneno, linalol e citral e de 18,7; 70,5 e 74,7% respectivamente para os produtos estocados livres. A encapsulação nas condições empregadas mostrou-se eficiente para o óleo essencial de laranja, uma vez que a quantidade de limoneno remanescente foi maior no encapsulado que no material livre, ineficiente para o linalol, já que foi observado o inverso do resultado obtido no limoneno, e indiferente para o citral, uma vez que a quantidade de material remanescente nos dois casos é muito próxima.

- De uma maneira geral, os resultados obtidos apontam para a conclusão de que a utilização da goma arábica como agente encapsulante resulta em alta retenção do limoneno e citral (52,6% e 70,9% respectivamente), o que é evidenciado pela variação da massa da substância encapsulada desde o término do processamento (tempo zero) até o período de 33 dias. Já o linalol apresentou comportamento inverso, tendo a taxa de retenção abaixo do experimento controle, o que pode ser explicado a partir de suas características químicas e propensão a sofrer reações no meio que contém goma arábica. Por outro lado o revestimento de goma arábica não foi suficiente para proteger os produtos encapsulados da oxidação gradativa. Isso ficou evidenciado no aumento de subprodutos, observado através dos cromatogramas dos encapsulados submetidos à oxidação por 33 dias. Uma tentativa de minimizar a oxidação seria o revestimento das cápsulas com outros materiais inertes, que pudesse prevenir tanto a penetração do oxigênio nas cápsulas, quanto a perda da substância para o meio

8. - Bibliografia

1. ABURTO, L.C.; TAVARES, D.Q.; MARTUCCI, E. T. Microencapsulação de óleo essencial de laranja. **Ciência Tecnologia de Alimentos**, Campinas, S.P., v.18, n.1, p.45-48, 1998.
2. ADAMS, R.P. Identification of essential oil components by gas chromatography /mass spectroscopy. Carol Stream – Illinois USA, Allured Publishing Corporation.
3. ANANDARAMAN, S.; REINECCIUS, G. A. Stability of encapsulated orange peel oil. **Food Technology**, Chicago, p.88-93, 1986.
4. ANANTHA, N.R.; MILFORD, A. H. Cyclodextrin complexed *flavors* retention in extruded starches. **Journal Food Science**, Chicago, v.62, p.1057-1060, 1997.
5. ANDRES, C. Encapsulation ingredients I. **Food Processing**, Chicago, v.38, n.12, p.44, 1977.
6. ANKER, M. H.; REINECCIUS, G. A. Encapsulated orange oil: Influence of air-dryer temperatures on retention and shelf life. In: **Flavor Encapsulation**; Risch, S. J., Reineccius, G.A., Eds. American Chemical Society: Washington, DC, p.78-86, 1988.
7. BAKAN, J. A. Microencapsulation of foods and related products. **Food Technology**, Chicago, p.34-44, 1973.

8. BANGS, W. E.; REINECCIUS G. A. Influence of dryer infeed matrices on the retention of volatile *flavor* compounds during spray drying **Journal of Food Science**, Chicago, v.47, p.254-259, 1981.
9. BANGS, W. E.; REINECCIUS G. A. Characterization of selected materials for lemon oil encapsulation by spray drying. **Journal of Food Science**, Chicago, v.55, p.1356-1358, 1990.
10. BAUER, K.; GARBE, D. Common fragrance and flavor materials. **Preparation, properties and uses**. VCH ed. 1985
11. BLENFORD, D. Fully protected. **Food, flavouring, ingredients, processing, packaging**, v.8, n.7, p.43, 1986.
12. BHANDARI, B. R.; DUMOULIN, E. D.; RICHARD, H. M. J.; NOLEAU, I.; LEBERT, A. M. Flavor Encapsulation by spray drying: application to citral and linalyl acetate. **Journal of Food Science**, Chicago, v.57, n.1, p.217-221, 1992.
13. BRENNER, J.; HENDERSON, G. H.; BERGENSTEN, R. W. U. S. Patent 3,971,852, 1976.
14. CHANG, H. C.; ORIEL, P. Bioproduction of Perillyl Alcohol and related monoterpenes by isolates of *Bacillus stearothermophilus* **Journal of Food Science**, Chicago, v.59, n.3, p.660-662, 1994.
15. CHANG, Y. I.; SCIRE, J.; JACOBS, B. Effect of particle size and microstructure properties on encapsulated orange oil. In: **Flavor Encapsulation**; Risch, S. J., Reineccius, G.A., Eds. American Chemical Society, Washington, DC p.87-102, 1988.

