



TANARA SARTORI

**“INCORPORAÇÃO DE ANTIOXIDANTE
MICROENCAPSULADO EM FILME DE AMIDO DE
BANANA VERDE”**

CAMPINAS

2014



UNICAMP

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

TANARA SARTORI

**“INCORPORAÇÃO DE ANTIOXIDANTE
MICROENCAPSULADO EM FILME DE AMIDO DE
BANANA VERDE”**

Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de Mestra em Engenharia de Alimentos.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Florencia Cecilia Menegalli

**ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL
DA DISSERTAÇÃO DEFENDIDA PELA ALUNA
TANARA SARTORI E ORIENTADA PELA
PROF^ª DR^ª FLORENCIA CECILIA MENEGALLI.**

CAMPINAS
2014

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Engenharia de Alimentos
Márcia Regina Garbelini Sevillano - CRB 8/3647

Sartori, Tanara, 1989-
Sa77i Incorporação de antioxidante microencapsulado em filme de amido de banana verde / Tanara Sartori. – Campinas, SP : [s.n.], 2014.

Orientador: Florencia Cecilia Menegalli.
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1. Vitamina C. 2. Microencapsulação. 3. Filmes comestíveis. I. Menegalli, Florencia Cecilia. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Incorporation of microencapsulated antioxidant into starch film of unripe banana

Palavras-chave em inglês:

Vitamin C

Microencapsulation

Edible films

Área de concentração: Engenharia de Alimentos

Titulação: Mestra em Engenharia de Alimentos

Banca examinadora:

Florencia Cecilia Menegalli [Orientador]

Franciele Maria Pelissari Molina

Wanderley Pereira de Oliveira

Data de defesa: 24-03-2014

Programa de Pós-Graduação: Engenharia de Alimentos

BANCA EXAMINADORA

Profª Drª Florencia Cecilia Menegalli

Orientadora

Profª Drª Franciele Maria Pelissari Molina

Membro Titular

UFVJM – ICT/EA

Prof Dr Wanderley Pereira de Oliveira

Membro Titular

USP – FCF

Profª Drª Miriam Dupas Hubinger

Membro Suplente

UNICAMP – DEA/FEA

Prof Dr Theo Guenter Kieckbush

Membro Suplente

UNICAMP – FEQ

RESUMO

A microencapsulação de aditivos alimentícios é uma alternativa para que a sua liberação ocorra de forma controlada, entre outros benefícios, sendo o *spray chilling* uma técnica de microencapsulação interessante no que diz respeito a materiais de recheio hidrofílicos. A incorporação de aditivos microencapsulados em filmes de polissacarídeo surge como uma nova proposta, a fim de estabilizá-los e liberá-los em condições específicas para o alimento sobre o qual será aplicado. O objetivo do trabalho foi produzir micropartículas lipídicas contendo ácido ascórbico e incorporá-las em filme de amido de banana verde da variedade “Terra”. As micropartículas foram produzidas com misturas dos ácidos graxos láurico e oleico em diferentes proporções, como material de parede. A proporção entre o material de parede e o material de recheio também variou. As micropartículas produzidas foram caracterizadas quanto à eficiência de encapsulação total e efetiva, distribuição de tamanho e perfil de liberação. As micropartículas incorporadas nos filmes foram escolhidas a partir da cinética de liberação (maior liberação, menor liberação e liberação intermediária). Os filmes foram produzidos pelo método de *casting* e caracterizados quanto à umidade, densidade, propriedades mecânicas, cor e opacidade, fração solúvel em água, permeabilidade ao vapor de água e propriedades antioxidantes. O efeito nas propriedades ópticas de maçãs revestidas com cobertura de filmes de amido de banana com micropartículas de ácido ascórbico, também foi avaliado. As características das micropartículas foram mais influenciadas pela proporção entre os ácidos graxos utilizados como material de parede, do que pela proporção entre material de parede e material de recheio. As micropartículas produzidas apresentaram altos valores de eficiência de microencapsulação total, sem diferença significativa entre os experimentos ($p > 0,05$). Os valores de eficiência de encapsulação efetiva e os diâmetros médios das partículas foram diretamente proporcionais à quantidade de ácido oleico presente na mistura. A análise de liberação do recheio em água mostrou que as partículas com quantidade intermediária de ácido oleico no material de parede (20 %) proporcionaram melhor retenção do recheio que os demais ensaios, com liberação de apenas 37 ± 6 % ao final de 2 h. Os filmes aditivados com as micropartículas lipídicas apresentaram menor permeabilidade ao vapor de água, maior resistência à tração e menor alongamento na ruptura, quando comparados ao controle adicionado de ácido ascórbico não encapsulado. As micropartículas atuaram como agentes protetores da atividade antioxidante durante o processo de obtenção dos filmes. As coberturas contendo micropartículas retardaram o

escurecimento enzimático das maçãs, mostrando a importância da proteção do ácido ascórbico pela microencapsulação.

Palavras-chave: Ácido ascórbico. Microencapsulação. Filme biodegradável. Vitamina C. Filmes comestíveis.

ABSTRACT

Microencapsulation of food additives is an alternative to their controlled release, among other advantages. Spray chilling can be used when the additives are hydrophilic active ingredients. The incorporation of microencapsulated additives in polysaccharide-based film arise as a new proposal in order to stabilize and release them in specific conditions for the food on which will be applied. The objective was to produce lipid microparticles containing ascorbic acid and incorporate them into film starch isolated from plantain bananas of the variety "Terra". The microparticles were produced using mixtures of lauric and oleic fatty acids in different proportions, as lipid carrier. The ratio between the lipid carrier and core material was also varied. The microparticles produced were characterized for total encapsulation efficiency and effective encapsulation efficiency, size distribution and release kinetic in water. The particles were chosen from the release profile for incorporation in the films (higher release, lower release and intermediate release). The films were produced by casting and characterized regarding moisture, density, mechanical properties, color and opacity, water solubility, permeability to water vapor and antioxidant properties. The effect on the optical properties of coated apples with banana starch coating containing microparticles of ascorbic acid was also evaluated. The characteristics of the microparticles were more influenced by the ratio of the fatty acids used as lipid carrier, than by the ratio between the lipid carrier and core material. The microparticles produced higher values of total microencapsulation efficiency without significant difference between experiments ($p > 0.05$). The values of effective encapsulation efficiency and particle average diameters were directly proportional to the amount of oleic acid present in the mixture. The analysis of core release in water showed that the particles with intermediate amount of oleic acid in the lipid carrier (20 %) showed improved retention of the core than the other tests, releasing just 37 ± 6 % after 2 h. Films additivated with lipid microparticles showed lower water vapor permeability, higher tensile strength and lower elongation when compared to control added ascorbic acid unencapsulated. The microparticles acted as protective agents of the antioxidant activity of ascorbic acid during the process of production of films. Coatings containing microparticles retarded the enzymatic browning of apples, showing the importance of the protection of ascorbic acid by microencapsulation.

Keywords: Ascorbic acid. Microencapsulation. Biodegradable film. Vitamin C. Edible films.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	1
OBJETIVOS	3
OBJETIVO GERAL.....	3
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	3
 CAPÍTULO 1.....	 5
<hr/>	
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	
<hr/>	
1.1 MICROENCAPSULAÇÃO	5
1.1.1 Técnicas de microencapsulação	6
<i>1.1.1.1 Spray chilling.....</i>	<i>7</i>
1.1.2 Material de parede e mecanismos de liberação	10
<i>1.1.1.2 Lipídios</i>	<i>11</i>
1.1.3 Material ativo	13
<i>1.1.1.3 Antioxidantes</i>	<i>13</i>
1.2 FILMES BIODEGRADÁVEIS	15
1.2.1 Filmes a partir de amido.....	15
1.2.2 Incorporação de aditivos em filmes	16
 CAPÍTULO 2.....	 19
<hr/>	
MICROENCAPSULAÇÃO DE ÁCIDO ASCÓRBICO POR <i>SPRAY</i>	
<i>CHILLING</i> UTILIZANDO MISTURAS DE ÁCIDOS GRAXOS COMO	
MATERIAL DE PAREDE	
<hr/>	
RESUMO	19

2.1 INTRODUÇÃO.....	20
2.2 MATERIAL E MÉTODOS	21
2.2.1 Material	22
2.2.2 Descrição do equipamento.....	22
2.2.3 Métodos de análise	24
2.2.3.1 <i>Determinação do teor de ácido ascórbico</i>	<i>24</i>
2.2.3.2 <i>Determinação da composição em ácidos graxos</i>	<i>25</i>
2.2.4 Termogramas das misturas lipídicas.....	25
2.2.5 Ensaio preliminares	26
2.2.5.1 <i>Métodos de dispersão do ácido ascórbico no material de parede</i>	<i>26</i>
2.2.5.2 <i>Condições de ensaio para obtenção das partículas lipídicas utilizando diferentes métodos de dispersão do ácido ascórbico no material de parede.....</i>	<i>27</i>
2.2.6 Obtenção das micropartículas lipídicas contendo antioxidante	28
2.2.7 Caracterização das micropartículas lipídicas.....	30
2.2.7.1 <i>Eficiência de encapsulação total (ET)</i>	<i>30</i>
2.2.7.2 <i>Determinação da quantidade de ácido ascórbico superficial (AA_S).....</i>	<i>30</i>
2.2.7.3 <i>Eficiência de encapsulação efetiva (EE).....</i>	<i>31</i>
2.2.7.4 <i>Distribuição de tamanho e diâmetros médios das partículas</i>	<i>31</i>
2.2.7.5 <i>Cinética de liberação do recheio.....</i>	<i>32</i>
2.2.7.6 <i>Modelagem cinética de liberação do recheio.....</i>	<i>32</i>
2.2.7.7 <i>Comportamento térmico das partículas</i>	<i>33</i>
2.2.7.8 <i>Morfologia das partículas</i>	<i>34</i>
2.2.8 Análise estatística	34
2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
2.3.1 Caracterização da matéria-prima	35
2.3.1.1 <i>Composição em ácidos graxos</i>	<i>35</i>
2.3.1.2 <i>Termogramas das misturas lipídicas.....</i>	<i>36</i>
2.3.1.2.1 <i>Comportamento térmico das misturas de ácido láurico e oleico</i>	<i>36</i>
2.3.1.2.2 <i>Comportamento térmico das misturas de ácido esteárico e oleico</i>	<i>41</i>
2.3.2 Ensaio preliminares	46
2.3.2.1 <i>Métodos de dispersão do ácido ascórbico no material de parede</i>	<i>46</i>

2.3.2.2 Condições de ensaio para obtenção das partículas lipídicas utilizando diferentes métodos de dispersão do ácido ascórbico no material de parede.....	47
2.3.3 Obtenção das micropartículas lipídicas contendo antioxidante	48
2.3.4 Caracterização das micropartículas	51
2.3.4.1 Eficiência de encapsulação	51
2.3.4.2 Distribuição de tamanho e diâmetros médios das partículas	54
2.3.4.3 Cinética de liberação do recheio.....	61
2.3.4.4 Modelagem cinética de liberação do recheio.....	64
2.3.4.5 Comportamento térmico das partículas	67
2.3.4.6 Morfologia das partículas	70
2.4 CONCLUSÃO	72
 CAPÍTULO 3.....	 73
<hr/>	
INCORPORAÇÃO DE MICROPARTÍCULAS LIPÍDICAS CONTENDO	
ÁCIDO ASCÓRBICO EM FILME DE AMIDO DE BANANA VERDE	
<hr/>	
RESUMO	73
3.1 INTRODUÇÃO.....	74
3.2 MATERIAL E MÉTODOS	75
3.2.1 Matéria-prima para obtenção dos filmes	75
3.2.2 Caracterização da matéria-prima	75
3.2.2.1 Umidade	75
3.2.2.2 Teor de amilose	75
3.2.2.3 Análise de cor do amido	75
3.2.2.4 Distribuição de tamanho	76
3.2.3 Obtenção dos filmes	76
3.2.4 Caracterização dos filmes.....	78
3.2.4.1 Espessura e densidade.....	78
3.2.4.2 Umidade	79
3.2.4.3 Morfologia dos filmes.....	79

3.2.4.4 <i>Propriedades mecânicas: Tensão, alongamento na ruptura e módulo secante (teste de tração)</i>	79
3.2.4.5 <i>Fração solúvel em água</i>	81
3.2.4.6 <i>Permeabilidade ao vapor de água (PVA)</i>	81
3.2.4.7 <i>Propriedades ópticas dos filmes</i>	82
3.2.4.8 <i>Método de análise da atividade antioxidante</i>	83
3.2.4.9 <i>Determinação da atividade antioxidante presente na solução filmogênica</i>	84
3.2.4.10 <i>Determinação do conteúdo total de antioxidante presente no filme</i>	84
3.2.4.11 <i>Liberação e degradação do ácido ascórbico, presente nos filmes, em meio aquoso</i>	84
3.2.5 Efeito na cor de maçãs revestidas com coberturas de amido de banana verde incorporadas de micropartículas lipídicas contendo ácido ascórbico	85
3.2.6 Análise estatística	87
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	88
3.3.1 Caracterização da matéria-prima	88
3.3.1.1 <i>Umidade, teor de amilose e propriedades de cor</i>	88
3.3.1.2 <i>Distribuição de tamanho</i>	89
3.3.2 Caracterização dos filmes	90
3.3.2.1 <i>Espessura, densidade e teor de umidade dos filmes</i>	90
3.3.2.2 <i>Aparência e morfologia dos filmes</i>	91
3.3.2.3 <i>Propriedades mecânicas</i>	94
3.3.2.4 <i>Permeabilidade ao vapor de água e fração solúvel em água</i>	96
3.3.2.5 <i>Propriedades ópticas dos filmes</i>	98
3.3.2.6 <i>Liberação e degradação do ácido ascórbico pelos filmes em meio aquoso</i>	99
3.3.3 Efeito na cor de maçãs revestidas com coberturas de amido de banana verde incorporadas de micropartículas lipídicas contendo ácido ascórbico	102
3.4 CONCLUSÃO	108
CONCLUSÕES GERAIS	109

SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	111
REFERÊNCIAS	113
APÊNDICE 1	123

***“A mente que se abre a uma nova ideia
jamais voltará ao seu tamanho original”***

(Albert Einstein)

DEDICATÓRIA

*Aos meu pais, Jerônimo e Lucí, e aos meus irmãos,
Jeancarlo e Carlana, que são a base de tudo,
pelo grande amor e apoio.
Mesmo a distância, sempre perto de mim.
Amo vocês!*

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela dádiva da vida, pela oportunidade de chegar até aqui e pelas infinitas bênçãos em minha vida, por estar sempre comigo e me mostrar o caminho.

À Profª Drª Florencia Cecilia Menegalli pela orientação deste trabalho e pelo constante apoio e confiança. Obrigada também por ter enriquecido meu conhecimento, contribuindo para a minha formação profissional e pessoal.

Aos membros da banca examinadora, composta pelas professoras Drª Franciele Maria Pelissari e Drª Miriam Dupas Hubinger e os professores Dr Wanderley Pereira de Oliveira e Dr Theo Guenter Kieckbush, pela atenção com que corrigiram este trabalho e pelas valiosas sugestões.

À Unicamp por abrir suas portas para realização do mestrado e ao Departamento de Engenharia de Alimentos da Faculdade de Engenharia de Alimentos por disponibilizar todo o necessário para a realização desta pesquisa.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão de minha bolsa de mestrado.

Às funcionárias do laboratório de Engenharia de Processos (LEP) da FEA-UNICAMP Zildene e Patrícia, por todo o apoio.

Aos funcionários da Secretaria do DEA, Frederico, Mauro e Reinaldo por sua disposição e atenção.

Aos meus pais, Lucí e Jerônimo, por todo o apoio e incentivo e principalmente pelo enorme carinho e amor incondicionais.

Ao meu irmão, minha cunhada e minha afilhada linda, Jean, Flávia e Maria Eduarda e à minha irmã e meu cunhado, Carlana e Maurício, pela amizade e amor.

Ao meu companheiro e parceiro de todas as horas, Caco, pela paciência, conselhos, incentivo e por todo o carinho.

À Helo, irmã de coração, pela parceria, amizade, sorrisos, choros, dias de estudo e festas (que ninguém é de ferro). Sem você aqui teria sido muito mais difícil.

Às minhas amadas amigas de sempre e para sempre, Mariana, Laura, Fernanda, Daniela, Aline, Morgana, Juliana, Elenizi e Tamires, pela torcida, incentivo, horas de conversa e os conselhos valiosos. Distantes, mas dentro do meu coração.

Às pessoas que encontrei aqui, hoje meus queridos amigos, Larissa, Davi e Guilherme por tornarem as coisas mais leves.

Às demais orientadas da Flor, Kaliana, Talita, Fran e Lady, por todo o apoio, contribuição e amizade.

Enfim, a todos que de alguma forma contribuíram, diretamente ou indiretamente, para a realização deste trabalho e para o meu desenvolvimento pessoal e profissional.

Muito obrigada!

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

Figura 1.1 - Diagrama esquemático de estruturas obtidas pelo processo de microencapsulação.....	6
--	---

CAPÍTULO 2

Figura 2.1 - Etapas do desenvolvimento dos experimentos	21
Figura 2.2 - Princípio de funcionamento do Mini <i>spray dryer</i> Büchi-B290 com módulo de <i>spray chilling</i>	22
Figura 2.3 - Diagrama esquemático do funcionamento do desumidificador Büchi-B296..	23
Figura 2.4 - <i>Spray drier</i> Büchi-B290 com módulo de <i>spray chilling</i> (a) e desumidificador Büchi-B296 (b)	24
Figura 2.5 - Diagrama de obtenção das micropartículas lipídicas contendo ácido ascórbico	29
Figura 2.6 - Termogramas de fusão das misturas de ácido láurico (AL) e ácido oleico (AO)	36
Figura 2.7 - Termogramas de cristalização das misturas de ácido láurico (AL) e ácido oleico (AO)	39
Figura 2.8 - Termogramas de fusão das misturas de ácido esteárico (AE) e ácido oleico (AO)	41
Figura 2.9 - Termogramas de cristalização das misturas de ácido esteárico (AE) e ácido oleico (AO)	44
Figura 2.10 - Micropartículas lipídicas de ácido ascórbico produzidas por <i>spray chilling</i> .	50
Figura 2.11 - Dendrograma para micropartículas lipídicas contendo ácido ascórbico correlacionando a eficiência de encapsulação total e efetiva e a quantidade de AAs	52
Figura 2.12 - Distribuição de tamanho das micropartículas produzidas em relação ao número de partículas nas diferentes proporções de ácidos graxos na mistura de material de parede e com proporção de AG/AA: 80/20, ensaios 1, 4 e 7 (a); AG/AA: 75/25, ensaios 2, 5 e 8 (b); e AG/AA: 70/30, ensaios 3, 6 e 9 (c).	56

Figura 2.13 - Distribuição de tamanho das micropartículas produzidas em relação ao volume das partículas nas diferentes proporções de ácidos graxos na mistura de material de parede e com proporção de AG/AA: 80/20, ensaios 1, 4 e 7 (a); AG/AA: 75/25, ensaios 2, 5 e 8 (b); e AG/AA: 70/30, ensaios 3, 6 e 9 (c).	57
Figura 2.14 - Dendrograma para micropartículas lipídicas contendo ácido ascórbico correlacionando os diâmetros médios e a distribuição de tamanho.....	60
Figura 2.15 - Percentual de ácido ascórbico liberado pelas micropartículas lipídicas em meio aquoso em função do tempo a 25 °C	63
Figura 2.16 - Cinética de liberação do ácido ascórbico pelas micropartículas lipídicas em meio aquoso, seguindo a modelagem cinética modificada de Ritger-Peppas (1987).	66
Figura 2.17 - Termogramas de fusão das micropartículas dos ensaios 3, 5 e 6, selecionadas para incorporação nos filmes.....	69
Figura 2.18 - Imagens obtidas por microscopia óptica das micropartículas lipídicas dos ensaios 3 (3a e 3b), 5 (5a e 5b) e 6 (6a e 6b). Onde a corresponde ao aumento de 100 vezes e b ao aumento de 400 vezes	71

CAPÍTULO 3

Figura 3.1 - Diagrama de fluxo de obtenção dos filmes.....	77
Figura 3.2 - Esquema do corpo de prova utilizado no teste de tração.....	80
Figura 3.3 - Esquema do teste de tração aplicado ao filme. a) No começo do teste a uma distância inicial (Di); b) O filme tensionado antes da ruptura; c) Uma vez produzida a ruptura a uma distancia final (Df).....	80
Figura 3.4 - Esquema do dispositivo utilizado para a determinação da permeabilidade ao vapor de água.....	82
Figura 3.5 - Corte e disposição das maçãs analisadas	86
Figura 3.6 - Distribuição de tamanho do amido de banana verde	89
Figura 3.7 - Aparência dos filmes FC, FCA, FP3, FP5 e FP6	92
Figura 3.8 - Imagens obtidas por microscopia óptica dos filmes FC, FCA, FP3, FP5 e FP6. Onde a corresponde ao aumento de 100 vezes e b ao aumento de 400 vezes	93
Figura 3.9 - Propriedades mecânicas do filme controle e dos demais filmes produzidos...	95

Figura 3.10 - Efeito da adição de micropartículas na fração solúvel em água e permeabilidade ao vapor de água dos filmes (PVA)	97
Figura 3.11 - Percentual de atividade antioxidante em meio aquoso, em função do tempo	101
Figura 3.12 - Maçãs dos diferentes ensaios (SC, CC, CAA, CPC e CP) avaliadas quanto à cor no tempo 5 h	103
Figura 3.13 - Mudança no parâmetro de cor a^* das fatias de maçãs revestidas com diferentes coberturas.....	105
Figura 3.14 - Mudança no parâmetro de cor b^* das fatias de maçãs revestidas com diferentes coberturas.....	106

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1.1 - Características de micropartículas encapsuladas por <i>spray chilling</i>	9
Tabela 1.2 - Características de alguns ácidos graxos comuns	12
Tabela 1.3 - Efeito de filmes produzidos com a adição de antioxidantes diversos	18

CAPÍTULO 2

Tabela 2.1 - Misturas analisadas por DSC.....	26
Tabela 2.2 - Métodos de dispersão do ácido ascórbico na mistura de material de parede ..	27
Tabela 2.3 - Ensaios realizados para obtenção das partículas lipídicas utilizando diferentes métodos de dispersão do ácido ascórbico no material de parede	27
Tabela 2.4 - Condições de obtenção das micropartículas.....	28
Tabela 2.5 - Composição em ácidos graxos das matérias-primas	35
Tabela 2.6 - Comportamento térmico de fusão dos ácidos graxos oleico e láurico comerciais e suas misturas.....	37
Tabela 2.7 - Comportamento térmico de cristalização dos ácidos graxos oleico e láurico comerciais e suas misturas.....	40
Tabela 2.8 - Comportamento térmico de fusão dos ácidos graxos oleico e esteárico puros e suas misturas.....	43
Tabela 2.9 - Comportamento térmico de cristalização dos ácidos graxos oleico e esteárico puros e suas misturas	45
Tabela 2.10 - Análise visual da suspensão de ácido ascórbico (5 % m/m) na mistura de material de parede AL/AO: 70/30	46
Tabela 2.11 - Eficiência de encapsulação das micropartículas produzidas com a suspensão do ácido ascórbico	47
Tabela 2.12 - Condições de temperatura e umidade de obtenção das micropartículas por <i>spray chilling</i> e rendimento do processo	49
Tabela 2.13 - Eficiências de encapsulação total e efetiva e ácido ascórbico superficial das micropartículas produzidas por <i>spray chilling</i>	51
Tabela 2.14 - Diâmetros médios e distribuição de tamanho das micropartículas lipídicas ..	58

Tabela 2.15 - Comportamento de liberação do recheio das micropartículas lipídicas	61
Tabela 2.16 - Cinética de liberação do ácido ascórbico das micropartículas lipídicas.....	64
Tabela 2.17 - Comportamento térmico das micropartículas selecionadas para aplicação nos filmes	69

CAPÍTULO 3

Tabela 3.1 - Composição dos filmes de amido de banana verde aditivados e do filme controle	78
Tabela 3.2 - Experimentos realizados para análise da cor de maçãs recobertas.....	86
Tabela 3.3 - Umidade, teor de amilose e parâmetros de cor do amido de banana verde	88
Tabela 3.4 - Espessura, densidade e teor de umidade dos filmes produzidos com e sem adição de micropartículas	90
Tabela 3.5 - Propriedades ópticas do filme controle e dos demais filmes produzidos.....	98
Tabela 3.6 - Atividade antioxidante das soluções formadoras de filme (SFF) e dos filmes após a secagem	100
Tabela 3.7 - Mudanças nos parâmetros de cor de fatias de maçãs revestidas com diferentes coberturas durante 8 h.....	104

INTRODUÇÃO

As características de produtos alimentares, tais como vida útil, qualidade e preservação dependem muito do tipo de material de embalagem empregado, visto que é um fator determinante para a difusão de gases, umidade, gordura e aromas, entre outros. Portanto, inúmeras pesquisas têm sido realizadas com o propósito de obter embalagens ambientalmente corretas, a partir de fontes renováveis, que preservem a qualidade dos alimentos por mais tempo (ATARÉS, PEREZ-MASIA e CHIRALT, 2011).

Os filmes e coberturas podem ser produzidos a partir de biopolímeros, tais como polissacarídeos, proteínas e lipídios, capazes de produzir matrizes contínuas (SHOJAEE-ALIABADI et al., 2013). Dentre os polissacarídeos, o amido recebe atenção especial por apresentar baixo custo, ser abundante e renovável. Além disso, está presente sob várias formas em função da origem da matéria-prima gerando diferentes alternativas a serem pesquisadas na área de filmes (ANDRADE-MAHECHA, 2012).

Bananas verdes possuem alto conteúdo de amido, que diminui com processo de amadurecimento. A polpa seca da banana verde pode conter de 70 a 80 % de amido. O amido é composto por amilose e amilopectina, diferentes entre si em estrutura e peso molecular. A amilose é um componente linear com peso molecular menor do que o da amilopectina, e possui propriedade de formar filmes. O amido de banana possui alta quantidade de amilose em sua composição, em comparação com amidos de outras fontes (batata, milho e trigo) (ZAMUDIO-FLORES, GUTIERREZ-MERAZ e BELLO-PÉREZ, 2011; PELISSARI et al., 2013).

Os filmes e as coberturas, além de apresentarem propriedades de barreira contra a difusão (umidade, gases e voláteis), também podem ser carreadores eficazes de aditivos alimentares, incluindo agentes antioxidantes, vitaminas, corantes, agentes antimicrobianos e aromas, melhorando assim a integridade do alimento sobre os quais são aplicados (FARIAS et al., 2012).

As embalagens ativas se mostram uma inovação no conceito de embalagem de alimentos. Elas têm se apresentado como uma alternativa às contínuas mudanças na demanda dos consumidores por alimentos de qualidade e nas tendências de mercado. A incorporação de aditivos alimentares pode melhorar as propriedades funcionais de filmes e

coberturas comestíveis e aumentar seu uso potencial na preservação de alimentos, tais como frutas minimamente processadas (BONILLA et al., 2013).

O ácido ascórbico é um aditivo alimentar utilizado como antioxidante, o qual protege as qualidades sensoriais e nutritivas dos alimentos e pode ser incorporado a filmes aumentando as propriedades funcionais dos mesmos. Este, porém, apresenta alta instabilidade e reatividade, degradando-se rapidamente por diferentes mecanismos (BASTOS, ARAÚJO e LEÃO, 2009).

O método mais usualmente utilizado para a estabilização de compostos sensíveis e para a liberação controlada de componentes ativos, na indústria de alimentos é a microencapsulação. A liberação controlada permite superar tanto a utilização ineficiente quanto a perda dos aditivos durante as etapas do processamento e o armazenamento do produto (DESAI, LIU e PARK, 2006).

A microencapsulação é um processo em que pequenas partículas sólidas, gotículas líquidas ou moléculas de gás são revestidas por um material de parede, ou incorporadas em uma matriz homogênea ou heterogênea. Esta técnica apresenta várias vantagens dentre as quais se destacam a proteção ao oxigênio e à umidade, resultando em maior estabilidade, aumento da biodisponibilidade e liberação controlada do recheio, e a redução da higroscopicidade de produtos hidrofílicos, pela encapsulação em materiais de parede hidrofóbicos (ABBAS et al., 2012).

O *spray chilling* é uma técnica em destaque na microencapsulação de materiais hidrofílicos, pois utiliza lipídios como materiais de parede, os quais apresentam características hidrofóbicas. Além disso, é um método de baixo custo e que utiliza baixas temperaturas de processo, ideal para compostos termossensíveis (ANAL, 2010).

Neste contexto, o objetivo do trabalho foi produzir e adicionar micropartículas lipídicas contendo antioxidante (ácido ascórbico), microencapsulado por *spray chilling*, em biofilme produzido a partir de amido de banana verde.

OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL

Produzir micropartículas lipídicas contendo ácido ascórbico, por *spray chilling* e sua incorporação em filme de amido de banana verde.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Microencapsular ácido ascórbico por *spray chilling* utilizando como material de parede misturas de ácidos graxos (ácido láurico e ácido oleico);
- b) Caracterizar as micropartículas produzidas;
- c) Produzir filmes de amido de banana verde adicionados das micropartículas contendo antioxidante;
- d) Avaliar as propriedades dos filmes de amido de banana verde contendo os antioxidantes microencapsulados e comparar com as propriedades dos filmes produzidos sem aditivos e com adição de ácido ascórbico não encapsulado;
- e) Aplicar coberturas de amido de banana verde contendo micropartículas encapsuladas com ácido ascórbico em maçãs e avaliar o efeito de inibição do escurecimento enzimático.

Capítulo 1

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 MICROENCAPSULAÇÃO

A microencapsulação é uma técnica que consiste no envolvimento de pequenas partículas de uma substância por uma membrana. Esta membrana, que forma a cápsula, é denominada de agente encapsulante, material de cobertura ou de parede, o material encapsulado é chamado de recheio ou núcleo, o qual pode ser sólido ou líquido (GAMBOA, 2011). As micropartículas produzidas por este processo podem variar de 1 μm a 1000 μm de tamanho, mas geralmente são inferiores a 200 μm (ABBAS et al., 2012).

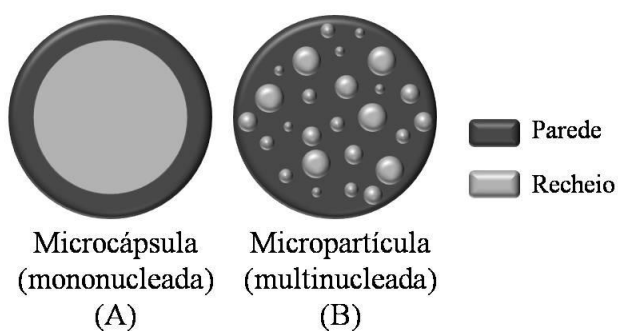
As principais finalidades do processo de microencapsulação são proteger os ingredientes ativos das condições adversas do ambiente, tais como luz, umidade e oxigênio, tornando-os mais estáveis, e liberá-los de forma controlada sob condições específicas, como mudança de pH, mastigação ou aplicação de calor (TRINDADE, 1998; ABBAS et al., 2012).

A microencapsulação também tem sido utilizada visando melhorar a incorporação em sistemas secos, simplesmente pela conversão de líquidos em sólidos, mascarar compostos de sabor indesejável, promover melhor solubilidade do núcleo, bem como proteger materiais higroscópicos da umidade (MOREIRA, 2007; RÉ, SANTANA e D'ÁVILA, 2009). Os atributos funcionais das micropartículas dependem de vários fatores, tais como, o material de parede, o material de recheio, o método de encapsulação empregado e o meio em que estas serão utilizadas (GAMBOA, 2011).

A encapsulação é uma técnica que pode ser aplicada a muitos materiais utilizados na indústria alimentícia, dentre os quais se destacam ácidos, bases, óleos, vitaminas, sais, gases, aminoácidos, óleos essenciais, corantes, enzimas e microrganismos (FAVARO-TRINDADE, PINHO e ROCHA, 2008; RUIZ, 2011). Para obter êxito no desenvolvimento de materiais encapsulados é necessário considerar vários itens, que devem ser claramente definidos, como as características moleculares dos ingredientes, o tipo de revestimento, o

tamanho da partícula, as condições de processamento e a função pretendida (RÉ, SANTANA e D'ÁVILA, 2009).

O tipo de partícula produzida influencia na quantidade de recheio carregado e no comportamento de liberação do mesmo. A forma das micropartículas pode variar conforme a composição e método utilizado para produção das mesmas. Existem dois tipos básicos de estruturas, as quais são classificadas conforme a distribuição do recheio. A microcápsula possui estrutura simples, mononucleada e é conhecida como sistema de “reservatório”, na qual o recheio está envolvido por uma fina película do material encapsulante (Figura 1.1A). A outra (microesfera ou micropartícula) conhecida como sistema de matriz, possui uma estrutura do tipo “esponja”, em que várias partículas de recheio estão dispersas por uma matriz contínua de material de parede conforme apresentado na Figura 1.1B (DESAI e PARK, 2005; RÉ, SANTANA e D'ÁVILA, 2009; GAMBOA, 2011).



Fonte: (DESAI e PARK, 2005)

Figura 1.1 - Diagrama esquemático de estruturas obtidas pelo processo de microencapsulação

1.1.1 Técnicas de microencapsulação

Muitas técnicas podem ser utilizadas na microencapsulação de antioxidantes, como o ácido ascórbico e o ácido cítrico, entre elas destacam-se *spray drying* (TRINDADE e GROSSO, 2000; PIERUCCI et al., 2006), *spray chilling* (SCHROOYEN, MEER e KRUIF, 2001; ANAL, 2010; GAMBOA, GONÇALVES e GROSSO, 2011), revestimento em leito fluidizado (WILSON e SHAH, 2007), lipossoma (KIRBY et al., 1991) e extrusão (CHANG et al., 2010). Porém, não existe um método totalmente eficaz de estabilização para todas as

condições a que estes possam ser submetidos. Cada uma das técnicas tem vantagens e limitações, as quais variam dependendo das condições de encapsulação, das características físicas e químicas do bioativo e do mecanismo de liberação do componente ativo desejado (CHANG et al., 2010; ABBAS et al., 2012).

1.1.1.1 *Spray chilling*

O *spray chilling*, também conhecido como *spray cooling* ou *spray congealing*, é uma técnica de encapsulação simples e de baixo custo, que utiliza compostos hidrofóbicos como material de parede (LEONEL et al., 2010). Devido à característica hidrofóbica dos encapsulantes as micropartículas produzidas por este método são insolúveis em água o que, consequentemente, torna esta técnica viável para a encapsulação de compostos hidrofílicos, como o ácido ascórbico (PEGG e SHAHIDI, 2007; ABBAS et al., 2012).

O método de encapsulação por *spray chilling* consiste na dispersão do ingrediente ativo no material encapsulante liquefeito, seguido pela emulsificação da dispersão e posterior atomização em uma câmara à temperatura específica, abaixo do ponto de fusão do material de parede utilizado, produzindo as cápsulas por solidificação rápida em contato com o ar ou N₂, sem necessidade de tratamento adicional (CHAMBI et al., 2008; ABBAS et al., 2012). Na aplicação dessa técnica não ocorre transferência de massa por evaporação das gotículas atomizadas, assim, esferas quase perfeitas são obtidas (DESAI e PARK, 2005; PEGG e SHAHIDI, 2007).

O emprego de condições controladas (temperatura, agitação e tempo) na obtenção da emulsão é necessário para a produção das micropartículas, visto que a viscosidade da mistura é muito importante, pois influencia na distribuição de tamanho das partículas. O desempenho do processo de produção depende rigorosamente da eficiência de atomização da mistura, que depende da configuração do sistema de atomização, vazão de alimentação e pressão de atomização para uma distribuição apropriada das partículas (GAMBOA, 2011).

O mecanismo de liberação do ingrediente ativo das cápsulas produzidas por *spray chilling* não ocorre somente em função do aumento da temperatura, visto que há uma quantidade de material de recheio na superfície das partículas. O processo de liberação se inicia assim que o material encapsulado é colocado em contato com o produto a que se

destina e, além disso, mecanismos tais como, forças osmóticas e de difusão, e ruptura mecânica das partículas desempenham um papel significativo na cinética de liberação do ingrediente ativo (GOUIN, 2004).

As principais desvantagens da utilização desta técnica estão relacionadas à baixa capacidade de encapsulação, à possibilidade de parte do núcleo manter-se sobre a superfície da partícula e de que ocorra expulsão do núcleo devido aos característicos rearranjos polimórficos de materiais lipídicos. Por outro lado, pode ocorrer liberação incompleta do composto ativo devido à forte ligação que se forma entre a matriz e o recheio. Também podem ser obtidas partículas revestidas de formas e tamanhos desiguais, devido ao revestimento desigual causado pelas condições de atomização (LEONEL et al., 2010; ABBAS et al., 2012).

A Tabela 1.1 mostra, porém, que muitos autores obtiveram alta eficiência de encapsulação e liberação controlada do recheio com o emprego do *spray chilling* na encapsulação de diferentes ingredientes ativos.

Tabela 1.1 - Características de micropartículas encapsuladas por *spray chilling*

Material de Parede	Ingrediente ativo	Surfactante	P _{atom}	T _{atm} / T _{sol} (°C)	Morfologia	EE (%)	D _{partícula} (µm)	Perfil de liberação	Referência
Ácido esteárico + ácido oleico + gordura vegetal hidrogenada (GVH) (2:1:1)	Glicose	Lecitina de soja	0,1 MPa	70/10	Partículas esféricas Superfície rugosa e contínua Sem rachaduras ou buracos	78 - 98	25 - 32	10 - 60 % em 120 min	(LEONEL et al., 2010)
a) Ácido esteárico + ácido oleico (50/50 %) b) Ácido esteárico + ácido láurico (57/43 %)	1) Glicose 2) Caseína 3) Caseína hidrolisada	Triestearato de sorbitano	0,1 MPa	70/10	a-b.3) Partículas esféricas com superfície rugosa	a.1) 76,4 - 100 b.1) 77,6 - 100 a-b.2-3) ≈100	a.1) 12.6 - 24.4 b.1) 12.3 - 21.4 a-b.2-3) 12.9 - 21.7	a.1) 50 % em 127,6 min b.1) 50 % em 5,9 min a.2) 29,3 - 55,2 % em 120 min b.2) 0 - 6,1 % em 120 min a.3) 43,6 - 58,4 % em 120 min b.3) 24,6 - 49,4 % em 120 min	(CHAMBI et al., 2008)
Gordura interesterificada de óleo de algodão e de óleo de palma totalmente hidrogenado + Óleo de soja totalmente hidrogenado (OSTH) (70/30 %)	α-tocoferol	-	0,25 MPa	65/10	-	90,0 - 95,8	-	-	(GAMBOA, GONÇALVES e GROSSO, 2011)
Gordura interesterificada com palma e palmiste	1) <i>Bifidobacterium lactis</i> 2) <i>Lactobacillus acidophilus</i>	Lecitina de soja	0,98 kPa	48/10	Partículas esféricas Superfície rugosa	-	1) 40.3 2) 126,9	-	(PEDROSO et al., 2012)
a) Cetanol b) Ácido esteárico c) Precirol® ATO 5 d) Cutina® HR e) Cera de carnaúba	Felodipina	-	0,7 MPa	400/25	a) Partículas esféricas com superfície extremamente rugosa b) Partículas esféricas com superfície rugosa c.d.e) Partículas esféricas com superfície lisa	-	a) 30.3 b) 28.6 c) 26.5 d) 29.7 e) 29.5	a.b.c) < 25 % em 7 h d) > 80 % em 7 h e) 62 % em 7 h	(SAVOLAINEN et al., 2002)
Ácido esteárico + ácido oleico (variando-se a proporção entre estes)	Glicose	Lecitina de soja	0,12 MPa	60; 61; 63 e 65/ 0	Partículas esféricas Superfície rugosa e contínua	75,1 - 96,9	81.4 - 115.6	≈ 30 % em 120 min	(RIBEIRO, ARELLANO e GROSSO, 2012)

P_{atom}: Pressão de atomização; T_{atm}: Temperatura de atomização; T_{sol}: Temperatura de solidificação; EE: eficiência de encapsulação

1.1.2 Material de parede e mecanismos de liberação

Segundo Desai e Park (2005), a liberação controlada pode ser definida como um método através do qual um ou mais agentes ativos são disponibilizados em local e tempo desejado a uma taxa específica.

A liberação controlada do recheio pode melhorar a eficácia dos aditivos alimentares, aumentar o campo de aplicação de ingredientes e assegurar uma dosagem ótima dos mesmos (GOUIN, 2004). Os principais mecanismos de liberação do material de recheio são a difusão, a ruptura mecânica (mastigação), a dissolução, a biodegradação, a permeabilidade seletiva e por variação da temperatura e pH (TRINDADE, 1998; FAVARO-TRINDADE, PINHO e ROCHA, 2008).

O controle sobre a liberação dos ingredientes ativos das micropartículas está diretamente ligado às características do encapsulante, tais como espessura, porosidade, estrutura química, tamanho e solubilidade, visto que estas características determinam a difusividade e a permeabilidade do núcleo através do material de parede (GAMBOA, 2011). Favaro-Trindade et al. (2008) destacam que a espessura da cobertura da micropartícula pode ser modificada de forma que a estabilidade e a permeabilidade sejam alteradas.

A composição do material de parede é fator determinante das propriedades funcionais das micropartículas e de como serão usadas para melhorar o desempenho do ingrediente ativo. Portanto, a escolha do agente encapsulante é uma etapa muito importante e depende de uma série de fatores (DESAI e PARK, 2005; ROSSAN, 2011).

Um agente encapsulante ideal deve apresentar as seguintes características:

- a) Boas propriedades reológicas a altas concentrações;
- b) Facilidade no manuseio durante a encapsulação;
- c) Habilidade de dispersar ou emulsificar o material ativo e estabilizar a emulsão produzida;
- d) Não reagir com o material encapsulado e ser capaz de mantê-lo envolvido durante o processamento e armazenamento;
- e) Proporcionar máxima proteção do material ativo submetido a condições ambientes (oxigênio, calor, luz, umidade);

- f) Apresentar solubilidade em solventes aceitáveis na indústria de alimentos (água, etanol);
- g) Não reagir quimicamente com os materiais ativos do núcleo;
- h) Apresentar baixo custo.

Visto que nenhum material de revestimento possui individualmente todas essas propriedades, estes podem ser utilizados de forma combinada ou serem modificados pela incorporação de aditivos, tais como surfactantes (DESAI e PARK, 2005).

Os materiais de cobertura mais utilizados na microencapsulação de substâncias na área de alimentos são os carboidratos (amido, maltodextrinas, dextrano, amido modificado), a celulose (carboximetilcelulose, metilcelulose), as gomas (alginato de sódio, carragena), os lipídios (diacilgliceróis, monoacilgliceróis, óleos, gorduras, ceras, ácido triesteárico, ácidos graxos) e as proteínas (glúten, caseína, gelatina, albumina), visto que todos apresentam grande parte das características supracitadas (PEGG e SHAHIDI, 2007).