16. COULIBALY, K.; JEON, I. J. An overview of solid-phase extraction of food *flavor* compounds and chemical residues. **Food Ver. Int.**, v.12, n.1, p.131-151, 1996.
17. EMBERGER, R. in "Flavor '81" ed. P.Schreier, W. de Gruyter, New York, p.620, 1981.
18. ERICKSON, R. E. The industrial importance of monoterpenes and essential oils. Givaudan Corporation, Clifton, N.J. p.8-20, 1976.
19. FLINK, J.; KAREL, M. Retention of organic volatiles in freeze-dried solutions of carbohydrates. **Journal Agriculture and Food Chemistry**, Easton, v.18, n.2, p.295-297, 1970.
20. GOODWIN, J. T.; SOMERVILLE, G. R. Physical methods for preparing microcapsules - Critical Reviews. In **Food Technology**, Chicago, v.2, n.2. p.155-163, 1971.
21. GOUBET, I.; LE QUERE, J. -L.; VOILLEY, A. J. Retention of aroma compounds by carbohydrates: influence of their physicochemical characteristics and of their physical state, A review. **Journal Agriculture and Food Chemistry**, Easton, v.46, p.1981-1990, 1998.
22. GROSCH, W.; SCHIEBERLE, P. Identification of flavour compounds formed during deterioration of lemon oil. **Flavor Science and Technology**, p.119-125, 1987.
23. GUENTHER, E. The constituents of essential oils In **The essential oils**. v.2, Eds Krieger Publishing Company Malabar, Florida, 1975.

24. HEATH, H. B.; REINECCIUS, G. A. *Flavor and its study*. **Flavor Chemistry and Technology**, 1986.
25. KIECKBUSH, T. G.; KING, C.J. Volatiles loss during atomization in spray drying. **Aiche Journal**, New York, v.26, n.5, p.718-725, 1980.
26. KIEFER, H. Exploração de plantas aromáticas e óleos essenciais. In: **Simpósio de Óleos Essenciais**, 1 Ed. Campinas: Fundação Cargill, p.15-20, 1986
27. KIM, Y. D.; MORR, C. V. Microencapsulation properties of gum arabic and several food proteins: spray-dried orange oil emulsion particles. **Journal Agriculture food Chemistry**, Easton, v.44, p.1314-1320, 1996.
28. KING, A. H. Encapsulation of food ingredients. In: **Encapsulation and Controlled Release of Food Ingredients**; Risch, S. J., Reineccius, G.A., Eds. American Chemical Society, Washington, DC, p.26-37, 1993.
29. LABROUSSE, S.; ROOS, Y.; KAREN, M. Collapse and crystallization in amorphous matrixes with encapsulated compounds. **Science Aliments**, v.12, p.757-769, 1992.
30. LARA, W. H. Legislação brasileira sobre o uso de óleos essenciais em alimentos. In: **Simpósio de Óleos Essenciais**, 1 Ed. Campinas: Fundação Cargill, p.163-167, 1986
31. MAARSE, H. Isolation, separation and identification of volatile compounds in aroma reseach. Berlin: Akademie-Verlag, 1985.
32. MAGALHÃES, M. T. Composição química de óleos essencias. In: **Simpósio de Óleos Essenciais**, 1 Ed. Campinas: Fundação Cargill, p.21-25, 1986

33. MENTING, L. C.; HOOGSTAD, B. Volatiles retention during the drying of aqueous carbohydrate solutions. **Journal Food Science**, Chicago, v.32, p.87-90, 1967.
34. REINECCIUS, G. A.; COULTER, S.T. Flavor retention during drying. **Journal Dairy Science**, Champaign, v.52, n.8, p.1219-1223, 1969.
35. REINECCIUS, G. A. Spray-Drying of food flavors. In: **Flavor Encapsulation**; Risch, S. J., Reineccius, G.A., Eds. American Chemical Society, Washington, DC, p.55-66, 1988.
36. REINECCIUS, G. A. Flavor Encapsulation. **Food Review Int.**, St. Paul, v.5, n.2, p.147-176, 1989.
37. REINECCIUS, G. A. Carbohydrates for Flavor Encapsulation. **Food Technology**, Chicago, p.144-146, 1991.
38. REINECCIUS, G. A. Controlled release techniques in the food industry In: **Encapsulation and Controlled Release of Food Ingredients**; Risch, S. J., Reineccius, G.A., Eds. American Chemical Society, Washington, DC, p.26-37, 1995.
39. RISCH, S.J.; REINECCIUS, G. A. Spray-dried orange oil: effect of emulsion size on *flavor* retention and shelf stability. In: **Flavor Encapsulation**; Risch, S. J., Reineccius, G.A., Eds. American Chemical Society, Washington, DC, p.67-77, 1988.
40. ROSENBERG, M.; KOPELMAN, I. J.; TALMON, Y. A scanning electron microscopy study of microencapsulation. **Journal of Food Science**, Chicago, v.50, p.139-144, 1985.