1.1.1.2 Lipídios

Os lipídios são definidos quimicamente como moléculas orgânicas apolares que ocorrem naturalmente e que, portanto, dissolvem-se em solventes orgânicos apolares, mas são insolúveis em água (MCMURRY et al., 2010). Entre os lipídios encontram-se os óleos e as gorduras, os quais se apresentam na forma líquida e sólida, respectivamente e são ésteres formados a partir de ácidos graxos, e ainda as ceras, as quais possuem ésteres formados a partir de ácidos graxos e alcoóis de cadeia longa como seus principais componentes (GAMBOA, 2011).

Os lipídios são, geralmente, derivados de ácidos graxos, os quais podem apresentar-se em forma de ésteres e, em menor quantidade, na forma de amida. O ácido graxo é um ácido carboxílico com cadeia alifática não ramificada, o qual pode ser saturado ou insaturado. Ácidos graxos naturais têm geralmente uma cadeia de 4 a 28 átomos de carbono (geralmente não ramificada e com números pares de átomos) com uma carboxila ao final (ARVANITOYANNIS et al., 2009).

Os ácidos graxos saturados são aqueles que não possuem ligações duplas entre carbonos, aqueles que as possuem são conhecidos como ácidos graxos insaturados. As

duplas ligações de óleos e gorduras naturais normalmente estão presentes na configuração *cis* (grupos estão do mesmo lado da ligação dupla) em vez de *trans* (grupos estão em lados opostos da ligação dupla) (MCMURRY et al., 2010).

A cadeia de um ácido graxo saturado em seu estado de menor energia normalmente se apresenta em uma conformação linear e flexível. Esta conformação linear permite um melhor empacotamento dos ácidos graxos saturados, fazendo com que as moléculas fiquem próximas umas das outras, aumentando a interação entre elas. Em contraste, os ácidos graxos insaturados contêm dobramentos rígidos em suas cadeias, pois as duplas ligações não giram, e uma angulação de 30 graus é produzida para cada uma das duplas ligações presentes (configuração *cis*). Neste caso a dupla ligação não permite um empacotamento tão eficiente das moléculas, fazendo com que as interações entre elas sejam menores. Em consequência disso, os ácidos graxos saturados possuem um ponto de fusão maior que os insaturados (GAMBOA, 2011). A Tabela 1.2 apresenta alguns lipídios e suas características.

Tabela 1.2 - Características de alguns ácidos graxos comuns

	Nome	Nº de carbonos	Duplas ligações	Fórmula condensada	Ponto de fusão (°C)
Saturados	Láurico	12	0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{COOH}$	44
	Mirístico	14	0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{COOH}$	58
	Palmítico	16	0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$	63
	Esteárico	18	0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$	70
Insaturados	Oléico	18	1	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$ (<i>cis</i>)	13
	Linoléico	18	2	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$ (todas <i>cis</i>)	-5
	Linolênico	18	3	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$ (todas <i>cis</i>)	-11
	Araquidônico	20	4	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_4\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$ (todas <i>cis</i>)	-50

Fonte: (MCMURRY et al., 2010)

Os lipídios têm recebido destaque como materiais de parede para encapsulação de bioativos solúveis em água, devido à sua capacidade em retardar a liberação destes em ambientes úmidos (ABBAS et al., 2012). Partículas lipídicas sólidas produzidas por *spray chilling* têm sido propostas como uma alternativa aos sistemas coloidais, emulsões e lipossomas, apresentando maior flexibilidade no que diz respeito ao ajuste do tamanho da

partícula desejada. Lipídios como fosfolipídios, triacilgliceróis, ceras, ácidos graxos ou suas misturas podem ser usados como material de parede para a produção de partículas sólidas (CHAMBI et al., 2008).

Durante o processo de solidificação e cristalização, os lipídios apresentam um fenômeno importante conhecido como polimorfismo, que é a capacidade de uma molécula de ter mais de uma forma cristalina, de acordo com o arranjo do núcleo do cristal. Devido a esta propriedade as partículas lipídicas sólidas podem mostrar baixa eficiência de encapsulação e expelir o núcleo durante o armazenamento (RIBEIRO, ARELLANO e GROSSO, 2012). Em consequência disso surgiu uma nova geração de partículas lipídicas, os carreadores lipídicos nanoestruturados (NLC), os quais são produzidos por misturas de lipídios sólidos com lipídios líquidos à temperatura ambiente, incompatíveis espacialmente, conduzindo a nanoestruturas especiais com melhor incorporação e liberação do recheio (MÜLLER, RADTKE e WISSING, 2002).

Ácidos graxos saturados, como o ácido esteárico, vem sendo utilizados como material de parede individualmente (SAVOLAINEN et al., 2002) ou juntamente com outros ácidos graxos tais como ácido oleico e láurico (CHAMBI et al., 2008; LEONEL et al., 2010; GAMBOA, GONÇALVES e GROSSO, 2011; RIBEIRO, ARELLANO e GROSSO, 2012), apresentando alta eficiência de encapsulação de ingredientes ativos com baixo peso molecular e características morfológicas de esfericidade e superfície, geralmente, rugosa e contínua (Tabela 1.1).

1.1.3 Material ativo

1.1.1.3 Antioxidantes

Os antioxidantes são definidos como todas as substâncias que podem proteger materiais contra a oxidação, independente do mecanismo de ação. (POKORNÝ, 2007). Estes podem ser classificados pelo mecanismo de ação em antioxidantes primários e secundários. Alguns antioxidantes apresentam mais de um mecanismo de ação e são reportados como antioxidantes de múltipla ação (REISCHE, LILLARD e EITENMILLER, 2002).

Os antioxidantes primários são aceptores de radicais livres que atrasam ou inibem a etapa da iniciação ou interrompem a etapa de propagação da oxidação. Os secundários agem através de numerosos mecanismos possíveis, os quais diminuem a taxa de oxidação, mas não convertem radicais livres em compostos mais estáveis (REISCHE, LILLARD e EITENMILLER, 2002).

Os compostos antioxidantes variam em antioxidantes naturais e sintéticos. Entre os sintéticos, aprovados para o uso em alimentos, encontram-se o butilhidroxianisol (BHA), o butilhidroxitolueno (BHT), a terc-butil-hidroquinona (TBHQ), o palmitato de ascorbil, o galato de propila (GP) e a etoxiquina. Os antioxidantes naturais comumente utilizados são os tocoferóis, os tocotrienóis, o ácido ascórbico, o ácido cítrico, os carotenóides e os antioxidantes enzimáticos (REISCHE, LILLARD e EITENMILLER, 2002; POKORNÝ, 2007).

O ácido ascórbico é muito atrativo como antioxidante devido a sua capacidade de doar átomos de hidrogênio, neutralizando radicais livres. Além disso, é um antioxidante muito seguro para a utilização em alimentos, não apresenta limite de uso, e é um produto de fonte natural. Pode atuar como antioxidante primário ou secundário com múltiplas funções, entre elas, eliminando oxigênio, mudando o potencial redox dos sistemas, atuando sinergicamente com os agentes quelantes, e regenerando antioxidantes primários (REISCHE, LILLARD e EITENMILLER, 2002; ABBAS et al., 2012). Este ácido e seus vários sais neutros são frequentemente utilizados como antioxidantes em frutas, hortaliças e sucos, visando à prevenção do escurecimento e outras reações oxidativas (FONTES et al., 2009).

Por outro lado, o ácido ascórbico é altamente solúvel em água (0,33 g/mL), oxidativo e de natureza reativa, podendo causar problemas de degradação e instabilidade em sistemas alimentares que os contêm, reagir com outros ingredientes e provocar alterações indesejáveis na cor e sabor do alimento (CHANG et al., 2010). Devido a sua natureza instável é necessário que o ácido ascórbico seja protegido das condições ambientes. A microencapsulação é a tecnologia mais comumente usada para estabilizar compostos sensíveis (ABBAS et al., 2012), sendo que segundo Schrooyen, Meer e Kruif (2001) o *spray chilling* é método mais interessante para a encapsulação de compostos

solúveis em água, visto que as micropartículas produzidas são hidrofóbicas, devido às características do material de parede.

Atarés, Perez-Masia e Chiralt (2011) produziram filmes a base de hidroxipropilmetilcelulose adicionados de ácido ascórbico e ácido cítrico não encapsulados, os quais apresentaram boa eficiência de barreira ao oxigênio. Da mesma forma, Ayrancy e Tunc (2003) incorporaram ácido ascórbico e ácido cítrico em filme comestível à base de celulose e observaram uma diminuição da permeabilidade ao oxigênio, bem como da reação de escurecimento, da atividade da polifenoloxidase e da perda de vitamina C de couve-flor e cogumelos cobertos por estes filmes.

1.2 FILMES BIODÉGRADÁVEIS

1.2.1 Filmes a partir de amido

O amido é um dos polissacarídeos mais abundantes na natureza. É uma matéria-prima amplamente disponível, de baixo custo, além de ser um recurso renovável (JIMÉNEZ et al., 2012). A estrutura do amido é formada por macromoléculas de amilose, que se apresenta na forma linear, e de amilopectina, altamente ramificada e de alto peso molecular. Dentre estes dois polímeros de amido, a amilose destaca-se na capacidade de formar filmes, devido a sua natureza linear (KRAMER, 2009).

A maioria dos amidos nativos possui estrutura semicristalina, com grau de cristalinidade de aproximadamente 20 a 45 %. As cadeias de ramificações curtas de amilopectina são os principais componentes cristalinos do amido. Assim, quanto maior o conteúdo de amilopectina, maior será a cristalinidade do grânulo de amido (JIMÉNEZ et al., 2012).

Os filmes e coberturas produzidos a partir de amido se destacam favoravelmente entre outras fontes alternativas, no que diz respeito à propriedade de barreira ao oxigênio e à absorção de umidade de forma lenta, em comparação com filmes obtidos de outras fontes de polissacarídeo (KRAMER, 2009).

Amidos de qualquer fonte, que contenham certo grau de amilose, são capazes de formar filmes sob condições adequadas (KRAMER, 2009). A utilização do amido de

banana possui grande potencial, devido as suas propriedades específicas e seu baixo custo. O amido é o principal componente de bananas verdes, que passa por mudanças importantes durante o amadurecimento. A polpa de banana verde contém até 70 a 80 % de amido em peso seco, podendo ser comparada ao percentual do endosperma do grão de milho e da batata de polpa branca. O conteúdo de amilose no amido de banana pode variar entre 16 % e 40 % (ZHANG et al., 2005).

Pelissari et al. (2013) em seus estudos compararam as propriedades de filmes produzidos a partir de amido e farinha de banana, e observaram que ambos apresentaram baixa solubilidade em água e baixa permeabilidade ao vapor de água. O filme de farinha obteve melhores propriedades mecânicas, mostrando que a presença de outros componentes na farinha de banana, tais como, proteínas, lipídios e fibras, influenciam nas propriedades do filme resultante.

1.2.2 Incorporação de aditivos em filmes

Os filmes e revestimentos comestíveis, além de funcionarem muito bem como barreiras parciais de vapor e de gases, podem ser ótimos carreadores de aditivos, tais como, agentes antioxidantes, antimicrobianos, aromatizantes, corantes e outras substâncias funcionais, os quais auxiliam na manutenção da qualidade e melhoram o valor nutricional das frutas e dos vegetais (MARTÍN-BELLOSO, ROJAS-GRAÜ e SOLIVA-FORTUNY, 2009; OLIVAS e BARBOSA-CÁNOVAS, 2009).

Os filmes e coberturas, quando utilizados para proporcionar mais que uma barreira ao ambiente externo, são chamados de embalagens ativas, as quais tem registrado grande consumo visando estender a vida de prateleira de alimentos minimamente processados. As embalagens ativas, diferentemente das embalagens convencionais de alimentos, protegem o produto alimentar, que as contém, de forma dinâmica. Alguns sistemas de embalagens ativas são capazes de interagir com o produto e/ou com o ambiente, e em resposta realizar funções desejáveis, tornando-as interessantes não apenas como função de proteção (OLIVAS e BARBOSA-CÁNOVAS, 2009; LIM, 2011).

A escolha do material utilizado para a produção dos filmes e/ou do aditivo a ser incorporado depende do objetivo desejado, bem como da natureza do produto alimentar e

da aplicação específica. A eficiência funcional dos filmes e revestimentos depende fortemente da natureza dos componentes do filme e de sua estrutura física. Antioxidantes podem ser incorporados em filmes, a fim de ficarem retidos sobre a superfície dos alimentos, onde a atuação é favorecida, uma vez que a oxidação é um fenômeno de superfície em contato com o ar (QUEZADA-GALLO, 2009).

Inúmeras pesquisas têm sido realizadas com a incorporação de aditivos com diferentes finalidades em matrizes diversas, a fim de avaliar o potencial sobre as propriedades dos filmes. Alguns trabalhos recentes de incorporação de antioxidantes em filmes são apresentados na Tabela 1.3.

A incorporação de substâncias com propriedade de liberação controlada do ingrediente ativo é uma tendência. A microencapsulação de compostos ativos com revestimentos comestíveis é uma técnica que pode ajudar a controlar sua liberação sob condições específicas, protegendo-os assim do calor, umidade ou outras condições extremas, e aumentando a sua estabilidade e viabilidade (ROJAS-GRAÜ, SOLIVA-FORTUNY e MARTÍN-BELLOSO, 2009). Não foram encontradas citações na literatura a respeito da incorporação de aditivos encapsulados em filmes e coberturas comestíveis, o que demonstra a necessidade e a importância da realização de estudos nessa área.

Tabela 1.3 - Efeito de filmes produzidos com a adição de antioxidantes diversos

Antioxidante	Quantidade incorporada	Material do filme	Aplicação	Efeito	Referência
Ácido ascórbico Ácido cítrico Óleo de gengibre	0,5 %	Hidroxipropilmetilcelulose	Amêndoas sem pele	A adição de antioxidantes foi efetiva contra a oxidação lipídica das amêndoas e reduziu a permeabilidade ao oxigênio dos filmes. Os filmes contendo ácido cítrico e ácido ascórbico tiveram uma mudança estrutural, visto que, apresentaram maior efeito de barreira ao oxigênio. Enquanto que os filmes contendo óleo de gengibre tiveram sua ação antioxidante restrita a ação química.	(ATARÉS, PEREZ-MASIA e CHIRALT, 2011)
Ácido ascórbico Ácido cítrico	3,3-16,67 %	Metil celulose	Cogumelos e couve-flor	A inclusão de ácido ascórbico e ácido cítrico no filme diminuiu a permeabilidade ao oxigênio. Quando aplicados sobre cogumelos e couve-flor reduziram as reações de escurecimento, a atividade da polifenoloxidase e as perdas de vitamina C dos alimentos.	(AYRANCI e TUNC, 2003)
Ácido ascórbico	20%	Alginato de sódio e amido - modificado	-	O filme mostrou-se uniforme, flexível e com coloração leitosa. Foi capaz de reter 25 % de ácido ascórbico durante seu desenvolvimento. A adição de vitamina C proporcionou uma redução significativa da resistência mecânica do filme, o qual apresentou uma matriz filmogênica contínua e com algumas irregularidades.	(BASTOS, ARAÚJO e LEÃO, 2009)
Polpa de acerola	34,0-85,4 %	Amido de mandioca	-	Os filmes foram visualmente homogêneos e de coloração alaranjada. Quando preparados a partir de soluções mais concentradas de polpa promoveram: maior espessura; maior permeabilidade ao vapor de água; maior deformação à tração; maior incorporação de vitamina C e beta-caroteno; menor solubilidade em água e menor resistência à tração e deformação à perfuração.	(FARIAS et al., 2012)
a) Ácido ascórbico + ácido cítrico b) Metabissulfito de sódio	a) 2; 3 e 5 % de cada b) 0,3; 0,5 e 1 %	Acetato de celulose	Batata fatiada	a) A mistura de ácido ascórbico e ácido cítrico foi efetiva no controle do escurecimento enzimático das batatas, agindo na inibição da enzima polifenoloxidase. b) O metabissulfito não atuou efetivamente na prevenção do escurecimento das batatas minimamente processadas.	(JUNQUEIRA et al., 2009)
Ácido cítrico e ácido ascórbico	1%	Alginato de sódio	Manga fatiada	A incorporação dos antioxidantes contribuiu para a retenção da cor das fatias de manga e melhorou o potencial antioxidante das mesmas. As fatias de manga podem ser armazenadas 12 dias a 4 °C sem danos às suas propriedades.	(ROBLES-SÁNCHEZ et al., 2013)

Capítulo 2

MICROENCAPSULAÇÃO DE ÁCIDO ASCÓRBICO POR *SPRAY CHILLING* UTILIZANDO MISTURAS DE ÁCIDOS GRAXOS COMO MATERIAL DE PAREDE

RESUMO

A microencapsulação por *spray chilling* é uma técnica que proporciona a estabilização de compostos sensíveis e a liberação controlada de componentes ativos, além de ser interessante no que diz respeito a materiais de recheio hidrofílicos. O objetivo deste capítulo foi produzir e caracterizar micropartículas lipídicas contendo ácido ascórbico, por *spray chilling*. Para a obtenção das micropartículas, misturas de ácido láurico (AL) e oleico (AO) foram utilizadas como material de parede, variando a proporção destes em 70/30, 80/20 e 90/10 (m/m), respectivamente. Diferentes proporções entre o material de parede e o material de recheio (solução de ácido ascórbico 30 %) também foram empregadas, variando em 70/30, 75/25 e 80/20 (m/m), respectivamente. As micropartículas foram caracterizadas quanto à eficiência de encapsulação total (ET) e efetiva (EE), à distribuição de tamanho e diâmetros médios, ao perfil de liberação do recheio e ao comportamento térmico. As micropartículas produzidas apresentaram altos valores de ET, variando de 89 ± 6 % a 98 ± 3 %, sem diferença significativa entre os experimentos ($p > 0,05$). Os valores de EE foram inversamente proporcionais à quantidade de AL na mistura, variando de 58 ± 3 % a 88 ± 6 %, assim como os diâmetros médios de volume ($D[4,3]$) das partículas, que apresentaram valores de 67 ± 3 μm e de 18 ± 1 μm nas partículas com menor e maior concentração de AL, respectivamente. A análise de liberação do recheio em água mostrou que as partículas com quantidade intermediária de AL retiveram melhor o recheio que os demais ensaios. As características das micropartículas foram mais influenciadas pela proporção entre os ácidos graxos utilizados como material de parede, que pela proporção entre material de parede e material de recheio.

2.1 INTRODUÇÃO

A vitamina C é um composto bioativo conhecido historicamente por sua função nutricional benéfica à saúde. Esta vitamina inclui um grupo de compostos que exibem a atividade biológica do ácido ascórbico, entre estes o L-ácido ascórbico, aditivo alimentar muito utilizado como antioxidante, por promover proteção das qualidades sensoriais e nutritivas dos alimentos. Esse aditivo, porém, apresenta alta instabilidade e reatividade, degradando-se rapidamente por diferentes mecanismos (BASTOS, ARAÚJO e LEÃO, 2009; ABBAS et al., 2012).

O método mais utilizado para a estabilização de compostos sensíveis e para a liberação controlada de componentes ativos na indústria de alimentos tem sido a microencapsulação, a qual consiste no revestimento de substâncias (recheio) por uma membrana (material de parede). (DESAI, LIU e PARK, 2006).

A técnica de microencapsulação apresenta várias vantagens, dentre as quais se destacam a proteção ao oxigênio e à umidade, resultando em maior estabilidade, aumento da biodisponibilidade e liberação controlada do recheio, e a redução da higroscopicidade de produtos hidrofílicos, pela encapsulação em materiais de parede hidrofóbicos. A liberação controlada permite superar tanto a utilização ineficiente, quanto a perda dos aditivos durante as etapas do processamento e o armazenamento do produto (ABBAS et al., 2012).

O *spray chilling* é uma técnica de microencapsulação simples e de baixo custo, que utiliza compostos hidrofóbicos como material de parede. Consequentemente, esta técnica tem se destacado na microencapsulação de materiais hidrofílicos, tais como, vitaminas, enzimas, acidulantes e alguns aromas (DESAI e PARK, 2005; ANAL, 2010).

Neste contexto, o objetivo do trabalho foi produzir e caracterizar micropartículas lipídicas contendo ácido ascórbico, por *spray chilling*.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

A sequência de atividades que foram realizadas para a encapsulação de ácido ascórbico e a caracterização das partículas obtidas estão descritas na Figura 2.1.

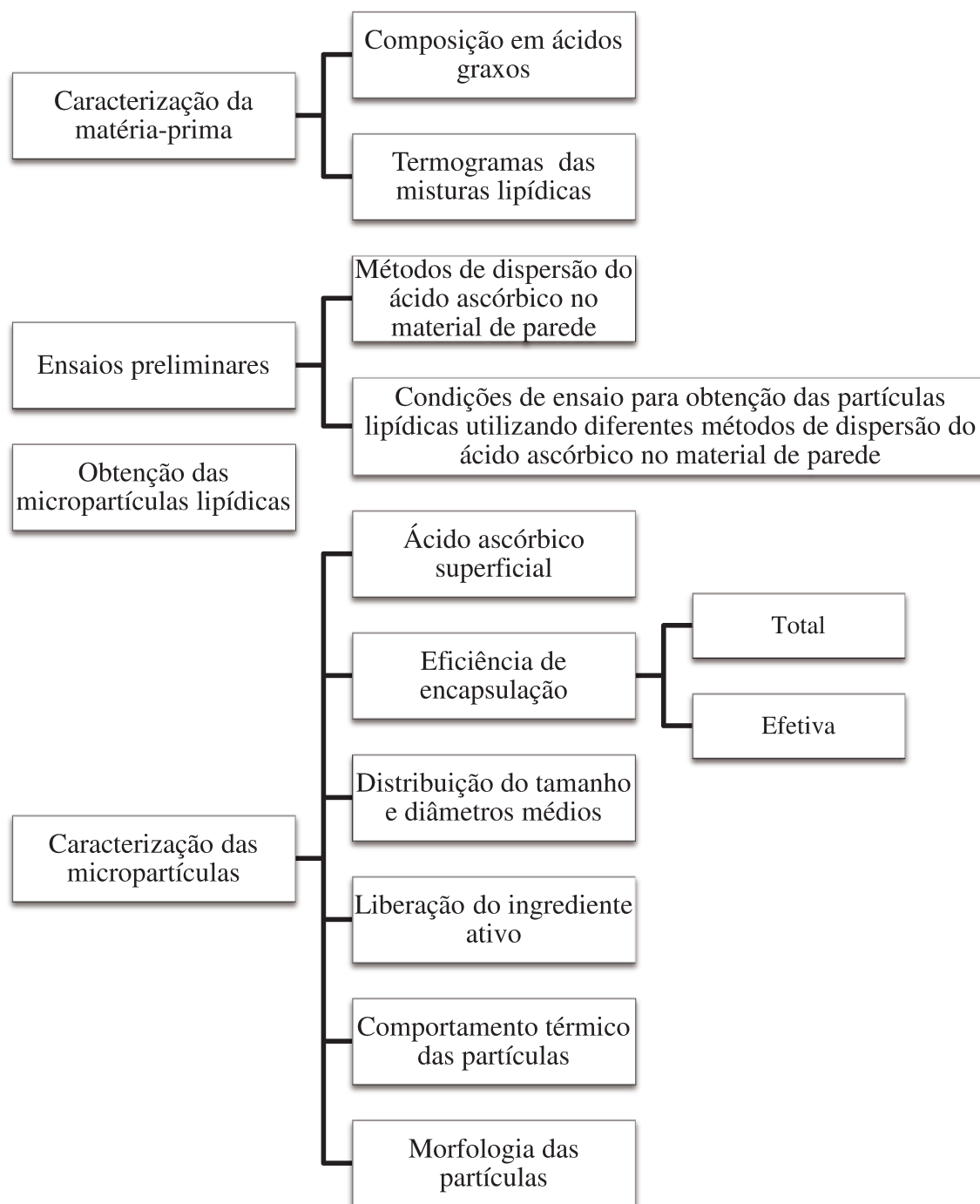


Figura 2.1 - Etapas do desenvolvimento dos experimentos

2.2.1 Material

Ácido láurico comercial, ácido esteárico comercial e ácido oleico comercial, todos da marca Dinâmica Química Contemporânea Ltda (SP); ácido ascórbico comercial da marca Synth (SP); surfactante poliricinoleato de poliglicerol (GRINSTED® PGPR 90 – Danisco), gentilmente cedido pela MasterSense Ing. Alim. Ltda (SP).

2.2.2 Descrição do equipamento

O equipamento utilizado para a obtenção das micropartículas foi o Mini *spray dryer* Büchi-B290 com módulo de *spray chilling* (Büchi, Uster, Switzerland). A Figura 2.2 apresenta o diagrama esquemático de funcionamento do equipamento, onde 1 é saída de ar frio do desumidificador Büchi-B296, apresentado na Figura 2.3, 2 é a entrada de ar no sistema, 3 é a entrada concêntrica de ar frio ao redor do bico de pulverização, 4 é câmara de resfriamento do *spray*, 5 é o ciclone que separa as partículas, 6 é o coletor, 7 é o filtro de saída, 8 é o aspirador para circular o ar através do sistema e 9 é o bico atomizador, por onde a amostra entra no sistema e é atomizada.

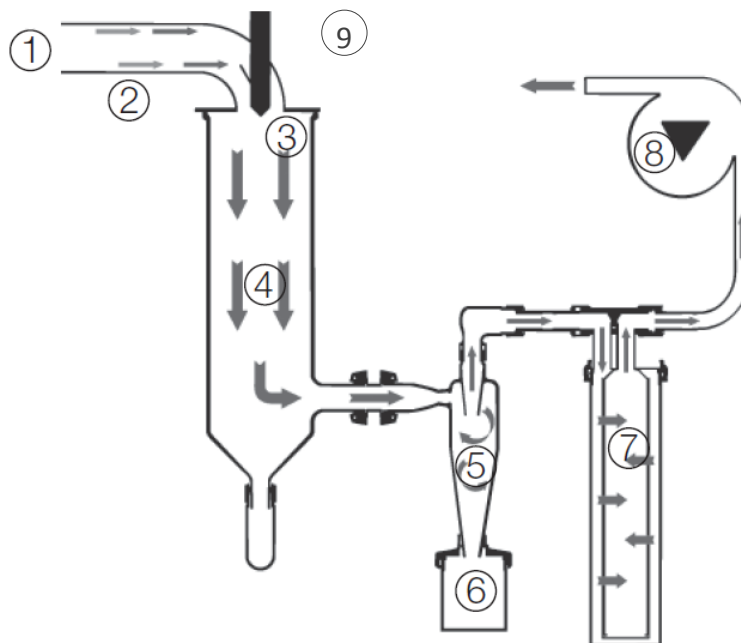


Figura 2.2 - Princípio de funcionamento do Mini *spray dryer* Büchi-B290 com módulo de *spray chilling*

A Figura 2.3 apresenta o diagrama esquemático de funcionamento do desumidificador, onde 1 é a entrada de ar externo, 2 onde ocorre a condensação, 3 unidade de refrigeração, 4 água condensada, 5 produto, 6 saída de ar, 7 ar comprimido e 8 alimentação de amostra.

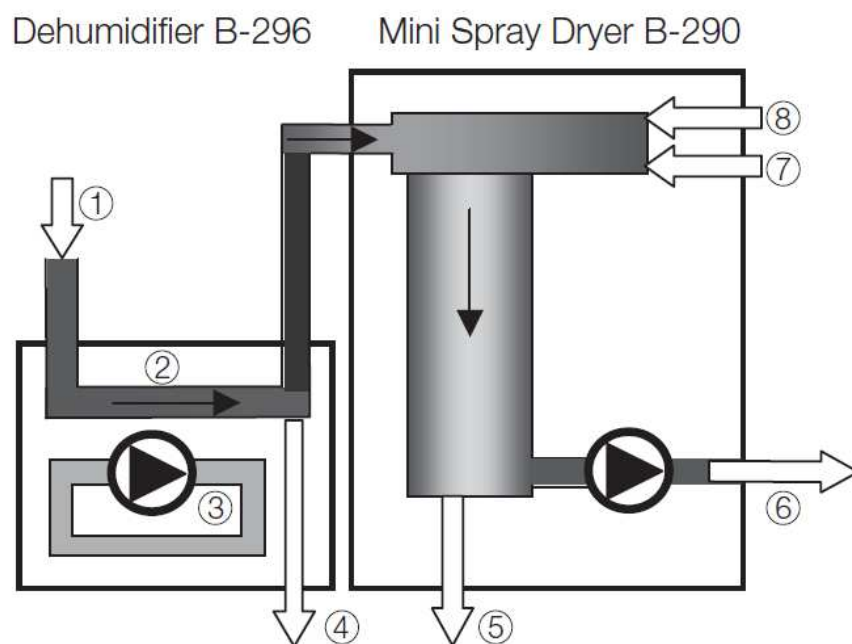


Figura 2.3 - Diagrama esquemático do funcionamento do desumidificador Büchi-B296

O bico atomizador encamisado foi mantido aquecido por recirculação de água, provinda de um banho térmico com recirculação adaptado. Um béquer contendo amostra foi colocado dentro deste banho térmico a fim de manter a temperatura da amostra durante a atomização. Uma bomba peristáltica foi utilizada para alimentação da amostra (mantida no banho térmico) até o equipamento. A configuração do *spray* utilizado está apresentada na Figura 2.4 a.

As condições operacionais do equipamento foram determinadas através de ensaios preliminares e conduzidas com diâmetro do bico aspersor de 0,7 mm. A vazão de alimentação da amostra foi de $5,28 \cdot 10^{-4}$ m³/h, a vazão do ar de atomização utilizada foi de 0,66 m³/h, a vazão do aspirador foi mantida a 35 m³/h e a temperatura de entrada na câmara

foi resfriada a $6,2 \pm 0,2$ °C e de saída a $9,3 \pm 0,5$ °C por um desumidificador Büchi B296 (Büchi, Uster, Suíça), Figura 2.4 b.

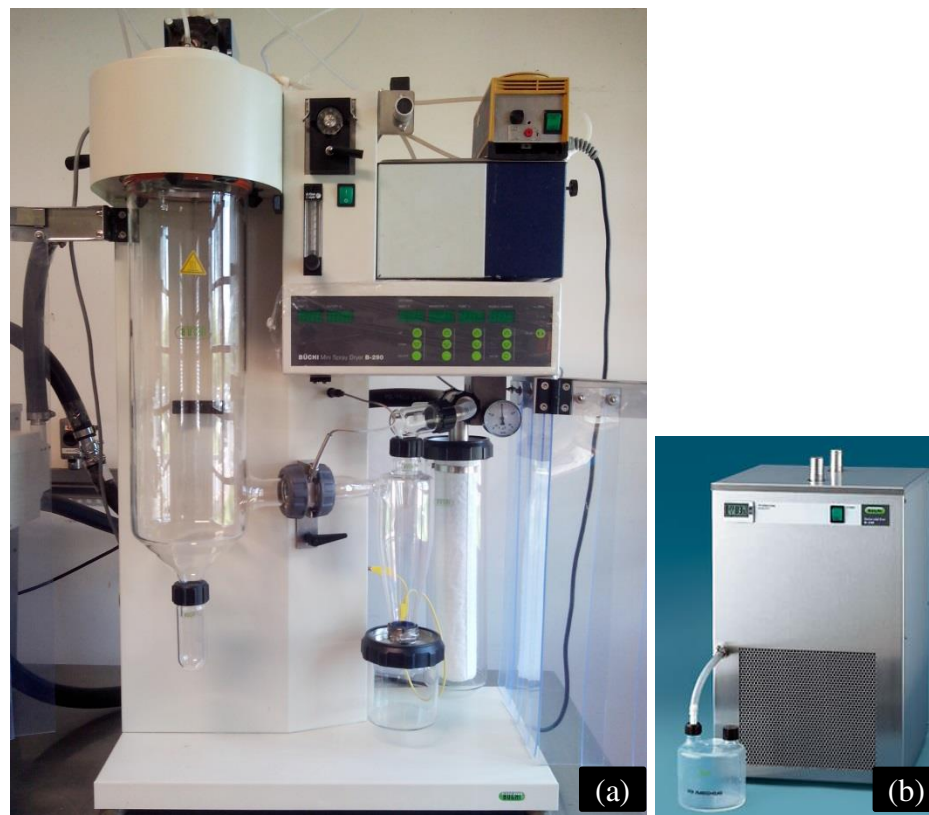


Figura 2.4 - *Spray drier* Büchi-B290 com módulo de *spray chilling* (a) e desumidificador Büchi-B296 (b)

2.2.3 Métodos de análise

2.2.3.1 Determinação do teor de ácido ascórbico

O teor de ácido ascórbico foi determinado utilizando o método 967.21 da AOAC (1997), que se refere ao método de titulação com 2, 6 – diclorofenolindofenol, com as modificações descritas por Benassi e Antunes (1988) que substituíram a solução de extração padrão (solução de ácido metafosfórico) por solução de ácido oxálico. Uma

solução de ácido L-ascórbico foi utilizada como padrão. A concentração de ácido ascórbico foi calculada por comparação com o padrão.

2.2.3.2 Determinação da composição em ácidos graxos

A composição em ácidos graxos foi determinada por cromatografia gasosa dos ésteres metílicos dos ácidos graxos, segundo a metodologia Ce 2-66 AOAC (1973). A preparação dos reagentes foi realizada seguindo a metodologia descrita por Morita e Assumpção (2001). O equipamento utilizado foi o cromatógrafo gasoso capilar (CGC Agilent 6850 Series GC System) com detector de ionização de chama (FID) e injetor com split. Os componentes foram separados em coluna capilar (DB-23 Agilent (50% cyanopropyl) – methylpolysiloxane) com dimensões de 60 m de comprimento, diâmetro interno de 0,25 mm e espessura de filme de 0,25 μm). Foram injetadas amostras de 1,0 μL (taxa de split 1:50). As temperaturas do injetor e do detector foram de 250 °C e 280 °C, respectivamente. Hélio foi usado como gás de arraste, com vazão de 1,0 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$. A programação da temperatura do forno foi 110 °C por 5 minutos, aumento da temperatura a 5 °C $\cdot\text{min}^{-1}$ até 215 °C, mantendo em 215 °C por 34 min. A identificação dos picos foi baseada nos tempos de retenção obtidos a partir de uma amostra de composição conhecida, injetada nas mesmas condições. As análises foram conduzidas em duplicata.

2.2.4 Termogramas das misturas lipídicas

Os termogramas de fusão e cristalização das misturas lipídicas foram determinados por meio de calorimetria diferencial de varredura (DSC). As análises foram realizadas usando o método Cj 1-94 da American Oil Chemists' Society (2004). O programa de temperatura utilizado para as análises térmicas das amostras foi o seguinte: temperatura ambiente, aquecimento até 90 °C a uma taxa de 10 °C/min e manutenção nessa temperatura por 10 min, resfriamento até -40 °C a uma taxa de 10 °C/min, manutenção da temperatura por 30 min e posterior aquecimento a 90 °C a uma taxa de 5 °C/min.

A curva de fusão foi obtida no segundo aquecimento (amostra homogênea). O ponto de fusão das misturas foi considerado como a temperatura final do pico (*endset*), quando a

mistura está completamente fundida (NASSU e GONÇALVES, 1999). As composições das diferentes amostras analisadas estão apresentadas na Tabela 2.1.

Tabela 2.1 - Misturas analisadas por DSC

Ensaio	Mistura	Proporção entre os ácidos graxos
M1	Oleico (AO)	Puro
M2	Láurico (AL)	Puro
M3	Esteárico (AE)	Puro
M4	AL/AO	50/50
M5	AL/AO	70/30
M6	AL/AO	80/20
M7	AL/AO	90/10
M8	AE/AO	50/50
M9	AE/AO	70/30
M10	AE/AO	90/10

2.2.5 Ensaios preliminares

2.2.5.1 Métodos de dispersão do ácido ascórbico no material de parede

Foram realizados testes preliminares em que o ácido ascórbico foi adicionado, em forma de pó, diretamente ao material de parede fundido (mistura de ácido láurico e oleico). Foram utilizadas duas granulometrias, o ácido ascórbico obtido do fabricante, com diâmetro médio de 204 μm , e moído, com almofariz e pistilo de porcelana, com diâmetro médio de 37,5 μm .

A concentração de ácido ascórbico utilizada foi de 5 % (m/m_{amostra total}), e a proporção entre os ácidos graxos do material de parede, ácido láurico/ácido oleico foi de 70/30. Para fins de comparação, uma emulsão foi preparada com a mesma mistura de material de parede que as demais adicionando uma solução de ácido ascórbico 30 % na proporção de 80/20 (material de parede/material de recheio) e 5 % (m/m_{lipídio}) de surfactante poliricinoleato de poliglicerol - PGPR 90 (Ensaio T4). Foram utilizados

diferentes métodos de homogeneização, conforme descrito na Tabela 2.2 e as misturas foram avaliadas visualmente.

Tabela 2.2 - Métodos de dispersão do ácido ascórbico na mistura de material de parede

Ensaio	Ácido ascórbico	Homogeneização
T1	204 µm	1 min agitador mecânico
T2	37,5 µm	1 min agitador mecânico + 10 min de ultrassom
T3	37,5 µm	1 min agitador mecânico
T4	Solução aquosa 30 %	Emulsão - 5 min em ultra-turrax (T 10 basic – Ika) a 30.000 rpm

2.2.5.2 Condições de ensaio para obtenção das partículas lipídicas utilizando diferentes métodos de dispersão do ácido ascórbico no material de parede

Após avaliação da suspensão de ácido ascórbico na mistura lipídica, procedeu-se a obtenção de micropartículas por *spray chilling*, nas melhores condições observadas para dispersão do ácido ascórbico (ensaios T3 e T4) em diferentes concentrações, nas condições do equipamento descrito no item 2.2.2. A Tabela 2.3 apresenta os ensaios realizados.

Tabela 2.3 - Ensaios realizados para obtenção das partículas lipídicas utilizando diferentes métodos de dispersão do ácido ascórbico no material de parede

Ensaio	Mistura	Proporção (m/m)	Concentração de AA % (m/m)
P1	AL/AO	70/30	5
P2	AL/AO	90/10	5
P3	AL/AO	70/30	10
P4	AE/AO	50/50	10
P5*	AL/AO	70/30	6

AA: Ácido ascórbico; AL: ácido láurico; AO: ácido oleico; AE: ácido esteárico.

* Emulsão preparada conforme descrito na Tabela 2.2

2.2.6 Obtenção das micropartículas lipídicas contendo antioxidante

A obtenção das micropartículas lipídicas foi realizada utilizando como material de parede misturas de ácido láurico (AL), saturado, e ácido oleico (AO), insaturado, em diferentes proporções (Tabela 2.4). Uma solução de ácido ascórbico 30 % foi utilizada como material de recheio, visto que a solubilidade do ácido ascórbico em água a 25 °C é de 33 g/100 mL. A relação entre material de parede (AG) e material de recheio (AA) variou conforme descrito na Tabela 2.4.

O surfactante utilizado foi o poliricinoleato de poliglicerol (GRINSTED® PGPR 90) na concentração de 5 % (m/m_{lipídio}) (CHAMBI et al., 2008). Todos os ensaios foram realizados em triplicata.

Tabela 2.4 - Condições de obtenção das micropartículas

Ensaio	AL/AO (m/m)	AG/AA (m/m)
1	70/30	80/20
2	70/30	75/25
3	70/30	70/30
4	80/20	80/20
5	80/20	75/25
6	80/20	70/30
7	90/10	80/20
8	90/10	75/25
9	90/10	70/30

AL/AO: Ácido láurico/ácido oleico

AG: Mistura dos ácidos graxos (láurico e oleico)

AA: Solução de ácido ascórbico 30%

A obtenção das micropartículas lipídicas contendo antioxidante foi realizada seguindo a metodologia descrita por Chambi et al. (2008), com algumas adaptações, conforme diagrama apresentado na Figura 2.5.

As misturas de ácidos graxos nas diferentes proporções foram aquecidas a uma temperatura 10 °C acima dos pontos de fusão, que é de 41,6 °C para a mistura de ácido láurico e oleico na proporção de 70/30 (m/m), 45,7 °C para a mistura na proporção de 80/20 (m/m) e 48,4 °C para a proporção de 90/10, determinados por calorimetria diferencial

de varredura (DSC). Após a completa fusão da mistura adicionaram-se 5 % (m/m_{lipídio}) do surfactante e a solução de ácido ascórbico 30 % na proporção respectiva de cada ensaio (Tabela 2.4), submetendo cada mistura à homogeneização em ultra-turrax (T 10 basic – Ika) a 30.000 rpm por 5 min.

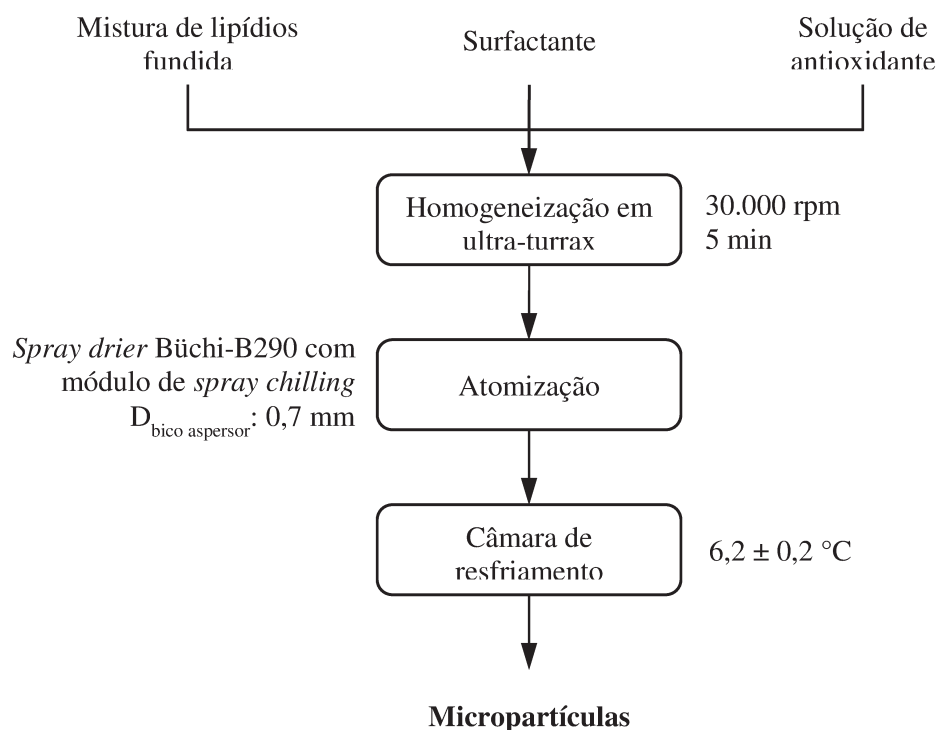


Figura 2.5 - Diagrama de obtenção das micropartículas lipídicas contendo ácido ascórbico

As emulsões foram atomizadas pelo atomizador duplo fluido Büchi-B290 (Büchi, Uster, Switzerland) descrito no item 2.2.2. As partículas formadas foram coletadas e armazenadas a 10 °C. As condições de temperatura na entrada e saída da câmara do *spray chilling* e as condições ambientes (temperatura e umidade relativa) para a triplicata de cada ensaio foram anotadas e o rendimento do processo foi calculado (Equação 1).

$$\text{Rendimento (\%)} = \frac{m_{\text{coletada}}}{m_{\text{atomizada}}} \cdot 100 \quad (1)$$

Onde, m_{coletada} é a massa de partículas coletada ao final do processo e $m_{\text{atomizada}}$ é a massa de emulsão preparada e atomizada (50 g).

2.2.7 Caracterização das micropartículas lipídicas

2.2.7.1 Eficiência de encapsulação total (ET)

A determinação da eficiência de encapsulação total foi realizada a 25 °C com 100 mg de micropartículas, adicionadas de 10 mL de clorofórmio em tubos de centrífuga de polipropileno com tampa. A suspensão foi submetida à agitação em um agitador de soluções (AP-56 Phoenix Luferco) por 10 s, por duas vezes, com um intervalo de 10 min entre as agitações. Após, 10 mL de água destilada foram adicionados ao tubo submetendo-o à agitação por 1 min, por três vezes, com descanso de 10 min entre as agitações. A seguir os tubos foram levados à centrífuga (Allegra 25R, Beckman Coulter) por 10 min a 10.000 rpm, seguindo a metodologia descrita por Leonel et al. (2010), com algumas adaptações. A determinação da quantidade de ácido ascórbico presente foi determinada na fase aquosa, ao final da centrifugação pelo método descrito no item 2.2.3.1.

A eficiência de encapsulação total das micropartículas produzidas foi definida como a razão entre a quantidade total de ácido ascórbico (AA_T) presente na amostra e a quantidade inicial adicionada à emulsão (AA_0), em base úmida (Equação 2).

$$ET(\%) = \frac{AA_T}{AA_0} \cdot 100 \quad (2)$$

2.2.7.2 Determinação da quantidade de ácido ascórbico superficial (AA_S)

A determinação da quantidade de ácido ascórbico superficial das partículas foi realizada conforme metodologia usada por Ribeiro, Arellano e Grosso (2012), com algumas adaptações. 100 mg de amostra foram suspensas em 10 mL de solução de Tween 80 (0,1 %) em erlenmeyer de 125 mL. Estes foram submetidos à agitação em incubadora com

agitação orbital (TE-420 Tecnal) a 100 rpm por um período de 5 min. A seguir, a suspensão foi filtrada em papel de filtro e a quantidade de ácido ascórbico determinada no filtrado.

2.2.7.3 Eficiência de encapsulação efetiva (EE)

A eficiência de encapsulação efetiva foi calculada subtraindo-se a quantidade de ácido ascórbico superficial (AA_s) da quantidade total de ácido ascórbico (AA_T) determinada na amostra, ambos em base úmida. O valor obtido foi comparado à quantidade inicialmente adicionada à emulsão para a obtenção das micropartículas (AA_0). O quociente expresso em porcentagem representa o valor da eficiência de encapsulação efetiva (EE) (Equação 3).

$$EE(\%) = \frac{AA_T - AA_s}{AA_0} \cdot 100 \quad (3)$$

2.2.7.4 Distribuição de tamanho e diâmetros médios das partículas

A distribuição de tamanho das partículas foi determinada por difração a laser utilizando o equipamento Mastersizer S (Malvern Instruments, Malvern, UK) pela dispersão das micropartículas em uma solução aquosa de Tween 20 (0,5 %). A distribuição do tamanho das partículas foi monitorada durante cada uma das medições, até que as leituras sucessivas se tornassem constantes. O tamanho de partícula foi expresso como o diâmetro equivalente de volume dv (μm) definido pela Equação 4, em que v é o volume da partícula (FAN et al., 1998).

$$dv = \left(\frac{6v}{\pi} \right)^{1/3} \quad (4)$$

A distribuição de tamanho foi determinada utilizando os parâmetros característicos $dv(0,1)$, $dv(0,5)$ e $dv(0,9)$, que são os diâmetros de volume equivalentes em 10 %, 50 % e 90 % do volume acumulado, respectivamente. O diâmetro médio $D[3,2]$, que é igual ao

valor do diâmetro médio de área superficial ou diâmetro médio de Sauter e representa a média dos diâmetros de esferas de área superficial igual a das partículas reais (Equação 5), e o diâmetro médio $D[4,3]$, o qual é igual ao valor do diâmetro médio de volume ou diâmetro médio de De Brouckere e representa a média dos diâmetros de esferas de volume igual ao das partículas reais (Equação 6), também foram determinados (FAN et al., 1998).

$$D[3,2] = \frac{\int_0^{\infty} dv^3 f_N(dv) d(dv)}{\int_0^{\infty} dv^2 f_N(dv) d(dv)} \quad (5)$$

$$D[4,3] = \frac{\int_0^{\infty} dv^4 f_N(dv) d(dv)}{\int_0^{\infty} dv^3 f_N(dv) d(dv)} \quad (6)$$

Onde f_N é a fração em base numérica de partículas de diâmetro dv .

2.2.7.5 Cinética de liberação do recheio

A liberação do recheio das micropartículas lipídicas foi determinada no tempo inicial e a cada 30 min por duas horas a uma temperatura de 25 °C, seguindo a metodologia descrita por Ribeiro, Arellano e Grosso (2012), com algumas modificações. A análise foi realizada pela dispersão de 100 mg de amostra em 10 mL de uma solução 0,1 % de Tween 80 em erlenmeyers de 125 mL. Os erlenmeyers foram submetidos à agitação em uma incubadora com agitação orbital (TE-420 Tecnal) a 100 rpm. A cada intervalo de tempo, a suspensão foi filtrada em papel de filtro e a concentração de antioxidante determinada no filtrado através do método descrito no item 2.2.3.1.

2.2.7.6 Modelagem cinética de liberação do recheio

Os dados de liberação do ácido ascórbico das micropartículas lipídicas sólidas foram analisados para determinar a cinética de liberação usando três modelos cinéticos incluindo a equação de primeira ordem (Equação 7), a equação modificada de Higuchi

(1963) (Equação 8) e o modelo empírico modificado de Ritger-Peppas (1987) (Equação 9) (CHIME et al., 2013).

$$\frac{M_{(t)}}{M_5} = e^{-k_1 \cdot (t-5)} \quad (7)$$

$$M_{(t)} - M_{(5)} = k_2(t - 5)^{1/2} \quad (8)$$

$$M_{(t)} - M_5 = k_3 \cdot (t - 5)^n \quad (9)$$

Onde:

$M_{(t)}$: Massa de ácido ascórbico liberado no tempo t ;

M_5 : Massa de ácido ascórbico liberado no tempo 5 min;

k_1 : Constante cinética de primeira ordem

k_2 : Constante cinética do modelo modificado de Higuchi

k_3 : Constante cinética do modelo modificado de Ritger-Peppas

n : Expoente de difusão e indicador do mecanismo de transporte do recheio (Ritger-Peppas)

2.2.7.7 Comportamento térmico das partículas

O comportamento térmico das micropartículas selecionadas para incorporação nos filmes foi determinado por calorimetria diferencial de varredura (DSC) em um calorímetro modelo 2920 (TA Instruments, Pennsylvania, USA), seguindo a metodologia descrita por Gavory et al. (2013) com modificações. Foram pesadas 5 mg de amostra em cápsulas de alumínio, as quais foram hermeticamente seladas. Uma cápsula de alumínio vazia foi utilizada como referência. O programa de temperatura utilizado foi de estabilização em 25 °C e aumento de temperatura a uma taxa de aquecimento de 10 °C/min até 90 °C. Os termogramas obtidos por DSC foram avaliados utilizando o software Universal Analysis 2000 (TA Instruments).

2.2.7.8 Morfologia das partículas

A morfologia das partículas lipídicas selecionadas para incorporação nos filmes, dos ensaios 3, 5 e 6 (Tabela 2.4), foi observada por microscópio óptico SCOPE A1 – ZEISS (Alemanha Oriental) com um aumento de 100 e 400 vezes. O software de aquisição de imagens utilizado foi o Carl Zeiss Axio Vision Rel. 4.8.2. As amostras foram suspensas em uma solução de Tween 80 (10 %).

2.2.8 Análise estatística

Os ensaios foram realizados em triplicata. Os resultados obtidos foram analisados por análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey a nível de significância de 5 %, com auxílio do programa Statistica 7.0.

Neste estudo, também foi empregado o método de agrupamento hierárquico aglomerativo, o qual se caracteriza pelo estabelecimento de uma estrutura em forma de árvore, sendo esta a mais utilizada. Dentro deste método, escolheu-se o encadeamento de *Ward* (um método que busca gerar grupos que possam minimizar a variância dentro destes grupos). Assim, o método de *Ward* calcula as médias de todas as variáveis para cada grupo, escolhendo a que proporciona a menor variância. Este método é altamente eficiente na formação de grupos (ANDRADE-MAHECHA, 2012).

2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.3.1 Caracterização da matéria-prima

2.3.1.1 Composição em ácidos graxos

A Tabela 2.5 apresenta a composição em ácidos graxos das matérias-primas utilizadas como material de parede (ácido esteárico, ácido láurico e ácido oleico comerciais) das micropartículas lipídicas. Os cromatogramas obtidos estão apresentados no Apêndice 1.

Tabela 2.5 - Composição em ácidos graxos das matérias-primas

Ácido Graxo	Composição em ácidos graxos (%)		
	Ácido esteárico comercial	Ácido láurico comercial	Ácido oleico comercial
C10:0 caprílico		0,3 ± 0,0	
C12:0 láurico	0,1 ± 0,0	98,77 ± 0,01	0,04 ± 0,01
C14:0 mirístico	4,28 ± 0,02		0,40 ± 0,01
C15:0 pentadecanóico	0,7 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,1 ± 0,0
C16:0 palmítico	28,5 ± 0,3	0,61 ± 0,01	5,5 ± 0,4
C16:1 palmitoléico			1,60 ± 0,03
C17:0 margárico	2,4 ± 0,1		0,17 ± 0,02
C17:1 cis-10-heptadecanóico			0,47 ± 0,02
C18:0 esteárico	62,6 ± 0,6		1,60 ± 0,03
C18:1t elaídico			0,93 ± 0,04
C18:1 oleico	0,3 ± 0,2		77,6 ± 0,4
C18:2t linolelaídico			0,59 ± 0,01
C18:2 linoléico			9,8 ± 0,1
C18:3 linolênico			0,43 ± 0,09
C20:0 araquídico	0,73 ± 0,02		0,14 ± 0,01
C20:1 gadoléico			0,4 ± 0,0
C22:0 behênico	0,19 ± 0,05		

A partir dos resultados obtidos por cromatografia gasosa, que determina as concentrações de ácidos graxos pelo tamanho de cadeia e suas insaturações, é possível verificar que o ácido esteárico comercial apresenta aproximadamente 28 % da sua composição formada por ácido palmítico e 63 % de ácido esteárico.

O ácido láurico comercial foi o que apresentou maior grau de pureza com 98 % de sua composição formada por ácido láurico, seguido do ácido oleico comercial que apresentou um conteúdo de 77 % de ácido oleico.

2.3.1.2 Termogramas das misturas lipídicas

2.3.1.2.1 Comportamento térmico das misturas de ácido láurico e oleico

A Figura 2.6 apresenta os termogramas de fusão dos ácidos graxos comerciais oleico (M1) e láurico (M2) e das misturas M4, M5, M6 e M7 mostrando a presença de dois picos nestes termogramas, por se tratar de misturas de dois ácidos graxos. Um pico mais acentuado representando a fração rica em ácido láurico (saturado), chamado de pico d e um menos pronunciado, o qual representa a fração rica em ácido oleico (insaturado), chamado pico c.

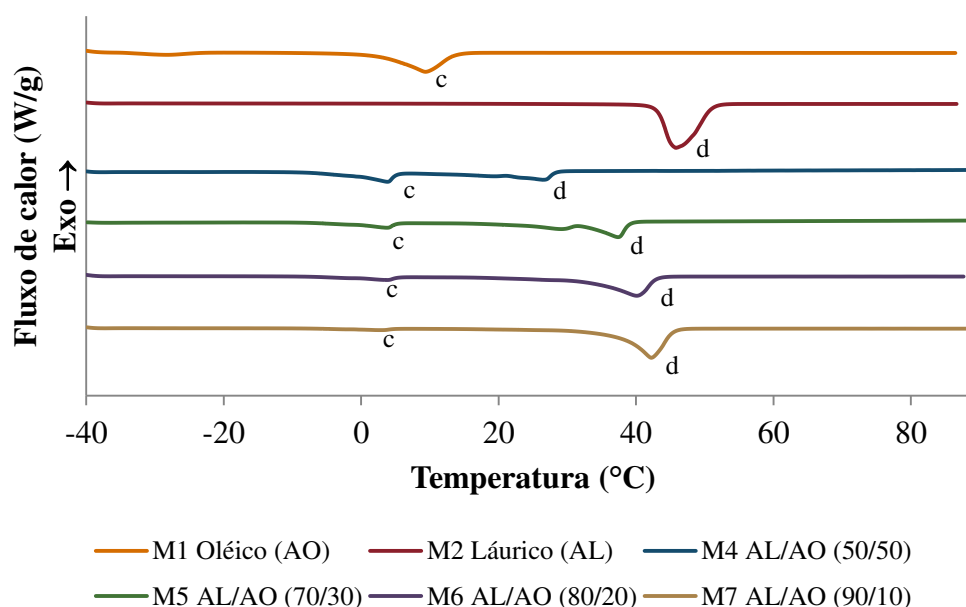


Figura 2.6 - Termogramas de fusão das misturas de ácido láurico (AL) e ácido oleico (AO)

As temperaturas de *onset* e *endset* (ponto de fusão) do pico d sofreram uma diminuição em relação aos compostos puros, com o aumento do teor de ácido oleico presente nas misturas, com uma correspondente diminuição da entalpia (Figura 2.6). A temperatura de fusão dos lipídios é diretamente proporcional ao tamanho da cadeia e inversamente proporcional ao seu grau de insaturação (ROOS, 1995).

Pode-se observar que a intensidade dos picos se altera conforme a proporção de ácidos graxos utilizada, sendo que na mistura M4 as intensidades dos picos ficam muito próximas por se tratar de uma proporção 1:1. Isso também pode ser observado pelos valores de entalpia de fusão apresentados na Tabela 2.6, a qual apresenta o comportamento térmico de fusão dos ácidos graxos, oleico e láurico comerciais e suas misturas. Nesta tabela, as entalpias de fusão dos picos c e d foram calculados, também, por grama de ácido oleico (insaturado) e de láurico (saturado), respectivamente.

Tabela 2.6 - Comportamento térmico de fusão dos ácidos graxos oleico e láurico comerciais e suas misturas

Mistura/ Proporção	Pico	Temperatura <i>onset</i> (°C)	Temperatura pico (°C)	Temperatura <i>endset</i> (°C)	Entalpia de fusão (J/g _{amostra})	Entalpia de fusão (J/g _{in} [*])	Entalpia de fusão (J/g _{sa} ^{**})
M1 Oleico (AO)	Puro c	-12±1	9,3±0,2	17,1±0,9	97±1	-	-
	d	-	-	-	-	-	-
M2 Láurico (AL)	Puro c	-	-	-	-	-	-
	d	33±2	46,0±0,2	54±1	169±3	-	-
M4 AL/AO 50/50	c	-16±2	3,8±0,1	6,9±0,2	30,5±0,3	61 ^b ±1	
	d	7,5±0,4	26,7±0,2	30,9±0,4	49±1		98 ^a ±2
M5 AL/AO 70/30	c	-10,4±0,4	3,6±0,1	6,5±0,1	18,3±0,3	61 ^b ±1	
	d	12±4	37,2±0,4	41,6±0,1	83±5		119 ^b ±7
M6 AL/AO 80/20	c	-8,0±0,9	3,6±0,1	6,8±0,1	12,3±0,7	61 ^b ±1	
	d	15,8±0,6	40,1±0,1	45,7±0,4	108,8±0,7		136 ^c ±1
M7 AL/AO 90/10	c	-7,6±0,3	2,7±0,1	5,4±0,2	5,5±0,3	55 ^a ±1	
	d	16±2	42,3±0,3	48±2	131±3		146 ^c ±3

*in: fração insaturada (ácido oleico); **sa: fração saturada (ácido láurico).

Letras diferentes, em uma mesma coluna, indicam diferença estatística significativa (p>0,05)

A fusão de substâncias, com estruturas cristalinas com menor grau de ordenação ou sólidos amorfos, requer menos energia para ocorrer que substâncias com alto grau de cristalinidade, as quais precisam superar as forças estruturais. Assim, baixos valores de entalpia de fusão sugerem arranjos estruturais menos ordenados e vice-versa (LIN et al., 2007).

Portanto, a adição de ácido oleico na mistura de ácidos graxos favorece a formação de matrizes menos ordenadas, contendo imperfeições nas suas estruturas, ou seja, a adição de ácido oleico à matriz lipídica promoveu um decréscimo na sua cristalinidade, o que é muito importante para a microencapsulação, visto que, tanto uma estrutura menos ordenada, quanto uma matriz lipídica amorfa, favorecem uma maior encapsulação de compostos ativos na matriz (GOMES et al., 2013).

A Tabela 2.6 mostra que as temperaturas de *endset* dos ácidos graxos comerciais, ou seja, o ponto de fusão, foi de $17,1 \pm 0,9$ °C para o ácido oleico puro, o qual apresenta menor temperatura por se tratar de um ácido graxo insaturado, e de 54 ± 1 °C para o ácido láurico.

O menor ponto de fusão, encontrado na mistura M4, foi de $30,9 \pm 0,4$ °C, inviabilizando a utilização dessa mistura como material de parede para a obtenção de micropartículas por *spray chilling*, devido a instabilidade à temperatura ambiente. Os pontos de fusão das demais misturas ficaram na faixa de $41,6 \pm 0,1$ °C a 48 ± 2 °C, temperatura suficiente para manter as partículas sólidas à temperatura ambiente, mas não tão alta que possa degradar o ingrediente ativo durante o processo de obtenção de micropartículas lipídicas. O ácido oleico adicionado se mantém no estado líquido a temperatura ambiente em todas as misturas.

A Figura 2.7 apresenta os termogramas de cristalização dos ácidos graxos comerciais oleico (M1) e láurico (M2) e das misturas M4, M5, M6 e M7 mostrando a presença de dois picos nestes termogramas, por se tratar de misturas de dois ácidos graxos; um pico mais acentuado representando a fração rica em ácido láurico (a) e um menos pronunciado, o qual representa a fração rica em ácido oleico (b).

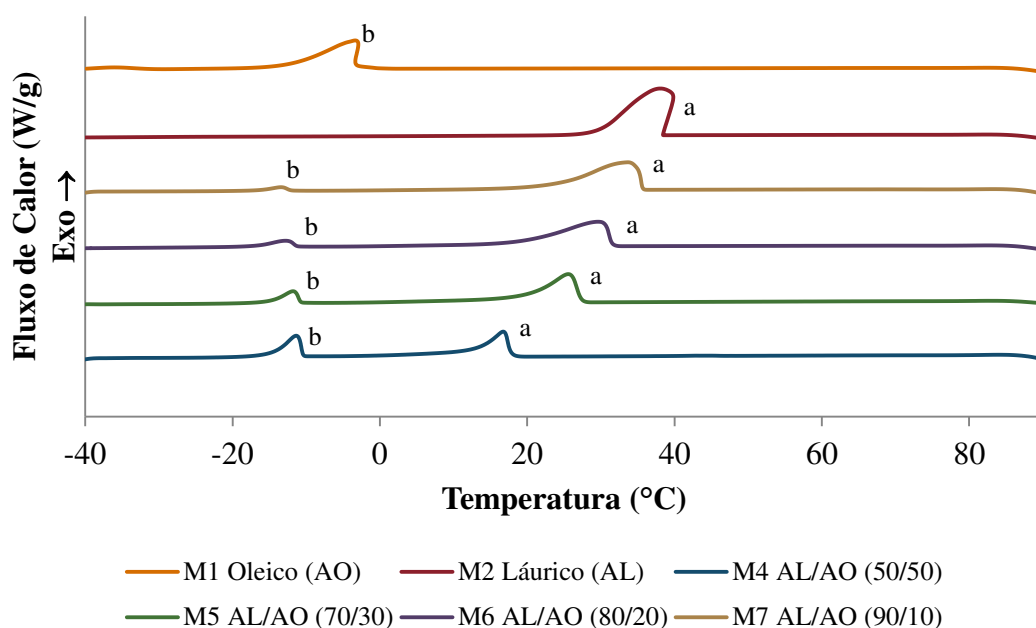


Figura 2.7 - Termogramas de cristalização das misturas de ácido láurico (AL) e ácido oleico (AO)

A Tabela 2.7 apresenta as temperatura e entalpias de cristalização das misturas M4, M5, M6 e M7, demonstrando que da mesma forma que para a temperatura de fusão, houve uma diminuição na temperatura de cristalização das misturas com o aumento da quantidade de ácido graxo insaturado (oleico). Ross (1995) afirma que o calor latente liberado pela cristalização deveria ser igual à quantidade de calor necessária para a fusão à mesma temperatura. No entanto, a cristalização pode ocorrer a temperaturas inferiores à temperatura de fusão de equilíbrio.

Ao comparar as entalpias e temperaturas de fusão e cristalização, apresentadas nas Tabelas 2.6 e 2.7, respectivamente, observa-se que embora todas as entalpias das misturas tenham sido menores que as entalpias dos ácidos graxos puros, a entalpia de fusão em relação a fração rica em ácido láurico apresentou valores mais baixos que os encontrados para entalpia de cristalização das misturas. O fluxo de calor necessário (intensidade do pico) para a cristalização das misturas foi maior que para a fusão e esta diferença de intensidade do pico entre as curvas foi minimizada com o aumento da concentração de ácido láurico (saturado) na mistura. A cristalização de gorduras é geralmente um processo

lento, enquanto que a fusão é uma reação instantânea, visto que a cristalização é composta por duas fases: a nucleação e o crescimento do cristal (DEMAN, 2008).

Tabela 2.7 - Comportamento térmico de cristalização dos ácidos graxos oleico e láurico comerciais e suas misturas

Mistura/ Proporção			Pico	Temperatura onset (°C)	Temperatura pico (°C)	Temperatura endset (°C)	Entalpia de cristalização (J/g _{amostra})	Entalpia de cristalização (J/g _{in} *)	Entalpia de cristalização (J/g _{sa} **)
M1	Oleico (AO)	Puro	a	-	-	-	-	-	-
			b	1 ± 1	-3,4±0,1	-21±1	93±1	-	-
M2	Láurico (AL)	Puro	a	40 ± 1	37,7±0,4	24±1	171±3	-	-
			b	-	-	-	-	-	-
M4	AL/AO 50/50		a	19,8 ± 0,3	16,9±0,2	-4,2±0,2	64±1		127 ^a ±3
			b	-9,7 ± 0,2	-11,3±0,3	-24,6±0,9	32±1	64 ^b ±1	
M5	AL/AO 70/30		a	28,9 ± 0,6	25,9±0,7	-4,1±0,6	98±2		140 ^b ±2
			b	-9,4 ± 0,6	-11,8±0,1	-24,4±0,7	18±1	60 ^a ±1	
M6	AL/AO 80/20		a	32,6 ± 0,3	29,5±1,2	-1±5	119±1		149 ^c ±1
			b	-10,5 ± 0,4	-13,0±0,3	-22±2	11,9±0,3	60 ^a ±1	
M7	AL/AO 90/10		a	36,3 ± 0,2	33,3±0,2	3±2	136±1		151 ^c ±1
			b	-10,7 ± 0,1	-13,4±0,2	-21±3	6±1	58 ^a ±2	

*in: fração insaturada (ácido oleico (AO)); **sa: fração saturada (ácido láurico (AL)).

Letras diferentes, em uma mesma coluna, indicam diferença estatística significativa (p>0,05)

Os termogramas de fusão e cristalização das misturas de ácido láurico e oleico sobrepostos (Figuras 2.6 e 2.7, respectivamente), mostram que os picos referentes à fração de ácido oleico nas misturas (b e c) praticamente não se deslocam entre diferentes proporções estudadas, enquanto que os picos referentes a fração de ácido láurico (a e d) deslocam-se para a direita com a diminuição da proporção de ácido oleico na mistura. Através dos resultados de entalpia de fusão e cristalização em função das massas de cada ácido graxo e não da mistura como um todo (Tabelas 2.6 e 2.7), observa-se que as entalpias em função da massa de ácido oleico dos picos b e c, os quais o representam a fração deste na mistura, não variaram a nível de significância de 5 % entre os ensaios M4, M5 e M6 (fusão) e entre os ensaios M5, M6 e M7 (cristalização), enquanto as entalpias em função da

massa de ácido láurico dos picos a e d sofreram variação, mostrando que há uma dissolução do ácido oleico no ácido láurico.

2.3.1.2.2 Comportamento térmico das misturas de ácido esteárico e oleico

A Figura 2.8 apresenta os termogramas de fusão sobrepostos do ácido oleico e esteárico comerciais, M1 e M3, respectivamente, e suas misturas em diferentes proporções M8, M9 e M10. A Tabela 2.8 apresenta o comportamento térmico de fusão dos ácidos graxos oleico e esteárico comerciais e suas misturas.

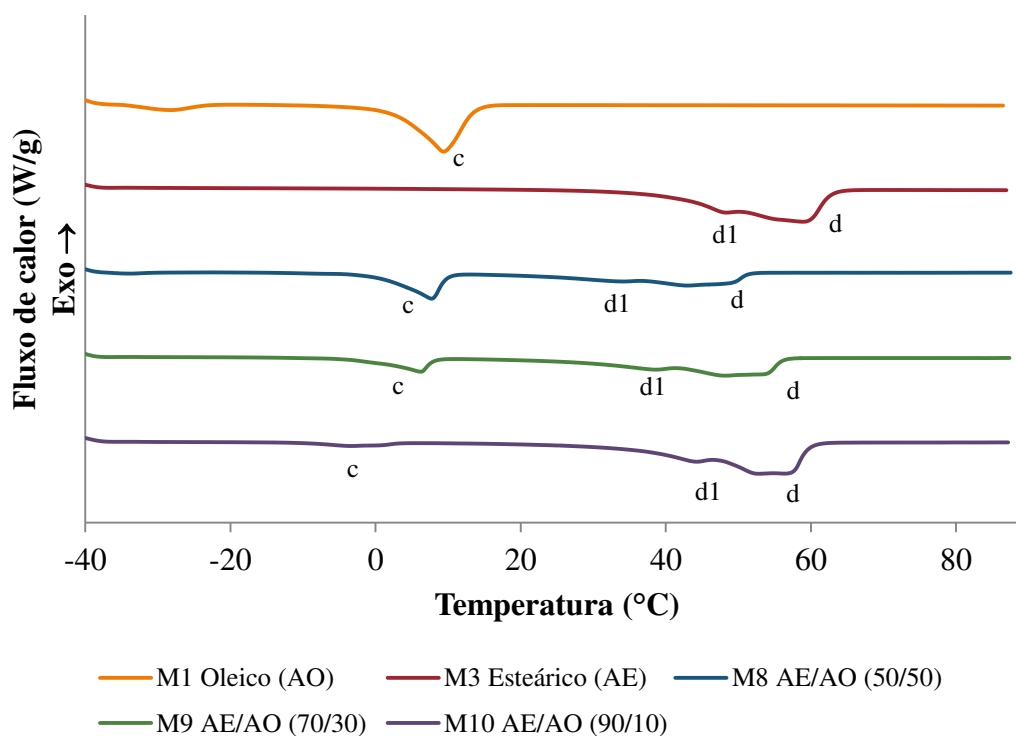


Figura 2.8 - Termogramas de fusão das misturas de ácido esteárico (AE) e ácido oleico (AO)

A Figura 2.8 mostra que os termogramas das misturas de ácido esteárico e ácido oleico M8, M9 e M10 apresentaram dois picos principais, os quais representam a fração rica em ácido oleico (pico c) e rica em ácido esteárico (pico d) da mistura. O pico d apresentou um pequeno pico secundário em todas as misturas. O ácido esteárico puro apresentou dois picos de fusão, um de maior intensidade com temperatura de pico de $58,7 \pm$

0,2 °C e outro menor na temperatura de $47,9 \pm 0,3$ °C, resultante da forma polimórfica menos estável do ácido esteárico (Tabela 2.8).

Segundo Sala et al. (2010), um polimorfo pode ser definido como uma fase sólida cristalina de um dado composto, resultante da possibilidade de diferentes arranjos das moléculas durante a cristalização, sem variação da composição. O ácido esteárico pode cristalizar-se em várias formas polimórficas, dependendo das condições de cristalização a que for submetido. Cinco fases polimórficas do ácido esteárico são conhecidas duas formas triclinicas, mais estáveis, e três formas monoclinicas com uma subcélula ortorrômbica, menos estáveis.

A partir da Figura 2.8, que apresenta os termogramas de fusão das misturas sobrepostos, observa-se que houve um deslocamento do pico d (fração rica em esteárico) para a esquerda com o aumento da fração de ácido oleico na mistura, ou seja, uma diminuição no ponto de fusão; fenômeno equivalente ao encontrado para as misturas de ácido láurico e oleico.

Além das temperaturas de *endset* e *onset* do pico d sofrerem uma diminuição com o aumento da concentração de ácido oleico, uma diminuição na entalpia de fusão das misturas, em relação aos compostos puros, foi constatada, como pode ser observado na Tabela 2.8.

Os pontos de fusão (*endset*) das misturas M8, M9 e M10 variaram de $54,0 \pm 0,9$ °C a 64 ± 2 °C, possibilitando sua utilização como material de parede de micropartículas produzidas por *spray chilling* por apresentarem estabilidade à temperatura ambiente. Porém, ingredientes ativos que sofrem degradação a altas temperaturas podem ser deteriorados durante as etapas de processamento em que são utilizadas temperaturas 10 °C acima do ponto de fusão.

Tabela 2.8 - Comportamento térmico de fusão dos ácidos graxos oleico e esteárico puros e suas misturas

Mistura/ Proporção		Pico	Temperatura onset (°C)	Temperatura pico (°C)	Temperatura endset (°C)	Entalpia de fusão (J/g _{amostra})	Entalpia de fusão (J/g _{in} *)	Entalpia de fusão (J/g _{sa} **)
M1	Oleico (AO)	Puro	c	-12±1	9,3±0,2	17,1±0,9	97±1	-
			d	-	-	-	-	-
M3	Esteárico (AE)	Puro	c	-	-	-	-	-
			d	22±1	58,7±0,2	66,4±0,7	152±2	-
			d1	-	47,9±0,3	-	-	-
M8	AE/AO 50/50		c	-12±1	7,4±0,3	11,7±0,8	41,1±0,5	82 ^b ± 1
			d	13,0±0,4	42,2±0,9	54,0±0,9	65,9±0,8	132 ^a ± 2
			d1	-	33±1	-	-	-
M9	AE/AO 70/30		c	-14±2	6,3±0,2	10,8±0,9	25±3	82 ^b ± 5
			d	12,6±0,6	48,4±0,2	60±1	104±10	148 ^a ± 15
			d1	-	38,9±0,2	-	-	-
M10	AE/AO 90/10		c	-12±2	-3,1±0,7	5±2	6,5±0,8	65 ^a ± 2
			d	17±2	56±3	64±2	137±13	152 ^a ± 14
			d1	-	44,6±0,9	-	-	-

*in: fração insaturada (ácido oleico); **sa: fração saturada (ácido esteárico)

Letras diferentes, em uma mesma coluna, indicam diferença estatística significativa (p>0,05)

As entalpias de fusão das misturas apresentadas na Tabela 2.8 mostram que as misturas M8 e M9 apresentaram valores de entalpia de fusão por grama da fração rica em ácido esteárico, menores que a entalpia de fusão do ácido esteárico puro, ou seja, estes apresentaram uma diminuição na cristalinidade da estrutura. Pode ser observado que apenas 10 % de ácido oleico na mistura não influencia na sua cristalinidade em relação ao ácido esteárico puro, visto que a mistura M10 apresentou entalpia de fusão do pico d igual a do ensaio M3 (ácido esteárico puro), embora a temperatura de fusão (*endset*) tenha sido menor para a mistura M10.

A Figura 2.9 apresenta os termogramas de cristalização sobrepostos do ácido oleico e esteárico comerciais, M1 e M3, respectivamente, e suas misturas em diferentes

proporções M8, M9 e M10. A Tabela 2.9 apresenta o comportamento térmico de cristalização dos ácidos graxos oleico e esteárico comerciais e suas misturas.

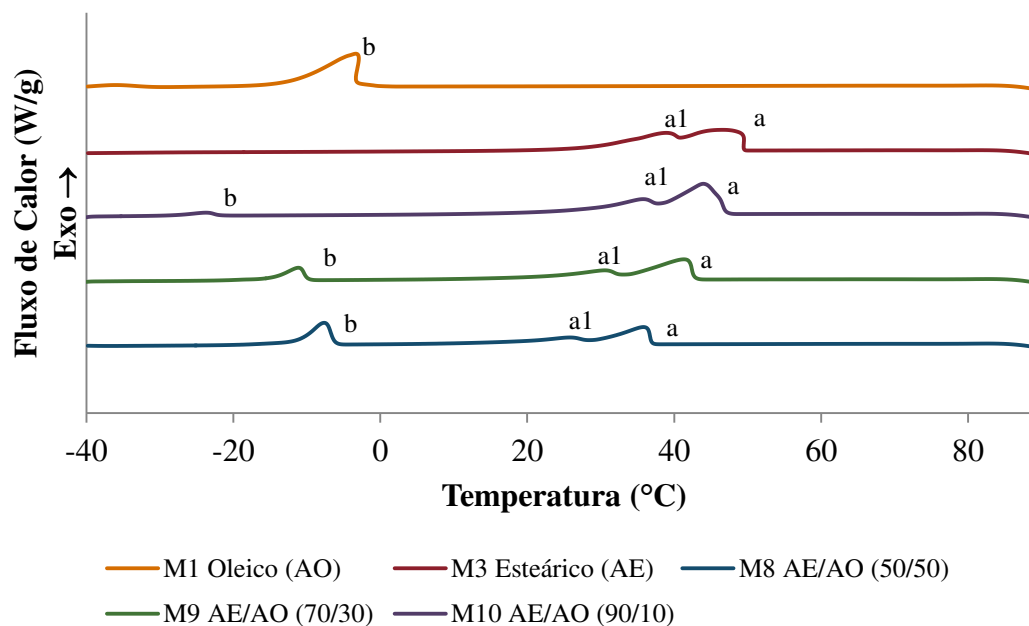


Figura 2.9 - Termogramas de cristalização das misturas de ácido esteárico (AE) e ácido oleico (AO)

As misturas M8, M9 e M10 também apresentaram um pico de cristalização caracterizando a fração de ácido oleico e dois picos caracterizando a fração de ácido esteárico da mistura, um de maior magnitude referente à forma polimórfica mais instável, a qual cristaliza em uma temperatura mais alta, e outro de menor magnitude referente à forma polimórfica mais estável do ácido esteárico (Figura 2.9). A cristalização ocorre na ordem inversa à estabilidade do polimorfo, ou seja, formas menos estáveis cristalizam primeiro que as mais estáveis (ROOS, 1995).

A Tabela 2.9 mostra que com o aumento da concentração de ácido oleico na mistura, as temperaturas do pico a, de *onset* e *endset* sofreram uma redução, assim como a entalpia de cristalização.

Tabela 2.9 - Comportamento térmico de cristalização dos ácidos graxos oleico e esteárico puros e suas misturas

Mistura/ Proporção			Pico	Temperatur a onset (°C)	Temperatur pico (°C)	Temperatur endset (°C)	Entalpia de cristalização (J/g _{amostra})	Entalpia de cristalização (J/g _{in} *)	Entalpia de cristalização (J/g _{sa} **)
M1	Oleico (AO)	Puro	a	-	-	-	-	-	-
			b	1±1	-3,4±0,1	-21±1	93±1	-	-
M3	Esteárico (AE)	Puro	a	50,2±0,3	46,8±0,6	17,4±0,5	149±3	-	-
			a1	-	39,0±0,1	-	-	-	-
			b	-	-	-	-	-	-
M8	AE/AO 50/50		a	38,0±0,3	35,8±0,3	6±2	68±4		135 ^a ±7
			a1	-	25,4±0,7	-	-	-	-
			b	-4,1±0,1	-7,3±0,3	-21±4	38±1	76 ^b ±2	
M9	AE/AO 70/30		a	44,0±0,9	41,2±0,8	4±1	105±11		150 ^a ±16
			a1	-	31±1	-	-	-	-
			b	-8,2±0,9	-12±1	-26±3	24±4	79 ^b ±8	
M10	AE/AO 90/10		a	48,0±0,4	44±2	8±2	138±12		153 ^a ±13
			a1	-	35±1	-	-	-	-
			b	-20,1±0,5	-23±1	-30±2	5,0±0,5	50 ^a ±1	

*in: fração insaturada (ácido oleico); **sa: fração saturada (ácido esteárico)

Letras diferentes, em uma mesma coluna, indicam diferença estatística significativa (p>0,05)

A partir da Tabela 2.9 observa-se que as entalpias de cristalização em função da massa de ácido graxo insaturado (oleico), ou seja, a entalpia do pico b não variou a nível de significância de 5 % entre as misturas contendo acima de 30 % de ácido oleico (M8 e M9), assim como as entalpias de fusão.

Os picos de fusão e cristalização do ácido esteárico foram largos, sugerindo polimorfismo, o que foi evidenciado pela presença de dois picos, tanto na fusão, quanto na cristalização. Estes resultados estão de acordo com o polimorfismo complexo existente nos ácidos graxos, e particularmente no ácido esteárico, que apresenta várias formas polimórficas (SEVERINO et al., 2011).

2.3.2 Ensaios preliminares

2.3.2.1 Métodos de dispersão do ácido ascórbico no material de parede

A Tabela 2.10 apresenta os resultados obtidos nos ensaios dos diversos métodos utilizados para dispersar o ácido ascórbico no material de parede. Observa-se que em todos os ensaios houve decantação do ácido ascórbico, quando este foi utilizado em pó. A utilização do ácido ascórbico com diâmetro de 204 μm (ensaio T1), conforme obtido pelo fabricante, devido à sua granulometria (maior) não se dispersou adequadamente na matriz lipídica. A utilização de ultrassom (ensaio T2) a fim de melhorar a dispersão também não foi eficiente, visto que, a manutenção do mesmo na temperatura de análise (10 °C acima do ponto de fusão da mistura) provocou o escurecimento da mistura, causado pela degradação do ácido ascórbico. Segundo Chang et al. (2010), o ácido ascórbico devido à sua natureza oxidativa e reativa, pode causar problemas de degradação e instabilidade em sistemas alimentares que os contêm, provocando alterações indesejáveis na cor do alimento.

O ensaio T4, realizado pela obtenção da emulsão foi o que apresentou maior homogeneidade e estabilidade, dentre todos os ensaios realizados. Portanto, avaliou-se a obtenção das micropartículas lipídicas com o ensaio T3 (37,5 μm) e T4 (emulsão).

Tabela 2.10 - Análise visual da suspensão de ácido ascórbico (5 % m/m) na mistura de material de parede AL/AO: 70/30

Ensaio	Ácido ascórbico	Homogeneização	Resultado
T1	Normal	1 min agitador mecânico	Decantou. Partículas muito grandes
T2	Peneirado #200 mesh	1 min agitador mecânico + 10 min de ultrassom	Dispersou melhor, mas ainda houve decantação. Os 10 min em ultrassom provocaram o escurecimento da amostra
T3	Peneirado #200 mesh	1 min agitador mecânico	Dispersou, mas ainda houve decantação. Foi necessário manter agitação constante para não decantar.
T4	Solução aquosa 30 %	Emulsão - 5 min ultraturrax	Emulsão homogênea estável por 30 min

2.3.2.2 Condições de ensaio para obtenção das partículas lipídicas utilizando diferentes métodos de dispersão do ácido ascórbico no material de parede

A Tabela 2.11 apresenta a eficiência de encapsulação total e efetiva e a quantidade de ácido ascórbico superficial das micropartículas produzidas com a suspensão de ácido ascórbico, com diâmetro médio de 37,5 μm (método de dispersão T3) na matriz lipídica. Observa-se, a partir dos resultados, que independente da proporção entre os ácidos graxos do material de parede ou da concentração de ácido ascórbico utilizada, a eficiência de encapsulação efetiva foi muito baixa, com valores abaixo de 8 %. No ensaio realizado com a mistura de material de parede contendo ácido esteárico (P4) não foi possível a formação de partículas, visto que houve o entupimento do bico atomizador pela decantação do ácido ascórbico no interior do mesmo. O experimento P5 realizado pela atomização da emulsão foi o resultou em maiores valores de eficiência de encapsulação total, efetiva e menor teor de ácido ascórbico superficial.

A partir desses resultados optou-se pela utilização de uma solução aquosa de ácido ascórbico emulsionada juntamente com a mistura de material de parede e o surfactante poliricinoleato de poliglicerol (GRINSTED® PGPR 90), conforme ensaio T4 de dispersão. Diversos autores têm utilizado emulsões contendo soluções aquosas de ingrediente ativo na obtenção de micropartículas lipídicas (CHAMBI et al., 2008; LEONEL et al., 2010; RIBEIRO, ARELLANO e GROSSO, 2012; CHIME et al., 2013; GOMES et al., 2013).

Tabela 2.11 - Eficiência de encapsulação das micropartículas produzidas com a suspensão do ácido ascórbico

Ensaio	Mistura	Proporção (m/m)	Concentração de AA % (m/m)	Eficiência total (%)	Eficiência efetiva (%)	AA superficial (%)
P1	AL/AO	70/30	5	52	8	85
P2	AL/AO	90/10	5	26	3	90
P3	AL/AO	70/30	10	60	2	96
P4	AE/AO	50/50	10	**	**	**
P5*	AL/AO	70/30	6	87	69	20

AA: Ácido ascórbico; AL: ácido láurico; AO: ácido oleico; AE: ácido esteárico

* Emulsão preparada conforme descrito na Tabela 2.2

** Não formou partículas, visto que o ácido ascórbico decantou entupindo o bico atomizador

2.3.3 Obtenção das micropartículas lipídicas contendo antioxidante

A partir dos resultados obtidos nos ensaios preliminares foram realizados os diversos experimentos para obtenção do ácido ascórbico microencapsulado, de acordo com a Tabela 2.4.

A Tabela 2.12 apresenta as condições de temperatura e umidade relativa na obtenção das micropartículas lipídicas, bem como o rendimento do processo. Observa-se que não houve muita variação nas temperaturas e umidades relativas do ar ambiente utilizadas nos ensaios, bem como o desvio padrão entre as triplicatas foi baixo, inferior a 3 °C para as temperaturas e inferior a 7 % para a umidade relativa. Portanto, provavelmente esses fatores não influenciaram nos resultados das análises.