41. ROSENBERG, M.; TALMON, Y.; KOPELMAN, I. J. The microstructure of spray-dried microcapsules. **Food Microstructure**, v.7, p.15-23, 1988.
42. ROSENBERG, M.; KOPELMAN, I. J.; TALMON, Y. Factors affecting retention in spray-drying microencapsulation of volatile materials. **Journal Agriculture food Chemistry**, Easton, v.38, p.1288-1294, 1990.
43. RULKENS, W. H.; THIJSEN, H. A. C. The retention of organic volatiles in spray-drying aqueous carbohydrate solutions. **Journal Food Technology**, Chicago, v.7, n.1, p.95-105, 1972.
44. SHAHIDI, F.; HAN, X. Q. Encapsulation of food ingredients. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Cleveland, v.33, n.6, p.501-547, 1993.
45. SHEU, T-I.; ROSENBERG, M. Microstructure of microcapsules consisting of whey proteins and carbohydrates. **Journal of Food Science**, Chicago, v.63, p.491-494, 1998.
46. THEVENET, F. Acacia Gums: Stabilizers for Flavor Encapsulation. In: **Flavor Encapsulation**; Risch, S. J., Reineccius, G.A., Eds. American Chemical Society, Washington, DC, p.37-44, 1988.
47. THEVENET, F. Acacia gums: natural encapsulation agent for food ingredients. In: **Encapsulation and Controlled Release of Food Ingredients**; Risch, S. J., Reineccius, G.A., Eds. American Chemical Society, Washington, DC, p.51-59, 1995.
48. THIES, C. How to make microcapsules combined lecture and laboratory manual St. Louis, Missouri, 1995.

49. TOOD, R. D. Microencapsulation and the Flavor Industry. **Flavor Industry**, London, v.1, n.11, p.768, 1970.
50. TRINDADE, M. A. Microencapsulação de ácido ascórbico e avaliação de sua funcionalidade na estabilidade da cor em produtos cárneos curados. Campinas, 1998. Tese de mestrado – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, 65 p.
51. TRUBIANO, P. C.; LACOURSE, N. L. Emulsion –stabilizing starches. In: **Flavor Encapsulation**; Risch, S. J., Reineccius, G.A., Eds. American Chemical Society, Washington, DC, p.43-54, 1988.
52. VERSIC, R. J. Flavor Encapsulation: An overview. In: **Flavor Encapsulation**; Risch, S. J., Reineccius, G.A., Eds. American Chemical Society, Washington, DC, p.1-6, 1988.
53. VOILLEY, A. Flavor Encapsulation influence of encapsulation media on aroma retentive during drying. In: **Encapsulation and Controlled Release of Food Ingredients**; Risch, S. J., Reineccius, G.A., Eds. American Chemical Society, Washington, DC, p.169-179, 1995.
54. WESTING, L. L.; REINECCIUS, G. A.; CAPORASO, F. Shelf Life of Orange Oil. In **Flavor Encapsulation**; Risch, S. J., Reineccius, G.A., Eds. American Chemical Society, Washington, DC, p.110-121, 1988.
55. WHORTON, C. Factors influencing volatile release from encapsulation matrixes, In: **Encapsulation and Controlled Release of Food Ingredients**; Risch, S. J., Reineccius, G.A., Eds. American Chemical Society, Washington, DC, p.134-144, 1995.

56. WHORTON, C.; REINECCIUS, G. A. Evaluation of the mechanisms associated with the release of encapsulated flavor materials from maltodextrin matrixes. In: **Encapsulation and Controlled Release of Food Ingredients**; Risch, S. J., Reineccius, G.A., Eds. American Chemical Society, Washington, DC, p.143-160, 1995.
57. ZHAO, J.; WHISTLER, R. L. Spherical aggregates of starch granules as flavor carriers. **Food Technology**, Chicago, v.48, n.7, p.104-105, 1994.

ANEXO I

Anexo I – Dados (em mg/ml) da variação de óleo de laranja, linalol e citral, durante o estudo de estabilidade, avaliados cromatograficamente

Materiais Encapsulados (mg/ml)			
Dias	Limoneno	Linalol	Citral
0	5,2400	3,3871	3,8911
0	5,1321	3,7165	3,6174
Médias	5,1861	3,5518	3,7543
Percentual	100,00%	100,00%	100,00%
6	5,0110	3,2321	3,7147
6	4,9330	3,7665	3,5460
Médias	4,9720	3,4993	3,6304
Percentual	95,87%	98,52%	96,70%
12	5,8327	3,1555	3,7490
12	5,7268	3,5418	3,5978
Médias	5,7798	3,3487	3,6734
Percentual	111,45%	94,28%	97,85%
19	4,6857	3,1814	3,8884
19	4,3163	3,3109	3,6909
Médias	4,5010	3,2462	3,7897
Percentual	86,79%	91,39%	100,94%
26	3,6810	1,4505	2,7241
26	4,1438	1,2430	2,8493
Médias	3,9124	1,3468	2,7867
Percentual	75,44%	37,92%	74,23%
33	2,8756	0,8917	2,6563
33	2,5830	0,8847	2,6665
Médias	2,7293	0,8882	2,6614
Percentual	52,63%	25,01%	70,89%