Foram obtidos ótimos rendimentos para todos os experimentos, maiores que 62 % em todas as análises, chegando a 73 % no experimento 5. Rendimentos ainda maiores não puderam ser obtidos, devido as características das partículas de gordura, que ficam aderidas nas paredes do interior do equipamento.

A Figura 2.10 apresenta o aspecto das micropartículas lipídicas contendo ácido ascórbico, produzidas por *spray chilling*. As partículas com maior conteúdo de ácido oleico na mistura de material de parede apresentaram-se mais aglomeradas.

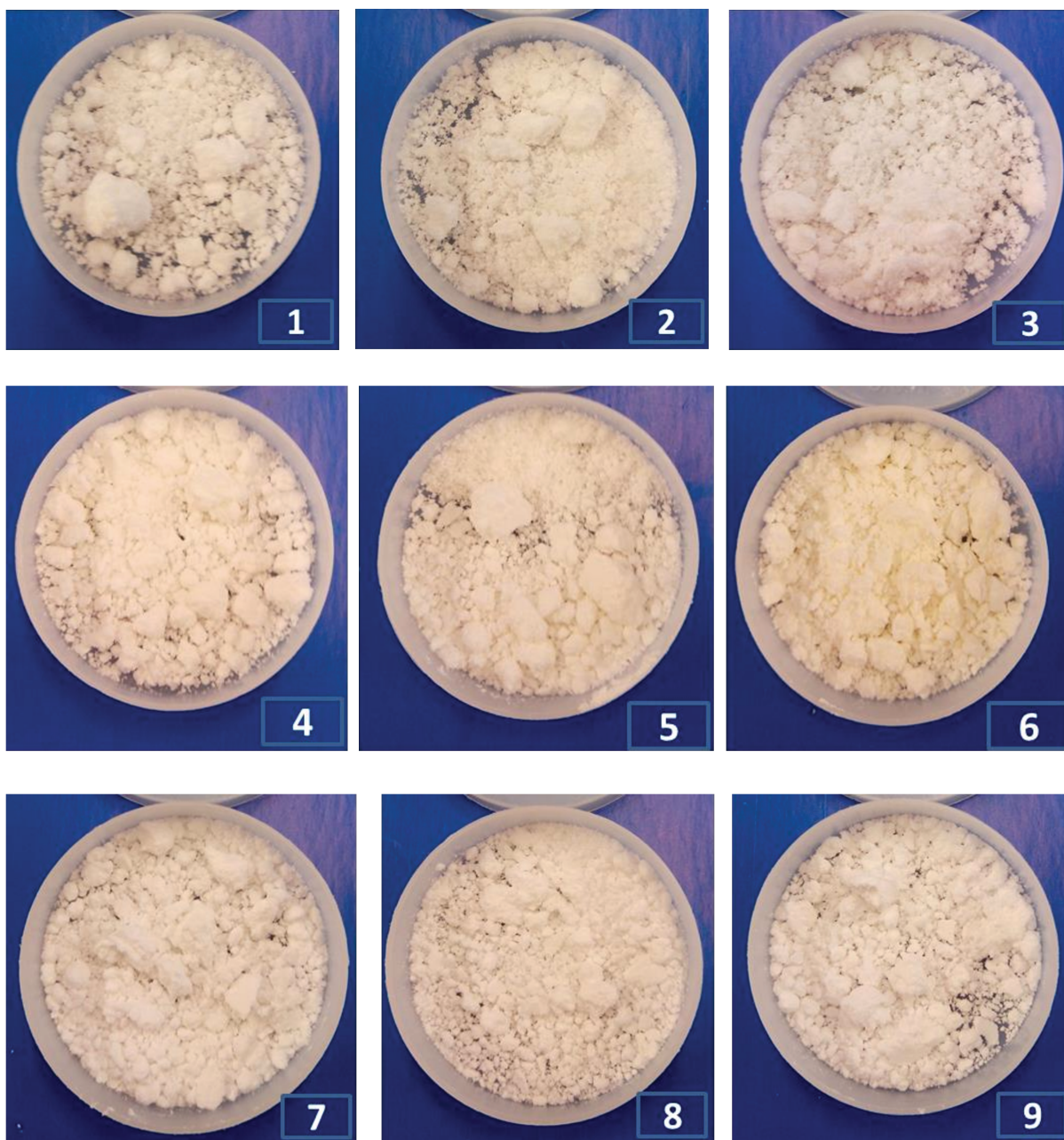
Tabela 2.12 - Condições de temperatura e umidade de obtenção das micropartículas por *spray chilling* e rendimento do processo

Ensaio	AL/AO (m/m)	AG/AA (m/m)	T _{entrada} * (°C)	T _{saída} ** (°C)	T _{ambiente} (°C)	UR _{ambiente} (%)	Rendimento (%)
1	70/30	80/20	6 ± 1	9 ± 1	25 ± 2	47 ± 7	67 ± 5
2	70/30	75/25	6,3 ± 0,6	9,3 ± 0,6	25 ± 1	51 ± 3	67 ± 5
3	70/30	70/30	6 ± 1	8,7 ± 0,6	26 ± 1	46 ± 5	64 ± 4
4	80/20	80/20	6,3 ± 0,6	9,3 ± 0,6	25 ± 2	53 ± 3	72,1 ± 0,5
5	80/20	75/25	5,7 ± 0,6	8,7 ± 0,6	24 ± 1	55 ± 6	73 ± 3
6	80/20	70/30	6 ± 1	9 ± 1	25 ± 3	52 ± 7	68 ± 1
7	90/10	80/20	6,3 ± 0,6	10 ± 0	26 ± 2	44 ± 6	67 ± 6
8	90/10	75/25	6,3 ± 0,6	10 ± 0	25,5 ± 0,6	50 ± 6	62 ± 6
9	90/10	70/30	6,3 ± 0,6	9 ± 1	26 ± 3	46 ± 14	70 ± 2

*Temperatura do ar na entrada na câmara;

** Temperatura do ar na saída da câmara;

AL: ácido láurico; AO: ácido oleico; AA: Solução de ácido ascórbico 30 % (material de recheio); AG: ácidos graxos (material de parede)



Os números de cada figura correspondem aos ensaios descritos na Tabela 2.12

Figura 2.10 - Micropartículas lipídicas de ácido ascórbico produzidas por *spray chilling*

2.3.4 Caracterização das micropartículas

2.3.4.1 Eficiência de encapsulação

A Tabela 2.13 apresenta os percentuais de eficiência de encapsulação total (ET) e efetiva (EE) e o teor de ácido ascórbico superficial (AAs) das micropartículas lipídicas, produzidas nas diferentes proporções de ácidos graxos presentes no material de parede, bem como nas diferentes proporções entre o material de parede e o material de recheio.

A Figura 2.11 apresenta o dendrograma, que correlaciona a eficiência de encapsulação total e efetiva e o conteúdo de AAs das micropartículas produzidas nos 9 ensaios, a fim de identificar grupos de micropartículas semelhantes em relação a essas propriedades e as distâncias entre esses grupos. A leitura do dendrograma é feita da direita para esquerda, no qual a posição no eixo X representa os grupos unidos por ordem decrescente de semelhança e as linhas verticais, ou o eixo Y, representam a distância euclidiana, que é comumente usada como uma medida de similaridade ou semelhança entre os objetos a serem agrupados.

Tabela 2.13 - Eficiências de encapsulação total e efetiva e ácido ascórbico superficial das micropartículas produzidas por *spray chilling*

Ensaio	AL/AO (m/m)	AG/AA (m/m)	Eficiência total (%)	Eficiência efetiva (%)	AAs (%)
1	70/30	80/20	97 ^a ± 3	88 ^d ± 6	9 ^a ± 5
2	70/30	75/25	95 ^a ± 3	85 ^{cd} ± 9	10 ^a ± 6
3	70/30	70/30	98 ^a ± 3	87 ^d ± 7	12 ^a ± 6
4	80/20	80/20	89 ^a ± 6	74 ^{abcd} ± 1	17 ^{ab} ± 5
5	80/20	75/25	93 ^a ± 3	80 ^{bcd} ± 4	13 ^{ab} ± 2
6	80/20	70/30	94 ^a ± 5	79 ^{bcd} ± 8	16 ^{ab} ± 4
7	90/10	80/20	94 ^a ± 5	67 ^{abc} ± 4	28 ^{bc} ± 5
8	90/10	75/25	93 ^a ± 1	58 ^a ± 3	37 ^c ± 4
9	90/10	70/30	97 ^a ± 5	63 ^{ab} ± 13	35 ^c ± 11

Letras diferentes, em uma mesma coluna, indicam diferença estatística significativa ($p > 0,05$)
 AL: ácido láurico; AO: ácido oleico; AA: Solução de ácido ascórbico 30 % (material de recheio); AG: ácidos graxos (material de parede); AAs: ácido ascórbico superficial.

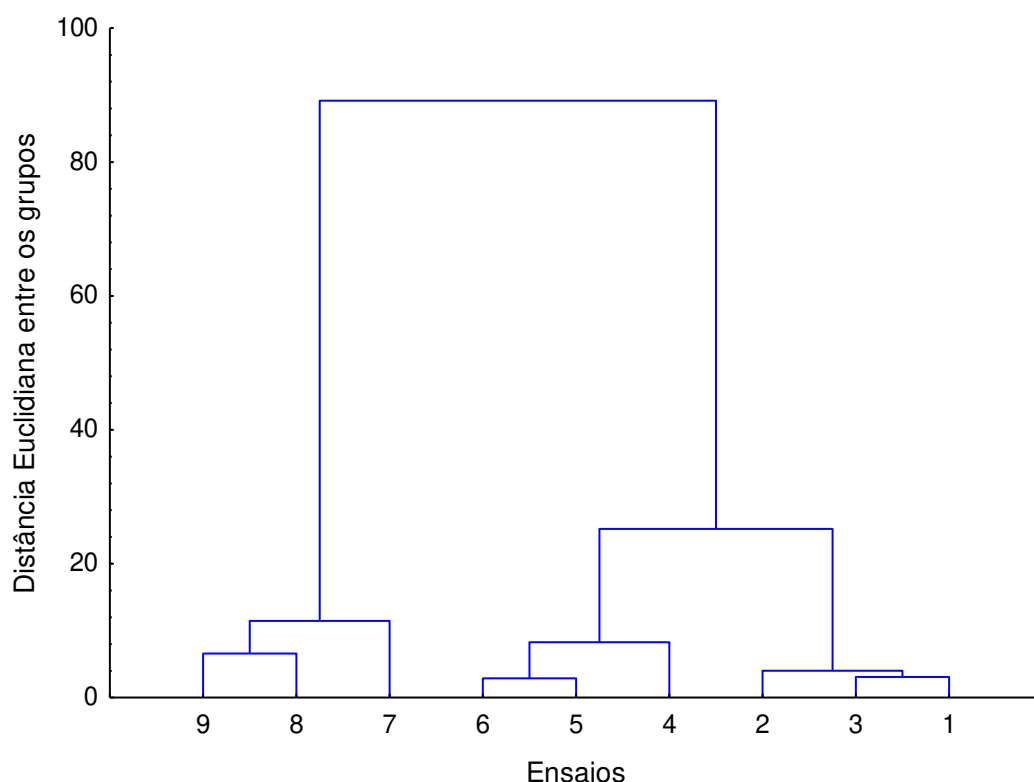


Figura 2.11 - Dendrograma para micropartículas lipídicas contendo ácido ascórbico correlacionando a eficiência de encapsulação total e efetiva e a quantidade de AAs

A partir da análise multivariada (Figura 2.11), empregando o método de agrupamento por aglomeração hierárquica, foram obtidos grupos de micropartículas formados por semelhança em relação ao conjunto das três propriedades analisadas (ET, EE e AAs). Assim, é possível notar que os grupos foram formados com relação ao efeito da proporção dos ácidos graxos presentes no material de parede, independente da proporção entre a mistura de ácidos graxos e o material de recheio. O primeiro grupo com os ensaios 1, 2 e 3 contendo AL/AO: 70/30, o segundo grupo com os ensaios 4, 5 e 6, os quais possuem no material de parede AL/AO: 80/20 e o terceiro formado pelos ensaios 7, 8 e 9 com AL/AO: 90/10. Observa-se também que houve maior semelhança entre o primeiro e o segundo grupo, os quais apresentaram uma grande distância euclidiana em relação ao terceiro grupo, visto que este apresentou diferença dos demais principalmente em relação ao teor de AAs e eficiência de encapsulação efetiva.

As micropartículas produzidas apresentaram altos valores de eficiência de encapsulação total, variando entre $89 \pm 6 \%$ e $98 \pm 3 \%$, sem diferença estatisticamente significativa entre os experimentos ($p > 0,05$). Nos experimentos realizados por Gamboa, Gonçalves e Grosso (2011), que produziram micropartículas lipídicas por *spray chilling* contendo α -tocoferol, também foram observados valores de eficiência de encapsulação total de até 95 %.

Os resultados de eficiência de encapsulação efetiva e ácido ascórbico superficial mostraram que a quantidade de ácido oleico presente na mistura de ácidos graxos, utilizados como material de parede, tem influência positiva na capacidade de encapsulação da partícula, independente da proporção de material de parede e recheio utilizados, ou seja, nos experimentos contendo maiores quantidades de ácido oleico, altos valores de eficiência de encapsulação efetiva foram obtidos ($88 \pm 6 \%$) e, conseqüentemente, baixas quantidades de ácido ascórbico superficial ($9 \pm 5 \%$).

A incorporação de lipídios líquidos em lipídios sólidos, à temperatura ambiente, resulta em uma grande perturbação na ordem do cristal. Assim, a matriz das micropartículas lipídicas resultantes apresenta imperfeições na estrutura cristalina e espaço suficiente para acomodar as moléculas de material de recheio, levando a uma maior capacidade de retenção (HU et al., 2005).

Os menores valores de eficiência de encapsulação efetiva foram obtidos nos experimentos contendo baixo conteúdo de ácido oleico no material de parede (10 %), com valores abaixo de $67 \pm 4 \%$ e percentual de ácido ascórbico superficial de até $37 \pm 4 \%$. Os experimentos 7, 8 e 9 (10% de ácido oleico) apresentaram diferença estatisticamente significativa, a 5 % de significância, dos experimentos contendo 30 % de ácido oleico como material de parede (ensaios 1, 2 e 3). Os ensaios contendo quantidade intermediária de ácido oleico na mistura (20 %) não apresentaram diferença significativa dos ensaios contendo 30 % ($p > 0,05$).

Hu et al. (2005) estudaram a preparação e caracterização de carreadores lipídicos nanoestruturados de ácido esteárico e observaram que a eficiência de encapsulação aumentou de 47,67 % para 69,95 %, com o aumento no percentual de ácido oleico de 0 para 30 %, atribuído ao alto grau de desordem do cristal formado.

O mesmo comportamento foi observado por Ribeiro, Arellano e Grosso (2012), que estudaram o efeito da adição de ácido oleico na obtenção de micropartículas lipídicas de ácido esteárico contendo material de recheio hidrofílico (glicose), por *spray cooling*, em que o aumento da concentração de ácido oleico na mistura proporcionou maior eficiência de encapsulação efetiva, bem como menores percentuais de material de recheio superficial. Estes justificaram tal resultado pelo fato de que a presença e a quantidade de ácido oleico na mistura de material de parede modificam o padrão de cristalização, devido a sua forma líquida à temperatura ambiente e insaturações presentes na sua estrutura, proporcionando maior imperfeição no cristal, formado durante o processamento, auxiliando na manutenção do material de recheio encapsulado e evitando a sua expulsão.

2.3.4.2 Distribuição de tamanho e diâmetros médios das partículas

A Figura 2.12 (a, b e c) apresenta a distribuição de tamanho das partículas em relação ao número de partículas com o mesmo diâmetro, mostrando que as partículas obtidas nos 9 ensaios realizados apresentaram uma faixa estreita de distribuição de tamanho, com maior número de partículas com diâmetro médios equivalentes entre 0,3 μm e 1 μm . As partículas contendo menor concentração de ácido oleico na mistura (Ensaio 7, 8 e 9), apresentaram o pico de distribuição de tamanho em um diâmetro equivalente menor que os demais ensaios, mostrando a influência do teor desse ácido graxo na composição das partículas.

A Figura 2.13 (a, b e c) mostra a distribuição de tamanho das partículas, em relação ao volume de partículas com o mesmo diâmetro, dos ensaios 1 a 9, comparando as diferentes proporções entre os ácidos graxos (ácido láurico e ácido oleico) do material de parede em uma mesma proporção entre o material de parede e o material de recheio. A partir dos gráficos, observa-se que houve um deslocamento do pico para a direita com o aumento da concentração de ácido oleico na mistura, bem como o aumento da faixa na base do pico.

Quando comparados os gráficos de distribuição das Figuras 2.12 e 2.13 observa-se que houve um deslocamento da distribuição de tamanho nos gráficos em que a distribuição leva em conta o volume de partículas com o mesmo diâmetro, em relação à distribuição

numérica. Isso pode ser explicado pelo fato de que um pequeno número de partículas maiores ocupam um volume maior, assim aparecem na distribuição em relação ao volume, porém, visto que esse número de partículas maiores é muito pequeno, elas não aparecem na distribuição numérica. Observa-se também que a maioria das partículas encontra-se na faixa de diâmetro de 0,3 μm a 1,0 μm na distribuição numérica, muito diferente da distribuição volumétrica que apresenta maior volume de partícula na faixa de 8 μm a 50 μm .

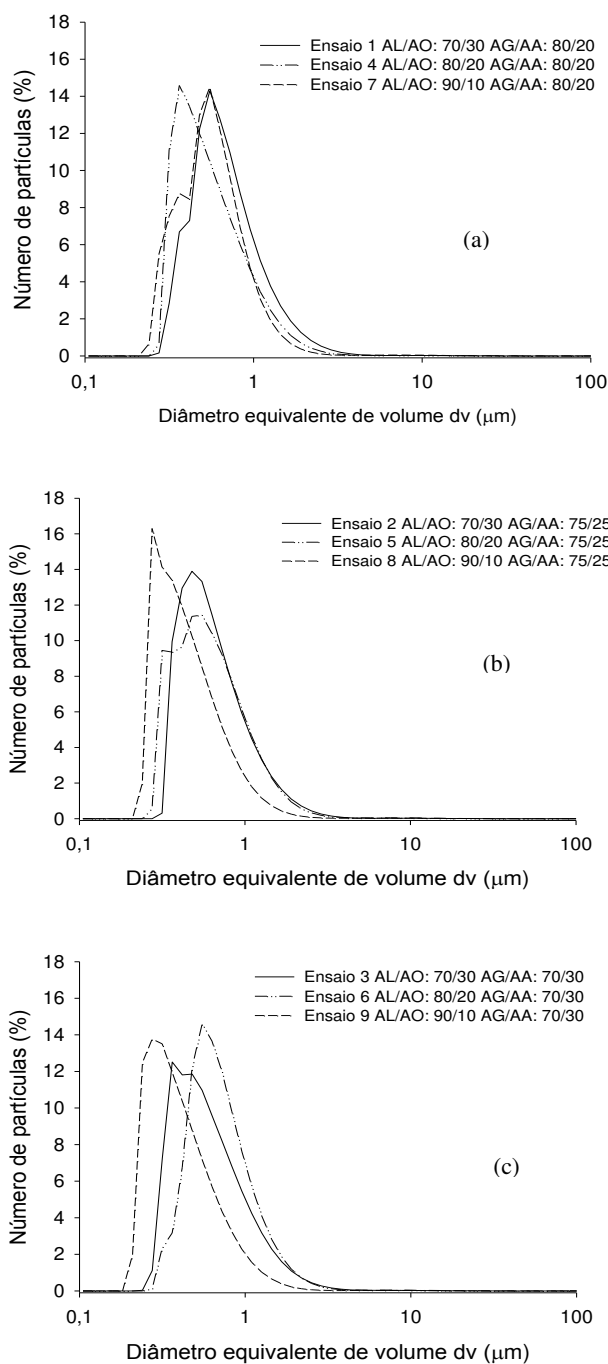


Figura 2.12 - Distribuição de tamanho das micropartículas produzidas em relação ao número de partículas nas diferentes proporções de ácidos graxos na mistura de material de parede e com proporção de AG/AA: 80/20, ensaios 1, 4 e 7 (a); AG/AA: 75/25, ensaios 2, 5 e 8 (b); e AG/AA: 70/30, ensaios 3, 6 e 9 (c).

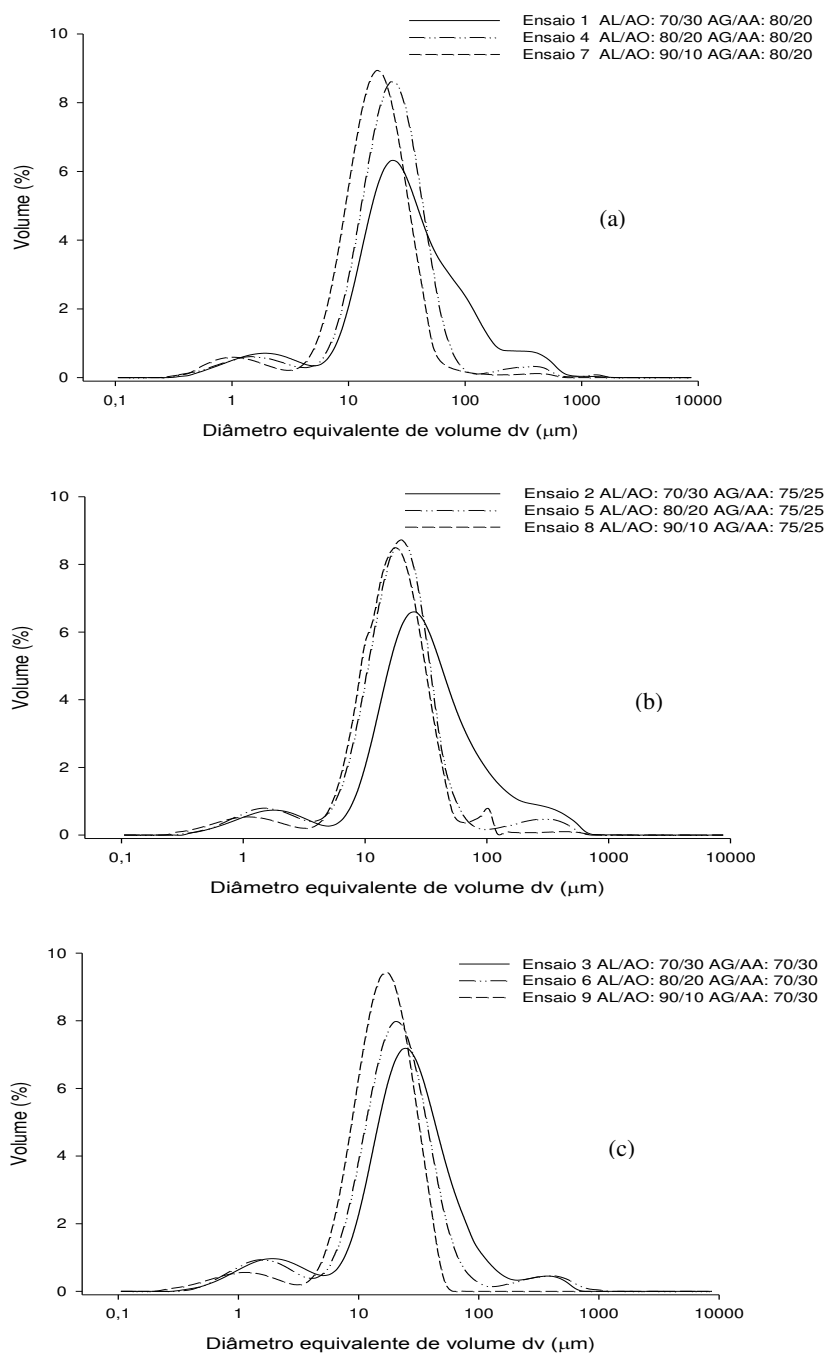


Figura 2.13 - Distribuição de tamanho das micropartículas produzidas em relação ao volume das partículas nas diferentes proporções de ácidos graxos na mistura de material de parede e com proporção de AG/AA: 80/20, ensaios 1, 4 e 7 (a); AG/AA: 75/25, ensaios 2, 5 e 8 (b); e AG/AA: 70/30, ensaios 3, 6 e 9 (c).

A Tabela 2.14 apresenta os diâmetros médios das micropartículas lipídicas produzidas nos 9 ensaios, mostrando que, assim como nos resultados de eficiência de encapsulação, a quantidade de ácido oleico presente na mistura de material de parede teve grande efeito no tamanho das partículas, visto que, com o aumento da concentração deste ácido graxo observa-se o aumento no diâmetro médio das partículas.

Tabela 2.14 - Diâmetros médios e distribuição de tamanho das micropartículas lipídicas

Ensaio	AL/AO (m/m)	AG/AA (m/m)	D[4, 3] (μm)	D[3,2] (μm)	dv(0,1) (μm)	dv(0,5) (μm)	dv(0,9) (μm)
1	70/30	80/20	67 ^c \pm 3	12 ^b \pm 2	8 ^a \pm 3	35 ^c \pm 11	159 ^c \pm 20
2	70/30	75/25	66 ^c \pm 4	11 ^{ab} \pm 2	8 ^a \pm 2	31 ^{bc} \pm 5	171 ^c \pm 20
3	70/30	70/30	45 ^{bc} \pm 14	8 ^{ab} \pm 1	5 ^a \pm 3	22 ^{abc} \pm 2	96 ^b \pm 41
4	80/20	80/20	38 ^{ab} \pm 4	9,9 ^{ab} \pm 0,8	8 ^a \pm 1	24 ^{abc} \pm 2	55 ^{ab} \pm 4
5	80/20	75/25	33 ^{ab} \pm 14	8,5 ^{ab} \pm 0,8	6 ^a \pm 2	20 ^{ab} \pm 2	60 ^{ab} \pm 35
6	80/20	70/30	40 ^{ab} \pm 13	9 ^{ab} \pm 3	5 ^a \pm 4	22 ^{ab} \pm 5	55 ^{ab} \pm 20
7	90/10	80/20	24 ^{ab} \pm 5	8,4 ^{ab} \pm 0,9	7 ^a \pm 1	18,1 ^a \pm 0,9	40 ^{ab} \pm 6
8	90/10	75/25	23 ^{ab} \pm 3	8,0 ^{ab} \pm 0,6	7 ^a \pm 1	18 ^a \pm 1	36 ^{ab} \pm 1
9	90/10	70/30	18 ^a \pm 1	7,5 ^a \pm 0,5	6,7 ^a \pm 0,7	17 ^a \pm 1	33 ^a \pm 2

Letras diferentes, em uma mesma coluna, indicam diferença estatística significativa ($p > 0,05$)

AL: ácido láurico; AO: ácido oleico; AA: Solução de ácido ascórbico 30 % (material de recheio); AG: ácidos graxos (material de parede)

A distribuição de tamanho em relação ao volume das partículas dos ensaios 1, 2 e 3 (30 % de ácido oleico) apresentou uma ampla faixa de diâmetros equivalentes de volume (dv) (Tabela 2.14), partindo de valores dv(0,1) $5 \pm 3 \mu\text{m}$ (ensaio 3) até valores dv(0,9) de $171 \pm 20 \mu\text{m}$. Essa ampla faixa de distribuição deve-se ao fato da presença de partículas aglomeradas à medida que a concentração de ácido oleico na mistura aumenta. Não houve diferença significativa entre os valores de dv(0,1) dos diferentes ensaios, somente entre os diâmetros dv(0,5) e dv(0,9) entre os ensaios com maior (30 %) e menor (10%) concentração de ácido oleico. Os ensaios com concentração intermediária (20 %) de ácido oleico na mistura de material de parede não apresentaram diferença significativa dos demais ensaios.

Os ensaios com menor concentração de ácido oleico, ou seja, maior concentração de ácido láurico (saturado), apresentaram uma pequena faixa de distribuição de tamanho variando de $dv(0,1)$ de $7 \pm 1 \mu\text{m}$ a $dv(0,9)$ de $40 \pm 6 \mu\text{m}$. Alvim et al. (2013) produziram micropartículas lipídicas utilizando como material de parede misturas contendo o ácido esteárico (saturado) e notaram que a concentração deste ácido graxo apresentou um efeito negativo na distribuição do tamanho das partículas, ou seja, com o aumento do lipídio saturado na mistura houve uma diminuição no tamanho das partículas produzidas por *spray chilling*.

O tamanho das partículas é dependente da tecnologia de atomização, das condições de processo, do material de parede e do composto ativo que se deseja encapsular. As partículas produzidas por atomização (*spray dryer* e *spray chilling*) tendem a ter diâmetros na faixa de $40 \mu\text{m}$ a $300 \mu\text{m}$ (análise baseada em microscópio óptico) (SILLICK e GREGSON, 2012).

Os valores de diâmetro médio de volume $D[4,3]$ das partículas com maior concentração de ácido oleico (30 %) no material de parede variaram de $45 \pm 14 \mu\text{m}$ a $67 \pm 3 \mu\text{m}$ ($p < 0,05$) e nas partículas com menor concentração de ácido oleico (10 %) de $18 \pm 1 \mu\text{m}$ a $24 \pm 5 \mu\text{m}$ ($p < 0,05$). O mesmo foi observado para o diâmetro médio de Sauter $D[3,2]$ com valores variando de $7 \mu\text{m}$ para o ensaio 9 (10 % de ácido oleico) até $12 \pm 2 \mu\text{m}$ para o ensaio 1 (30 % de ácido oleico), com diferença significativa entre estes ($p > 0,05$). Os ensaios 4, 5 e 6, com quantidade intermediária de ácido oleico na mistura de material de parede (20 %), não apresentaram diferença estatisticamente significativa, a 5 % de significância, dos demais ensaios.

Ribeiro (2010) em seus estudos, utilizando *spray chilling* para a obtenção de micropartículas lipídicas com misturas de ácidos graxos, observou que maiores quantidades de ácido oleico na mistura de material de parede proporcionaram um aumento no tamanho das partículas, justificando que o aumento na concentração deste ácido graxo provoca um aumento na viscosidade da emulsão atomizada e, quanto maior a viscosidade, maior o tamanho da partícula. Estes obtiveram diâmetros médios das partículas variando de $81,39 \mu\text{m}$ a $115,63 \mu\text{m}$ (análise em microscópio).

Gavory et al. (2013) e Maschke et al. (2007) observaram que a diminuição no tamanho médio das partículas está relacionado com o aumento na temperatura do processo,

justificando que esse fenômeno pode estar ligado a viscosidade das gorduras fundidas, a qual depende da temperatura e, geralmente, diminui quando altas temperaturas de processo são definidas. Portanto, isso justifica a diminuição no diâmetro de partículas obtidas a partir de material de parede com ponto de fusão maior, visto que a temperatura de processo utilizada neste trabalho foi 10 °C acima do ponto de fusão, ou seja, variando para cada mistura.

Além disso, Gavory et al. (2013) também relacionaram a variação no tamanho das partículas com a vazão de alimentação, mostrando que o aumento na vazão provoca o aumento no diâmetro das partículas, bem como, o aumento na proporção de surfactante aumenta significativamente os diâmetros médios das partículas.

A Figura 2.14 apresenta o dendrograma que correlaciona os diâmetros médios $D[4,3]$ e $D[3,2]$, bem como os diâmetros $dv(0,1)$, $dv(0,5)$ e $dv(0,9)$ das micropartículas produzidas nos 9 ensaios, a fim de identificar grupos de micropartículas semelhantes em relação ao seu tamanho e as distâncias entre esses grupos.

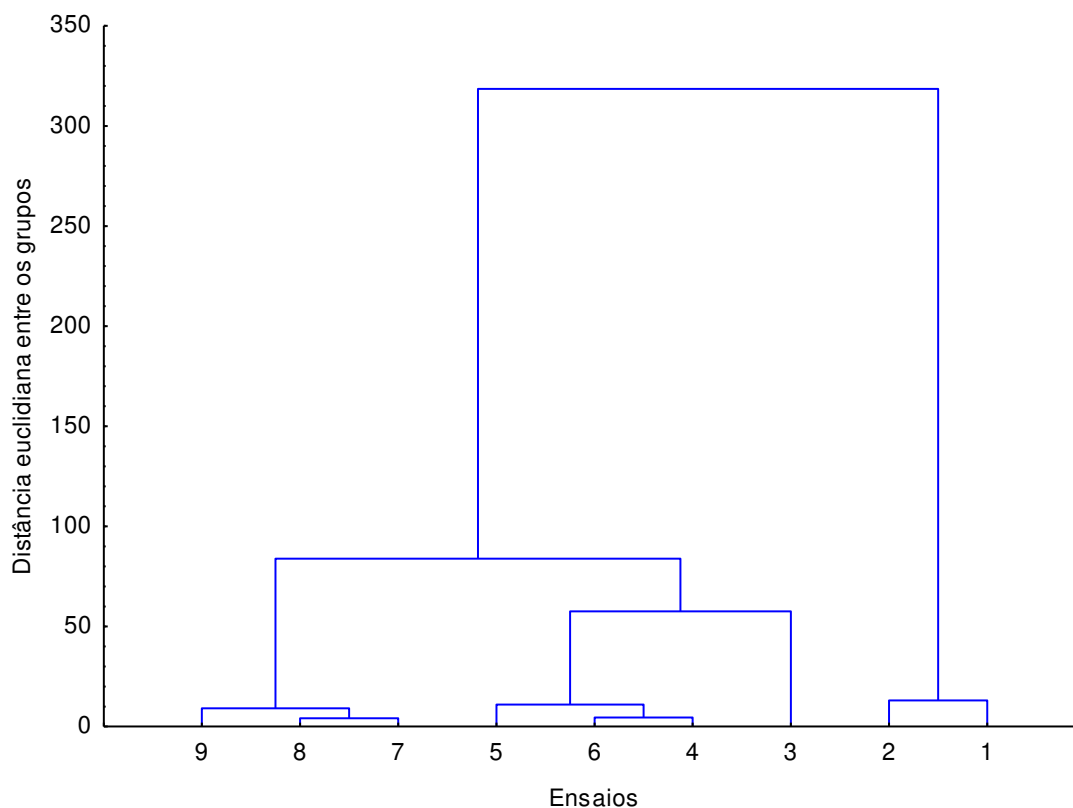


Figura 2.14 - Dendrograma para micropartículas lipídicas contendo ácido ascórbico correlacionando os diâmetros médios e a distribuição de tamanho

A partir do dendrograma é possível comprovar que o efeito da quantidade de ácido oleico presente na mistura de material de parede definiu a separação dos grupos de partículas com tamanhos semelhantes. Observa-se claramente os grupos formados por partículas com 20 % de ácido oleico na mistura (ensaios 4, 5 e 6), com 10 % desse ácido graxo (7, 8 e 9) e ainda um grupo formado pelas partículas dos ensaios 1 e 2, com 30 % de ácido oleico, o qual apresentou uma grande distância dos demais grupos formados.

2.3.4.3 Cinética de liberação do recheio

A partir da Tabela 2.15 e da Figura 2.15, as quais apresentam o percentual de liberação de ácido ascórbico das micropartículas lipídicas em meio aquoso a uma temperatura de 25 °C, é possível observar que as micropartículas de todos os ensaios apresentaram liberação instantânea, correspondente ao ácido ascórbico superficial, chamado de efeito *burst* de liberação.

Tabela 2.15 - Comportamento de liberação do recheio das micropartículas lipídicas

Ensaio	AL/AO (m/m)	AG/AA (m/m)	Ácido ascórbico liberado (%)				
			Tempo (min)				
			5	30	60	90	120
1	70/30	80/20	24 ^{ab} ± 16	54 ^{cd} ± 10	62 ^{bc} ± 11	74 ^{cd} ± 7	78 ^{de} ± 2
2	70/30	75/25	14 ^{ab} ± 3	45 ^{bcd} ± 8	60 ^{bc} ± 13	74 ^{cd} ± 10	82 ^{de} ± 11
3	70/30	70/30	32 ^{ab} ± 4	64 ^d ± 6	75,6 ^c ± 0,5	88,0 ^d ± 0,1	93,3 ^e ± 0,1
4	80/20	80/20	16 ^{ab} ± 2	29 ^{ab} ± 1	38 ^{ab} ± 5	49 ^{ab} ± 3	54 ^{abc} ± 3
5	80/20	75/25	11 ^a ± 4	22 ^a ± 7	27 ^a ± 8	34 ^a ± 7	37 ^a ± 6
6	80/20	70/30	19 ^{ab} ± 9	33 ^{abc} ± 11	38 ^{ab} ± 7	46 ^{ab} ± 8	51 ^{ab} ± 9
7	90/10	80/20	29 ^{ab} ± 5	50 ^{bcd} ± 7	55 ^{bc} ± 7	62 ^{bc} ± 8	70 ^{bcd} ± 5
8	90/10	75/25	34 ^b ± 5	52 ^{bcd} ± 5	60 ^{bc} ± 3	66 ^{bcd} ± 2	71,5 ^{cd} ± 0,6
9	90/10	70/30	30 ^{ab} ± 9	47 ^{bcd} ± 12	56 ^{bc} ± 11	64 ^{bc} ± 11	68 ^{bcd} ± 9

Letras diferentes, em uma mesma coluna, indicam diferença estatística significativa (p>0,05)

AL: ácido láurico; AO: ácido oleico; AA: Solução de ácido ascórbico 30 % (material de recheio); AG: ácidos graxos (material de parede)

Segundo Müller, Radtke e Wissing (2002), o efeito *burst* pode ser atribuído a um efeito de separação de fases durante a cristalização, visto que nessa etapa o lipídio cristaliza primeiro deixando o núcleo livre de material de recheio, levando a uma camada externa enriquecida de ingrediente ativo.

O perfil de liberação do material de recheio não apresentou diferença significativa entre os ensaios produzidos com a mesma proporção de ácido láurico e ácido oleico no material de parede ($p < 0,05$), ou seja, assim como nos resultados anteriores, a proporção entre o material de parede e o material de recheio não apresentou efeito sobre o perfil de liberação das micropartículas produzidas.

A maior taxa de liberação do recheio foi observada nos primeiros 30 min de reação para todos os ensaios. As micropartículas contendo maior proporção de ácido oleico (30 %), ensaios 1, 2 e 3, foram as que apresentaram maior conteúdo de ácido ascórbico liberado ao final de 120 min, chegando a 93 % nas partículas do ensaio 3, ou seja, essas partículas não foram eficientes em reter o material de recheio na partícula. Comportamento semelhante foi observado nas partículas contendo menor quantidade de ácido oleico na mistura (10 %), embora tenha apresentado valor máximo de 71 ± 1 % no experimento 8. Embora todos os ensaios tenham apresentado maior conteúdo de ácido ascórbico liberado ao final de 120 min, as partículas dos ensaios 4, 5 e 6 apresentaram menor conteúdo de recheio liberado.

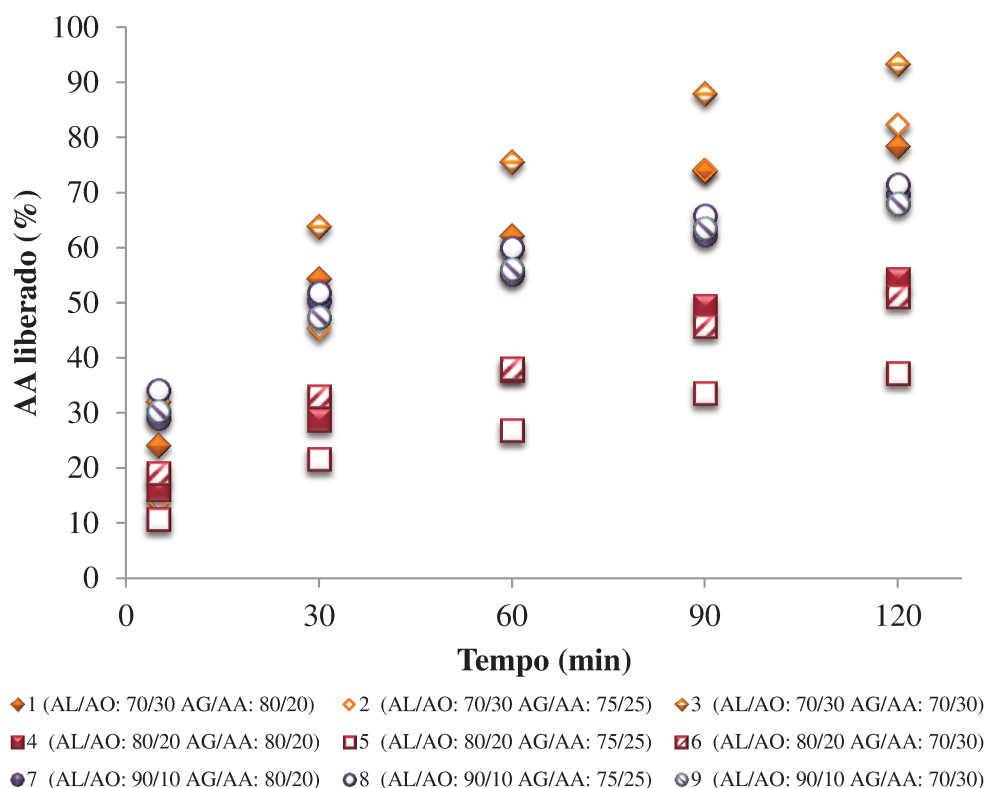


Figura 2.15 - Percentual de ácido ascórbico liberado pelas micropartículas lipídicas em meio aquoso em função do tempo a 25 °C

As partículas contendo 20 % de ácido oleico na mistura de material de parede foram as que apresentaram melhor retenção do recheio ao final dos 120 min de análise, sendo que as partículas do ensaio 5 liberaram apenas 37 ± 6 % do seu conteúdo liberado, mostrando diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$) em relação aos ensaios com maior (30 %) e menor (10 %) concentração de ácido oleico. Hu et al. (2005) estudando carreadores lipídicos nanoestruturados, utilizando como material de parede misturas de ácido esteárico e oleico, observaram que o aumento na quantidade de ácido oleico e a diminuição no tamanho da partícula (aumento da área superficial) são fatores que estão relacionados com maiores taxas de liberação do recheio. Estes ainda concluíram que é possível controlar a liberação do recheio a partir do ajuste na quantidade de lipídio líquido adicionado a matriz lipídica.

Em geral, micropartículas produzidas por *spray chilling*, independente da carga ou da composição da matriz lipídica, apresentam dificuldade em alcançar uma liberação lenta de um ingrediente solúvel em água, durante 30 min, em um material com alta atividade de água, pois as partículas obtidas por este método apresentam alto conteúdo de material de

recheio na superfície, além de apresentarem outros mecanismos de liberação, como forças osmóticas, ruptura mecânica das partículas e lenta difusão de água através das imperfeições na parede das partículas (GOUIN, 2004).

A partir dos resultados obtidos para a liberação do recheio foram escolhidas partículas de três ensaios para incorporação em filme de amido de banana verde, utilizando como critério a cinética de liberação. As partículas do ensaio 3 foram escolhidas por se tratarem da liberação mais rápida do ingrediente ativo, as partículas do ensaio 6 com velocidade de liberação intermediário e as partículas do ensaio 5 por se tratar do experimento no qual se obteve melhor retenção do recheio.

2.3.4.4 Modelagem cinética de liberação do recheio

A Tabela 2.16 apresenta o comportamento cinético de liberação do ácido ascórbico pelas micropartículas lipídicas produzidas nos diferentes ensaios. O modelo cinético que melhor se adapta aos dados de liberação foi avaliado pela comparação dos valores do coeficiente de determinação (R^2) obtidos nos vários modelos. Os modelos utilizados incorporam o efeito *burst* de liberação, assim as equações foram modificadas com uma condição de tempo inicial de 5 min.

Tabela 2.16 - Cinética de liberação do ácido ascórbico das micropartículas lipídicas

Ensaio	AL/AO (m/m)	AG/AA (m/m)	Higuchi		Ritger-Peppas		
			k_2	R^2	k_3	n	R^2
1	70/30	80/20	5,2723	0,9374	7,8394	0,4091	0,9751
2	70/30	75/25	6,3533	0,9936	5,6992	0,5248	0,9953
3	70/30	70/30	5,9103	0,9781	7,5769	0,4431	0,9909
4	80/20	80/20	3,3575	0,9042	1,1761	0,7387	0,9850
5	80/20	75/25	2,3909	0,9651	1,4924	0,6075	0,9893
6	80/20	70/30	2,8579	0,9639	1,9302	0,5896	0,9815
7	90/10	80/20	3,7257	0,9478	4,5862	0,4524	0,9560
8	90/10	75/25	3,4755	0,9988	3,6439	0,4892	0,9992
9	90/10	70/30	3,5285	0,9960	3,2201	0,5209	0,9973

AL: ácido láurico; AO: ácido oleico; AA: Solução de ácido ascórbico 30 % (material de recheio); AG: ácidos graxos (material de parede)

A liberação do ácido ascórbico pelas micropartículas não se ajustou ao modelo de primeira ordem, deste modo, estes resultados não foram apresentados. Os modelos cinéticos modificados de Higuchi e Ritger-Peppas mostraram alto grau de ajuste para todos os ensaios. Porém o modelo que melhor se ajustou foi o modelo modificado de Ritger-Peppas com valores de R^2 acima de 0,9560 para todos os ensaios. O modelo cinético modificado de Ritger-Peppas para a liberação do ácido ascórbico pelas micropartículas em meio aquoso está apresentado na Figura 2.16, juntamente com os dados experimentais.

No modelo de Ritger-Peppas (Difusão Fickiana), os mecanismos de liberação são caracterizados usando o expoente de liberação (n). Para partículas esféricas um valor $0,43 < n < 0,85$ corresponde ao modelo cinético de transporte não Fickiano. O comportamento não Fickiano requer dois ou mais parâmetros para descrever a junção dos fenômenos de difusão e de relaxação (RITGER e PEPPAS, 1987; SIEPMANN e PEPPAS, 2012).

A maioria dos ensaios apresentou valores de n entre 0,43 e 0,85, ou seja, obedecem a um modelo não Fickiano de liberação, exceto o ensaio 1. Nos sistemas de liberação controlada, a extensão e a velocidade de liberação do ingrediente ativo resultam da combinação da difusão com o Caso-II de transporte (modelo cinético de liberação que corresponde ao processo de relaxamento das macromoléculas) das moléculas através do material de parede (RITGER e PEPPAS, 1987).

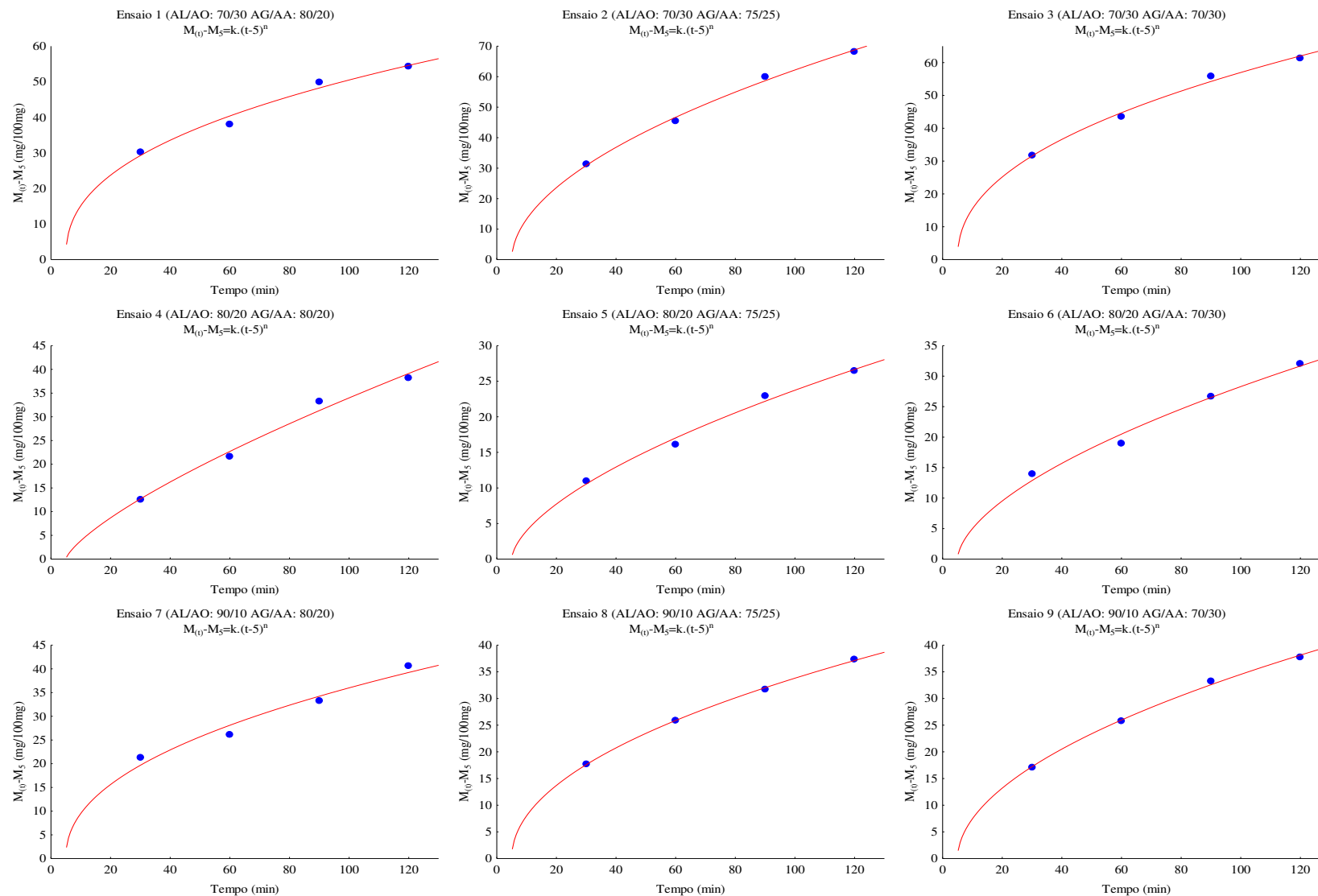


Figura 2.16 - Cinética de liberação do ácido ascórbico pelas micropartículas lipídicas em meio aquoso, seguindo a modelagem cinética modificada de Ritger-Peppas (1987).

A partir dos valores da constante cinética k_3 é possível comprovar que a velocidade de liberação do material de recheio das partículas foi fortemente dependente da composição do material de parede das micropartículas. Os menores valores de k_3 foram observados nos experimentos 4, 5 e 6, contendo quantidade intermediária de ácido oleico na mistura de material de parede (20 %), seguidos pelos experimentos 7, 8 e 9, com menor conteúdo de ácido oleico na mistura. A maior velocidade de liberação do material de recheio pelas partículas foi observado nos experimentos contendo maior concentração de ácido oleico na mistura (Ensaio 1, 2 e 3).

Assim, observa-se que os experimentos contendo ácido oleico na concentração intermediária foram mais eficazes na encapsulação do ácido ascórbico, visto que atuaram de forma protetiva no contato das partículas com um meio aquoso. Isso provavelmente se deu pelas imperfeições formadas nos cristais na etapa de resfriamento, formando espaços com uma porosidade intermediária onde o material de recheio ficou mais protegido que nas demais partículas produzidas.

2.3.4.5 Comportamento térmico das partículas

A Figura 2.17 e a Tabela 2.17 apresentam o comportamento térmico de fusão das micropartículas lipídicas produzidas por *spray chilling*, selecionadas para aplicação nos filmes e os termogramas obtidos por DSC. A análise térmica de fusão foi realizada a partir da temperatura ambiente (25 °C), para que não houvesse mudanças na estrutura das partículas com um novo processo de cristalização. Assim, o pico referente ao ácido oleico presente na mistura não apareceu nos termogramas, visto que este ácido graxo encontra-se no estado líquido a temperatura ambiente.

A partir dos resultados obtidos observa-se que houve uma leve diminuição na temperatura de *endset* (fusão) das micropartículas lipídicas em relação às misturas lipídicas utilizadas como material de parede analisadas na seção 2.3.1 deste capítulo, as quais foram de $41,6 \pm 0,1$ °C e $45,7 \pm 0,4$ °C para as misturas de AL/AO de 70/30 e 80/20, respectivamente. A temperatura de fusão das partículas do ensaio 3, obtidas com mistura de material de parede AL/AO 70/30, foi de 41,2 °C, ou seja, praticamente não variou em relação ao resultados obtidos para o material de parede. Porém, a temperatura de fusão das

partículas dos ensaios 5 e 6 foi de 43,2 e 43,0 °C, respectivamente, ou seja, com variação de aproximadamente 2 °C em relação ao material de parede. Assim, essa diminuição foi mais intensa nas micropartículas com menor proporção de ácido oleico na mistura de material de parede (AL/AO: 80/20) independente da proporção entre o material de parede e o material de recheio. A entalpia de fusão das micropartículas também diminuiu em relação às misturas de material de parede.

Quando relacionadas, as entalpias de fusão das partículas com as entalpias das misturas de material de parede ($\Delta H_{\text{partícula}}/\Delta H_{\text{mistura}}$), observou-se que as partículas apresentaram uma diminuição na sua entalpia ao redor de 50 %, ou seja, uma redução da sua cristalinidade com a adição do ácido ascórbico e o processamento de obtenção das partículas, sem diferença significativa ($p < 0,05$) entre os ensaios. A diminuição na entalpia sugere uma perda na cristalinidade das matrizes lipídicas e, conseqüentemente maiores quantidades de ingrediente ativo podem ser encapsuladas na matriz (CHIME et al., 2013; GOMES et al., 2013).

As taxas de resfriamento no processo de obtenção de partículas lipídicas por *spray chilling* geram um inconveniente, pois a matriz lipídica pode se cristalizar em uma forma polimórfica menos estável, o que leva ao desenvolvimento de cadeias desordenadas, ou seja, com menor cristalinidade (OKURO, MATOS JUNIOR e FAVARO-TRINDADE, 2013).

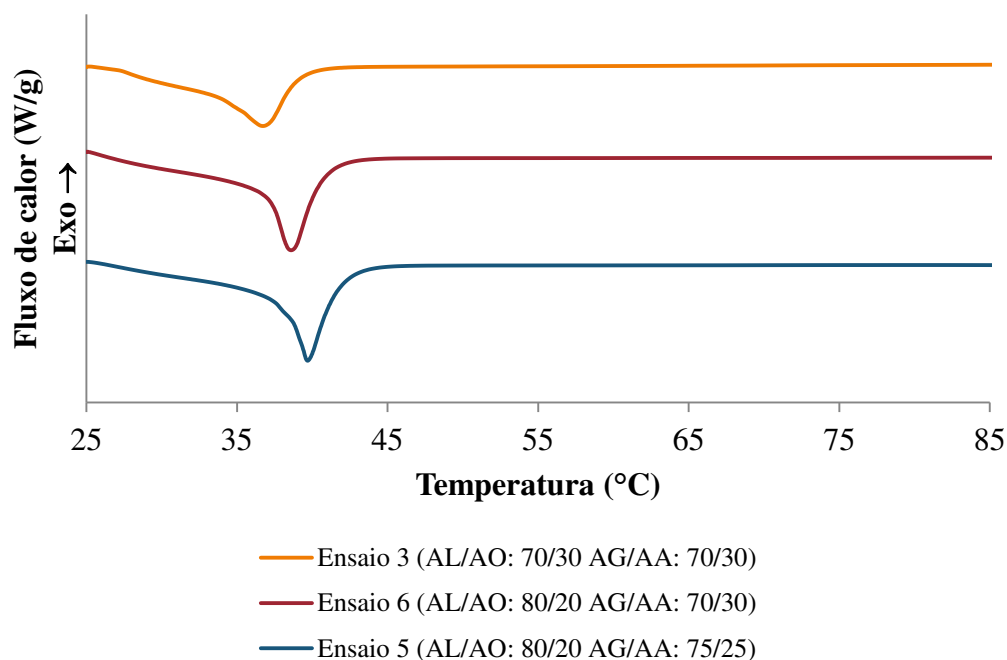


Figura 2.17 - Termogramas de fusão das micropartículas dos ensaios 3, 5 e 6, selecionadas para incorporação nos filmes

Tabela 2.17 - Comportamento térmico das micropartículas selecionadas para aplicação nos filmes

Ensaio	Proporção AL/AO (m/m)	Proporção AG/AA (m/m)	Temperatura pico (°C)	Temperatura <i>endset</i> (°C)	Entalpia de fusão (J/g _{amostra})	$\Delta H_{\text{partícula}} /$ $\Delta H_{\text{mistura}}$
3	70/30	70/30	$37,1 \pm 0,6$	$41,2 \pm 0,5$	75 ± 2	0,52 ^a
5	80/20	75/25	$39,4 \pm 0,2$	$43,2 \pm 0,1$	90 ± 7	0,56 ^a
6	80/20	70/30	$38,6 \pm 0,1$	$43,0 \pm 0,2$	94 ± 6	0,54 ^a

AL: ácido láurico; AO: ácido oleico; AA: Solução de ácido ascórbico 30 % (material de recheio); AG: ácidos graxos (material de parede)

Letras diferentes, em uma mesma coluna, indicam diferença estatística significativa ($p > 0,05$)

A diminuição no ponto de fusão e na entalpia das micropartículas, observada nos termogramas, pode ser atribuída à incorporação do ingrediente ativo e do surfactante ao material de parede, para a obtenção das mesmas. O efeito dos componentes em menor conteúdo sobre a cristalização é fortemente dependente da semelhança entre a estrutura do

lipídio e os componentes secundários, como o surfactante, por exemplo. Quanto maior for a semelhança, mais forte é o efeito, em especial quando esta semelhança é em termos das características da cadeia, tais como o comprimento e o número de ligações duplas, visto que, a alta semelhança permite a integração na matriz do cristal (SMITH et al., 2011).

2.3.4.6 Morfologia das partículas

A Figura 2.18 apresenta a morfologia das micropartículas lipídicas escolhidas para incorporação em filmes de amido de banana verde, ou seja, as micropartículas dos ensaios 3, 5 e 6. Observa-se que as partículas de todos os ensaios apresentaram forma esférica, característica de micropartículas lipídicas, e a presença de partículas de diversos tamanhos. As partículas do ensaio 3 contendo uma proporção de ácido láurico e oleico de 70/30 no material de parede apresentaram aglomerados, os quais também foram observados para as partículas dos ensaios 5 e 6 porém em menor tamanho e número.

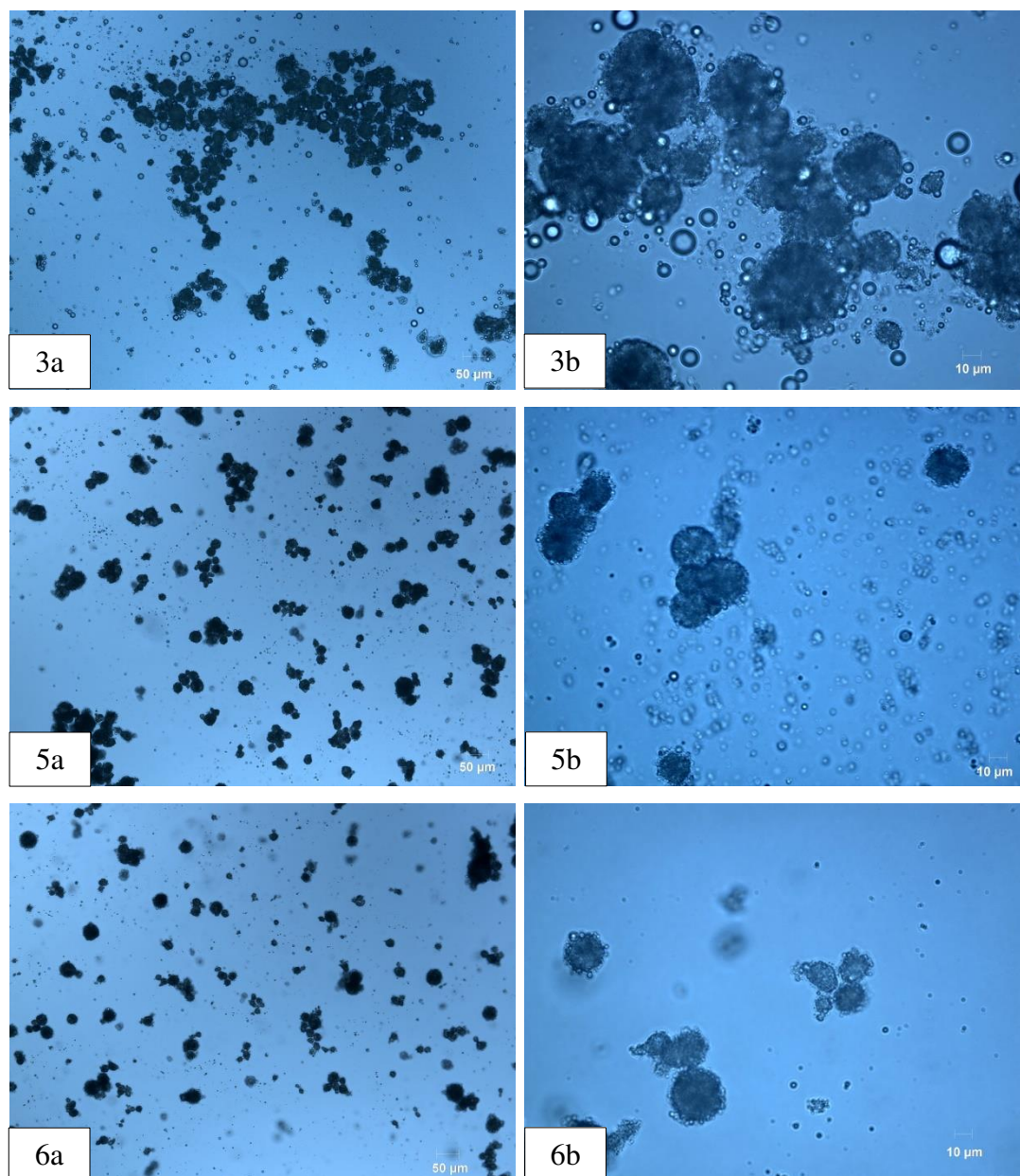


Figura 2.18 - Imagens obtidas por microscopia óptica das micropartículas lipídicas dos ensaios 3 (3a e 3b), 5 (5a e 5b) e 6 (6a e 6b). Onde a corresponde ao aumento de 100 vezes e b ao aumento de 400 vezes

2.4 CONCLUSÃO

As misturas lipídicas de ácido láurico e ácido oleico e de ácido esteárico e ácido oleico, avaliadas por DSC, apresentaram ponto de fusão inversamente proporcional à quantidade de ácido oleico presente nas misturas. As misturas contendo ácido esteárico em sua composição apresentaram pontos de fusão acima de $54,0 \pm 0,9$ °C, inviabilizando sua utilização como material de parede de micropartículas contendo materiais instáveis a altas temperaturas como ingredientes ativos, produzidas por *spray chilling*. Por outro lado, a mistura de ácido láurico e ácido oleico 50/50, apresentou ponto de fusão de $30,9 \pm 0,4$ °C, muito próximo à temperatura ambiente, desta forma sua utilização torna-se inviável devido à instabilidade da partícula em temperatura ambiente. Assim, as misturas de ácidos graxos escolhidas para a obtenção das micropartículas foram de ácido láurico e ácido oleico nas proporções de 70/30, 80/20 e 90/10.

A eficiência de encapsulação, a distribuição de tamanho e o comportamento de liberação do recheio das micropartículas lipídicas produzidas foram mais influenciados pela variação do teor de ácido oleico presente nas misturas de material de parede do que pela proporção de material de parede e material de recheio. Quanto maior a quantidade de ácido oleico presente, maior a eficiência de encapsulação, o diâmetro das partículas e a presença de aglomerados. Valores intermediários de ácido oleico no material de parede (20 %) proporcionaram liberação mais lenta do ácido ascórbico pelas partículas em meio aquoso.

O modelo cinético predominante na liberação do ácido ascórbico pelas partículas foi o modelo cinético modificado de Ritger-Peppas, mostrando que a liberação do recheio das partículas apresentou menor velocidade nos ensaios em que foi utilizada a concentração intermediária de ácido oleico no material de parede.

Capítulo 3

INCORPORAÇÃO DE MICROPARTÍCULAS LIPÍDICAS CONTENDO ÁCIDO ASCÓRBICO EM FILME DE AMIDO DE BANANA VERDE

RESUMO

A produção de embalagens biodegradáveis, como os filmes, produzidos a partir de matérias-primas renováveis, surge como uma alternativa aos filmes sintéticos e tem despertado interesse de pesquisadores em todo o mundo. Além das propriedades de proteção atribuídas aos filmes, estes também podem desempenhar uma função de transporte de aditivos, visto que são carreadores potenciais destes. O objetivo deste capítulo foi produzir e caracterizar filme de amido de banana verde adicionado de micropartículas lipídicas contendo ácido ascórbico. Os filmes foram produzidos por *casting* e caracterizados quanto à espessura, densidade, umidade, permeabilidade ao vapor de água, cor e opacidade, propriedades mecânicas, atividade antioxidante, liberação e degradação do ácido ascórbico. O efeito da cor de maçãs revestidas com coberturas de amido de banana aditivadas também foi avaliado. Os filmes produzidos com adição de micropartículas apresentaram menor permeabilidade ao vapor de água, maior resistência a tração e menor alongamento na ruptura, devido às características hidrofóbicas das micropartículas. As micropartículas adicionadas ao filme foram eficazes na proteção da atividade antioxidante do ácido ascórbico durante o processamento do filme. Quando aplicados como cobertura retardaram o escurecimento enzimático das maçãs, mostrando a importância da proteção do ácido ascórbico pela microencapsulação.

3.1 INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de filmes e coberturas comestíveis é uma tecnologia ambientalmente correta, que permite uma redução no impacto e nos custos associados com filmes poliméricos sintéticos. A incorporação de aditivos naturais em sistemas de embalagens ativos ou filmes comestíveis a base de biopolímeros pode modificar a estrutura do filme e, como resultado, modificar sua funcionalidade e aplicação em alimentos (SILVA-WEISS et al., 2013).

A vitamina C é um dos micronutrientes que está envolvido no balanço entre as forças pro-oxidantes – antioxidantes no organismo humano. O principal ativo biológico que forma a vitamina C é o L-(+)-ácido ascórbico, mas seu produto da oxidação, L-ácido dehidroascórbico, também apresenta atividade. Como os efeitos do ácido ascórbico estão relacionados com sua capacidade de redução, este também pode ser utilizado como um antioxidante hidrofílico para a preservação de alimentos (LEÓN e ROJAS, 2007). A adição de ácido ascórbico encapsulado a filmes e coberturas comestíveis é uma forma de manter a liberação controlada deste ingrediente ativo e protegê-lo da auto-oxidação, visto que é um composto altamente reativo e oxidativo.

Coberturas comestíveis aditivadas com antioxidantes naturais tem ganhado importância como uma alternativa para reduzir a deterioração causada pelo processamento mínimo de frutas frescas, visto que, além de promoverem uma barreira semipermeável, que estende a vida útil desses alimentos, também conferem propriedades antioxidantes, que auxiliam na diminuição da taxa de escurecimento enzimático das frutas (ROBLES-SÁNCHEZ et al., 2013).

O objetivo deste capítulo foi produzir e caracterizar filmes de amido de banana verde adicionados de micropartículas lipídicas contendo ácido ascórbico e avaliar sua capacidade antioxidante.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Matéria-prima para obtenção dos filmes

A matéria-prima utilizada na obtenção do filme foi amido de banana verde da variedade “Terra” (*M. paradisíaca*), o qual foi preparado de acordo com a metodologia descrita por Pelissari et al. (2012).

3.2.2 Caracterização da matéria-prima

3.2.2.1 Umidade

O conteúdo de umidade dos filmes foi analisado gravimetricamente, em triplicata, por secagem da amostra a 105 °C por 24 h (AOAC, 2005).

3.2.2.2 Teor de amilose

O conteúdo de amilose foi determinado de acordo com a metodologia descrita na ISO 6647 (1987).

3.2.2.3 Análise de cor do amido

O amido de banana verde foi submetido à análise de cor usando um colorímetro (UltraScan VIS, HunterLab, Virginia, USA) no modo de refletância, com a classificação do sistema CIELab e iluminante D₆₅ (*daylight*) (HUNTERLAB, 1996). Os parâmetros foram classificados diretamente pelo software *EasyMatch QC*: *L* (branco = 100, preto = 0); *a* (vermelho = positivo, verde = negativo); *b* (amarelo = positivo; azul = negativo). A diferença de cor (ΔE^*) foi determinada utilizando a Equação 1:

$$\Delta E^* = [(L^* - L_0^*)^2 + (a^* - a_0^*)^2 + (b^* - b_0^*)^2]^{1/2} \quad (1)$$

Onde

L^* : índice de luminosidade da amostra

L_0^* : índice de luminosidade do padrão

a^* e b^* : parâmetros croma da amostra

a_0^* e b_0^* : parâmetros croma do padrão

O equipamento foi calibrado usando uma placa branca como referência ($L_0^* = 100$, $a_0^* = 0$ e $b_0^* = 0$).

3.2.2.4 Distribuição de tamanho

O tamanho das partículas de amido foi determinado em triplicata por difração a laser (Lazer Scattering Spectrometer Mastersizer S, model MAM 5005 – Malvern Instrument Ltd., Surrey, Inglaterra) usando etanol como solvente. O ultrassom foi usado para aumentar a dispersão da amostra.

3.2.3 Obtenção dos filmes

Os filmes de amido de banana foram produzidos conforme Pelissari et al. (2013) com algumas adaptações, conforme mostrado na Figura 3.1, através do método *casting*, o qual consiste na secagem de uma suspensão formadora de filme (SFF) aplicada sobre um suporte. O processo de obtenção dos filmes foi realizado pela homogeneização de uma solução aquosa a uma concentração de 4 g/100 g de amido de banana (base seca) a partir da agitação mecânica por 30 min, seguida de aquecimento a uma temperatura de processo de 81 °C sob agitação suave. Glicerol foi adicionado à solução a uma concentração de 22 g de glicerol/ 100 g de amido e a solução foi mantida sob agitação a esta temperatura por 15 min. A seguir a solução filmogênica foi resfriada até 20 °C, para que fosse possível a incorporação das micropartículas lipídicas, sem que estas fundissem. Em paralelo, 10 g de micropartículas/ 100 g de amido foram dispersas em 5 g de uma solução de Tween 80 (10 %). Após o resfriamento da solução filmogênica, as partículas dispersas foram incorporadas e a mistura foi homogeneizada em ultra-turrax a 10.000 rpm por 30 s. A SFF foi mantida

em repouso, sob refrigeração, *overnight* para a remoção das bolhas formadas durante o processo de homogeneização. Após esse período, 70 g de SFF foram vertidas em placas de acrílico (18 cm x 21 cm) e estas foram submetidas à secagem em uma câmara com circulação de ar sob temperatura (25 °C) e umidade relativa (50 % UR) controladas, por um período de 10 h.

Um filme sem adição de micropartículas (branco) e um filme adicionado de ácido ascórbico 3,6 % (m/m_{amido}) na sua forma comercial (não encapsulado) foram produzidos para fins de comparação. Os filmes foram acondicionados em dessecadores a 58 % UR e 25 °C por 48 h, antes da caracterização dos mesmos.

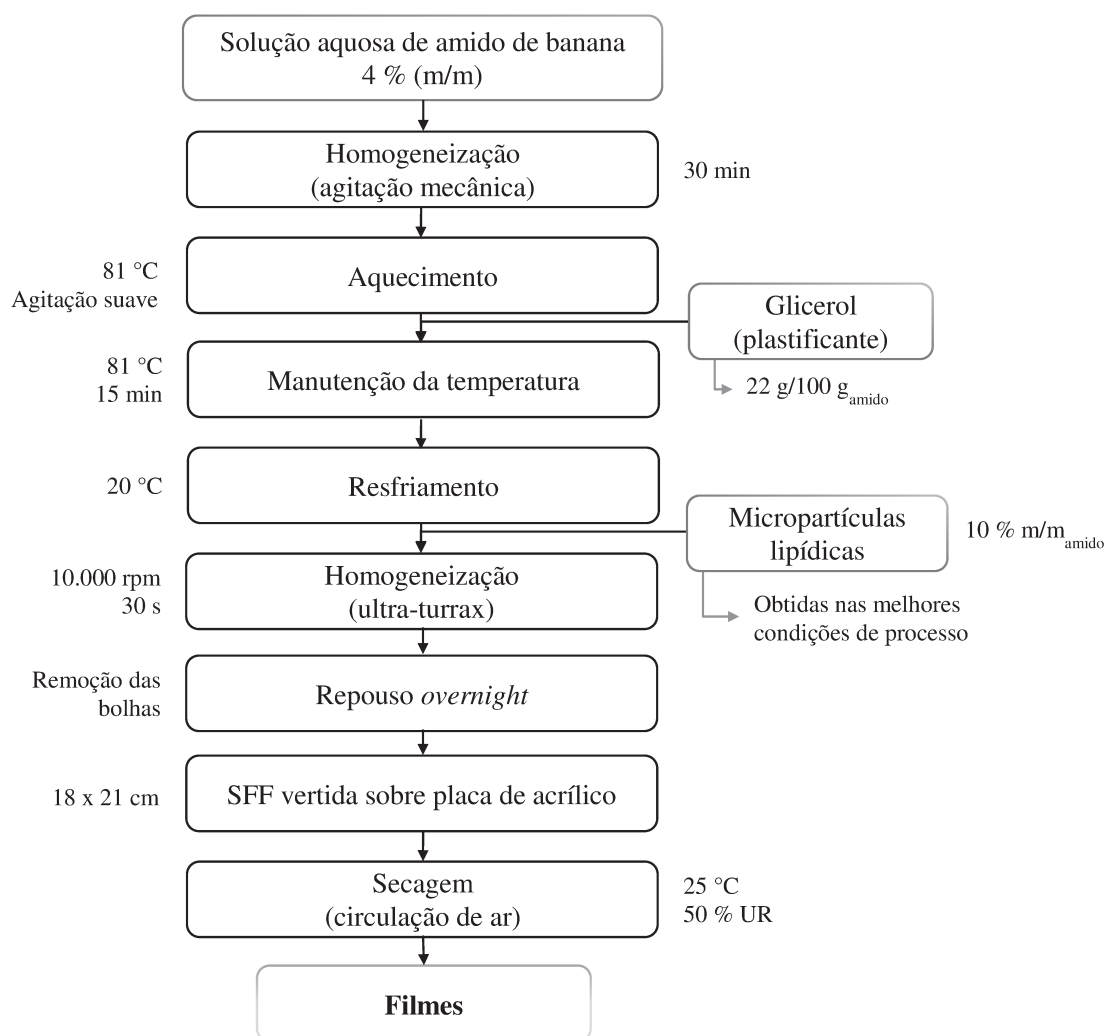


Figura 3.1 - Diagrama de fluxo de obtenção dos filmes

A Tabela 3.1 apresenta a composição dos filmes adicionados ou não de micropartículas contendo ácido ascórbico.

Tabela 3.1 - Composição dos filmes de amido de banana verde aditivados e do filme controle

Filme	Aditivo	Características das partículas	
		AL/AO (m/m)	AG/AA (m/m)
FC	-	-	-
FCA	Ácido ascórbico 3,6 % (m/m _{amido}) não encapsulado	-	-
FP3	Partículas do Ensaio 3 (Capítulo 2)	70/30	70/30
FP5	Partículas do Ensaio 5 (Capítulo 2)	80/20	75/25
FP6	Partículas do Ensaio 6 (Capítulo 2)	80/20	70/30

AL: ácido láurico; AO: ácido oleico, AG: ácidos graxos (material de parede); AA: solução de ácido ascórbico 30 % (material de recheio)

3.2.4 Caracterização dos filmes

3.2.4.1 Espessura e densidade

A espessura dos filmes foi medida com auxílio de um micrômetro digital (Digimatic Micrometer Series 293 MDC-Lite, Mitutoyo Corporation, Japan) com precisão de 0,001 mm. A espessura média dos filmes foi determinada a partir de uma média de 10 medições aleatórias.

Para a determinação da densidade, amostras dos filmes foram cortadas em quadrados de 20 x 20 mm e a espessura dos filmes foi medida (dez medições aleatórias). As amostras foram secas a 105 °C por 24 h e após este período foram pesadas. A densidade foi calculada em função da razão entre o peso e o volume (espessura x área) do filme. A densidade foi avaliada em triplicata e os dados foram relatados como valores médios.

3.2.4.2 Umidade

O conteúdo de umidade dos filmes foi analisado gravimetricamente, em triplicata, por secagem da amostra a 105 °C por 24 h (AOAC, 2005).

3.2.4.3 Morfologia dos filmes

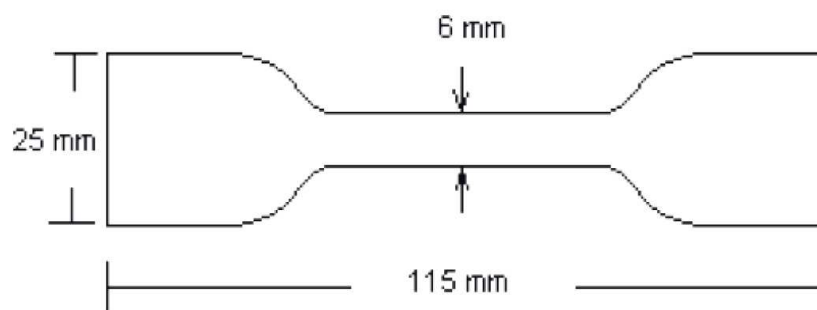
A morfologia dos filmes com e sem adição de micropartículas foi observada por um microscópio óptico SCOPE A1 – ZEISS (Alemanha Oriental) com um aumento de 100 e 400 vezes. O software de aquisição de imagens utilizado foi o Carl Zeiss Axio Vision Rel. 4.8.2.

3.2.4.4 Propriedades mecânicas: Tensão, alongamento na ruptura e módulo secante (teste de tração)

As análises das propriedades mecânicas dos filmes foram realizadas em texturômetro TA.TX Plus Texture Analyzer, empregando-se o programa “Texture Exponent 32” (Stable Micro Systems, Surrey, UK, Inglaterra).

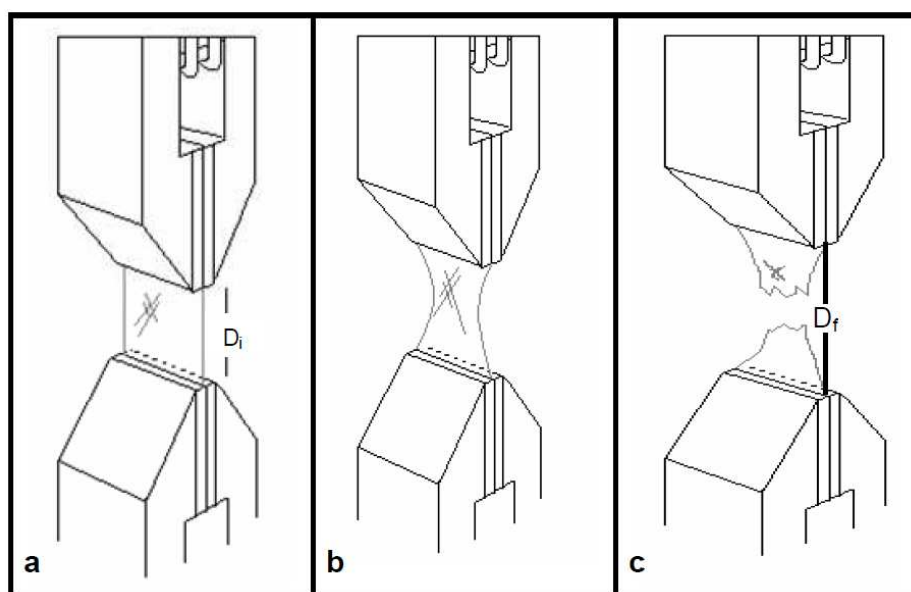
As propriedades de tração foram determinadas através do método padrão D882-02 (ASTM, 2002). Os corpos de prova foram cortados, conforme mostra a Figura 3.2, com auxílio de um bisturi e submetidas à tração com velocidade de 1,0 mm/s, partindo-se de uma separação inicial de 80 mm até a ruptura do filme, registrando-se ao longo do ensaio a resistência (tensão) que o material oferece à deformação (alongamento na ruptura) (Figura 3.3).

A resistência à tensão (força/área da seção transversal inicial) e ao alongamento na ruptura foram calculadas diretamente a partir da curva força x alongamento na ruptura usando o software “Texture Exponent 32”. O módulo de Young foi calculado como a inclinação da porção linear inicial desta curva.



Fonte: Andrade-Mahecha (2009)

Figura 3.2 - Esquema do corpo de prova utilizado no teste de tração



Fonte: Diéguez (2010)

Figura 3.3 - Esquema do teste de tração aplicado ao filme. a) No começo do teste a uma distância inicial (D_i); b) O filme tensionado antes da ruptura; c) Uma vez produzida a ruptura a uma distancia final (D_f)

3.2.4.5 Fração solúvel em água

A determinação da fração solúvel em água dos filmes foi realizada segundo a metodologia descrita por Gontard et al. (1992), na qual três discos da amostra de massa seca inicial conhecida e com 2 cm de diâmetro foram imersos em 50 mL de água contendo azida sódica (0,02 % m/v) a 25 °C por 24 horas, sob agitação esporádica. Após este tempo, a solução contendo os discos de filme foi filtrada e a matéria sólida insolúvel submetida a secagem em estufa a 105 °C por 24 horas para determinação da massa seca final da amostra. A fração solúvel em água foi calculada conforme a Equação 2.

$$S = \frac{(m_i - m_f)}{m_i} \cdot 100 \quad (2)$$

Onde:

S : fração solúvel em água (%)

m_i : massa seca inicial da amostra (g)

m_f : massa seca final da amostra (g)

3.2.4.6 Permeabilidade ao vapor de água (PVA)

A permeabilidade ao vapor de água dos filmes (PVA) foi determinada pelo método gravimétrico, seguindo o método E96-00 (ASTM, 2000) com algumas modificações, usando um gradiente de umidade relativa de aproximadamente 30 %, a partir de um intervalo de 33 % a 64 %. O filme foi fixado sobre a abertura circular com diâmetro de 50 mm de uma cápsula de alumínio contendo silicone nas bordas, a fim de garantir que a migração de umidade ocorresse apenas através do filme. O interior da cápsula foi preenchido com uma solução salina saturada de $MgCl_2$, a qual confere menor umidade relativa (33 % UR) e o sistema foi armazenado em um dessecador contendo uma solução saturada de $NaNO_2$, a qual fornece maior umidade relativa (64 % UR), a 25 °C (Figura 3.4). O ganho de peso das cápsulas foi monitorado a cada 30 min, durante 8 h. As análises foram conduzidas em triplicata e a PVA foi calculada com base na Equação 3 e expressa em g/m.s.Pa.

$$PVA = \frac{m}{t} \cdot \frac{\delta}{A \cdot \Delta P} \quad (3)$$

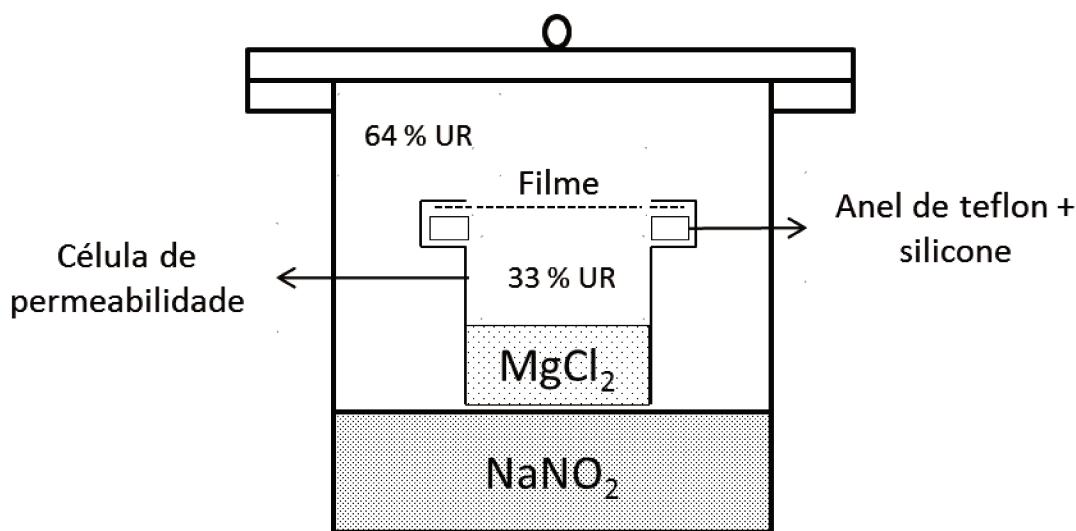
Onde:

m/t : coeficiente angular determinado graficamente (ganho de massa x tempo) (g/s)

δ : espessura média da amostra (m)

A : área de permeabilidade da amostra (m²)

ΔP : diferença na pressão de vapor de água através da amostra para a água pura a 25 °C (Pa)



Fonte: Diéguez (2010)

Figura 3.4 - Esquema do dispositivo utilizado para a determinação da permeabilidade ao vapor de água

3.2.4.7 Propriedades ópticas dos filmes

Os filmes foram submetidos a análises de cor e opacidade usando um colorímetro (UltraScan VIS, HunterLab, Virginia, EUA) no modo transmitância com sistema de classificação da CIELab e iluminante D₆₅ (*daylight*) (HUNTERLAB, 1996). Os parâmetros foram classificados diretamente pelo software *EasyMatch QC*: L (branco = 100, preto = 0);

a (vermelho = positivo, verde = negativo); b (amarelo = positivo; azul = negativo); e *haze* (opacidade). A diferença de cor (ΔE^*) for determinada utilizando a Equação 4:

$$\Delta E^* = [(L^* - L_0^*)^2 + (a^* - a_0^*)^2 + (b^* - b_0^*)^2]^{1/2} \quad (4)$$

Onde

L^* : índice de luminosidade da amostra

L_0^* : índice de luminosidade do padrão

a^* e b^* : parâmetros croma da amostra

a_0^* e b_0^* : parâmetros croma do padrão

Os parâmetros foram calibrados contra uma placa branca padrão de referência, usando como padrão ($L_0^* = 96,33$, $a_0^* = 0,06$ e $b_0^* = 0,28$).

3.2.4.8 Método de análise da atividade antioxidante

A atividade antioxidante foi determinada por análise de FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power* – Poder Antioxidante de Redução do Ferro), conforme descrito por Thaipong et al. (2006). Este método é baseado na habilidade de redução do ferro. Em meio ácido, o complexo férrico tripiridiltriazina é reduzido à sua forma ferrosa de intensa cor azul na presença de antioxidantes, causando um aumento na absorbância a 595 nm. A curva de calibração ($R^2=0,9997$) foi preparada com concentrações de sulfato ferroso variando de 250 a 1000 μM .

O reagente de FRAP foi preparado com 25 mL de tampão acetato 0,3 M (pH 3,6), 2,5 mL de uma solução de TPTZ (2,4,6-tri(2-piridil)-1,3,5-triazina) 10 mM (preparada com HCl 40 mM) e 2,5 mL de uma solução aquosa de cloreto férrico 20 mM. Procedeu-se a reação a partir de uma alíquota de 90 μL de amostra adicionada a 270 μL de água destilada e 2,7 mL do reagente de FRAP recém-preparado, sendo esta mistura homogeneizada e mantida em banho térmico a 37 °C. Após 30 minutos de reação em ambiente escuro, as absorbâncias das soluções foram lidas em espectrofotômetro (modelo SQ-2800 UV/VIS, marca UNICO, United Products & Instruments Inc., Nova Jersey, Estados Unidos) a 595

nm. Como branco, para calibrar o espectrofotômetro, foi utilizada uma solução preparada com o mesmo procedimento, porém substituindo-se a amostra por água destilada. A determinação da atividade antioxidante total foi expressa em μM sulfato ferroso/ mg de filme em base seca.

3.2.4.9 Determinação da atividade antioxidante presente na solução filmogênica

A determinação do conteúdo total de ácido ascórbico foi realizada com 1 g de solução formadora de filme, adicionada de 9 mL de água destilada em tubos de centrifuga de polipropileno. A suspensão foi submetida à agitação em um agitador de soluções (AP-56 Phoenix Luferco) por 10 s, por duas vezes, com um intervalo de 10 min entre as agitações. Após, adicionaram-se 10 mL de clorofórmio aos tubos submetendo-os a agitação por 1 min, por três vezes, com descanso de 10 min entre as agitações. A seguir os tubos foram levados à centrífuga (Allegra 25R, Beckman Coulter) por 10 min a 10.000 rpm, seguindo a metodologia descrita por Leonel et al. (2010), com algumas adaptações. A atividade antioxidante foi determinada na fase aquosa, ao final da centrifugação, pelo método descrito no item 3.2.4.8 deste Capítulo.

3.2.4.10 Determinação do conteúdo total de antioxidante presente no filme

A determinação da quantidade total de antioxidantes foi realizada a partir da maceração de 0,1 g de filme picado adicionado de 5 mL de água destilada com pistilo e almofariz de porcelana, por um período de 3 min. A seguir, a mistura macerada foi transferida para tubos de centrifuga de polipropileno e procedeu-se as agitações, centrifugação e determinação da atividade antioxidante conforme descrito no item anterior (3.2.4.9).

3.2.4.11 Liberação e degradação do ácido ascórbico, presente nos filmes, em meio aquoso

A liberação e a degradação do ácido ascórbico em meio aquoso foram avaliadas por um período de 120 min em intervalos de tempo de 5, 30, 60, 90 e 120 min. Os ensaios

foram realizados com 200 mg de filme, cortado em discos de 2 cm de diâmetro, e 10 mL de água destilada em erlenmeyers de 125 mL, os quais foram mantidos a 25 °C em uma câmara incubadora. A cada intervalo de tempo a suspensão foi filtrada em papel de filtro e a atividade antioxidante determinada no filtrado através do método descrito no item 3.2.4.8 deste Capítulo.

3.2.5 Efeito na cor de maçãs revestidas com coberturas de amido de banana verde incorporadas de micropartículas lipídicas contendo ácido ascórbico

A obtenção das coberturas foi realizada conforme descrito no item 3.2.3 deste Capítulo, porém foi utilizada uma concentração de amido de 2 %, pois a SFF com 4 % de amido apresentou alta viscosidade para sua utilização como cobertura e após a adição das micropartículas e homogeneização da suspensão, procedeu-se imediatamente o processo de recobrimento, visto que não foi necessário deixar a suspensão em repouso *overnight* para a remoção de bolhas. Uma cobertura contendo ácido ascórbico não encapsulado e uma cobertura em branco foram produzidas e utilizadas para fins de comparação.

As características das coberturas produzidas estão apresentadas na Tabela 3.2. Para aplicação das coberturas, maçãs (*Malus domestica Borkh*) da variedade “Fuji” foram cortadas em forma de pastilhas cilíndricas com 1,5 cm de diâmetro e 0,5 cm de altura, as quais foram deixadas inicialmente em uma câmara a 15 °C e 40 % UR por 2 h para secagem, e após a 25 °C sob incidência de luz (Figura 3.5), a fim de forçar sua degradação, visto que, para uma análise de estabilidade de minimamente processados as frutas deveriam ser avaliadas por 5 d sob refrigeração. Porém, o objetivo da análise, neste trabalho, foi comparar a capacidade das diversas coberturas desenvolvidas em retardar a transferência de oxigênio para o alimento. Assim foi desenvolvido um ensaio em condições severas de acondicionamento (luz e temperatura) para verificar a eficiência das coberturas em retardar a transferência de oxigênio para o alimento. As propriedades de cor das maçãs recobertas e de amostras sem cobertura foram avaliadas nos tempos 0 h, 2 h (saída da câmara), 2,5 h, 3 h, 4 h, 5 h, 6 h, 7 h e 8 h. O método de avaliação da cor das maçãs está descrito no item 3.2.2.3 deste Capítulo.

Tabela 3.2 - Experimentos realizados para análise da cor de maçãs recobertas

Experimentos	Característica
SC	Sem cobertura
CC	Cobertura sem aditivos (controle)
CAA	Cobertura com adição de ácido ascórbico
CPC	Imersão na cobertura sem aditivos, imersão em uma solução de Tween 80 a 10 % com partículas do Ensaio 5 (Capítulo 2) dispersas a uma concentração de 0,4 % e posterior imersão na cobertura sem aditivos, novamente
CP	Cobertura com incorporação de 2 % de micropartículas do Ensaio 5 (Capítulo 2)

**Figura 3.5** - Corte e disposição das maçãs analisadas

3.2.6 Análise estatística

Os resultados foram avaliados estatisticamente através da Análise de Variância (ANOVA) e teste de Tukey ao nível de 5 % de significância, com o auxílio do programa STATISTICA[®] 9.0.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1 Caracterização da matéria-prima

3.3.1.1 Umidade, teor de amilose e propriedades de cor

A umidade e o teor de amilose do amido estão apresentados na Tabela 3.3. O amido de banana verde apresentou um teor de amilose de 25 %, valor mais baixo que o encontrado por Pelissari et al. (2012) que foi de 35 %, o que pode ser explicado pela utilização de um lote diferente de banana (Terra), tendo em vista que o processo de obtenção do amido foi o mesmo.

De la Torre-Gutierrez et al. (2007) isolaram amido de banana do gênero *Musa* com teor de amilose de 22,2 %, assim como Otegbayo, Lana e Ibitoye (2010) que isolaram amido de duas variedades de banana, também do gênero *Musa*, com teor de amilose de 24,85 % e de 22,89 %, mostrando que o teor de amilose obtido para o amido de banana Terra (*Musa paradisíaca*) está de acordo com valores encontrados na literatura.

Tabela 3.3 - Umidade, teor de amilose e parâmetros de cor do amido de banana verde

<i>Componentes % (m/m)</i>	
Umidade	9,28 ± 0,05
Amilose (base seca)	25,58 ± 0,01
<i>Parâmetros de cor</i>	
L*	81,9 ± 0,3
a*	2,39 ± 0,06
b*	10,7 ± 0,2
ΔE*	21,2 ± 0,4

A Tabela 3.3 apresenta as propriedades de cor do amido de banana obtido. Observa-se que em comparação com os resultados obtidos por Pelissari et al. (2012) o amido de banana verde apresentou menor luminosidade e maiores valores de a* e b*, apresentando-se mais escuro e mais amarelado. A diferença total de cor (ΔE*), também apresentou um

alto valor em relação ao apresentado por Pelissari et al. (2012), justificado pela diminuição no valor de L^* e aumento nos valores de a^* e b^* do amido obtido.

3.3.1.2 Distribuição de tamanho

A Figura 3.6 apresenta a distribuição de tamanho das partículas para o amido de banana verde, mostrando uma distribuição bimodal com um pico menor em $2,5\ \mu\text{m}$ e outro pico principal para um diâmetro médio de $30,6\ \mu\text{m}$. A ampla distribuição de tamanho dos grânulos de amido de banana pode ser atribuída à forma de bastão do grânulo (AGAMA-ACEVEDO et al., 2013). Lii, Chang e Young (1982) afirmaram que a distribuição de tamanho dos grânulos de amido de banana varia conforme o estágio de maturação, sendo que em bananas verdes há uma pequena parcela de grânulos com tamanho de aproximadamente $6\ \mu\text{m}$, justificando essa distribuição bimodal.

A distribuição de tamanho obtida por Pelissari et al. (2012), também apresentou característica bimodal, porém com um diâmetro médio no pico principal de $47,3\ \mu\text{m}$. No estudo de Agama-Acevedo et al. (2013), que isolaram amido de banana das variedades Macho, Morado, Enano e Valery, os diâmetros médios dos grânulos de amido obtidos variaram de $24\ \mu\text{m}$ a $33\ \mu\text{m}$.

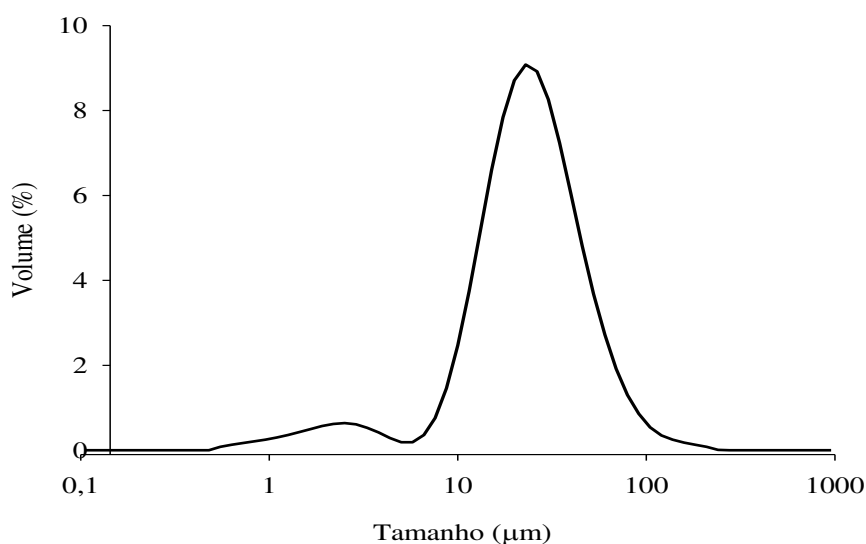


Figura 3.6 - Distribuição de tamanho do amido de banana verde

3.3.2 Caracterização dos filmes

3.3.2.1 Espessura, densidade e teor de umidade dos filmes

A Tabela 3.4 apresenta a espessura, a densidade e o teor de umidade dos filmes avaliados após acondicionamento em dessecadores a 58 % UR a 25 °C por 48 h, produzidos com e sem adição das micropartículas lipídicas obtidas conforme descrito no Capítulo 2.

Tabela 3.4 - Espessura, densidade e teor de umidade dos filmes produzidos com e sem adição de micropartículas

Filme	Espessura (mm)	Densidade (g/cm ³)	Teor de umidade (%)
FC	0,096 ^{bc} ± 0,003	1,04 ^{ab} ± 0,05	11,3 ^a ± 0,1
FCA	0,089 ^{ab} ± 0,007	1,12 ^b ± 0,01	12,2 ^b ± 0,1
FP3	0,088 ^a ± 0,007	1,11 ^b ± 0,01	17,3 ^d ± 0,5
FP5	0,092 ^{abc} ± 0,003	1,02 ^{ab} ± 0,03	12,6 ^{bc} ± 0,2
FP6	0,099 ^c ± 0,007	0,98 ^a ± 0,08	13,2 ^c ± 0,4

Letras diferentes, em uma mesma coluna, indicam diferença estatística significativa (p>0,05)

FC: Filme controle, sem aditivos; **FCA:** Filme controle com adição de ácido ascórbico não encapsulado; **FP3:** Filme aditivado com partículas do Ensaio 3 (Capítulo 2), proporção entre ácido láurico e ácido oleico: 70/30 e entre o material de parede e o material de recheio:70/30; **FP5:** Filme aditivado com partículas do Ensaio 5 (Capítulo 2), proporção entre ácido láurico e ácido oleico: 80/20 e entre o material de parede e o material de recheio:75/25; **FP6:** Filme aditivado com partículas do Ensaio 6 (Capítulo 2), proporção entre ácido láurico e ácido oleico: 80/20 e entre o material de parede e o material de recheio:70/30.

O filme FP6 apresentou maior espessura e menor densidade que os demais (p<0,05). O filme FP3 ao contrário, apresentou maior densidade e menor espessura. O filme FP5 (Ensaio 5: AL/AO: 80/20 AG/AA: 75/25) não apresentou diferença significativa (p>0,05) na espessura e densidade, quando comparado aos demais ensaios.

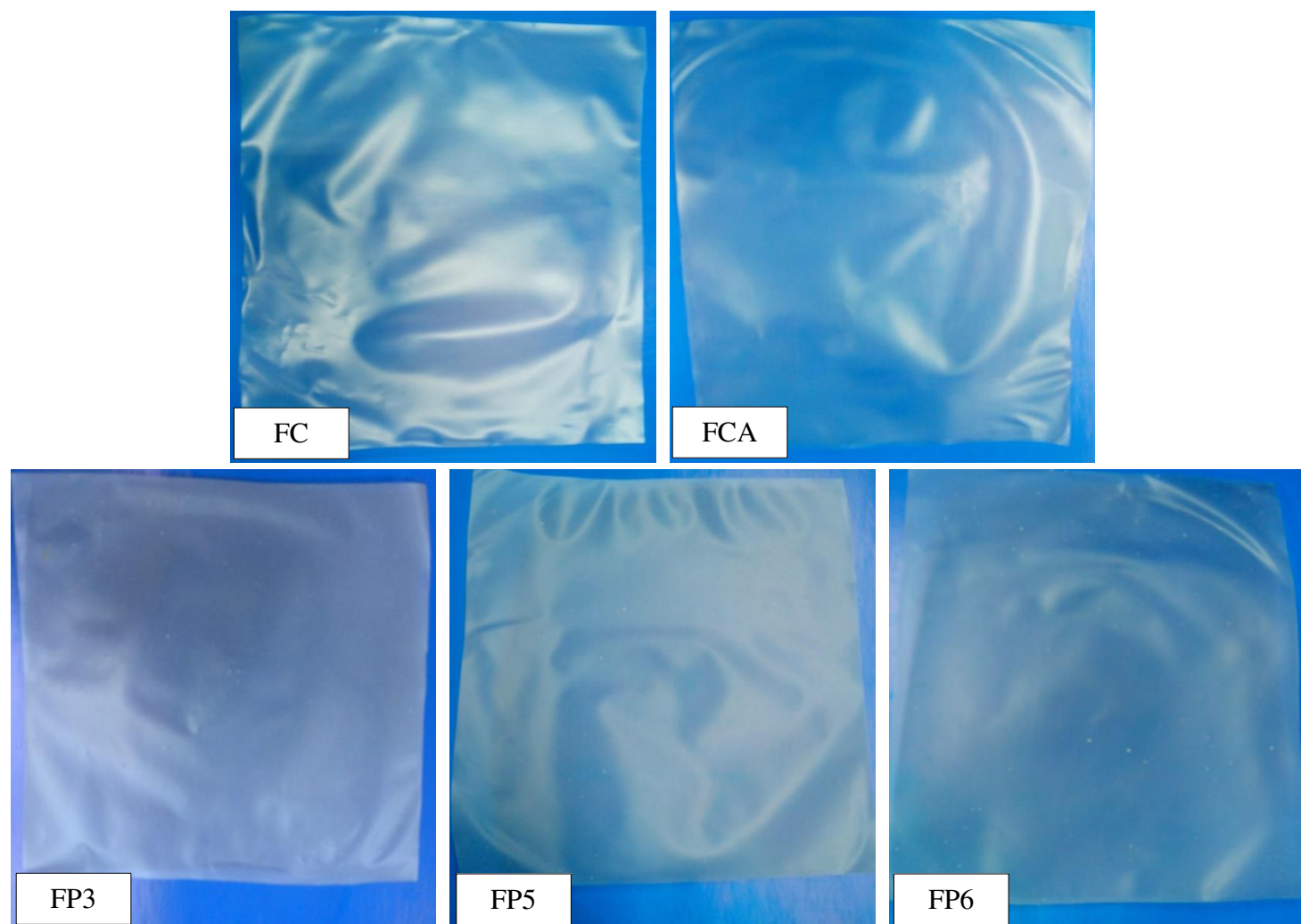
O teor de umidade dos filmes sofreu um aumento com a adição das micropartículas lipídicas ou simplesmente do ácido ascórbico, em relação ao filme controle (p<0,05). A adição de lipídios induz o desenvolvimento de uma estrutura heterogênea, a qual é caracterizada pela descontinuidade na estrutura do polímero, liberando as moléculas de água da estrutura do amido (FABRA et al., 2011).

3.3.2.2 Aparência e morfologia dos filmes

A Figura 3.7 apresenta a aparência dos filmes controles FC, sem aditivos, e FCA, com ácido ascórbico não encapsulado, e os filmes adicionados de micropartículas lipídicas contendo ácido ascórbico FP3, FP5 e FP6, adicionados de partículas dos ensaios 3, 5 e 6 do Capítulo 2, respectivamente. Observa-se que os filmes contendo micropartículas apresentaram-se mais opacos e heterogêneos em comparação com os filmes controle.

A Figura 3.8 apresenta a morfologia dos filmes FC, FCA, FP3, FP5 e FP6, obtidos nas diferentes condições de ensaio. Observa-se que há uma mudança na estrutura dos filmes, independente do aditivo utilizado em relação ao filme FC, porém é visível que a maior alteração na estrutura se deu pela adição das micropartículas lipídicas filmes FP3, FP5 e FP6.

As micropartículas lipídicas foram distribuídas de forma homogênea nos filmes de amido de banana verde, apesar da presença de partículas aglomeradas principalmente no filme FP3.



FC: Filme controle, sem aditivos; **FCA:** Filme controle com adição de ácido ascórbico não encapsulado; **FP3:** Filme aditivado com partículas do Ensaio 3 (Capítulo 2), proporção entre ácido láurico e ácido oleico: 70/30 e entre o material de parede e o material de recheio: 70/30; **FP5:** Filme aditivado com partículas do Ensaio 5 (Capítulo 2), proporção entre ácido láurico e ácido oleico: 80/20 e entre o material de parede e o material de recheio: 75/25; **FP6:** Filme aditivado com partículas do Ensaio 6 (Capítulo 2), proporção entre ácido láurico e ácido oleico: 80/20 e entre o material de parede e o material de recheio: 70/30.

Figura 3.7 - Aparência dos filmes FC, FCA, FP3, FP5 e FP6

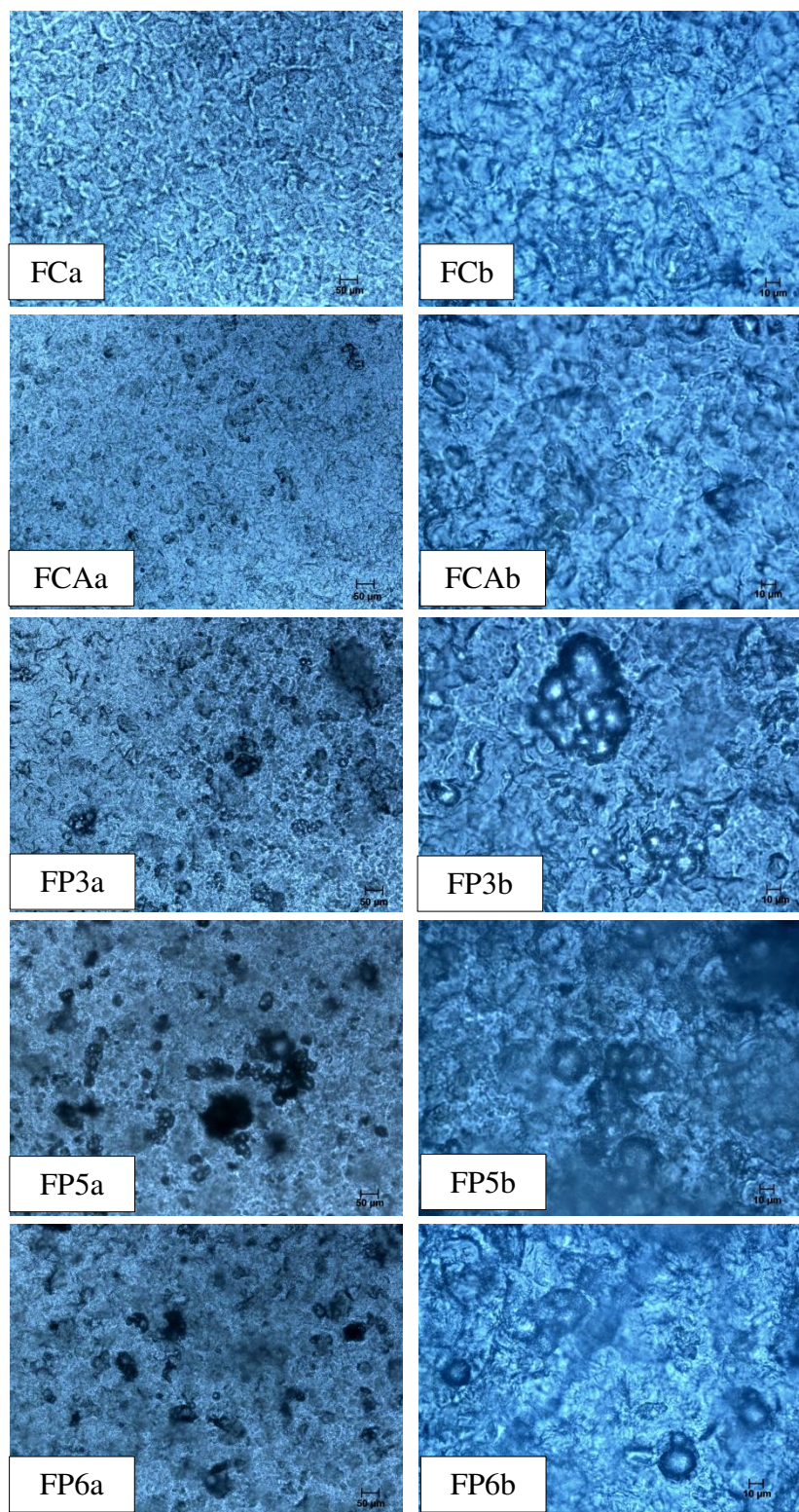


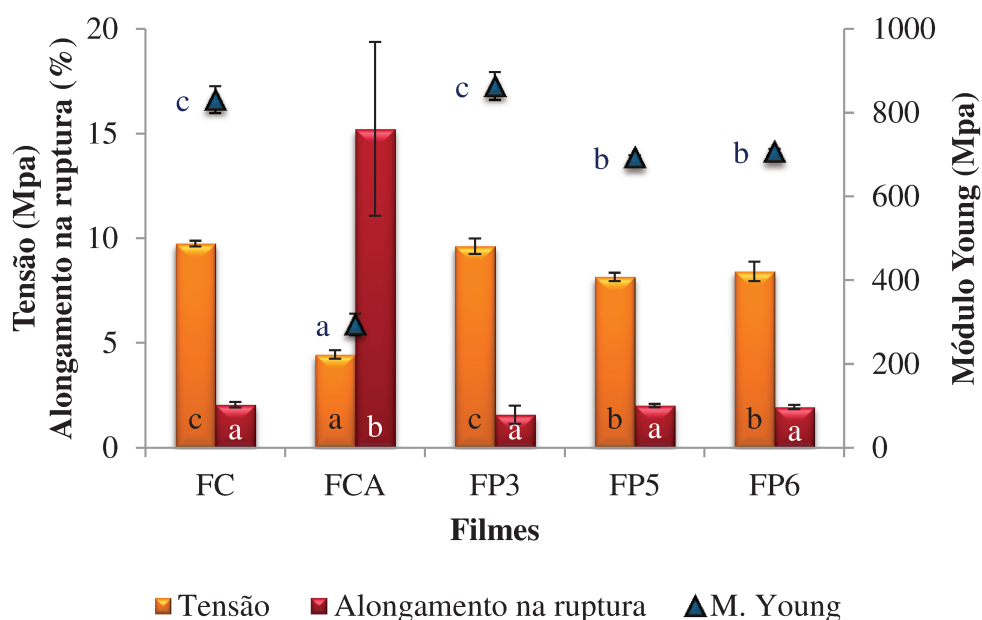
Figura 3.8 - Imagens obtidas por microscopia óptica dos filmes FC, FCA, FP3, FP5 e FP6. Onde a corresponde ao aumento de 100 vezes e b ao aumento de 400 vezes

3.3.2.3 Propriedades mecânicas

A Figura 3.9 apresenta as propriedades mecânicas do filme controle e dos demais filmes, produzidos com adição de micropartículas lipídicas e do ácido ascórbico não encapsulado. A partir dos resultados observa-se que não houve diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$) entre o alongamento na ruptura do filme do ensaio em branco FC e dos filmes FP3, FP5 e FP6, adicionados das micropartículas lipídicas contendo ácido ascórbico. Os valores de alongamento na ruptura destes filmes foram baixos, variando de $1,6 \pm 0,4 \%$ a $2,0 \pm 0,1 \%$, mostrando que estes filmes apresentam alta rigidez. Pelissari et al. (2013) obtiveram filme de amido de banana verde com alongamento na ruptura de $4,5 \%$ e tensão de $19,3 \text{ MPa}$, ou seja, com o dobro de alongamento na ruptura e resistência a tração em relação aos filmes produzidos aqui. A adição do surfactante Tween 80 no filme controle pode ter contribuído para este comportamento observado nas propriedades mecânicas.

Conforme os resultados obtidos por Carneiro-da-Cunha et al. (2009), que estudaram o efeito da concentração de Policaju (polissacarídeo do *Anacardium occidentale L.*) e do surfactante Tween 80, nas propriedades dos filmes e coberturas, observa-se um efeito negativo da adição do surfactante no alongamento na ruptura dos filmes produzidos. O mesmo efeito foi observado nos filmes produzidos por Ziani et al. (2008), que avaliaram o efeito da adição de surfactante (Tween 20) nas propriedades físicas e químicas de filmes de quitosana com diferentes graus de desacetilação.

A diminuição da resistência mecânica pode representar desvantagens para algumas aplicações dos filmes, mas essa importância diminui se o material for utilizado como cobertura. Os surfactantes apresentam características hidrofóbicas e hidrofílicas simultaneamente. Uma possível explicação para os resultados apresentados nesse trabalho é que a fração hidrofílica do surfactante estabilizou as interações com a água ou com a fração hidrofílica do polissacarídeo. Outra possibilidade é que a estabilização dessas interações pode ter causado uma ruptura na estrutura do material, pois a diminuição da agitação das moléculas, devido à estabilização dos componentes, tornou a estrutura mais rígida (CARNEIRO-DA-CUNHA et al., 2009).



FC: Filme controle, sem aditivos; **FCA:** Filme controle com adição de ácido ascórbico não encapsulado; **FP3:** Filme aditivado com partículas do Ensaio 3 (Capítulo 2), proporção entre ácido láurico e ácido oleico: 70/30 e entre o material de parede e o material de recheio: 70/30; **FP5:** Filme aditivado com partículas do Ensaio 5 (Capítulo 2), proporção entre ácido láurico e ácido oleico: 80/20 e entre o material de parede e o material de recheio: 75/25; **FP6:** Filme aditivado com partículas do Ensaio 6 (Capítulo 2), proporção entre ácido láurico e ácido oleico: 80/20 e entre o material de parede e o material de recheio: 70/30. Letras diferentes, em um mesmo parâmetro, indicam diferença estatística significativa ($p > 0,05$)

Figura 3.9 - Propriedades mecânicas do filme controle e dos demais filmes produzidos

O alongamento na ruptura do filme, em relação ao controle (FC), sofreu um aumento com a adição do ácido ascórbico não encapsulado (FCA), uma vez que este, livre no meio, atuou como plastificante no filme de amido. Além disso, houve uma diminuição na resistência a tração e no módulo Young (rigidez). A estrutura molecular do ácido ascórbico consiste de quatro grupos hidroxílicos, um grupo éter e um grupo cetona como grupos funcionais, os quais interagem bem com as moléculas de amido. Assim, tem sido utilizado como um plastificante alternativo em substituição aos plastificantes sintéticos, visto que é um composto orgânico natural e também apresenta propriedades antioxidantes (YOON, 2013).

Os filmes adicionados de micropartículas lipídicas FP3, FP5 e FP6, apesar de também possuírem ácido ascórbico em sua composição, foram influenciados pela fração

lipídica do material de parede, mostrando baixo alongamento na ruptura, porém altos valores de tensão destes filmes em comparação com o filme FCA (adicionado de ácido ascórbico não encapsulado), o que é muito importante, visto que diz respeito a maior resistência a ruptura apresentadas pelos filmes adicionados de micropartículas lipídicas contendo ácido ascórbico.

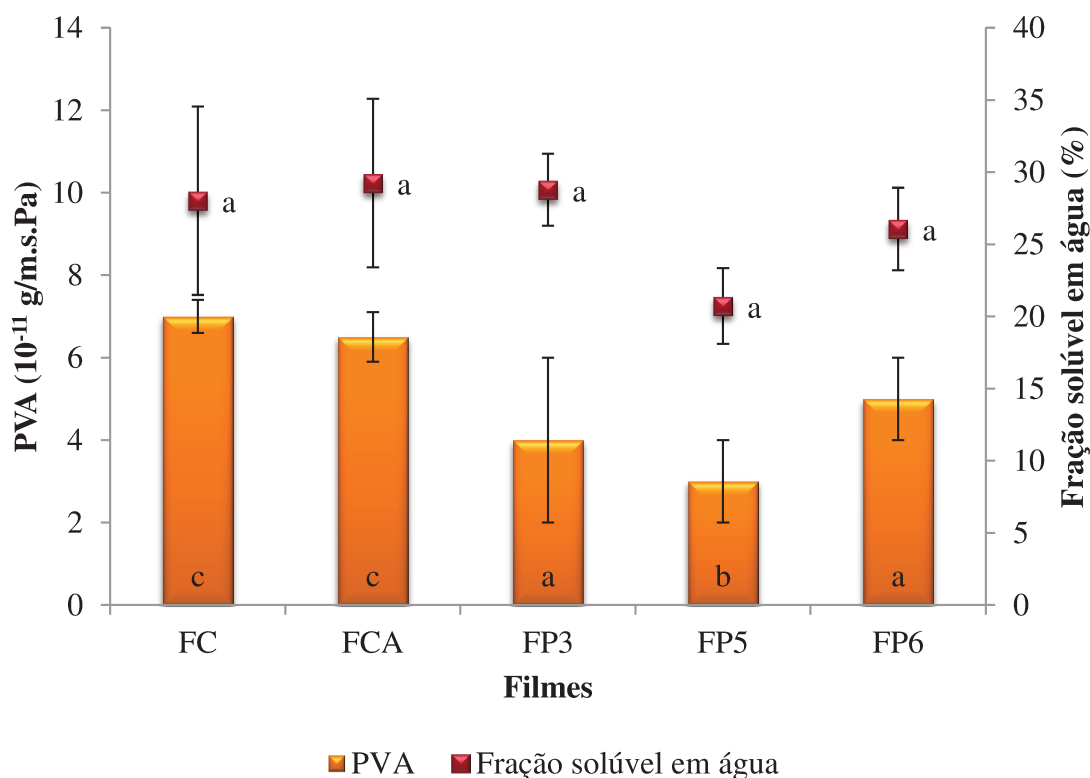
3.3.2.4 Permeabilidade ao vapor de água e fração solúvel em água

A Figura 3.10 apresenta os resultados de permeabilidade ao vapor de água e fração solúvel em água dos filmes obtidos. A partir dos resultados observa-se que não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre os filmes no que diz respeito à fração solúvel em água, embora se observe uma tendência à diminuição deste parâmetro nos filmes incorporados de micropartículas lipídicas, devido a sua característica hidrofóbica. O percentual de fração solúvel em água dos filmes variou de 21 % a 28 %. A fração solúvel em água dos filmes é importante em situações em que estes serão consumidos com um produto aquecido antes do consumo e também pode ser um fator determinante da biodegradabilidade dos filmes, quando utilizados como material de embalagem envoltório.

Os resultados mostram que houve uma diminuição na permeabilidade ao vapor de água para os filmes em que foram incorporadas as micropartículas lipídicas ($p < 0,05$), sendo que essa diminuição foi mais pronunciada nos filmes FP3 e FP5. Essa diminuição resulta do fato de que as micropartículas lipídicas adicionadas apresentam baixa afinidade pela água (FABRA et al., 2011). A permeabilidade ao vapor de água ocorre através da porção hidrofílica dos filmes, dessa forma dependendo da proporção entre a fração hidrofóbica e hidrofílica do filme, a presença de ácidos graxos pode diminuir a permeabilidade ao vapor de água (REZVANI et al., 2013).

Segundo Nobrega et al. (2012), que estudaram o efeito da incorporação de ácidos graxos nas propriedades mecânicas e de barreira de filmes de amido de mandioca, a adição de ácidos graxos de cadeia curta, como ácido láurico, facilita sua incorporação dentro da matriz polimérica do filme, diminuindo consideravelmente a permeabilidade ao vapor de água dos filmes em um intervalo de umidade relativa de 33 % a 64 %. Segundo estes autores, a permeabilidade ao vapor de água está relacionada com a espessura da amostra,

sendo que menores espessuras do filme geraram menor permeabilidade ao vapor de água. Dessa forma a diferença entre os valores obtidos para os filmes FP3 e FP6 e o filme FP5 pode ser explicada pela maior espessura e menor densidade apresentado por este (descontinuidade da matriz).



FC: Filme controle, sem aditivos; **FCA:** Filme controle com adição de ácido ascórbico não encapsulado; **FP3:** Filme aditivado com partículas do Ensaio 3 (Capítulo 2), proporção entre ácido láurico e ácido oleico: 70/30 e entre o material de parede e o material de recheio:70/30; **FP5:** Filme aditivado com partículas do Ensaio 5 (Capítulo 2), proporção entre ácido láurico e ácido oleico: 80/20 e entre o material de parede e o material de recheio:75/25; **FP6:** Filme aditivado com partículas do Ensaio 6 (Capítulo 2), proporção entre ácido láurico e ácido oleico: 80/20 e entre o material de parede e o material de recheio:70/30. Letras diferentes, em um mesmo parâmetro, indicam diferença estatística significativa ($p>0,05$)

Figura 3.10 - Efeito da adição de micropartículas na fração solúvel em água e permeabilidade ao vapor de água dos filmes (PVA)

3.3.2.5 Propriedades ópticas dos filmes

A Tabela 3.5 apresenta as propriedades ópticas dos filmes, a partir da qual é possível verificar que a luminosidade dos filmes diminuiu com a adição do ácido ascórbico não encapsulado em relação ao controle. A diminuição na luminosidade foi ainda mais intensa nos filmes incorporados de micropartículas lipídicas. Por outro lado, houve um aumento significativo ($p < 0,05$) no percentual de opacidade dos filmes aditivados com as micropartículas ou com o ácido ascórbico não encapsulado. Isso indica que os filmes de amido de banana verde tornaram-se mais escuros e menos translúcidos com a incorporação das micropartículas lipídicas.

Tabela 3.5 - Propriedades ópticas do filme controle e dos demais filmes produzidos

Filme	L^*	a^*	b^*	ΔE^*	Opacidade (%)
FC	$77,9^d \pm 0,4$	$0,97^a \pm 0,03$	$6,9^a \pm 0,1$	$19,6^a \pm 0,4$	$62,1^a \pm 0,6$
FCA	$75,2^c \pm 0,5$	$0,93^a \pm 0,07$	$7,2^a \pm 0,4$	$22,3^b \pm 0,6$	$65,6^b \pm 0,2$
FP3	$52^a \pm 1$	$1,11^b \pm 0,05$	$6,8^a \pm 0,2$	$45^d \pm 1$	$75,8^c \pm 0,2$
FP5	$57,9^b \pm 0,6$	$1,63^d \pm 0,01$	$9,0^c \pm 0,1$	$39,5^c \pm 0,6$	$71,5^c \pm 0,5$
FP6	$58^b \pm 1$	$1,31^c \pm 0,06$	$8,1^b \pm 0,2$	$39^c \pm 1$	$73,0^d \pm 0,3$

Letras diferentes, em uma mesma coluna, indicam diferença estatística significativa ($p > 0,05$)

FC: Filme controle, sem aditivos; **FCA:** Filme controle com adição de ácido ascórbico não encapsulado; **FP3:** Filme aditivado com partículas do Ensaio 3 (Capítulo 2), proporção entre ácido láurico e ácido oleico: 70/30 e entre o material de parede e o material de recheio: 70/30; **FP5:** Filme aditivado com partículas do Ensaio 5 (Capítulo 2), proporção entre ácido láurico e ácido oleico: 80/20 e entre o material de parede e o material de recheio: 75/25; **FP6:** Filme aditivado com partículas do Ensaio 6 (Capítulo 2), proporção entre ácido láurico e ácido oleico: 80/20 e entre o material de parede e o material de recheio: 70/30.

Os parâmetros a^* e b^* são os responsáveis pela cromaticidade. Observou-se um aumento significativo ($p < 0,05$) no valor de a^* para todos os filmes adicionados de partículas e um aumento no valor de b^* para os filmes que continham partículas com maior concentração de ácido láurico no material de parede (80 %). O aumento nos parâmetros a^* e b^* e a diminuição na luminosidade L^* dos filmes adicionados de micropartículas resultou em um aumento na diferença total de cor (ΔE^*) dos mesmos ($p < 0,05$).

O aumento da desordem da matriz do filme de amido de banana verde pela adição das micropartículas lipídicas contribuiu para as propriedades ópticas apresentadas pelos

filmes. A luminosidade está relacionada com a irregularidade da matriz, a qual é afetada pelo fenômeno de coalescência dos lipídios na superfície do filme (PERDONES et al., 2014).

3.3.2.6 Liberação e degradação do ácido ascórbico pelos filmes em meio aquoso

A Tabela 3.6 apresenta os valores de atividade antioxidante total das soluções formadoras de filmes (SFF) e dos filmes após o processo de secagem. A partir dos resultados, é possível verificar que a SFF controle apresenta um baixo valor de atividade antioxidante, a qual se mantém após o processo de secagem. A atividade antioxidante do filme FP5, tanto da SFF, quanto do filme seco foi menor que os demais, visto que a concentração de partículas adicionadas foi a mesma que dos filmes FP3 e FP6, porém possuem menor concentração de ácido ascórbico encapsulado (proporção material de parede e material de recheio 75/25, enquanto nos filmes FP3 e FP6 1 e 2 essa proporção é de 70/30).

A degradação do ácido ascórbico durante o processo de secagem dos filmes, como esperado, foi maior para o filme produzido com a adição do ácido ascórbico não encapsulado, que teve apenas 49 % da atividade antioxidante mantida ao final do processo de secagem do filme. Assim, observa-se que o processo de microencapsulação foi importante, visto que, promoveu a proteção do ácido ascórbico da degradação durante o processo de obtenção dos filmes, em relação ao filme adicionado de ácido ascórbico não encapsulado.

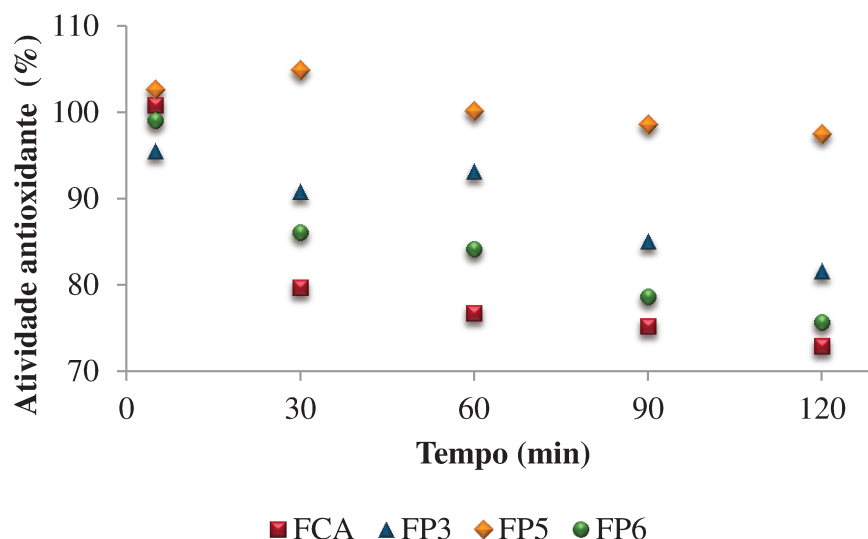
Dentre os filmes produzidos com adição das micropartículas lipídicas contendo ácido ascórbico, o filme FP5, o qual foi adicionado das partículas com menor percentual de liberação ao final de 2 h (37 %; item 2.3.4.3; Capítulo 2), foi o que apresentou menor degradação do ácido ascórbico durante o processo de secagem, obtendo-se um filme seco com 84 % da atividade antioxidante mantida.

Tabela 3.6 - Atividade antioxidante das soluções formadoras de filme (SFF) e dos filmes após a secagem

Filme	Ativ. antioxidante total na SFF ($\mu\text{M}/\text{mg}_{\text{SFF}}$)	Ativ. antioxidante total no filme ($\mu\text{M}/\text{mg}_{\text{filme}}$)	Percentual de ativ. antioxidante no filme (%) $C_{\text{filme}}/C_{\text{SFF}}$
FC	4 \pm 1	3,7 \pm 0,3	-
FCA	107,8 \pm 0,5	52 \pm 5	49
FP3	92 \pm 2	67 \pm 3	73
FP5	48 \pm 1	40,4 \pm 0,4	84
FP6	86,8 \pm 0,5	60 \pm 8	69

FC: Filme controle, sem aditivos; **FCA:** Filme controle com adição de ácido ascórbico não encapsulado; **FP3:** Filme aditivado com partículas do Ensaio 3 (Capítulo 2), proporção entre ácido láurico e ácido oleico: 70/30 e entre o material de parede e o material de recheio: 70/30; **FP5:** Filme aditivado com partículas do Ensaio 5 (Capítulo 2), proporção entre ácido láurico e ácido oleico: 80/20 e entre o material de parede e o material de recheio: 75/25; **FP6:** Filme aditivado com partículas do Ensaio 6 (Capítulo 2), proporção entre ácido láurico e ácido oleico: 80/20 e entre o material de parede e o material de recheio: 70/30.

A liberação do antioxidante pelos filmes em solução aquosa (Item 3.2.4.11 deste Capítulo) está apresentada na Figura 3.11, que apresenta o percentual de atividade antioxidante no meio aquoso em função do tempo, o qual foi expresso em função da atividade antioxidante total após a secagem dos filmes (Tabela 3.6). É possível verificar que durante o processo de obtenção dos filmes, todo o ácido ascórbico presente nas partículas foi liberado para o filme, visto que, no tempo de 5 min o percentual de atividade antioxidante presente na solução aquosa foi próximo ao valor da atividade antioxidante total dos filmes secos (100 %). A Figura 3.11 apresenta a degradação do ácido ascórbico em solução.



FCA: Filme controle com adição de ácido ascórbico não encapsulado; **FP3:** Filme aditivado com partículas do Ensaio 3 (Capítulo 2), proporção entre ácido láurico e ácido oleico: 70/30 e entre o material de parede e o material de recheio: 70/30; **FP5:** Filme aditivado com partículas do Ensaio 5 (Capítulo 2), proporção entre ácido láurico e ácido oleico: 80/20 e entre o material de parede e o material de recheio: 75/25; **FP6:** Filme aditivado com partículas do Ensaio 6 (Capítulo 2), proporção entre ácido láurico e ácido oleico: 80/20 e entre o material de parede e o material de recheio: 70/30.

Figura 3.11 - Percentual de atividade antioxidante em meio aquoso, em função do tempo

O processo de degradação do ácido ascórbico foi avaliado durante 2 h em meio aquoso e observou-se que a degradação foi menor no ensaio com ácido ascórbico liberado do filme FP5, contendo as partículas que possuíam a menor concentração de ácido ascórbico encapsulado. O filme contendo ácido ascórbico não encapsulado, foi o que apresentou maior degradação do ácido ascórbico, seguido pelo ácido ascórbico liberado pelo filme FP6.

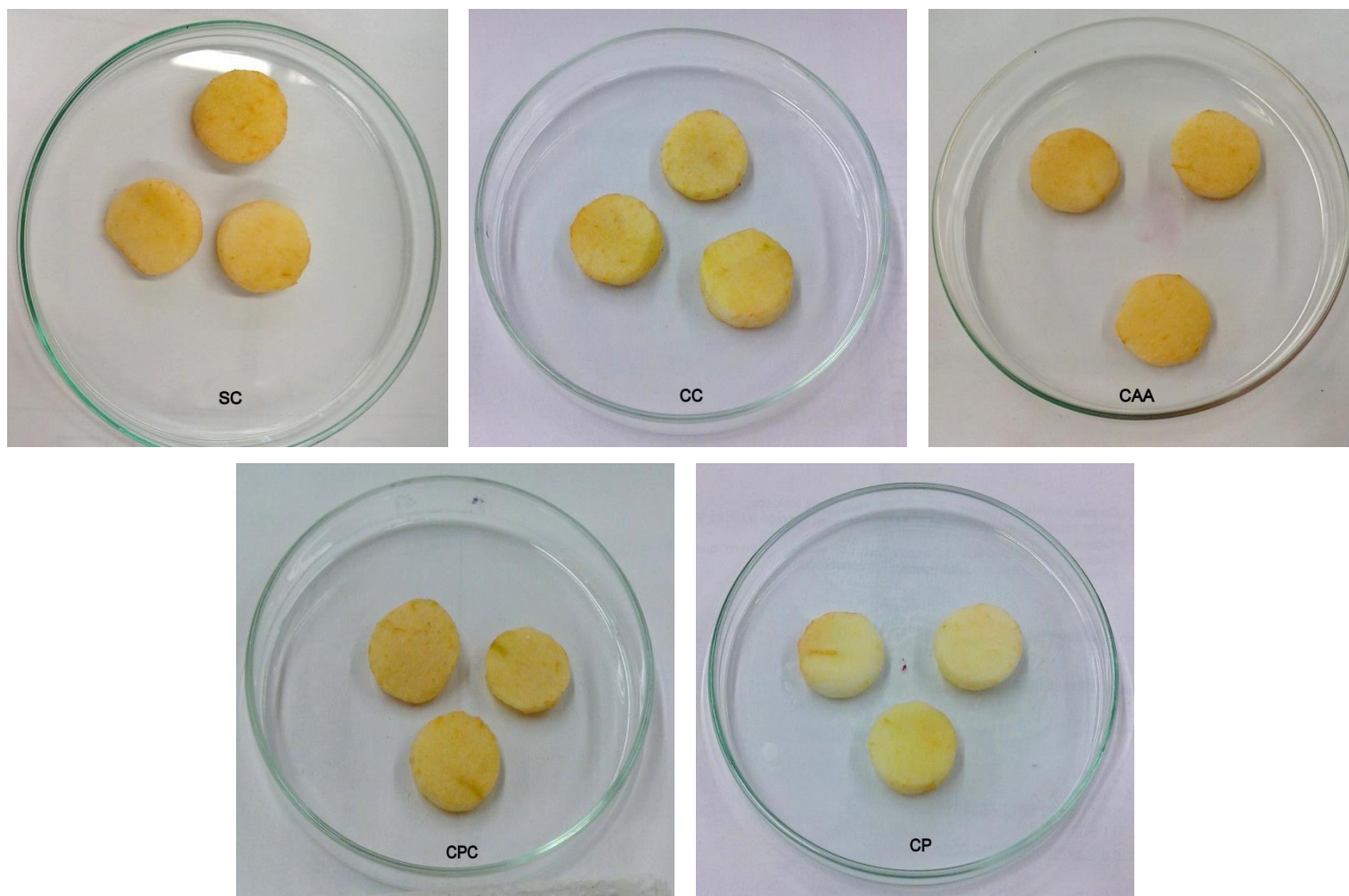
As propriedades redutoras do ácido ascórbico em solução podem conduzir a mudanças rápidas e extremamente oxidativas com conversão a ácido dehidroascórbico, podendo sofrer destruição auto oxidativa (HARRIS, 1996; YE, EITENMILLER e LANDEN, 2007). Segundo Blaug e Hajratwala (1972) a taxa de oxidação do ácido ascórbico é dependente da concentração de ácido ascórbico presente; quanto maior a concentração, maior a taxa de oxidação.

3.3.3 Efeito na cor de maçãs revestidas com coberturas de amido de banana verde incorporadas de micropartículas lipídicas contendo ácido ascórbico

A avaliação da cor em produtos minimamente processados é importante, visto que está diretamente relacionada, pelos consumidores, à percepção de qualidade. O escurecimento de frutas frescas é um grande problema que pode ser controlado pelo uso de filmes ou coberturas adicionados de agentes antioxidantes, tal como o ácido ascórbico (OLIVAS e BARBOSA-CÁNOVAS, 2009).

A análise de cor das fatias de maçãs tratadas com diferentes coberturas foi proposta a fim de verificar o poder antioxidante das coberturas de amido de banana verde, produzidas com adição de partículas contendo ácido ascórbico, na inibição do escurecimento enzimático das maçãs. As partículas do ensaio 5 (Capítulo 2) foram escolhidas para incorporação nas coberturas, devido aos resultados obtidos no item 3.3.2.6 deste Capítulo, em que o filme contendo essas partículas (FP5) foi o que apresentou maior percentual de atividade antioxidante preservada. Na Figura 3.12 estão apresentadas as maçãs aplicadas dos diferentes tratamentos no tempo de 5 h. Na Tabela 3.7 estão apresentados os resultados de cor, os quais foram determinados na escala CIEL*a*b*, das maçãs durante um período de avaliação de 8 h.

O parâmetro L^* (luminosidade) é um indicativo de quão clara ou escura é uma amostra. Assim valores de luminosidade próximos de zero representam amostras escuras ($L^*=0$, preto) e valores próximos de cem, amostras claras ($L^*=100$, branco), este parâmetro é um indicador de escurecimento enzimático do produto (ORIANI, 2013). Os resultados obtidos mostram que em 8 h de análise a uma temperatura de 25 °C, o parâmetro L^* não apresentou grande variação em relação às amostras analisadas no tempo 0 h. Após um período de 5 h não houve mais diferença significativa ($p>0,05$) entre as amostras dos diferentes tratamentos e um pequeno aumento na luminosidade foi observado.



SC: sem cobertura; CC: cobertura sem aditivos; CAA: cobertura com adição de ácido ascórbico; CPC: Imersão na cobertura sem aditivos, imersão em uma solução de Tween 80 (10 %) com 0,4 % de partículas dispersas e posterior imersão na cobertura sem aditivos, novamente; CP: Cobertura com incorporação de 2 % de micropartículas do Ensaio 5 (Capítulo 2)

Figura 3.12 - Maças dos diferentes ensaios (SC, CC, CAA, CPC e CP) avaliadas quanto à cor no tempo 5 h

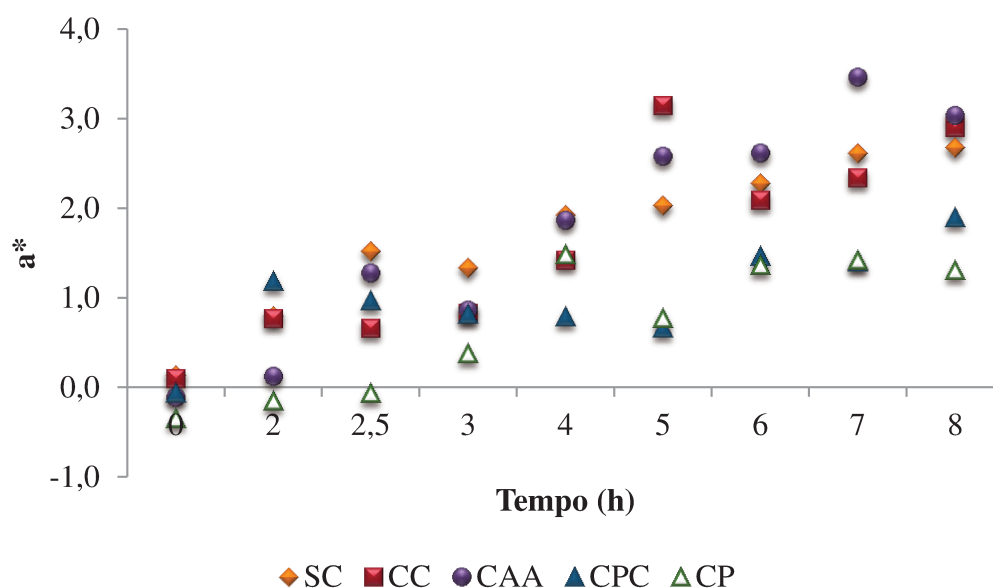
Tabela 3.7 - Mudanças nos parâmetros de cor de fatias de maçãs revestidas com diferentes coberturas durante 8 h

Parâmetro	Ensaio	Tempo (h)								
		0	2	2,5	3	4	5	6	7	8
L*	SC	56 ^b ± 1	55 ^{ab} ± 1	56 ^{ab} ± 3	56 ^{ab} ± 2	58 ^b _c ± 1	57 ^a ± 1	57 ^a ± 3	61 ^a ± 3	61 ^a ± 1
	CC	55 ^b ± 2	53 ^a ± 2	56 ^{ab} ± 2	58 ^b ± 1	59 ^c ± 1	59 ^a ± 1	58 ^a ± 2	59 ^a ± 1	60 ^a ± 2
	CAA	56 ^b ± 1	54 ^{ab} ± 2	58 ^b ± 2	57 ^b ± 1	59 ^c ± 2	59 ^a ± 1	59 ^a ± 3	59 ^a ± 3	60 ^a ± 2
	CPC	53 ^a ± 2	53 ^a ± 1	54 ^a ± 2	55 ^a ± 2	55 ^a ± 2	58 ^a ± 2	58 ^a ± 1	59 ^a ± 2	56 ^b ± 3
	CP	55 ^b ± 1	55 ^b ± 1	55 ^a ± 1	58 ^b ± 1	57 ^{ab} ± 3	59 ^a ± 3	59 ^a ± 1	58 ^a ± 2	60 ^a ± 2
a*	SC	0,1 ^b ± 0,3	0,8 ^{bc} ± 0,3	1,5 ^c ± 0,8	1,3 ^c ± 0,2	1,9 ^b ± 0,3	2,0 ^b ± 0,5	2,3 ^b ± 0,4	2,6 ^b ± 0,4	2,7 ^{bc} ± 0,3
	CC	0,1 ^b ± 0,1	0,8 ^{bc} ± 0,8	0,7 ^b ± 0,3	0,8 ^b ± 0,2	1,4 ^b ± 0,6	3,1 ^c ± 1,1	2,1 ^b ± 0,6	2,3 ^b ± 0,6	2,9 ^c ± 0,8
	CAA	-0,1 ^{ab} ± 0,2	0,1 ^{ab} ± 0,2	1,3 ^c ± 0,2	0,9 ^b ± 0,1	1,9 ^b ± 0,4	2,6 ^{bc} ± 0,4	2,6 ^b ± 0,5	3,5 ^c ± 0,7	3,0 ^c ± 0,7
	CPC	-0,1 ^b ± 0,1	1,2 ^c ± 0,7	1,0 ^{bc} ± 0,4	0,8 ^b ± 0,6	0,8 ^a ± 0,4	0,7 ^a ± 0,3	1,5 ^a ± 0,3	1,4 ^a ± 0,4	1,9 ^{ab} ± 0,4
	CP	-0,3 ^a ± 0,2	-0,2 ^a ± 0,2	-0,1 ^a ± 0,2	0,4 ^a ± 0,2	1,5 ^b ± 0,3	0,8 ^a ± 0,2	1,4 ^a ± 0,3	1,4 ^a ± 0,6	1,3 ^a ± 0,6
b*	SC	15 ^b ± 2	17 ^b ± 2	19 ^d ± 3	18 ^{bc} ± 1	20 ^b ± 1	20 ^b ± 2	20 ^b ± 1	21 ^{bc} ± 2	21 ^{bc} ± 1
	CC	15 ^{ab} ± 1	18 ^b ± 3	17 ^{bc} ± 1	18 ^c ± 1	19 ^{ab} ± 2	22 ^b ± 1	21 ^b ± 1	22 ^c ± 2	22 ^c ± 1
	CAA	13 ^{ab} ± 3	13 ^a ± 1	18 ^{cd} ± 1	16 ^{ab} ± 1	20 ^b ± 2	21 ^b ± 1	20 ^b ± 1	23 ^c ± 2	22 ^c ± 1
	CPC	12 ^a ± 2	18 ^b ± 3	16 ^b ± 1	18 ^c ± 3	18 ^a ± 1	18 ^a ± 1	19 ^b ± 1	19 ^{ab} ± 1	20 ^b ± 1
	CP	13 ^{ab} ± 2	12 ^a ± 1	11 ^a ± 1	14 ^a ± 2	17 ^a ± 2	16 ^a ± 2	17 ^a ± 1	18 ^a ± 2	18 ^a ± 1
ΔE*	SC	47 ^{ab} ± 2	49 ^b ± 2	48 ^{ab} ± 3	47 ^{bc} ± 2	46 ^{ab} ± 1	47 ^b ± 2	47 ^b ± 3	45 ^a ± 3	44 ^a ± 1
	CC	47 ^{ab} ± 2	51 ^c ± 1	47 ^{ab} ± 2	46 ^{ab} ± 1	45 ^a ± 1	47 ^{ab} ± 2	47 ^{ab} ± 2	46 ^a ± 1	46 ^{ab} ± 2
	CAA	46 ^a ± 2	47 ^a ± 1	46 ^a ± 2	45 ^{ab} ± 1	45 ^a ± 2	46 ^{ab} ± 1	46 ^{ab} ± 3	47 ^a ± 2	45 ^a ± 2
	CPC	49 ^b ± 2	51 ^c ± 1	49 ^b ± 2	49 ^c ± 1	49 ^b ± 2	46 ^{ab} ± 2	46 ^{ab} ± 1	46 ^a ± 2	49 ^b ± 3
	CP	47 ^{ab} ± 1	46 ^{ab} ± 1	46 ^{ab} ± 1	45 ^a ± 1	47 ^{ab} ± 3	44 ^a ± 3	44 ^a ± 1	45 ^a ± 2	44 ^a ± 2

SC: sem cobertura; CC: cobertura sem aditivos; CAA: cobertura com adição de ácido ascórbico; CPC: Imersão na cobertura sem aditivos, imersão em uma solução de Tween 80 (10 %) com 0,4 % de partículas dispersas e posterior imersão na cobertura sem aditivos, novamente; CP: Cobertura com incorporação de 2 % de micropartículas do Ensaio 5 (Capítulo 2)

A coordenada de cromaticidade a^* positiva representa a coloração vermelha e negativa a coloração verde. A coordenada b^* positiva representa a coloração amarela e negativa a coloração azul. O centro destas coordenadas é acromático e com o aumento dos valores de a^* e b^* a saturação da cor aumenta (ORIANI, 2013).

A Figura 3.13 apresenta a mudança no parâmetro de cor a^* nas maçãs submetidas a diferentes coberturas. Segundo Rojas-Graü et al. (2007) as amostras com maiores valores de a^* indica que houve escurecimento enzimático do alimento. Os menores valores de a^* obtidos ao final das 8 h de análise foram encontrados nas amostras sobre as quais foram aplicadas as formulações contendo as micropartículas lipídicas de ácido ascórbico CPC (controle-partícula-controle) ou CP (cobertura com partículas). A amostra contendo ácido ascórbico não encapsulado (CAA) na cobertura se mostrou semelhante aos ensaios CPC e CP, quanto aos valores do parâmetro a^* , durante as primeiras horas de análise e posteriormente sofreu um aumento no valor deste parâmetro provavelmente pela instabilidade e reatividade do ácido ascórbico em presença de oxigênio e luz, mostrando a importância da encapsulação na manutenção da atividade antioxidante do ácido ascórbico.

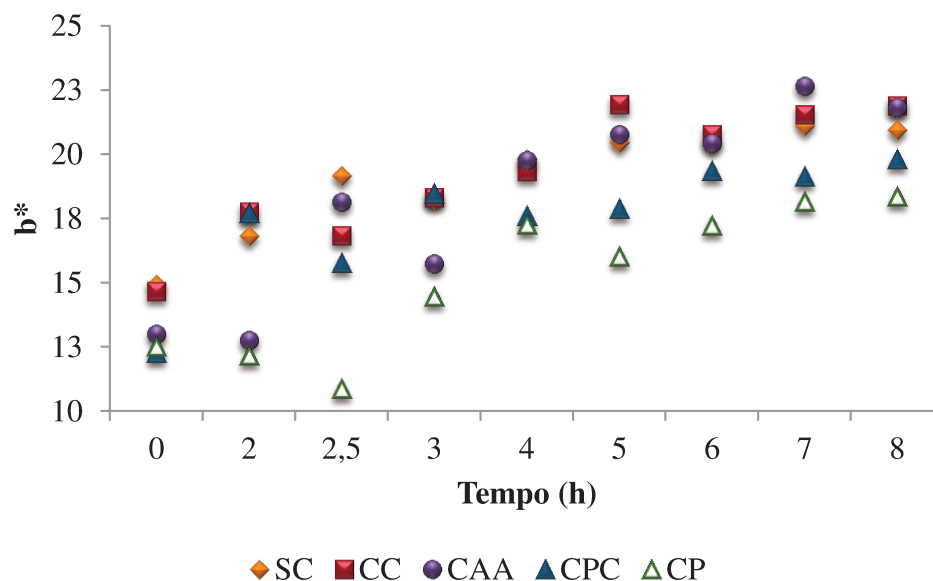


SC: sem cobertura; CC: cobertura sem aditivos; CAA: cobertura com adição de ácido ascórbico; CPC: Imersão na cobertura sem aditivos, imersão em uma solução de Tween 80 (10 %) com 0,4 % de partículas dispersas e posterior imersão na cobertura sem aditivos, novamente; CP: Cobertura com incorporação de 2 % de micropartículas do Ensaio 5 (Capítulo 2)

Figura 3.13 - Mudança no parâmetro de cor a^* das fatias de maçãs revestidas com diferentes coberturas

A Figura 3.14 apresenta a mudança no parâmetro de cor b^* nas maçãs submetidas a diferentes coberturas. O aumento no valor do parâmetro b^* indica que as amostras adquiriram um tom mais amarelado. A partir da Figura 3.14 é possível verificar que para todos os tratamentos houve um aumento no valor do parâmetro b^* , o qual foi mais acentuado para as amostras dos ensaios SC (sem cobertura), CC (cobertura controle) e CAA (cobertura contendo ácido ascórbico não encapsulado). Este último, da mesma forma que para o parâmetro a^* , teve um comportamento semelhante aos ensaios CPC e CP nas primeiras horas, e posteriormente sofreu uma elevação na intensidade da cor amarela da amostra. O ensaio CP apresentou o menor valor no parâmetro b^* que os demais tratamentos ao final das 8 h de análise, com diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$).

No tempo de 8 h somente o ensaio CPC apresentou diferença significativa dos demais ensaios no que diz respeito ao valor de diferença total de cor (ΔE^*), no qual se obteve maior valor nesse parâmetro devido ao fato de ser o ensaio com menor valor de luminosidade (L^*).



SC: sem cobertura; CC: cobertura sem aditivos; CAA: cobertura com adição de ácido ascórbico; CPC: Imersão na cobertura sem aditivos, imersão em uma solução de Tween 80 (10 %) com 0,4 % de partículas dispersas e posterior imersão na cobertura sem aditivos, novamente; CP: Cobertura com incorporação de 2 % de micropartículas do Ensaio 5 (Capítulo 2)

Figura 3.14 - Mudança no parâmetro de cor b^* das fatias de maçãs revestidas com diferentes coberturas

Rojas-Graü, Soliva-Fortuny e Martín-Belloso (2008) avaliaram o efeito da aplicação de uma solução de ácido ascórbico não encapsulado na cor de maçãs “Fuji” minimamente processadas e perceberam que a utilização deste antioxidante não promoveu a inibição da atividade das enzimas que provocam o escurecimento das maçãs. Por outro lado, Roblés-Sánchez et al. (2013) que avaliaram a influência de coberturas de alginato adicionadas de ácido ascórbico na cor de mangas “Kent” minimamente processadas, concluíram que esta cobertura aditivada preveniu o escurecimento das mangas armazenadas por 12 dias a 4 °C.

Os melhores resultados obtidos foram observados nas maçãs aplicadas com as coberturas adicionadas das micropartículas lipídicas de ácido ascórbico. Embora ambos ensaios CPC (com incorporação da cobertura controle, seguida de uma solução de Tween 80 (10 %) com 0,4 % de partículas e posterior imersão na cobertura controle novamente) e CP (cobertura contendo as micropartículas) tenham retardado o escurecimento das maçãs, o ensaio CP foi mais protetivo.

3.4 CONCLUSÃO

Os filmes adicionados de micropartículas lipídicas apresentaram menor permeabilidade ao vapor de água, quando comparados aos filmes controle e aditivado com ácido ascórbico não encapsulado, como efeito da adição de gordura (hidrofóbica). Além disso, os filmes aditivados com as micropartículas de ácido ascórbico apresentaram maior opacidade e menor luminosidade que os demais filmes produzidos.

As propriedades mecânicas dos filmes produzidos com adição das micropartículas mostraram maior resistência à tração e baixo alongamento na ruptura. O aumento da rigidez destes filmes foi devido à fração lipídica do material de parede das partículas adicionadas.

A utilização de micropartículas de ácido ascórbico promoveu a proteção da sua atividade antioxidante durante o processamento dos filmes, em relação ao filme produzido com o ácido ascórbico não encapsulado. O filme produzido com partículas contendo uma proporção de ácido láurico e ácido oleico de 80/20 no material de parede e uma proporção entre o material de parede e o material de recheio de 75/25 foi o que apresentou maior retenção da atividade antioxidante (84 %) durante o processamento do filme, assim como a degradação do ácido ascórbico em água foi mais lenta que nos demais ensaios.

A utilização de cobertura de amido de banana verde adicionada de micropartículas lipídicas contendo ácido ascórbico foi efetiva na preservação da coloração das maçãs por 8 h à temperatura ambiente, visto que a encapsulação promoveu a preservação e a liberação controlada do ácido ascórbico, preservando sua atividade antioxidante por mais tempo.

CONCLUSÕES GERAIS

As misturas lipídicas de ácido láurico e ácido oleico e de ácido esteárico e ácido oleico, avaliadas por DSC, apresentaram ponto de fusão inversamente proporcional à quantidade de ácido oleico presente nas misturas. Misturas contendo pontos de fusão acima de 54 °C e abaixo de 31 °C foram descartadas para a obtenção das micropartículas lipídicas.

A variação do teor de ácido oleico presente nas misturas de material de parede influenciou diretamente nas propriedades das micropartículas produzidas (eficiência de encapsulação, distribuição de tamanho e perfil de liberação do recheio). Porém, a proporção entre o material de parede e o material de recheio não teve efeito sobre as propriedades das micropartículas produzidas. Quanto maior a quantidade de ácido oleico presente, maior a eficiência de encapsulação, o diâmetro das partículas e a presença de aglomerados.

A cinética de liberação do ingrediente ativo pelas micropartículas contendo quantidades intermediárias de ácido oleico no material de parede (20 %) em meio aquoso foi mais lento que os demais ensaios realizados. A menor velocidade de liberação do material de recheio em água foi apresentada pelas partículas dos ensaios em que foi utilizada a concentração intermediária de ácido oleico no material de parede, seguindo o modelo cinético modificado de Ritger-Peppas.

A incorporação das micropartículas nos filmes de amido de banana promoveu uma diminuição na permeabilidade ao vapor de água, devido suas características hidrofóbicas. Além disso, os filmes aditivados com as micropartículas de ácido ascórbico apresentaram maior opacidade e menor luminosidade que os demais filmes produzidos e uma tendência a serem menos solúveis que os filmes controle.

A utilização de micropartículas lipídicas de ácido ascórbico nos filmes promoveu um aumento na resistência à tração e uma diminuição no alongamento na ruptura dos filmes produzidos, em relação ao filme aditivado com ácido ascórbico não encapsulado, devido à fração lipídica do material de parede das partículas adicionadas.

Além disso, as micropartículas forneceram um efeito de proteção da atividade antioxidante durante o processo de obtenção dos filmes, em relação ao filme produzido com ácido ascórbico não encapsulado. O filme produzido com partículas contendo 20 % de material

de recheio foi o que apresentou maior retenção da atividade antioxidante durante o processamento do filme, assim como a degradação do ácido ascórbico em água foi mais lenta que no ensaio controle com ácido ascórbico não encapsulado.

A cobertura de amido de banana verde adicionada de micropartículas lipídicas contendo ácido ascórbico inibiu parcialmente o escurecimento enzimático das maçãs analisadas por um período de 8 h a uma temperatura de 25 °C, visto que a encapsulação do ácido ascórbico preservou sua atividade antioxidante e promoveu a liberação controlada desse composto.

SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Testar a microencapsulação de ácido ascórbico por spray chilling com outras misturas de material de parede com pontos de fusão mais altos e avaliar a degradação do ácido ascórbico durante o processo, a fim de se obter partículas mais estáveis à temperatura ambiente;

Microencapsular extratos de frutas com alto potencial antioxidante por spray chilling e aplicar as micropartículas em filmes;

Otimizar a obtenção de filmes adicionados de micropartículas, como por exemplo, testar a produção por multicamadas, a fim de minimizar a velocidade de liberação do ingrediente ativo e a perda de atividade antioxidante durante o processamento do filme;

Avaliar a liberação (difusão) do ácido ascórbico pelas partículas e pelos filmes ou coberturas em diferentes sistemas modelos;

Testar outros métodos de incorporação e dispersão das partículas no filme, com o objetivo de melhorar as propriedades mecânicas destes, visto que o alongamento na ruptura dos filmes produzidos com dispersão das partículas em solução de Tween 80 apresentou baixos valores;

Testar a incorporação de micropartículas em outras matrizes filmogênicas;

Avaliar a estabilidade de frutas minimamente processadas, aplicadas de cobertura contendo ácido ascórbico, por um período de 5 dias sob refrigeração.

REFERÊNCIAS

- ABBAS, S.; DA WEI, C.; HAYAT, K.; XIAOMING, Z. Ascorbic acid: Microencapsulation techniques and trends - A review. **Food Reviews International**, v. 28, n. 4, p. 343-374, 2012.
- AGAMA-ACEVEDO, E.; RODRIGUEZ-AMBRIZ, S. L.; GARCÍA-SUÁREZ, F. J.; GUTIERREZ-MÉRAZ, F.; PACHECO-VARGAS, G.; BELLO-PÉREZ, L. A. Starch isolation and partial characterization of commercial cooking and dessert banana cultivars growing in Mexico. **Starch/Staerke**, 2013.
- ALVIM, I. D.; SOUZA, F. D. S. D.; KOURY, I. P.; JURT, T.; DANTAS, F. B. H. Use of the spray chilling method to deliver hydrophobic components: physical characterization of microparticles. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 33, n. 1, p. 34-39, 2013.
- ANAL, A. K. Microencapsulation and application in delivery of bioactives in foods. **Innovative science: agriculture and food edition** v. 1, n. 1, p. 34-40, 2010.
- ANDRADE-MAHECHA, M. M. **Elaboracao e caracterizacao de biofilmes de farinha de biri (Canna indica L.)**. 2009. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- ANDRADE-MAHECHA, M. M. **Microcompósitos, nanocompósitos e coberturas a base de materiais biodegradáveis obtidos a partir do biri (Canna indica L.)**. 2012. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos). Departamento de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP, Campinas.
- AOAC. Official Method Ce 2-66 e Hartmann, L; Lago, LCA. **Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids.**, p. 475, 1973.
- AOAC. **Official methods of analysis of the AOAC** 16th. Washington: Association of Official Analytical Chemists, 1997.
- AOAC. **Official methods of analysis**. 18th ed. Washington: Association of Official Analytical Chemists, 2005.
- AOCS. **Official methods and recommended practices of the AOCS**. 4th. Champaign: American oil Chemists' Society 2004.
- ARVANITOYANNIS, I.; VARZAKAS, T.; KIOKIAS, S.; LABROPOULOS, A. Lipids, fats, and oils. In: YILDIZ, F. (Ed.). **Advances in Food Biochemistry**: CRC Press, cap.5, p.131-201. 2009.

ASTM. **Standard test method of water vapor transmission of materials (E96-00)**. Philadelphia: American Society for Testing and Materials, 2000.

ASTM. **Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting (D882-02) for Testing and Materials**. Philadelphia: American Society, 2002.

ATARÉS, L.; PEREZ-MASIA, R.; CHIRALT, A. The role of some antioxidants in the HPMC film properties and lipid protection in coated toasted almonds. **Journal of Food Engineering**, v. 104, n. 4, p. 649-656, 2011.

AYRANCI, E.; TUNC, S. A method for the measurement of the oxygen permeability and the development of edible films to reduce the rate of oxidative reactions in fresh foods. **Food Chemistry**, v. 80, n. 3, p. 423-431, 2003.

BASTOS, D. D. S.; ARAÚJO, K. G. D. L.; LEÃO, M. H. M. D. R. Ascorbic acid retaining using a new calcium alginate-Capsul based edible film. **Journal of Microencapsulation**, v. 26, n. 2, p. 97-103, 2009.

BENASSI, M. D. T.; ANTUNES, A. J. A comparison of metaphosphoric and oxalic acids as extractants solutions for the determination of vitamin C in selected vegetables. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, v. 31, n. 4, p. 507-513, 1988.

BLAUG, S. M.; HAJRATWALA, B. Kinetics of aerobic oxidation of ascorbic acid. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 61, n. 4, p. 556-562, 1972.

BONILLA, J.; TALÓN, E.; ATARÉS, L.; VARGAS, M.; CHIRALT, A. Effect of the incorporation of antioxidants on physicochemical and antioxidant properties of wheat starch-chitosan films. **Journal of Food Engineering**, v. 118, n. 3, p. 271-278, 2013.

CARNEIRO-DA-CUNHA, M. G.; CERQUEIRA, M. A.; SOUZA, B. W. S.; SOUZA, M. P.; TEIXEIRA, J. A.; VICENTE, A. A. Physical properties of edible coatings and films made with a polysaccharide from *Anacardium occidentale* L. **Journal of Food Engineering**, v. 95, p. 379-385, 2009.

CHAMBI, H. N. M.; ALVIM, I. D.; BARRERA-ARELLANO, D.; GROSSO, C. R. F. Solid lipid microparticles containing water-soluble compounds of different molecular mass: Production, characterisation and release profiles. **Food Research International**, v. 41, n. 3, p. 229-236, 2008.

CHANG, D.; ABBAS, S.; HAYAT, K.; XIA, S.; ZHANG, X.; XIE, M.; KIM, J. M. Encapsulation of ascorbic acid in amorphous maltodextrin employing extrusion as affected by matrix/core ratio and water content. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 45, n. 9, p. 1895-1901, 2010.

CHIME, S. A.; ATTAMA, A. A.; BUILDERS, P. F.; ONUNKWO, G. C. Sustained release diclofenac potassium-loaded solid lipid microparticle based on solidified reverse micellar

solution: In vitro and in vivo evaluation. **Journal of Microencapsulation**, v. 30, n. 4, p. 335-345, 2013.

DE LA TORRE-GUTIERREZ, L.; TORRUCO-UCO, J. G.; CASTELLANOS-RUELAS, A.; CHEL-GUERRERO, L. A.; BETANCUR-ANCONA, D. Isolation and structure investigations of square banana (*Musa balbisiana*) starch. **Starch/Staerke**, v. 59, n. 7, p. 326-333, 2007.

DEMAN, J. M. Chemical and physical properties of fatty acids. In: CHOW, C. K. (Ed.). **Fatty Acids in Foods and their Health Implications**. 3rd. Boca Raton, FL p.17-45. 2008.

DESAI, K. G.; LIU, C.; PARK, H. J. Characteristics of vitamin C encapsulated tripolyphosphate-chitosan microspheres as affected by chitosan molecular weight. **Journal of Microencapsulation**, v. 23, n. 1, p. 79-90, 2006.

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

DIÉGUEZ, M. C. V. **Desenvolvimento e caracterização de filmes nanocompósitos de farinha de amaranto - montmorillonita**. 2010. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

FABRA, M. J.; HAMBLETON, A.; TALENS, P.; DEBEAUFORT, F.; CHIRALT, A. Effect of ferulic acid and α -tocopherol antioxidants on properties of sodium caseinate edible films. **Food Hydrocolloids**, v. 25, n. 6, p. 1441-1447, 2011.

FAN, L.-S.; ZHU, C.; FAN, L.-S.; ZHU., C. **Size and Properties of Particles. Principles of Gas-Solid Flows**. Cambridge University Press, 1998.

FARIAS, M. G.; FAKHOURI, F. M.; CARVALHO, C. W. P. D.; ASCHERI, J. L. R. Caracterização físico-química de filmes comestíveis de amido adicionado de acerola (*Malpighia emarginata* D.C.). **Química Nova**, v. 35, n. 3, p. 546-552, 2012.

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

FONTES, L. C. B.; SIVI, T. C.; RAMOS, K. K.; QUEIROZ, F. P. C. Efeito de antioxidantes na prevenção de escurecimento enzimático de batata-doce (*Ipomoea batatas*) e inhame (*Dioscorea* spp). **Publicatio UEPG - Ciências exatas e da terra, agrárias e engenharias**, v. 15, n. 3, 2009.

GAMBOA, O. D.; GONÇALVES, L. G.; GROSSO, C. F. Microencapsulation of tocopherols in lipid matrix by spray chilling method. **Procedia Food Science**, v. 1, p. 1732-1739, 2011.

- GAMBOA, O. W. D. **Microencapsulação de tocoferóis em matrizes lipídicas advindas de gorduras low trans interesterificadas quimicamente**. 2011. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- GAVORY, C.; ABDERRAHMEN, R.; BORDES, C.; CHAUSSY, D.; BELGACEM, M. N.; FESSI, H.; BRIANÇON, S. Encapsulation of a pressure sensitive adhesive by spray-cooling: Optimum formulation and processing conditions. **Advanced Powder Technology**, n. 0, 2013.
- GOMES, G. V. L.; BORRIN, T. R.; CARDOSO, L. P.; SOUTO, E.; DE PINHO, S. C. Characterization and shelf life of B-carotene loaded solid lipid microparticles produced with stearic acid and sunflower oil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 56, n. 4, p. 663-671, 2013.
- GONTARD, N.; GUILBERT, S.; CUQ, J.-L. Edible wheat gluten films: influence of the main process variables on film properties using response surface methodology. **Journal of Food Science**, v. 57, n. 1, p. 190-195, 1992.
- GOUIN, S. Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends. **Trends in Food Science & Technology**, v. 15, n. 7-8, p. 330-347, 2004.
- HARRIS, J. R. **Ascorbic Acid: Biochemistry and Biochemical Cell Biology**. Springer Dordrecht, 1996.
- HIGUCHI, T. Mechanism of sustained-action medication. Theoretical analysis of rate of release of solid drugs dispersed in solid matrices. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 52, n. 12, p. 1145-1149, 1963.
- HU, F. Q.; JIANG, S. P.; DU, Y. Z.; YUAN, H.; YE, Y. Q.; ZENG, S. Preparation and characterization of stearic acid nanostructured lipid carriers by solvent diffusion method in an aqueous system. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 45, n. 3-4, p. 167-173, 2005.
- HUNTERLAB. Application note: CIE L* a* b* color scale. Virginia. 8 1996.
- ISO. Riz détermination de la teneur en amidon (ISO 6647). In: (Ed.). **International Organization for Standardization**. Suisse p.4. 1987.
- JIMÉNEZ, A.; FABRA, M. J.; TALENS, P.; CHIRALT, A. Edible and biodegradable starch films: A review. **Food and Bioprocess Technology**, v. 5, n. 6, p. 2058-2076, 2012.
- JUNQUEIRA, M. S.; SOARES, N. D. F. F.; REIS, R. C.; CARNEIRO, J. D. D. S.; BENICIO, R. T.; YOKOTA, S. R. C. Efeito de embalagens ativas no escurecimento

enzimático de batatas (*Solanum tuberosum*) fatiadas e minimamente processadas. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 30, n. 6, p. 613-618, 2009.

KIRBY, C. J.; WHITTLE, C. J.; RIGBY, N.; COXON, D. T.; LAW, B. A. Stabilization of ascorbic acid by microencapsulation in liposomes. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 26, n. 5, p. 437-449, 1991.

KRAMER, M. E. Structure and function of starch-based edible films and coatings In: HUBER, K. C. e EMBUSCADO, M. E. (Ed.). **Edible Films and Coatings for Food Applications**: Springer New York, cap.4, p.113-134. 2009.

LEÓN, P. G.; ROJAS, A. M. Gellan gum films as carriers of l-(+)-ascorbic acid. **Food Research International**, v. 40, n. 5, p. 565-575, 2007.

LEONEL, A. J.; CHAMBI, H. N. M.; BARRERA-ARELLANO, D.; PASTORE, H. O.; GROSSO, C. R. F. Production and characterization of lipid microparticles produced by spray cooling encapsulating a low molar mass hydrophilic compound. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, p. 276-281, 2010.

LII, C.-Y.; CHANG, S.-M.; YOUNG, Y.-L. Investigation of the Physical and Chemical Properties of Banana Starches. **Journal of Food Science**, v. 47, n. 5, p. 1493-1497, 1982.

LIM, L. T. Active and Intelligent Packaging Materials. In: EDITOR-IN-CHIEF: MURRAY, M.-Y. (Ed.). **Comprehensive Biotechnology (Second Edition)**. Burlington: Academic Press p.629-644. 2011.

LIN, X.; LI, X.; ZHENG, L.; YU, L.; ZHANG, Q.; LIU, W. Preparation and characterization of monocaprato nanostructured lipid carriers. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 311, n. 1-3, p. 106-111, 2007.

MARTÍN-BELLOSO, O.; ROJAS-GRAÜ, M. A.; SOLIVA-FORTUNY, R. Delivery of flavor and active ingredients using edible films and coatings In: HUBER, K. C. e EMBUSCADO, M. E. (Ed.). **Edible Films and Coatings for Food Applications**: Springer New York p.295-313. 2009.

MASCHKE, A.; BECKER, C.; EYRICH, D.; KIERMAIER, J.; BLUNK, T.; GÖPFERICH, A. Development of a spray congealing process for the preparation of insulin-loaded lipid microparticles and characterization thereof. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 65, n. 2, p. 175-187, 2007.

MCMURRY, J.; CASTELLION, M.; BALLANTINE, D. S.; HOEGER, C. A.; PETERSON, V. E. **Fundamentals of General, Organic, and Biological Chemistry**. 6^a ed. Upper Saddle River: Pearson Prentice Hall, 2010.

MOREIRA, G. E. G. **Obtenção e caracterização de extrato microencapsulado de resíduo agroindustrial de acerola**. 2007. Dissertação (Mestrado em Engenharia

Química). Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal.

MORITA, T.; ASSUMPÇÃO, R. M. V. **Manual de soluções, reagentes e solventes: padronização, preparação, purificação**. 11a. reimpressão. Editora Edgard Blücher Ltda., 2001.

MÜLLER, R. H.; RADTKE, M.; WISSING, S. A. Nanostructured lipid matrices for improved microencapsulation of drugs. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 242, n. 1-2, p. 121-128, 2002.

NASSU, R. T.; GONÇALVES, L. A. G. Determination of melting point of vegetable oils and fats by differential scanning calorimetry (DSC) technique. **Grasas y Aceites**, v. 50, n. 1, p. 16-22, 1999.

NOBREGA, M. M.; OLIVATO, J. B.; GROSSMANN, M. V. E.; BONA, E.; YAMASHITA, F. Effects of the incorporation of saturated fatty acids on the mechanical and barrier properties of biodegradable films. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 124, n. 5, p. 3695-3703, 2012.

OKURO, P. K.; MATOS JUNIOR, F. E. D.; FAVARO-TRINDADE, C. S. Technological challenges for spray chilling encapsulation of functional food ingredients. **Food Technology and Biotechnology**, v. 51, n. 2, p. 171-182, 2013.

OLIVAS, G. I. I.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. Edible films and coatings for fruits and vegetables. In: HUBER, K. C. e EMBUSCADO, M. E. (Ed.). **Edible Films and Coatings for Food Applications**: Springer New York p.211-244. 2009.

ORIANI, V. B. **Desenvolvimento e caracterização de coberturas comestíveis à base de fécula de mandioca adicionadas de óleos essenciais**. 2013. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

OTEGBAYO, B.; LANA, O.; IBITOYE, W. Isolation and physicochemical characterization of starches isolated from PLANTAIN (*Musa Paradisiaca*) and cooking banana (*Musa Sapientum*). **Journal of Food Biochemistry**, v. 34, n. 6, p. 1303-1318, 2010.

PEDROSO, D. D. L.; THOMAZINI, M.; BARROZO HEINEMANN, R. J.; FAVARO-TRINDADE, C. S. Protection of *Bifidobacterium lactis* and *Lactobacillus acidophilus* by microencapsulation using spray chilling. **International Dairy Journal**, v. 26, n. 2, p. 127-132, 2012.

PEGG, R. B.; SHAHIDI, F. Encapsulation, stabilization, and controlled release of food ingredients and bioactives. In: (Ed.). **Handbook of Food Preservation, Second Edition**: CRC Press p.509-568. 2007.

- PELISSARI, F. M.; ANDRADE-MAHECHA, M. M.; SOBRAL, P. J. D. A.; MENEGALLI, F. C. Isolation and characterization of the flour and starch of plantain bananas (*Musa paradisiaca*). **Starch/Staerke**, v. 64, n. 5, p. 382-391, 2012.
- PELISSARI, F. M.; ANDRADE-MAHECHA, M. M.; SOBRAL, P. J. D. A.; MENEGALLI, F. C. Comparative study on the properties of flour and starch films of plantain bananas (*Musa paradisiaca*). **Food Hydrocolloids**, v. 30, n. 2, p. 681-690, 2013.
- PERDONES, Á.; VARGAS, M.; ATARÉS, L.; CHIRALT, A. Physical, antioxidant and antimicrobial properties of chitosan–cinnamon leaf oil films as affected by oleic acid. **Food Hydrocolloids**, v. 36, n. 0, p. 256-264, 2014.
- PIERUCCI, A. P.; ANDRADE, L. R.; BAPTISTA, E. B.; VOLPATO, N. M.; ROCHA-LEAO, M. H. New microencapsulation system for ascorbic acid using pea protein concentrate as coat protector. **Journal of Microencapsulation**, v. 23, n. 6, p. 654-662, 2006.
- POKORNÝ, J. Antioxidants in food preservation. In: (Ed.). **Handbook of Food Preservation**. Second Edition: CRC Press p.259-286. (Food Science and Technology). 2007.
- QUEZADA-GALLO, J.-A. Delivery of Food Additives and Antimicrobials Using Edible Films and Coatings. In: HUBER, K. C. e EMBUSCADO, M. E. (Ed.). **Edible Films and Coatings for Food Applications**: Springer New York p.315-333. 2009.
- RÉ, M.; SANTANA, M. H.; D'ÁVILA, M. A. Encapsulation technologies for modifying food performance. In: (Ed.). **Innovation in Food Engineering**: CRC Press p.223-275. (Contemporary Food Engineering). 2009.
- REISCHE, D.; LILLARD, D.; EITENMILLER, R. Antioxidants. In: (Ed.). **Food Lipids**: CRC Press (Food Science and Technology). 2002.
- REZVANI, E.; SCHLEINING, G.; SÜMEN, G.; TAHERIAN, A. R. Assessment of physical and mechanical properties of sodium caseinate and stearic acid based film-forming emulsions and edible films. **Journal of Food Engineering**, v. 116, n. 2, p. 598-605, 2013.
- RIBEIRO, M. D. M. M. **Comportamento de misturas binárias lipídicas na produção de micropartículas por spray chilling e sua influência na liberação de recheio hidrofílico**. 2010. Dissertação Mestre em Tecnologia de Alimentos. Faculdade de Engenharia de Alimentos/ Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- RIBEIRO, M. D. M. M.; ARELLANO, D. B.; GROSSO, C. R. F. The effect of adding oleic acid in the production of stearic acid lipid microparticles with a hydrophilic core by a spray-cooling process. **Food Research International**, v. 47, n. 1, p. 38-44, 2012.

- RITGER, P. L.; PEPPAS, N. A. A simple equation for description of solute release II. Fickian and anomalous release from swellable devices. **Journal of Controlled Release**, v. 5, n. 1, p. 37-42, 1987.
- ROBLES-SÁNCHEZ, R. M.; ROJAS-GRAÜ, M. A.; ODRIOZOLA-SERRANO, I.; GONZÁLEZ-AGUILAR, G.; MARTÍN-BELLOSO, O. Influence of alginate-based edible coating as carrier of antibrowning agents on bioactive compounds and antioxidant activity in fresh-cut Kent mangoes. **LWT - Food Science and Technology**, v. 50, n. 1, p. 240-246, 2013.
- ROJAS-GRAÜ, M. A.; SOLIVA-FORTUNY, R.; MARTÍN-BELLOSO, O. Effect of natural antibrowning agents on color and related enzymes in fresh-cut fuji apples as an alternative to the use of ascorbic acid. **Journal of Food Science**, v. 73, n. 6, p. S267-S272, 2008.
- ROJAS-GRAÜ, M. A.; SOLIVA-FORTUNY, R.; MARTÍN-BELLOSO, O. Edible coatings to incorporate active ingredients to fresh-cut fruits: a review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 20, n. 10, p. 438-447, 2009.
- ROJAS-GRAÜ, M. A.; TAPIA, M. S.; RODRÍGUEZ, F. J.; CARMONA, A. J.; MARTÍN-BELLOSO, O. Alginate and gellan-based edible coatings as carriers of antibrowning agents applied on fresh-cut Fuji apples. **Food Hydrocolloids**, v. 21, n. 1, p. 118-127, 2007.
- ROOS, Y. H. **Phase Transitions in Foods**. San Diego, 1995.
- ROSSAN, M. R. **Preparação e caracterização de micro e nanopartículas lipídicas sólidas para aplicação em cosméticos**. 2011. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- RUIZ, J. N. **Aplicação de microrganismos probióticos nas formas livre e microencapsulada em salame tipo italiano**. 2011. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- SALA, S.; ELIZONDO, E.; MORENO, E.; CALVET, T.; CUEVAS-DIARTE, M. A.; VENTOSA, N.; VECIANA, J. Kinetically driven crystallization of a pure polymorphic phase of stearic acid from CO₂-expanded solutions. **Crystal Growth & Design**, v. 10, n. 3, p. 1226-1232, 2010.
- SAVOLAINEN, M.; KHOO, C.; GLAD, H.; DAHLQVIST, C.; JUPPO, A. M. Evaluation of controlled-release polar lipid microparticles. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 244, n. 1-2, p. 151-161, 2002.

- SCHROOYEN, P. M. M.; MEER, R. V. D.; KRUIF, C. G. D. Microencapsulation: its application in nutrition. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 60, n. 04, p. 475-479, 2001.
- SEVERINO, P.; PINHO, S. C.; SOUTO, E. B.; SANTANA, M. H. A. Polymorphism, crystallinity and hydrophilic–lipophilic balance of stearic acid and stearic acid–capric/caprylic triglyceride matrices for production of stable nanoparticles. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 86, n. 1, p. 125-130, 2011.
- SHOJAEI-ALIABADI, S.; HOSSEINI, H.; MOHAMMADIFAR, M. A.; MOHAMMADI, A.; GHASEMLOU, M.; OJAGH, S. M.; HOSSEINI, S. M.; KHAKSAR, R. Characterization of antioxidant-antimicrobial κ -carrageenan films containing Satureja hortensis essential oil. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 52, n. 0, p. 116-124, 2013.
- SIEPMANN, J.; PEPPAS, N. A. Modeling of drug release from delivery systems based on hydroxypropyl methylcellulose (HPMC). **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 64, Supplement, n. 0, p. 163-174, 2012.
- SILLICK, M.; GREGSON, C. M. Spray chill encapsulation of flavors within anhydrous erythritol crystals. **Lwt-Food Science and Technology**, v. 48, n. 1, p. 107-113, 2012.
- SILVA-WEISS, A.; IHL, M.; SOBRAL, P. J. A.; GÓMEZ-GUILLÉN, M. C.; BIFANI, V. Natural additives in bioactive edible films and coatings: Functionality and applications in foods. **Food Engineering Reviews**, p. 1-17, 2013.
- SMITH, K.; BHAGGAN, K.; TALBOT, G.; MALSSSEN, K. Crystallization of fats: Influence of minor components and additives. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 88, n. 8, p. 1085-1101, 2011.
- THAIPONG, K.; BOONPRAKOB, U.; CROSBY, K.; CISNEROS-ZEVALLOS, L.; HAWKINS BYRNE, D. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19, n. 6–7, p. 669-675, 2006.
- TRINDADE, M. A. **Microencapsulação de ácido ascórbico e avaliação de sua funcionalidade na estabilidade da cor em produtos cárneos curados**. 1998. Dissertação (Mestrado em Ciências da Nutrição). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- TRINDADE, M. A.; GROSSO, C. R. F. The stability of ascorbic acid microencapsulated in granules of rice starch and in gum arabic. **Journal of Microencapsulation**, v. 17, n. 2, p. 169-176, 2000.
- WILSON, N.; SHAH, N. P. Microencapsulation of vitamins. **ASEAN Food Journal**, v. 14, n. 1, p. 1-14, 2007.

YE, L.; EITENMILLER, R. R.; LANDEN, W. O. **Vitamin Analysis for the Health and Food Sciences**. 2nd. 2007.

YOON, S.-D. Cross-linked potato starch-based blend films using ascorbic acid as a plasticizer. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2013.

ZAMUDIO-FLORES, P. B.; GUTIERREZ-MERAZ, F.; BELLO-PÉREZ, L. A. Effect of dual modification of banana starch and storage time on thermal and crystallinity characteristics of its films. **Starch/Staerke**, v. 63, n. 9, p. 550-557, 2011.

ZHANG, P.; WHISTLER, R. L.; BEMILLER, J. N.; HAMAKER, B. R. Banana starch: production, physicochemical properties, and digestibility—a review. **Carbohydrate Polymers**, v. 59, n. 4, p. 443-458, 2005.

ZIANI, K.; OSES, J.; COMA, V.; MATÉ, J. I. Effect of the presence of glycerol and Tween 20 on the chemical and physical properties of films based on chitosan with different degree of deacetylation. **LWT - Food Science and Technology**, v. 41, n. 10, p. 2159-2165, 2008.

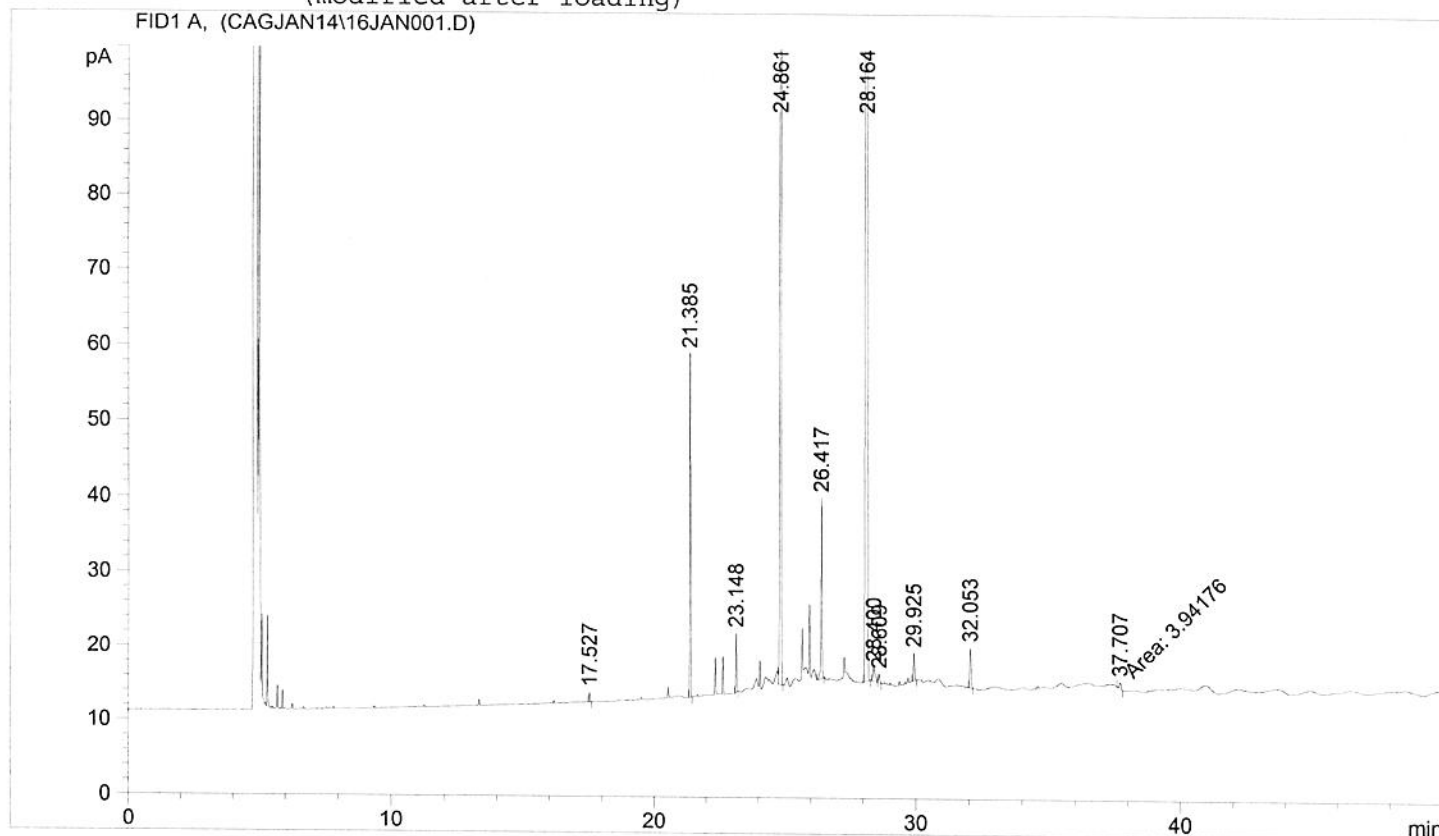
APÊNDICE 1

```

=====
Injection Date   : 16/1/2014 10:27:24      Seq. Line :    1
Sample Name     : AC. ESTEÁRICO 1          Location  : Vial 1
Acq. Operator   :                          Inj      :    1
                                           Inj Volume: 1 µl

Acq. Method     : D:\HPCHEM\2\METHODS\CAG2.M
Last changed    : 9/1/2014 09:26:39
Analysis Method : D:\HPCHEM\2\METHODS\ECODB23.M
Last changed    : 20/1/2014 15:33:55
                  (modified after loading)
=====

```



```

=====
                          Area Percent Report
=====

```

```

Sorted By      :      Signal
Multiplier     :      1.0000
Dilution       :      1.0000

```

Signal 1: FID1 A,

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	17.527	BP	0.0388	3.00009	1.26116	0.11680
2	21.385	BP	0.0379	109.47121	45.71359	4.26177
3	23.148	PB	0.0382	18.58381	7.95858	0.72348
4	24.861	VP	0.0408	726.58081	258.40720	28.28615
5	26.417	VB	0.0410	64.36099	24.19180	2.50561
6	28.164	BB	0.0543	1596.72156	393.58557	62.16117
7	28.400	PB	0.0840	11.35163	1.91817	0.44192
8	28.609	BB	0.0493	3.90918	1.19059	0.15219
9	29.925	BP	0.0512	11.84441	3.71411	0.46111
10	32.053	BB	0.0544	18.91465	5.33383	0.73636
11	37.707	MM	0.0790	3.94176	8.31563e-1	0.15345

Totals : 2568.68009 744.10615

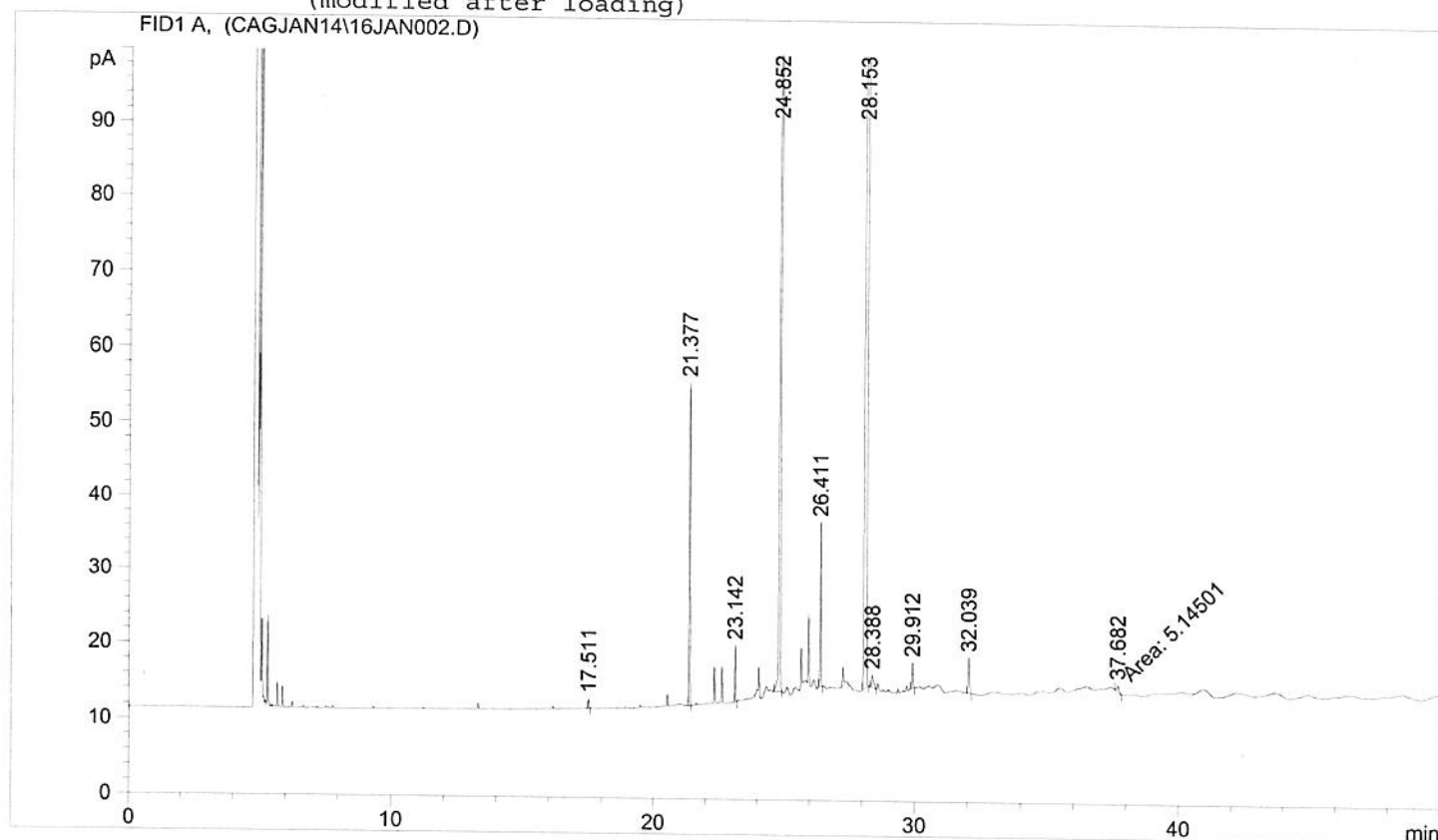
Results obtained with enhanced integrator!

```
=====
```

```

=====
Injection Date   : 16/1/2014 11:21:19      Seq. Line :    2
Sample Name     : AC. ESTEÁRICO 2         Location  : Vial 2
Acq. Operator   :                        Inj       :    1
                                           Inj Volume: 1 µl
Acq. Method     : D:\HPCHEM\2\METHODS\CAG2.M
Last changed    : 9/1/2014 09:26:39
Analysis Method : D:\HPCHEM\2\METHODS\ECODB23.M
Last changed    : 20/1/2014 15:33:55
                  (modified after loading)
=====

```



```

=====
Area Percent Report
=====

```

```

Sorted By      : Signal
Multiplier     : 1.0000
Dilution       : 1.0000

```

Signal 1: FID1 A,

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	17.511	BB	0.0376	2.86711	1.17029	0.12149
2	21.377	BP	0.0371	101.23232	43.55729	4.28955
3	23.142	BP	0.0358	17.00851	7.40178	0.72071
4	24.852	BB	0.0429	676.59680	239.79953	28.66968
5	26.411	BB	0.0384	56.01595	22.25309	2.37358
6	28.153	BB	0.0570	1464.08545	355.94089	62.03822
7	28.388	PB	0.0787	9.61601	1.68088	0.40746
8	29.912	BB	0.0484	10.52930	3.37091	0.44616
9	32.039	BB	0.0528	16.87707	4.70696	0.71514
10	37.682	MM	0.0991	5.14501	8.65255e-1	0.21801

```
Totals :                2359.97352  680.74688
```

Results obtained with enhanced integrator!

```

=====
*** End of Report ***
=====

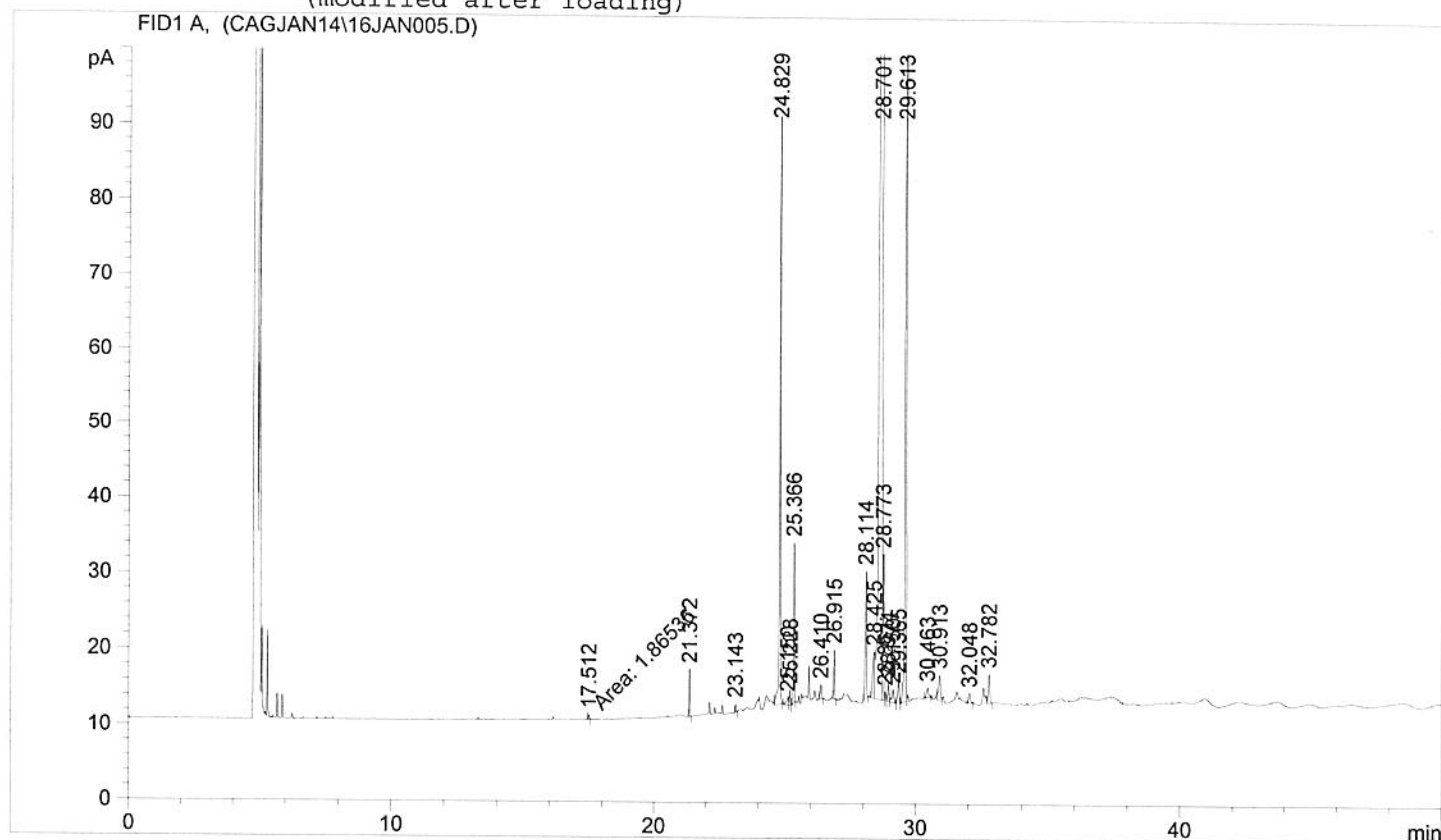
```

```

=====
Injection Date   : 16/1/2014 14:03:22      Seq. Line :    5
Sample Name     : AC. OLÉICO 1             Location  : Vial 5
Acq. Operator   :                          Inj      :    1
                                           Inj Volume: 1 µl

Acq. Method     : D:\HPCHEM\2\METHODS\CAG2.M
Last changed    : 9/1/2014 09:26:39
Analysis Method : D:\HPCHEM\2\METHODS\ECODB23.M
Last changed    : 20/1/2014 15:33:55
                  (modified after loading)
=====

```



```

=====
                        Area Percent Report
=====

```

```

Sorted By      :      Signal
Multiplier     :      1.0000
Dilution       :      1.0000

```

Signal 1: FID1 A,

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	17.512	MM	0.0463	1.86536	6.71198e-1	0.05174
2	21.372	BP	0.0360	14.38212	6.22379	0.39894
3	23.143	PP	0.0349	2.46929	1.11343	0.06849
4	24.829	BB	0.0413	209.97032	78.20731	5.82426
5	25.150	PV	0.0702	5.43935	1.03619	0.15088
6	25.228	VP	0.0375	4.95920	2.03215	0.13756
7	25.366	VB	0.0385	51.87613	21.22819	1.43896
8	26.410	BB	0.0497	6.72494	1.92936	0.18654
9	26.915	BB	0.0395	16.44017	6.49370	0.45603
10	28.114	PB	0.0544	58.26951	16.84629	1.61631
11	28.425	PV	0.0661	32.62284	6.12536	0.90491
12	28.701	VV	0.0676	2729.74170	534.39502	75.71889
13	28.773	VV	0.0374	45.34203	19.28633	1.25772
14	28.861	VV	0.0410	3.10975	1.25230	0.08626
15	28.974	VV	0.0483	7.62222	2.51726	0.21143
16	29.150	VP	0.0702	8.90664	1.75599	0.24706
17	29.365	VP	0.0569	12.06036	2.12256	0.22454

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
19	30.463	BB	0.0792	7.84586	1.32217	0.21763
20	30.913	BV	0.0740	17.54629	3.30200	0.48671
21	32.048	PB	0.0589	5.24587	1.25066	0.14551
22	32.782	VP	0.0550	14.51686	3.84981	0.40268

Totals : 3605.09996 816.49482

Results obtained with enhanced integrator!

=====
*** End of Report ***

Injection Date : 16/1/2014 14:57:11

Sample Name : AC. OLÉICO 2

Acq. Operator :

Seq. Line : 6

Location : Vial 6

Inj : 1

Inj Volume : 1 µl

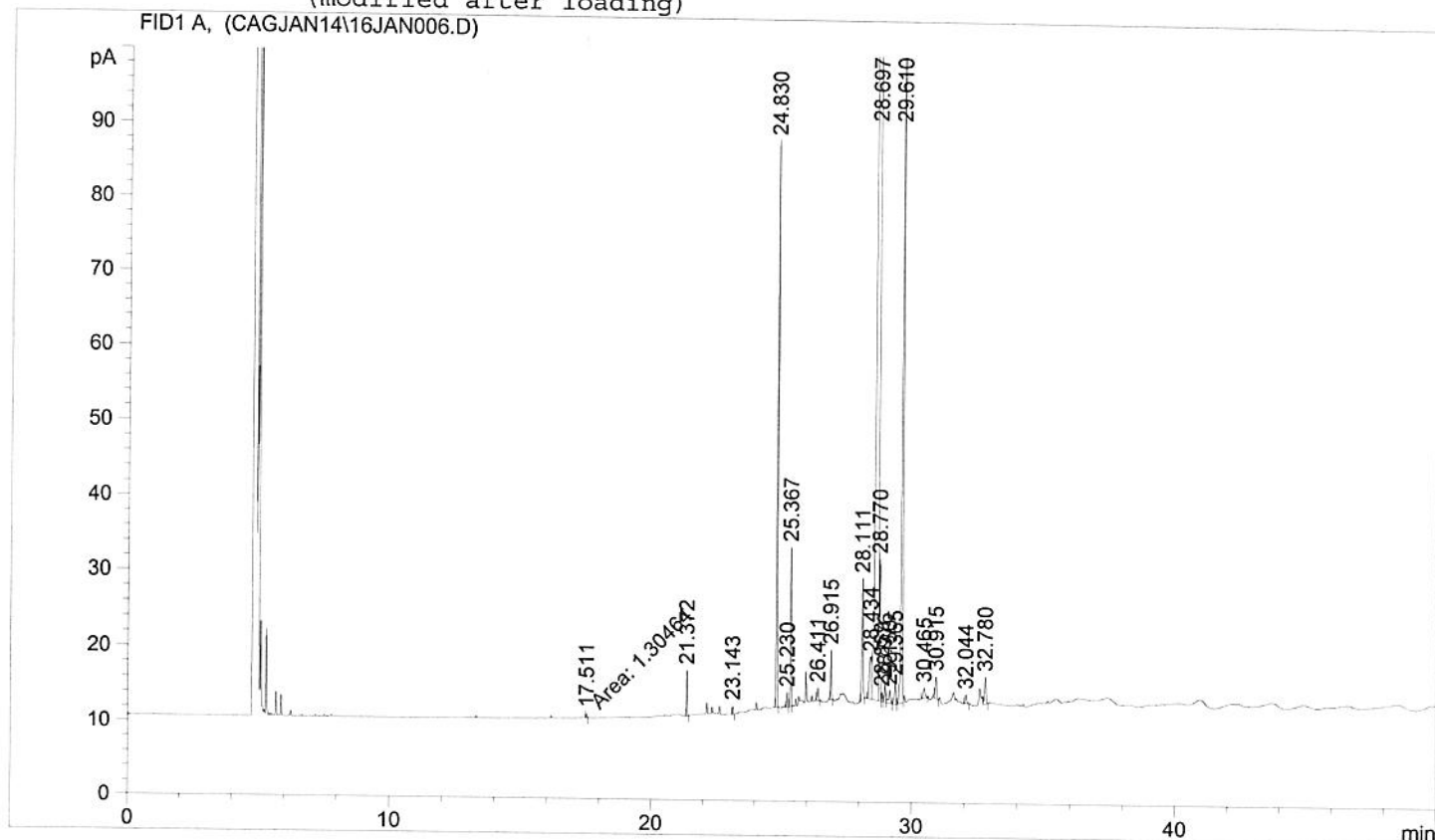
Acq. Method : D:\HPCHEM\2\METHODS\CAG2.M

Last changed : 9/1/2014 09:26:39

Analysis Method : D:\HPCHEM\2\METHODS\ECODB23.M

Last changed : 20/1/2014 15:33:55

(modified after loading)



=====
Area Percent Report
=====

Sorted By : Signal
Multiplier : 1.0000
Dilution : 1.0000

Signal 1: FID1 A,

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	17.511	MM	0.0383	1.30464	5.68391e-1	0.03803
2	21.372	BP	0.0370	14.00464	6.05386	0.40828
3	23.143	PP	0.0357	2.47680	1.08232	0.07221
4	24.830	BB	0.0356	179.22636	75.87598	5.22497
5	25.230	VB	0.0396	5.01040	1.97755	0.14607
6	25.367	BP	0.0368	50.38086	21.13752	1.46875
7	26.411	BB	0.0480	5.45204	1.67558	0.15894
8	26.915	BB	0.0390	16.56240	6.67046	0.48284
9	28.111	BB	0.0494	54.09888	16.03200	1.57714
10	28.434	PV	0.0784	32.95938	5.53928	0.96086
11	28.697	VV	0.0647	2617.75195	529.13300	76.31513
12	28.770	VV	0.0360	43.61498	18.83503	1.27150
13	28.859	VV	0.0396	3.12204	1.22967	0.09102
14	28.976	VV	0.0454	7.66040	2.52711	0.22332
15	29.150	VP	0.0696	8.50656	1.69217	0.24799
16	29.365	VP	0.0554	11.73366	3.08607	0.34207
17	29.610	VV	0.0500	3.38122	1.02701	0.05555

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
19	30.915	BP	0.0619	12.48543	2.97783	0.36399
20	32.044	PB	0.0627	4.66848	1.14191	0.13610
21	32.780	VP	0.0549	13.77365	3.57925	0.40154

Totals : 3430.18728 805.91166

Results obtained with enhanced integrator!

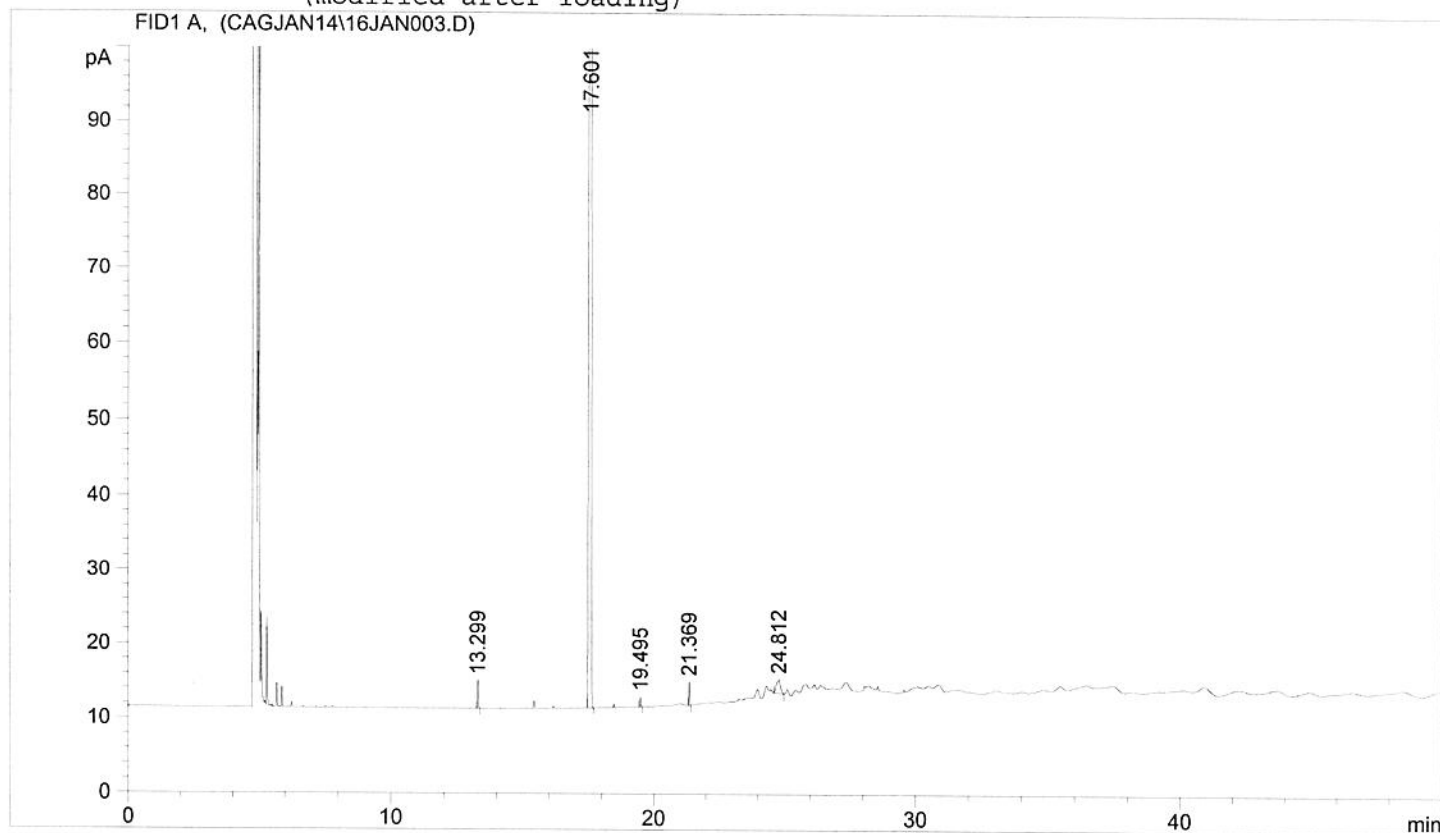
=====
*** End of Report ***

```

=====
Injection Date   : 16/1/2014 12:15:19      Seq. Line :    3
Sample Name     : AC. LÁURICO 1           Location  : Vial 3
Acq. Operator   :                        Inj      :    1
                                           Inj Volume: 1 µl

Acq. Method     : D:\HPCHEM\2\METHODS\CAG2.M
Last changed    : 9/1/2014 09:26:39
Analysis Method : D:\HPCHEM\2\METHODS\ECODB23.M
Last changed    : 20/1/2014 15:33:55
                  (modified after loading)
=====

```



```

=====
                        Area Percent Report
=====

```

```

Sorted By           :      Signal
Multiplier          :      1.0000
Dilution            :      1.0000

```

Signal 1: FID1 A,

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	13.299	BB	0.0384	9.16448	3.76184	0.29136
2	17.601	BB	0.0579	3106.55225	741.60553	98.76614
3	19.495	BB	0.0389	3.10552	1.29887	0.09873
4	21.369	BP	0.0366	7.11013	3.12393	0.22605
5	24.812	PP	0.1264	19.42931	1.88286	0.61771

Totals : 3145.36168 751.67303

Results obtained with enhanced integrator!

```

=====
*** End of Report ***
=====

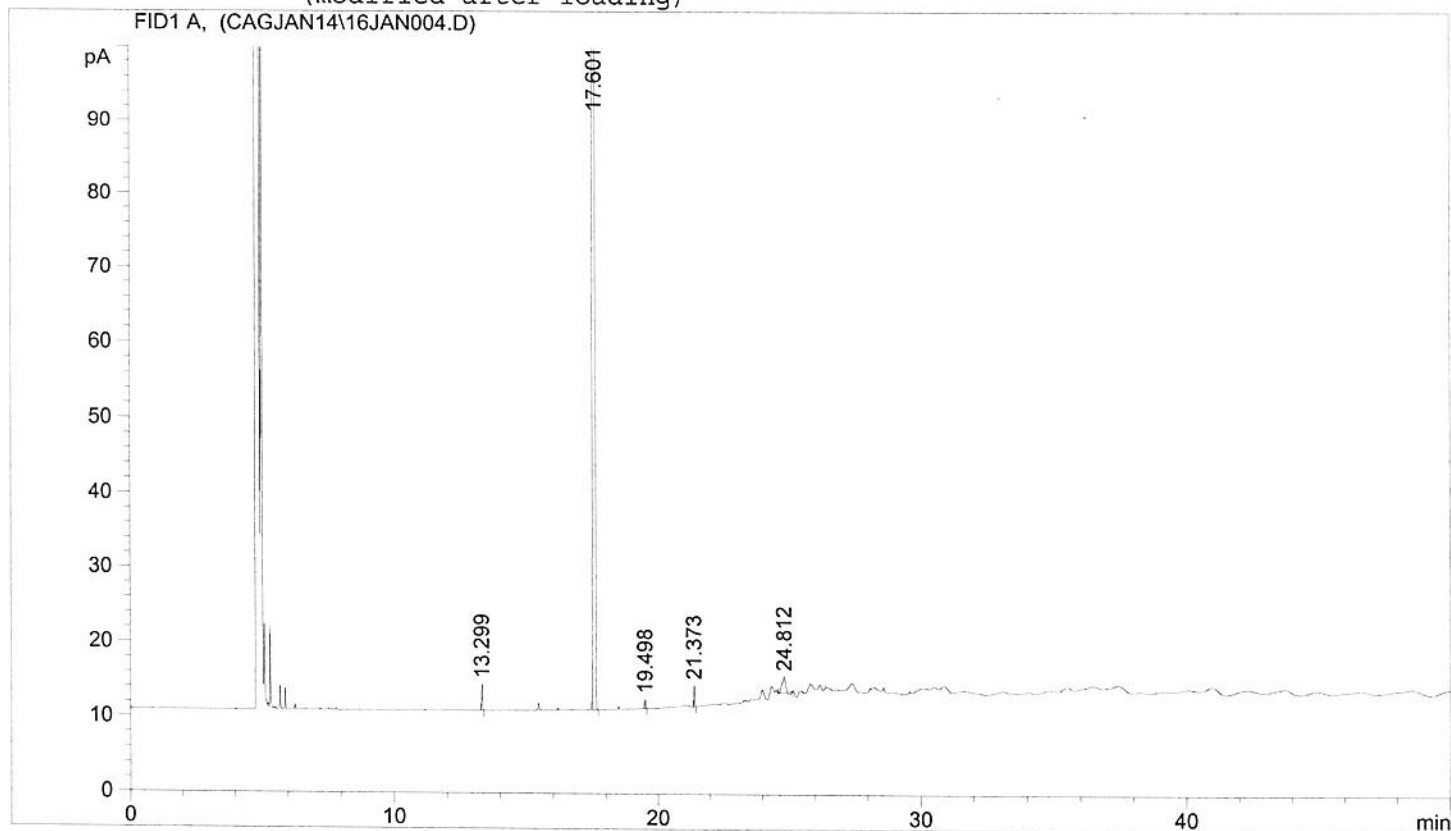
```

```

=====
Injection Date   : 16/1/2014 13:09:10      Seq. Line :    4
Sample Name     : AC. LÁURICO 2           Location  : Vial 4
Acq. Operator   :                        Inj      :    1
                                           Inj Volume: 1 µl

Acq. Method     : D:\HPCHEM\2\METHODS\CAG2.M
Last changed    : 9/1/2014 09:26:39
Analysis Method : D:\HPCHEM\2\METHODS\ECODB23.M
Last changed    : 20/1/2014 15:33:55
                  (modified after loading)
=====

```



```

=====
                        Area Percent Report
=====

```

```

Sorted By      :      Signal
Multiplier     :      1.0000
Dilution       :      1.0000

```

Signal 1: FID1 A,

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	13.299	BP	0.0387	8.59121	3.49343	0.29134
2	17.601	BB	0.0549	2912.89990	725.16205	98.78200
3	19.498	BB	0.0368	2.92566	1.22990	0.09921
4	21.373	PP	0.0374	6.61076	2.81569	0.22418
5	24.812	PB	0.1054	17.78889	2.15185	0.60326

Totals : 2948.81642 734.85292

Results obtained with enhanced integrator!

```

=====
*** End of Report ***

```